

LABORATORIUM
BALAI RISET DAN
STANDARDISASI INDUSTRI
PALEMBANG

INSTRUKSI KERJA

Nomor : IK-LAB-5.5.1.25
Revisi/ Edisi : 0/7
Tanggal Terbit : 01 April 2019
Halaman : 1 dari 7

PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450

Disetujui oleh :

Kepala Seksi SS

Diajukan oleh :

Koord. Sampling dan
Manajemen Alat

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	INSTRUKSI KERJA	Nomor : IK-LAB-5.5.1.25 Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 2 dari 7
PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450		

A. Persiapan

1. Siapkan kebutuhan analisa (baku, contoh, alat-alat gelas, *reagent*, dll).
2. Hubungkan kabel power ke sumber listrik .
3. Hidupkan UPS atau *stabilizer*.
4. Keluarkan silika gel dari dalam *Sample Compartment*, lalu hidupkan UV-1800.
5. Tunggu hingga Inisialisasi selesai . Bila muncul tampilan *user : administrator* dan *password* langsung tekan **ENTER** (tanpa *password*) hingga muncul tampilan *mode menu* (1. *Photometric*, 2. *Spectrum*, dsb).
6. Biarkan UV-2450 menyala selama 15-30 menit baru lakukan pengukuran.
7. Hidupkan CPU, monitor, dan printer.
8. Untuk melakukan koneksi ke *software* (PC) pada tampilan *mode menu* tekan **F4 (PC Ctrl)**

B. Instrumentasi (pada PC)

1. Pada menu utama *Windows*, klik *UVprobe 2.32*
2. Klik salah satu menu pengukuran sbb ;
 - a. *Spectrum* : untuk melihat spektra dari suatu larutan pada suatu kisaran panjang gelombang maksimum.
 - b. *Photometric* : untuk melihat serapan atau %T dari suatu zat atau untuk penentuan analisa kuantitatif .
 - c. *Kinetics* : untuk melihat pengaruh waktu terhadap perubahan serapan atau %T (*Time Course*) atau penentuan pengaruh aktifitas enzim terhadap perubahan serapan atau %T.
3. Klik *connect* (di bagian kiri bawah tampilan *UVProbe*).

C. Spektrum

1. Klik *Spectrum*.
2. Klik *Edit → Method* atau klik.
3. Isi *Measurement : wavelength range (nm)* dari panjang gelombang tinggi hingga panjang gelombang rendah.

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	INSTRUKSI KERJA	Nomor : IK-LAB-5.5.1.25 Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 3 dari 7
PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450		

4. Isi *scan speed* (*fast, medium , slow atau very slow*).
5. Klik *Instrument Parameter* untuk menentukan *mode* pengukuran (*Absorbance, Transmittance*).
6. Klik **OK**.
7. Masukan kuvet yang berisi larutan blanko ke sisi *Reference* dan sisi *sample*.
8. Klik *Baseline* , jika ada pertanyaan klik **OK** . Koreksi *baseline* akan berlangsung sesuai kisaran panjang gelombang yang telah di tentukan.
9. Masukan larutan standar atau contoh yang akan di ukur , ke sisi contoh. Klik *Start* . Proses *scanning* akan berlangsung . jika ada pertanyaan, klik **OK**.
10. Isi *filename* dengan nama contoh yang ingin ditampilkan dalam hasil print.
11. Untuk menampilkan laporan puncak lembah dari spektrum yang didapatkan, klik *Operation-Peak Pick*. Nilai panjang gelombang yang menghasilkan nilai serapan terbesar biasanya diasumsikan sebagai panjang gelombang maksimum. Ini bisa digunakan sebagai panjang gelombang pengukuran kuantitatif selanjutnya .
12. Untuk mengetahui absorbansi pada panjang gelombang tertentu klik *Operation – Point pick*, panjang gelombang dapat diketik langsung pada *table* lalu di enter untuk mengetahui nilai absorbansinya atau pilih dengan menggerakan kursor pada grafik .
13. Untuk menyimpan data spektrum , klik *File-Save as*, isi nama file datanya, klik *Save*.
14. Untuk menyimpan *method* , klik → *Save as* , isi nama file datanya , pada *save as type* pilih *method file (*.smf)*, klik *save*.
15. Untuk mencetak , klik pada *table peak pick* atau *point pick* , lalu klik print.

D. Photometric

1. Klik *photometric*.
2. Klik *Edit-Method*.
3. Pilih *wavelength type : point* , isi parameter *Wavelength (nm)* dengan panjang gelombang analisa, klik *Add*. Jika ada dua atau tiga panjang gelombang isi *wavelength* dengan panjang gelombang yang lainnya, klik *Add*. Jika ingin menghapus panjang gelombang klik panjang gelombang yang ingin dihapus lalu klik *remove*. klik *Next*.

PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450

4. Pilih type pengukuran yang diinginkan, yaitu :

a. *Multi Point*

Jika ingin membandingkan contoh dengan deret standar (lebih dari satu standar) pada panjang gelombang tertentu pada type klik *Multi Point*.

1) Pada Formula pilih :

- a) *Fixer wavelength* = jika hanya menggunakan satu panjang gelombang.
- b) *Ration* = jika membagi hasil dari dua panjang gelombang.
- c) *Difference* = jika ingin menggunakan hasil dari dua panjang gelombang.
- d) *3 wavelength* = jika ingin menggunakan 3 panjang gelombang.

- 2) Isi parameter **WL1** dengan memilih panjang gelombang analisa dari tanda panah ke bawah, jika menggunakan lebih dari satu panjang gelombang isi juga **WL2** dan **WL3**.
- 3) Isi parameter *Units* dengan satuan pengukuran.
- 4) Klik *Next – next – next* = isi data file dengan contoh → *Finish* → *Close*.
- 5) Pada *standard table* isi *sample ID* dengan nama standar yang akan diukur (tekan tanda panah ke bawah pada *keyboard* untuk mengisi *sample ID* pada baris berikutnya) dan isi konsentrasiya.
- 6) Pada *sample table* isi *sample ID* dengan nama contoh yang akan diukur (tekan tanda panah ke bawah pada *keyboard* untuk mengisi *sample ID* pada baris berikutnya).
- 7) Masukan kuvet yang berisi barisan blanko ke sisi *reference* dan sisi *sampel*.
- 8) Klik *Autozero* untuk mengenolkan sinyal.
- 9) Masukan kuvet yang berisikan larutan standar ke sisi *sampel*.
- 10) Klik pada *standard table* (muncul tampilan *Active*).
- 11) Klik *Read Std*. jika ada pertanyaan, klik *yes*.
- 12) Ulangi hingga terbentuk kurva standar.
- 13) Kurva kalibrasi akan muncul di sebelah kanan.

PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450

- 14) Untuk menampilkan persamaan garis, nilai r^2 dan parameter lain, klik tombol kanan *mouse*, klik *properties* dan *checklist* parameter yang ingin ditampilkan.
- 15) Masukan kuvet berisi larutan sampel ke sisi *sampel*.
- 16) Klik pada *sample-table* (muncul tampilan *Active*).
- 17) Klik *Read Unk.*

b. *Single Point*

Jika ingin membandikan contoh dengan satu standar pada panjang gelombang tertentu pada *type* klik *Single Point*.

- 1) Pada *Formula* pilih :
 - a) *Fixer wavelength* = jika hanya menggunakan satu panjang gelombang.
 - b) *Ration* = jika membagi hasil dari dua panjang gelombang.
 - c) *Difference* = jika ingin menggunakan hasil dari dua panjang gelombang.
 - d) *3 wavelength* = jika ingin menggunakan 3 panjang gelombang.
- 2) Isi parameter **WL1** dengan memilih panjang gelombang analisa dari tanda panah ke bawah, jika menggunakan lebih dari satu panjang gelombang isi juga **WL2** dan **WL3**.
- 3) Isi parameter *Units* dengan satuan pengukuran.
- 4) Isi *STD concentration* dengan konsentrasi standar yang digunakan.
- 5) Klik *next – next – next –* isi data *file* dengan nama contoh → *Finish* → *Close*.
- 6) Pada *standard table* isi *sampel ID* dengan nama standar yang akan diukur.
- 7) Pada *sample table* isi *sampel ID* dengan nama contoh yang akan diukur. (tekan tanda panah ke bawah pada *keyboard* untuk mengisi *sampel ID* pada baris berikutnya).
- 8) Masukan kuvet yang berisi larutan blanko ke sisi *reference* dan sisi *sampel*.
- 9) Klik pada *standard table* (muncul tampilan *Active*).
- 10) Klik *Read Std.* jika ada pertanyaan klik yes.

PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450

11) Masukan kuvet berisi larutan contoh ke sisi *sampel*.

12) Klik pada *sample table* (muncul tampilan *Active*).

13) Klik *Read Unk.*

c. *K-Factor*

Jika ingin mengetahui konsentrasi contoh dengan mengalikan absorbansi dengan faktor K yang sudah diketahui .

1) Pada Formula pilih :

- a) *Fixer wavelength* = jika hanya menggunakan satu panjang gelombang.
- b) *Ration* = jika membagi hasil dari dua panjang gelombang.
- c) *Difference* = jika ingin menggunakan hasil dari dua panjang gelombang.
- d) *3 wavelength* = jika ingin mengguhakan 3 panjang gelombang.

2) Isi nilai Faktor K.

3) Klik *next – next –* isi data file dengan nama contoh → *Finish* → *Close*.

4) Pada *sample table* isi *sampel ID* dengan nama contoh yang akan diukur (tekan tanda panah ke bawah pada *keyboard* untuk mengisi *sampel ID* pada baris berikutnya).

5) Masukan kuvet yang berisi larutan blanko ke sisi *Reference* dan sisi *sampel*.

6) Klik *Autozero* untuk mengenolkhan sinyal.

7) Masukan kuvet berisi larutan contoh ke sisi *sampel*.

8) Klik *Read Unk.*

d. *Raw Data*

Jika hanya ingin mengetahui nilai absorbansi contoh pada panjang gelombang tertentu pada type klik *Raw Data*.

1) Klik *next – next –* isi data file dengan nama contoh → *finish* → *Close*.

2) Pada *sample table* isi *sampel ID* dengan nama contoh yang akan diukur (tekan tanda panah ke bawah pada *keyboard* untuk mengisi *sampel ID* pada baris berikutnya).

3) Masukan kuvet yang berisikan larutan ke sisi blanko ke sisi *Reference* dan sisi *sample*.

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	INSTRUKSI KERJA	Nomor : IK-LAB-5.5.1.25 Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 7 dari 7
PETUNJUK PEMAKAIAN SPEKTROFOTOMETER SHIMADZU UV-VIS 2450		

- 4) Klik *Autozero* untuk mengenolkan sinyal.
- 5) Masukan kuvet berisi larutan contoh ke sisi *sample*.
- 6) Klik *Read Unk.*

5. Untuk menyimpan *File*, klik *Save as*, isi nama *file*-nya, klik *Save*.
6. Untuk menyimpan *method*, klik *File – Save as*, isi nama *file* datanya pada *save as type* pilih *method file (*.smd)*, klik *save*.
7. Untuk mencetak kurva standar, *standard table* dan *sample table* klik pada *standard graph*, lalu klik *print*.

E. *Kinetics*

1. Klik *Kinetics* → *Edit* → *Method*.
2. Isi parameter yang diinginkan (satuan waktu, total waktu, dll).
3. Masukkan larutan blanko ke sisi *reference* dan sisi *sample*, klik *Autozero*.
4. Masukkan larutan contoh ke sisi *sample*, lalu klik *Start*.
5. Tunggu hingga proses selesai.
6. Untuk menampilkan hasil, klik *Operation*, pilih parameter yang diinginkan.
7. Untuk menyimpan *file*, klik *file* → *save as*, isi nama *file*-nya, klik *save*.
8. Untuk mencetak, klik *Window* → *Report Generator* → *File* → *Open* → Pilih *file* format laporan yang diinginkan → *Open* → *File* → *Print* → *OK*. Laporan akan langsung dicetak.

F. *Shut down*

1. Klik *Disconnect*.
2. Tutup semua menu di *UV-Probe*.
3. Matikan CPU, monitor, dan printer.

G. Dokumen Terkait

F-LAB-5.5.1.0.1 Kartu Penggunaan Alat