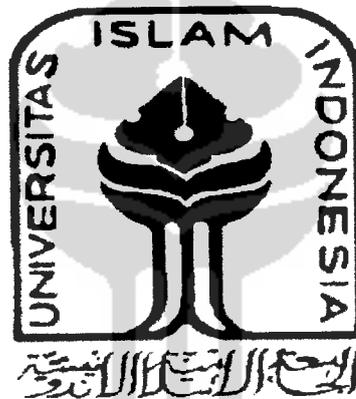


**PENENTUAN KANDUNGAN VITAMIN C DALAM MINUMAN  
INSTAN DENGAN PERBANDINGAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF DAN  
SPEKTROFOTOMETRI REGULER**

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Program Studi Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia Jogjakarta**



disusun oleh :

**DERYANTO AJI SASONGKO**

**No. Mhs : 99 612 037**

**JURUSAN ILMU KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
JOGJAKARTA  
2004**

**PENENTUAN KANDUNGAN VITAMIN C DALAM MINUMAN INSTAN  
DENGAN PERBANDINGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI  
DERIVATIF DAN SPEKTROFOTOMETRI REGULER**

Oleh :

Deryanto Aji Sasongko

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Tingkat Sarjana

Jurusan Ilmu Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tanggal : 19 Juni 2004

**Dewan Penguji :**

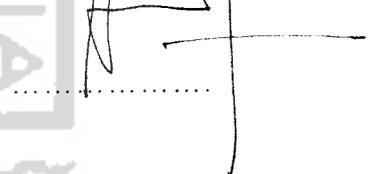
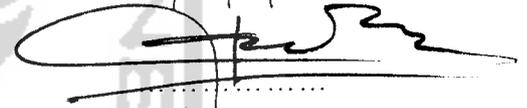
1. Is Fatimah, M. Si.

2. Drs. Allwar, M. Sc.

3. Riyanto, M. Si

4. Tatang Shabur Julianto, S.si

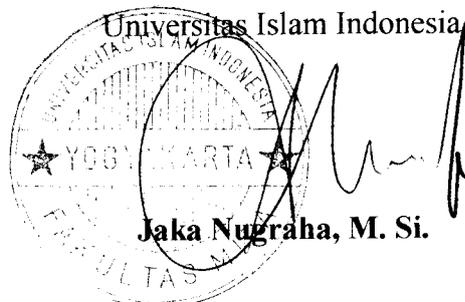
**Tanda Tangan :**



Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Jaka Nugraha, M. Si.

*Motto :*

*Sesungguhnya Tuhanmu yang maha mengetahui orang yang  
sesat dari jalan –Nya.*

*Dan Dia pula yang mengetahui yang mendapat hidayah  
( Qs : Al Qalam ; 7 )*

*Allah sebenarnya mengetahi apa yang mereka rahasiakan  
dalam hati  
( Qs : Al Insyiqaaq ; 23 )*

*Katakanlah, “ Yang akan menyelamatkanmu adalah  
Tuhan yang Maha Pemurah, Kami beriman  
kepada -Nya dan kepada -Nya kami bertawakal.*

*Kelak kamu akan mengetahui siapa yang nyata – nyata sesat”.*  
( Qs : Al Mulk ; 29 )

## PERSEMBAHAN

Dengan segala kerendahan hati skripsi ini kupersembahkan kepada :

1. Ibunda tersayang Dewi Susilo Waty dan Ayahanda tersayang Muriyanto, beliau berdua yang sungguh berjasa hingga menjadikan aku seorang Sarjana. " Terima kasih atas doa, kesabaran, keikhilasan, nasihat dan suri tauladan yang engkau berdua berikan kepadaku, semoga Allah SWT meridhoi cita-cita mulia yang engkau berdua inginkan, Amien."
2. Kakanda tersayang Inda Deryalita Kurniawati S.E yang selalu menjaga, menyayangi, melindungi dan mendukung semua cita-citaku.
3. Eyang kakung, eyang putri dan keluarga besar Sapardi Aji Susilo di Magelang atas doa dan restu.
4. Embah " Salatiga " yang tidak sempat menyaksikan keberhasilanku " Semoga engkau tersenyum di-Sana menyaksikan keberhasilanku ".
5. Retno Widianingsih atas cinta kasih yang kau berikan. " Bantuanmu, Perhatianmu, Motivasi dan Kesabaranmu menunggu hingga aku menjadi Sarjana.. "Semoga cinta kita abadi selamanya"..Amien.
6. Motor Merahku AD 5736 RG, yang tanpa mengeluh menemani aku selama 5 tahun .
7. Penghuni rumah susun HMK ada Boim, Thorik, Simbah, Hady, serta penghuni baru ferdy dan babay. " Semoga persaudaraan kita abadi selamanya".
8. Sahabat-sahabatku di djogja : Fatimah, Ipung, Hery, Jamal, Ute, Hady, Nanang, Yos, Nanda, Nurul, Asep, Adoy, Upu, Reno Teman-teman Kimia 96,97,98,99,00,01 dan 02.
9. Banteng Utama Product atas pinjaman Komputernya selama penyusunan skripsi ini.
10. Komunitas **TEATER CANGKIR** & **TEAM Bola Kimia**
11. Teman-teman di UII Dian, Widi, Suci, Novie, dan teman lain yang belum kusebutkan, "Terimakasih atas pertemanan ini"

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul "Penentuan Kandungan Vitamin C dalam Minuman Instan dengan Perbandingan Metode Spektrofotometri Derivatif dan spektrofotometri Reguler ". Tidak lupa Sholawat dan salam senantiasa tercurah pada junjungan dan uswah kita Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan pengikutnya yang senantiasa istiqomah mengikuti risalahnya. Amin.

Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) pada program studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis sampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Jaka Nugraha, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Riyanto, M.Si selaku ketua jurusan Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Is Fatimah, M.Si selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan bantuan dan bimbingan dalam proses penyusunan skripsi.
4. Bapak Drs.Allwar, M.Sc selaku dosen pembimbing II. Atas bimbingan dan dukungan.
5. Staf pengajar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan banyak ilmu kepada penulis selama menempuh studi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.
6. Staf Laboratorium Kimia Lanjut, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

7. Mama, Papa dan Kakanda tercinta yang telah memberikan dukungan dan doanya guna penyelesaian studi di UII Jogjakarta.
8. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna dalam penyusunan skripsi ini, namun besar harapan penulis atas kritik dan saran yang membangun semoga skripsi ini memberikan manfaat yang berarti khususnya bagi rekan-rekan semua.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak dan semoga Allah SWT melimpahkan karunia kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Jogjakarta, 22 Maret 2004

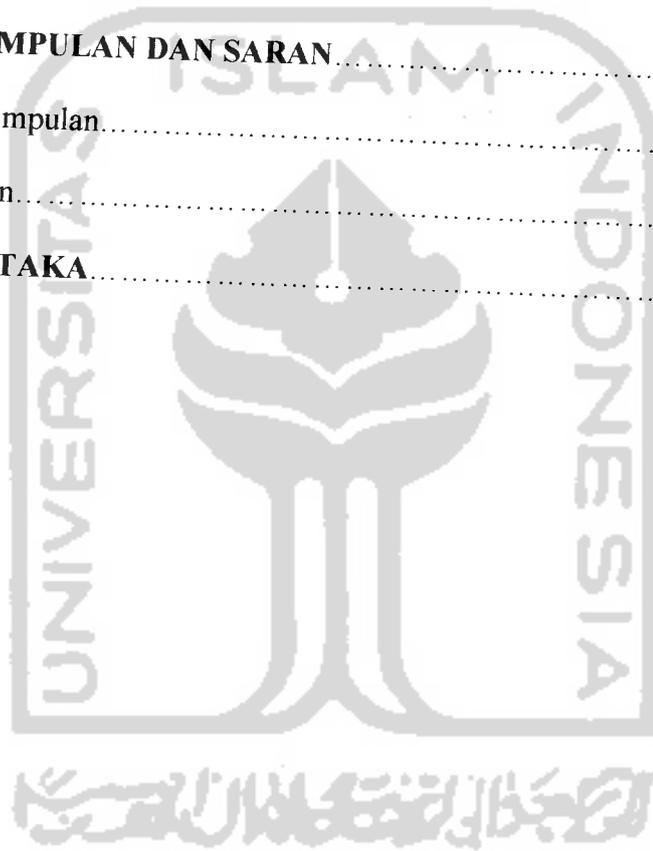
(Deryanto Aji Sasongko)

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>INTISARI</b> .....	xiv
<b>ABSTRACT</b> .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Penentuan vitamin C secara spektrofotometri derivatif .....	5

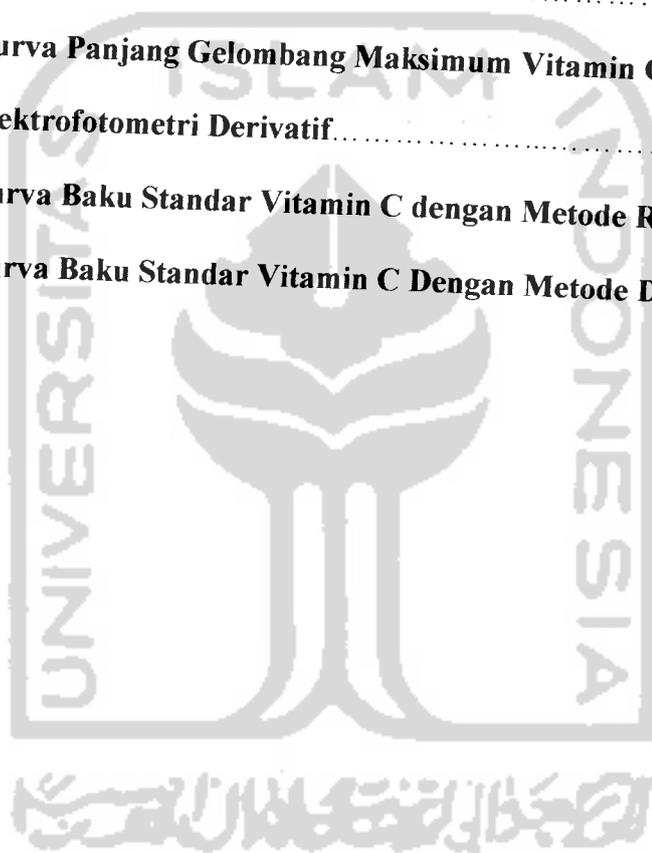
2.2 Minuman Instan.....	7
<b>BAB III DASAR TEORI.....</b>	<b>8</b>
3.1 Vitamin C .....	8
3.2 Tatanama vitamin C .....	10
3.3 Sifat-sifat Umum Vitamin C .....	11
3.4 Stabilitas .....	12
3.5 Fungsi, Defisiensi dan Kebutuhan Vitamin C.....	12
3.6 Analisis.....	13
3.7 Spektrofotometri UV- Visibel.....	19
3.8 Spektrofotometri UV- Derivatif .....	22
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Alat dan Bahan .....	24
4.2 Preparasi Sampel .....	24
4.3 Cara Penelitian .....	25
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
5.1 Penyediaan Sampel.....	27
5.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Reguler.....	27

5.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Derivatif.....	29
5.4 Pembuatan Kurva Baku Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Reguler dan Metode Spektrofotometri derivatif.....	31
5.5 Penentuan Konsentrasi Sampel.....	36
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>40</b>
6.1 Kesimpulan.....	40
6.2 Saran.....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1. Struktur Asam Askorbat (Vitamin C)</b> .....	9
<b>Gambar 2. Reaksi Oksidasi Vitamin C</b> .....	9
<b>Gambar 3. Kurva Panjang Gelombang Maksimum Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Reguler</b> .....	28
<b>Gambar 4. Kurva Panjang Gelombang Maksimum Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Derivatif</b> .....	29
<b>Gambar 5. Kurva Baku Standar Vitamin C dengan Metode Reguler</b> .....	31
<b>Gambar 6. Kurva Baku Standar Vitamin C Dengan Metode Derivatif</b> .....	33



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1. Data kurva baku.....</b>	<b>26</b>
<b>Tabel 2. Data panjang gelombang maksimum dengan metode spektrofotometri reguler.....</b>	<b>28</b>
<b>Tabel 3. Data panjang gelombang maksimum dengan metode spektrofotometri derivatif.....</b>	<b>30</b>
<b>Tabel 4. Data absorbansi dan konsentrasi pada kurva baku dengan metode reguler.....</b>	<b>32</b>
<b>Tabel 5. Data absorbansi dan konsentrasi pada kurva baku dengan metode derivatif.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabel 6. Data nilai r (linearitas), Sa dan Sb.....</b>	<b>36</b>
<b>Tabel 7. Perbandingan hasil pengukuran kadar pada kedua metode.....</b>	<b>36</b>
<b>Tabel 8. Data Recovery.....</b>	<b>39</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Perhitungan nilai  $S_a$ ,  $S_b$ , dan limit deteksi persamaan reguler
- Lampiran 2. Data penentuan harga  $S_a$  (penyimpangan intersep) metode reguler
- Lampiran 3. Data penentuan harga  $S_b$  (penyimpangan slope) metode reguler
- Lampiran 4. Perhitungan nilai  $S_a$ ,  $S_b$ , dan limit deteksi persamaan derivatif
- Lampiran 5. Data penentuan harga  $S_a$  metode derivatif
- Lampiran 6. Data penentuan harga  $S_b$  metode derivatif
- Lampiran 7. Penentuan kadar dengan metode spektrofotometri reguler
- Lampiran 8. Data absorbansi sampel dengan metode reguler
- Lampiran 9. Konsentrasi sampel dengan metode reguler
- Lampiran 10. Penentuan kadar dengan metode spektrofotometri derivatif
- Lampiran 11. Data absorbansi sampel dengan metode derivatif
- Lampiran 12. Konsentrasi sampel dengan metode derivatif
- Lampiran 13. Perhitungan Recovery



# **PENENTUAN KANDUNGAN VITAMIN C DALAM MINUMAN INSTAN DENGAN PERBANDINGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF DAN SPEKTROFOTOMETRI REGULER**

## **INTISARI**

**Oleh :  
Deryanto Aji Sasongko  
99612037**

Telah dilakukan penelitian tentang penentuan kandungan vitamin C dalam minuman instan dengan metode spektrofotometri derivatif dan metode spektrofotometri reguler.

Hasil penelitian yang didapatkan dari metode spektrofotometri derivatif menunjukkan bahwa kandungan vitamin C pada sampel mempunyai nilai yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan metode spektrofotometri reguler. Kadar vitamin C yang dihasilkan dengan metode spektrofotometri reguler sebagai berikut : Sampel A sebesar 1,593 ± 0,023 ppm, sampel B sebesar 1,207 ± 0,008 ppm dan sampel C sebesar 1,773 ± 0,007 ppm. Pada penentuan dengan metode spektrofotometri derivatif didapatkan kandungan vitamin C sebagai berikut : Sampel A sebesar 0,164 ± 0,0140 ppm, sampel B sebesar 0,528 ± 0,000 ppm dan sampel C sebesar 0,156 ± 0,000 ppm.

Kata kunci : *vitamin C, spektrofotometri derivatif, spektrofotometri reguler*

# DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN INSTANT DRINK WITH COMPARISON DERIVATIVE SPECTROPHOTOMETRY METHOD AND REGULAR SPECTROPHOTOMETRY METHOD

## ABSTRACT

By :

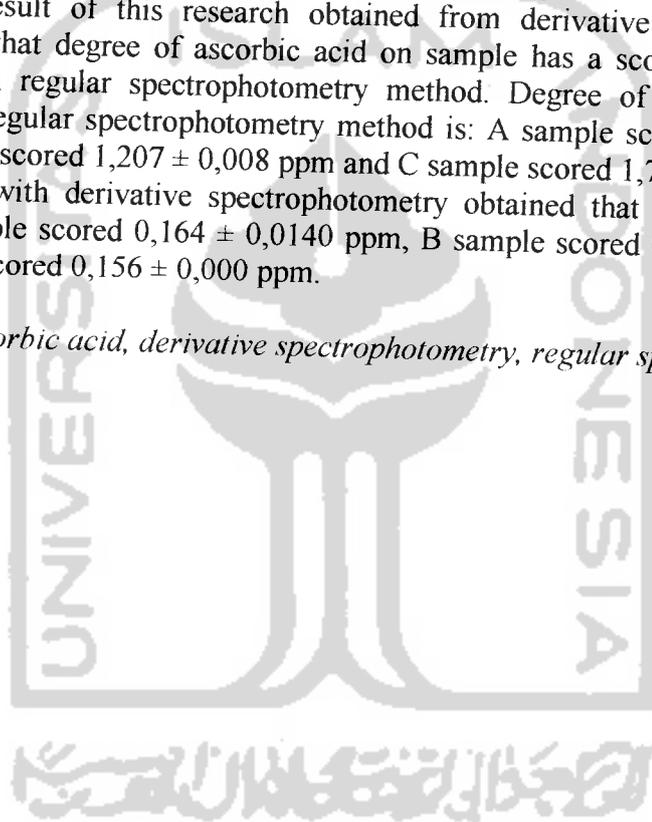
**Deryanto Aji Sasongko**

**Student No. 99612037**

An ascorbic acid determination in instant drink has been conducted using derivative spectrophotometry method and regular spectrophotometry.

The Result of this research obtained from derivative spectrophotometry method show that degree of ascorbic acid on sample has a score that higher than compared with regular spectrophotometry method. Degree of ascorbic acid that resulted with regular spectrophotometry method is: A sample scored  $1,593 \pm 0,023$  ppm, B sample scored  $1,207 \pm 0,008$  ppm and C sample scored  $1,773 \pm 0,007$  ppm. In determination with derivative spectrophotometry obtained that degree of ascorbic acid is: A sample scored  $0,164 \pm 0,0140$  ppm, B sample scored  $0,528 \pm 0,000$  ppm and C sample scored  $0,156 \pm 0,000$  ppm.

*Key words: ascorbic acid, derivative spectrophotometry, regular spectrophotometry.*



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tubuh manusia membutuhkan berbagai macam zat gizi untuk pertumbuhan serta kelangsungan berbagai aktifitas fisiologi dalam tubuhnya. Untuk mempertahankan kesehatan, tubuh manusia membutuhkan vitamin. Vitamin C merupakan zat yang esensial, di dalam tubuh vitamin C dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit, namun apabila jumlah kurang dari yang dibutuhkan maka keseluruhan fungsi faal akan terganggu. Vitamin C merupakan salah satu jenis vitamin yang cukup berpengaruh bagi tubuh manusia dan banyak dikonsumsi, vitamin juga merupakan senyawa organik.

Penentuan kandungan vitamin C dapat menggunakan metode spektrofotometri UV, metode ini berdasarkan pada kemampuan vitamin C yang terlarut dalam air untuk menyerap sinar ultraviolet, pada daerah panjang gelombang maksimum 265 nm. Karena vitamin C dalam larutan mudah sekali mengalami kerusakan, maka pengukuran dengan cara ini harus dilakukan secepat mungkin. Untuk memperbaiki hasil pengukuran, sebaiknya ditambahkan senyawa pereduksi yang lebih kuat dari pada vitamin C. Metode spektrofotometri reguler mempunyai kelebihan yaitu selain ekonomis biaya preparasinya juga tidak rumit. Namun demikian, kelemahan dari metode ini adalah sampel yang diukur tidak murni lagi selain juga kepekaan alat yang sangat kurang.

Metode spektrofotometri derivatif merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk analisis senyawa aromatik yang menyerap daerah UV. Metode ini dilaporkan lebih baik dan sempurna apabila dibandingkan dengan metode spektrofotometri reguler. Metode Spektrofotometri merupakan salah satu metode yang cukup sensitif mendeteksi vitamin, akan tetapi metode spektrofotometri ini mempunyai kelemahan pada pendeteksian analit jika analit berada pada sampel air yang banyak mengandung banyak ion pengganggu. Hal tersebut menyebabkan kesalahan analisis, terutama untuk analisis kuantitatif. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk analisis campuran senyawa aromatik, karena vitamin C mengandung kromofor aromatik memungkinkan metode ini sebagai metode alternatif. Metode ini didasarkan pada pengukuran jarak antara dua nilai ekstermum (dalam satuan detik), dalam spektra derivatif urutan ketiga.

Kandungan vitamin C dalam minuman instan dapat digunakan sebagai alternatif pemenuhan kebutuhan akan vitamin C. Berbagai jenis minuman instan yang memiliki kandungan vitamin C yang berbeda-beda telah ditawarkan untuk konsumen. Pemenuhan kebutuhan vitamin C yang sesuai untuk tubuh belum diketahui oleh khalayak, kandungan vitamin C yang terdapat dalam minuman instan kadang terlalu berlebihan atau kadang kurang. Dengan demikian dapat diketahui bagaimana sebaiknya mengkonsumsi vitamin C yang sesuai dengan kebutuhan tubuh.

## 1.2 Rumusan Masalah

Perumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah metode spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk menentukan kandungan vitamin C ?
2. Berapa besar kandungan vitamin C dalam minuman instan berdasarkan metode spektrofotometri derivatif ?
3. Bagaimana ketepatan dan ketelitian hasil analisis vitamin C menggunakan metode spektrofotometri derivatif dan metode spektrofotometri reguler ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menguji metode spektrofotometri derivatif untuk penentuan kandungan vitamin C dalam minuman instan.
2. Menentukan besarnya kandungan vitamin C dalam minuman instan dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif.
3. Menentukan ketepatan dan ketelitian analisis vitamin C dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif dan metode spektrofotometri reguler.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Dengan penggunaan metode ini, maka diharapkan akan memberikan alternatif penentuan kandungan vitamin C dalam sampel minuman instan dan dapat dikembangkan pada senyawa lain.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Penentuan Vitamin C Secara Spektrofotometri Derivatif

Untuk meminimalkan kesalahan analisis dalam spektrofotometri telah dilakukan beberapa pengembangan metode, antara lain dengan menggunakan spektrofotometri derivatif. Spektrofotometri derivatif didasarkan pada penurunan fungsi spektra yang diperoleh dari suatu analit dengan tujuan meminimalkan gangguan penyerapan spektra. Derivatisasi (penurunan) spektrum ini dapat digunakan untuk meminimalisasi efek matrik dalam analit.

Metode ini telah diteliti untuk beberapa kepentingan analisis senyawa dalam campuran dan sampel alam seperti penentuan vitamin C atau asam askorbat dalam sampel sayuran Aydogmus (2002) dan untuk analisis campuran vitamin. Dalam analisis menggunakan spektrofotometri derivatif dicari kesesuaian spektra sampel dengan spektra standar pada spektra asli, turunan pertama spektra (*1<sup>st</sup> derivative*) dan turunan kedua spektra (*2<sup>nd</sup> derivative*). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa metode derivatif menunjukkan kepekaan yang lebih tinggi dari analisis vitamin C dalam sampel sayuran. Sementara Aberasturi (2001) melaporkan bahwa penggunaan metode spektrofotometri derivatif pada analisis campuran vitamin memiliki limit deteksi dan kepekaan yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan metode spektrofotometri reguler. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa spektrofotometri derivatif lebih tepat bila dibandingkan spektrofotometri reguler.

Penelitian yang dilakukan oleh Fatimah (2003), juga menunjukkan bahwa fenol memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 220 nm dan 270 nm. Kedua panjang gelombang tersebut disebabkan oleh adanya elektron p dari senyawa aromatik. Untuk menguji fenol standar yang digunakan dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum larutan fenol dalam pelarut air bebas ion. Spektra yang dihasilkan dianggap sebagai spektra standar karena interferensi dalam larutan dianggap relatif kecil bila dibandingkan interferensi yang dihasilkan oleh pelarut akuades.

Spektra yang dihasilkan menunjukkan bahwa setiap sampel memberikan serapan pada dua panjang gelombang maksimum, yaitu pada 220 nm dan 270 nm sesuai dengan panjang gelombang maksimum teoritis. Turunan pertama spektra yang diperoleh menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 260 nm. Secara umum terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin tinggi absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Namun demikian spektra yang diperoleh menunjukkan terjadinya pergeseran panjang gelombang maksimum dari fenol pada berbagai konsentrasi. Hal ini dapat terjadi karena adanya pengaruh matriks larutan sehingga terjadi penyerapan intensitas sinar datang. Apabila hal ini digunakan dalam analisis kuantitatif dapat menyebabkan turunnya linearitas fungsi dan dapat menyebabkan turunnya pendeteksian sampel. Turunan pertama dari spektra yang diperoleh memperlihatkan puncak seragam pada variasi konsentrasi yaitu pada panjang gelombang 260 nm sesuai dengan turunan pertama ( $d'$ ) spektra fenol standar.

Keseragaman puncak dari setiap konsentrasi ini secara teoritis akan memberikan ketelitian yang lebih tinggi.

Selanjutnya kedua metode dianalisis dengan membuat kurva baku berdasarkan persamaan Lambert-Beer dimana absorbansi ( $A$ ) berbanding lurus dengan konsentrasi. Berdasarkan linearitas yang diperoleh ditunjukkan bahwa metode derivatif lebih baik apabila dibandingkan dengan metode Reguler. Hal ini menunjukkan bahwa respon absorbansi yang diberikan pada metode derivatif menunjukkan kesesuaian yang lebih besar dengan Hukum Lambert-Beer.

## **2.2 Minuman Instan**

Dewasa ini banyak sekali terdapat jenis minuman instan yang beredar di masyarakat. Berbagai macam minuman instan yang masing-masing memiliki fungsi serta manfaat memberikan kemudahan bagi konsumen dalam memenuhi kebutuhan akan vitamin. Salah satu vitamin yang terdapat dalam minuman instan yang paling banyak adalah vitamin C. Sebagai salah satu alternatif dalam pemenuhan kebutuhan vitamin C, minuman instan ini mampu memberikan manfaat dalam pemenuhan vitamin C. Kadar vitamin C yang terdapat dalam minuman instan ini juga berbeda beda, mulai dari kadar yang rendah hingga berkadar vitamin C yang tinggi. Selain itu minuman instan yang mengandung vitamin C ini juga lebih murah apabila dibandingkan dengan tablet hisap vitamin C.

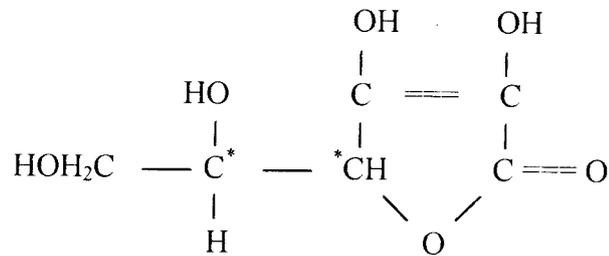
## BAB III

### DASAR TEORI

#### 3.1 Vitamin C

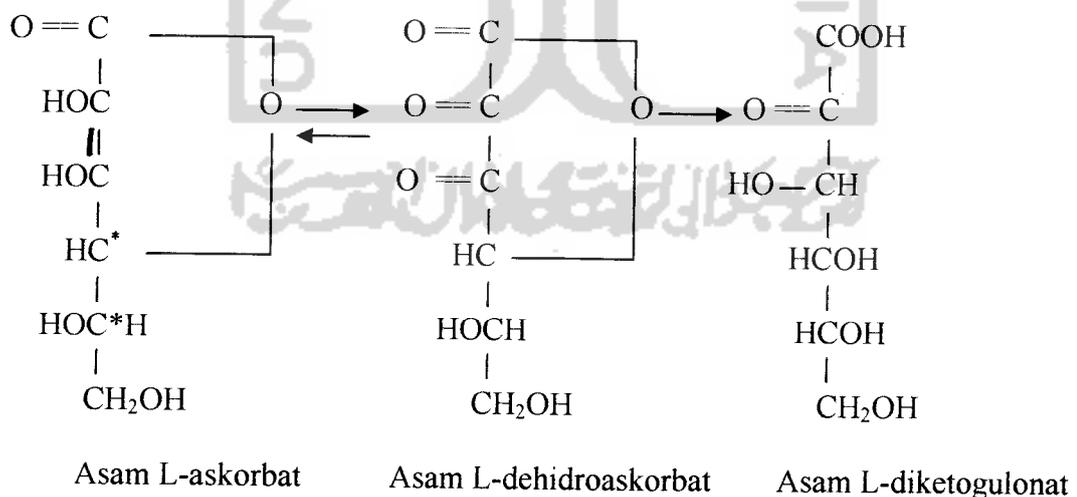
Vitamin merupakan salah satu senyawa organik yang sangat diperlukan oleh tubuh untuk proses metabolisme dan pertumbuhan yang normal. Vitamin tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia dalam jumlah yang cukup, oleh karena itu harus diperoleh dari bahan pangan yang dikonsumsi. Terbentuknya vitamin C atau biosintesis vitamin C pada tanaman merupakan hasil metabolisme heksosa fosfat. Pada jaringan tumbuhan, sintesis L-asam askorbat terutama terjadi dari D-galaktosa, sedangkan pada jaringan hewan terjadi dari D-glukosa. Glukosa dan galaktosa termasuk dalam heksosa. Dalam perubahan ini rantai karbon D-heksosa langsung dijadikan rantai karbon vitamin C (Wuryaningsih, 1996).

Vitamin C merupakan salah satu vitamin yang sangat penting bagi tubuh manusia, vitamin ini sebagian besar terkandung dalam buah – buahan dan sayuran yang segar, karena itu sering disebut "*fresh food vitamin*". Vitamin C atau asam askorbat mula-mula dikenal sebagai asam heksuronat dengan rumus kimia  $C_6H_8O_6$  karena berkhasiat antiskorbut maka dinamakan asam askorbat atau vitamin C, berbentuk kristal putih, stabil dalam keadaan kering, sangat larut dalam air dan mudah teroksidasi (Andarwulan dan Koswara, 1992). Rumus struktur vitamin C atau asam askorbat adalah sebagai berikut :



**Gambar 1** Struktur asam askorbat

Asam askorbat mempunyai dua atom C asimetrik, oleh karena itu dapat berbentuk sebagai asam L-askorbat dan asam L-dehidroaskorbat, keduanya mempunyai keaktifan sebagai vitamin C. Asam askorbat adalah zat yang memiliki sifat mereduksi yang kuat. Dengan dilepaskannya dua atom hidrogen, asam askorbat dapat diubah menjadi asam dehidroaskorbat. Perubahan asam askorbat menjadi asam dehidroaskorbat merupakan reaksi yang reversible. Asam L-dehidroaskorbat secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan menjadi vitamin C lagi ( Andarwulan dan Koswara, 1992 ). Berikut reaksi oksidasi vitamin C ( Deman, 1997 ) :



**Gambar 2** Reaksi oksidasi vitamin C

### 3.2 Tatanama vitamin C

Sejak ditemukan, banyak nama telah diberikan pada vitamin C. Nama-nama tersebut dapat digolongkan menjadi nama umum, nama trivial dan nama kimia.

#### 3.2.1 Nama Umum

##### 1. Vitamin C

Nama vitamin C pertama kali diusulkan J.C. Drummond pada tahun 1920 untuk menamakan suatu senyawa yang dapat mencegah dan mengobati penyakit "scurvy" (sariawan).

##### 2. Asam askorbat

Pertama kali diusulkan oleh Szent-gyorgy dan Hawrot.

##### 3. Asam ceritamat (*ceritamat acid*)

Nama ini diperkenalkan oleh badan kimia dan farmasi Amerika Serikat (*Council on Pharmacy and Chemistry of the American Medical Association*). Organisasi ini kemudian mengubah nama tersebut menjadi asam askorbat.

#### 3.2.2 Nama Trivial

##### 1. Asam Heksuronat (*Hexuronic Acid*)

Nama ini diusulkan oleh Szent-Gyorgyi pada tahun 1928 untuk senyawa yang bersifat pereduksi kuat yang diisolasi dari kelenjar anak ginjal (adrenal), jeruk dan kubis.

##### 2. Anti-scorbutin

Pertama kali diusulkan oleh Holst pada tahun 1912.

3. Vitamin anti-scorbut (*anti-scorbut vitamin*).
4. Scrobutamin.

Pertama kali diusulkan oleh R.L.Jones pada tahun 1928.

### 3.2.3 Nama Kimia

Nama kimia yang diberikan pada vitamin C antara lain :

1. L-asam askorbat.
2. L- threo-3-keto-asam heksuronat lakton.
3. L-xylo-asam askorbat.
4. L-3-keto-threo-asam heksuronat lakton.
5. L-threo-2, 3, 4, 5, 6,-pentoksi-heksan-2-asam karboksilat lakton.

### 3.3 Sifat-sifat umum Vitamin C

Vitamin C yang mempunyai rumus empiris  $C_6H_8O_6$  dalam bentuk murni merupakan kristal putih, tidak berwarna, tidak berbau dan mencair pada suhu 190-192<sup>0</sup> C. Senyawa ini bersifat reduktor kuat dan mempunyai rasa asam.

Vitamin C sangat mudah larut dalam air (1 gram dapat larut sempurna dalam 3 mL air), sedikit larut dalam alkohol (1 gram dapat larut dalam 50 mL alkohol absolut atau 100mL gliserin) dan tidak larut dalam benzena, eter, kloroform, minyak dan sejenisnya. Walaupun vitamin C stabil dalam bentuk kristal, tapi mudah rusak atau terdegradasi jika berada dalam bentuk larutan, terutama jika terdapat udara, logam-logam seperti Cu dan Fe dan cahaya (terutama jika vitamin C terdapat bersama sama dengan ribovlafin). Sifat paling utama dari vitamin C adalah kemampuan mereduksinya yang kuat dan mudah teroksidasi yang dikatalis oleh beberapa logam,

terutama Cu dan Ag. Potensial oksidasi reduksi vitamin C pada pH 4 dan suhu 35<sup>0</sup>C adalah  $E^{\circ} = +0.116$  V. Dalam larutan, vitamin C menunjukkan sifat asam (pH 2.5) serta mempunyai konstanta disosiasi dengan  $pK_1 = 4.04$  dan  $pK_2 = 11.40$  pada suhu 25<sup>0</sup>C. Vitamin C mempunyai aktifitas optik  $[\alpha]^{20} D = +23^0$  dalam air  $[\alpha]^{23} D = +48^0$  dalam methanol. Senyawa ini juga menyerap spektrum ultra violet pada panjang gelombang 200-400 nm dengan panjang gelombang maksimum pada 265 nm.

### 3.4 Stabilitas

Asam askorbat bersifat sangat sensitif terhadap pengaruh-pengaruh luar yang menyebabkan kerusakan seperti suhu, konsentrasi gula dan garam, pH, oksigen, enzim dan katalisator logam. Vitamin C termasuk vitamin yang labil, termasuk yang dikandung oleh bahan makanan. Vitamin C mudah rusak pada penyimpanan dan pemasakan serta berbagai proses pangan, sehingga dalam hidangan vitamin C yang tertinggal jauh lebih kecil dibandingkan kadarnya dalam bahan pangan segar sebelum mengalami penanganan lain. Vitamin C dapat hilang karena degradasi kimia, pencucian, pelarutan, blansing ataupun pemotongan sebelum diolah.

### 3.5 Fungsi, Defisiensi dan Kebutuhan Vitamin C (Asam Askorbat)

Vitamin C berperan dalam mempertahankan zat-zat intraseluler normal tulang rawan, dentin dan tulang. Selain itu vitamin C juga berperan penting dalam oksidasi fenil alanin dan tirosin. Adapun fungsi vitamin C adalah :

1. Penting dalam pembentukan senyawa kolagen dan jaringan serat hewan.
2. Sangat penting dalam penyembuhan luka.

3. Berperan dalam pembentukan beberapa transmitter syaraf dan norepineprin dan dopamine
4. Berperan sebagai proteksi dan kurasi terhadap penyakit yang disebabkan artheroskeloris.
5. Sebagai transfoter hidrogen dalam pernafasan sel.

Kekurangan vitamin C dapat menyebabkan askorbut yaitu pembuluh darah rapuh sehingga mudah terjadi pendarahan, gusi mengembung dan berdarah, terdapat tonjolan-tonjolan pembuluh darah di bawah kulit. Selain itu menyebabkan sendi-sendi tulang rawan rapuh dan nyeri, dan gigi mudah tanggal. Kebutuhan vitamin C berbeda-beda tergantung umur dan jenis kelamin. Pada umumnya makin dewasa semakin banyak kebutuhan per harinya. Angka kebutuhan gizi (AKG) rata-rata yang dianjurkan untuk vitamin C adalah 35 mg untuk bayi dan meningkat sampai kira-kira 60 mg pada orang dewasa. Kebutuhan akan vitamin C meningkat 300-500 % pada penyakit tuberkolusis, infeksi, tukak peptick, penyakit neoplasma, paska bedah atau trauma, kehamilan dan laktasi. Perokok diperkirakan membutuhkan tambahan vitamin C 50% untuk mempertahankan kadar normal serum. Pada masa hamil dan laktasi dibutuhkan tambahan vitamin C 10-25 mg per hari.

### **3.6 Analisis**

Metode analisis vitamin C dalam bahan pangan dapat dikelompokkan menjadi metode fisik, metode kimia, metode biokimia dan metode biologis.

### **3.6.1 Metode Fisik**

#### **3.6.1.1 Metode Spektroskopis**

Metode ini berdasarkan pada kemampuan vitamin C yang larut dalam air untuk menyerap ultraviolet, dengan panjang gelombang maksimum pada 265 nm. Karena vitamin C dalam larutan mudah sekali mengalami kerusakan, maka pengukuran dengan cara ini harus dilakukan secepat mungkin. Untuk memperbaiki hasil pengukuran, sebaiknya ditambahkan pereduksi yang lebih kuat dari pada vitamin C. Hasil terbaik diperoleh dengan menambahkan sejumlah ekuimolar larutan KCN (sebagai stabilizer) ke dalam larutan vitamin.

#### **3.6.1.2 Metode Polarografik**

Metode ini berdasarkan pada potensial oksidasi asam askorbat dalam larutan asam atau bahan pangan yang bersifat asam, misalnya ekstrak buah-buahan dan sayuran

### **3.6.2 Metode Kimia**

Metode ini merupakan pengukuran vitamin C yang banyak macamnya dan paling sering digunakan. Sebagian besar metode kimia didasarkan pada kemampuan vitamin C yang kuat. Karena senyawa dehidro asam askorbat (yang memiliki aktivitas vitamin C sebesar 80%) tidak bersifat pereduksi, maka untuk mengukur vitamin C dalam bahan pangan terlebih dahulu harus dilakukan perlakuan pendahuluan menggunakan senyawa  $H_2S$  untuk mengubah dehidro asam askorbat menjadi asam askorbat. Disamping itu, terdapat sejumlah vitamin C yang terikat



dengan komponen protein dan bersifat non pereduksi. Bentuk terikat ini harus lebih dahulu dalam penentuan kandungan vitamin C dalam suatu bahan.

### **3.6.2.1 Titrasi dengan Iodin**

Kandungan vitamin C dalam larutan murni dapat ditentukan secara titrasi dengan menggunakan larutan 0,01 M iodine. Metode ini tidak efektif untuk mengukur kandungan asam askorbat dalam bahan pangan, karena adanya komponen lain selain vitamin C yang juga bersifat pereduksi. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai warna titik akhir titrasi asam askorbat dengan iodine.

### **3.6.2.2 Titrasi dengan 2,6-diklorofenol indofenol**

Pengukuran vitamin C dapat dengan titrasi menggunakan 2,6-diklorofenol indofenol. Metode ini pada saat sekarang merupakan cara yang paling banyak digunakan untuk menentukan kadar vitamin C dalam bahan pangan. Banyak modifikasi telah digunakan untuk memperbaiki hasil pengukuran, yang didasarkan pada penghilangan pengaruh-pengaruh senyawa pengganggu yang terdapat dalam bahan pangan baik nabati ataupun hewani.

Disamping mengoksidasi vitamin C, pereaksi indifenol juga mengoksidasi senyawa-senyawa lain, misalnya senyawa-senyawa sulfidril, thiosianat, senyawa-senyawa piridinium, bentuk tereduksi dari asam nikotinat dan riboflavin. Senyawa-senyawa ferri dan ferro baik dalam bentuk organik atau anorganik juga dapat mengganggu hasil pengukuran, karena bersifat pereduksi. Didalam bir, khamir, milt, kapang dan sebagainya terdapat senyawa-senyawa organik pereduksi yang dapat bereaksi dengan senyawa indifenol.

Dalam larutan vitamin C, juga terdapat bentuk dehidro (dehidro asam askorbat) yang tidak tertitrasi oleh indofenol atau tidak dapat ditentukan jumlahnya dengan senyawa indofenol. Agar dapat menghitung jumlah dehidro asam askorbat, diperlukan perlakuan pendahuluan untuk mengubah bentuk dehidro asam askorbat menjadi asam askorbat. Hal ini dapat dilakukan dengan  $H_2S$  pada pH 4-7 yang diikuti dengan penghilangan kelebihan  $H_2S$  dengan cara menambahkan gas nitrogen atau  $CO_2$  dalam larutan. Tetapi hasil yang diperoleh dengan metode ini pun tidak selalu memuaskan. Karena itu telah disarankan suatu modifikasi yang dilakukan dengan urutan sebagai berikut :

1. Mengubah kandungan asam askorbat menjadi bentuk dehidro asam askorbat dengan cara oksidasi, misalnya "Norite" atau dengan enzim asam askorbat oksidase.
2. Menentukan senyawa-senyawa pereduksi yang tertinggal (selain vitamin C) dengan cara titrasi (titrasi pertama)
3. Mengubah kembali senyawa dehidro asam askorbat menjadi asam askorbat dengan reduksi menggunakan hidrogen sulfida ( $H_2S$ )
4. Kandungan vitamin C ditentukan dengan titrasi dengan indofenol (titrasi kedua)

Selisih antara nilai yang diperoleh antara titrasi kedua dan titrasi pertama merupakan jumlah atau konsentrasi pertama dalam bahan pangan. Metode titrasi dengan 2,6-diklorofenol indofenol dapat menentukan jumlah vitamin C yang terdapat dalam bahan makanan.

Karena jumlah dehidro asam askorbat dalam jaringan segar sangat kecil dan tidak berarti sebagai sumber vitamin C (tetapi dalam buah-buahan yang disimpan, jumlahnya cukup besar) maka kadar vitamin C dapat ditentukan dengan titrasi secara langsung menggunakan diklorofenol indofenol. Tetapi untuk itu diperlukan syarat sebagai berikut : jaringan segar yang akan diukur kandungan vitamin C-nya diekstrak dengan asam kuat dalam jangka waktu yang cukup cepat. Asam kuat yang dapat digunakan antara lain asam asetat, asam trikloroasetat, asam metafosfat dan asam oksalat. Penggunaan asam dimaksudkan untuk mengurangi oksidasi vitamin C oleh enzim-enzim oksidasi dan pengaruh glutathion yang terdapat dalam jaringan tanaman. Titrasi dilakukan dengan segera setelah ekstraksi selesai.

Beberapa modifikasi lain juga telah dilakukan, diantaranya adalah mengekstraksi jaringan pada suhu rendah dengan menggunakan asam fosfat atau sulfat, kemudian diekstrak yang dihasilkan dari reduksi dengan  $H_2S$ , kadmium, seng, aluminium, palladium, kromium atau titanium pada pH sekitar 4,5 lalu dilakukan titrasi dengan indofenol. Titrasi dilakukan terhadap dua sampel yaitu sampel yang ditambahkan  $CuSO_4$  dan sampel yang tidak ditambah  $CuSO_4$ . Karena ion  $Cu^{++}$  terutama mengoksidasi asam askorbat, maka selisih hasil dua titrasi tersebut merupakan jumlah asam askorbat yang terdapat dalam jaringan tersebut.

Titik akhir titrasi dengan pereaksi indifenol dapat ditentukan secara visual atau menggunakan alat seperti kalorimeter atau photoelektrometer. Titik akhir titrasi pada larutan berwarna gelap dapat ditentukan dengan cara mengekstrak kelebihan pereaksi setelah oksidasi vitamin berlangsung secara sempurna.

Semua metode yang telah digunakan diatas, hanya dapat mengukur asam askorbat, asam dehidro askorbat atau keduanya dalam bentuk bebas, tetapi tidak dapat menentukan jumlah vitamin C dalam bentuk terikat (askorbigen), walaupun telah terbukti bahwa asam askorbat dapat dibebaskan dari askorbigen dengan ekstraksi menggunakan asam metafosfat atau asam sulfosalisilat. Untuk mengukur jumlah total vitamin C yang terdapat dalam jaringan tumbuhan dan hewan, maka vitamin tersebut harus dibedakan dari bentuk terikatnya.

### **3.6.3 Metode Biokimia (Metode Asam Askorbat Oksidase)**

Metode ini berdasarkan kemampuan enzim asam askorbat oksidase untuk mengoksidasi asam askorbat. Reaksi oksidasi ini ternyata tidak bersifat spesifik untuk menghasilkan hasil yang memuaskan karena enzim tersebut dapat juga mengoksidasi komponen-komponen organik lain yang terdapat dalam ekstrak jaringan hewan, terutama senyawa yang dapat mereduksi biru metilen. Lebih lanjut dibuktikan bahwa enzim asam askorbat yang diisolasi dari labu tidak bereaksi dengan vitamin C dalam urine manusia, cairan sumsum tulang belakang dan susu sapi.

### **3.6.4 Metode Biologi**

Walaupun banyak diganti dengan metode kimia dan fisik untuk menentukan vitamin C, metode biologi tetap merupakan metode penentuan vitamin C yang paling realistik dan mendekati kebenaran.

Dalam metode biologi untuk mengukur vitamin C, hewan percobaan yang dapat digunakan hanya marmut. Jika mereka diberi ransum tanpa vitamin C, dalam jangka

waktu 2-3 minggu akan menderita sariawan. Terdapat tiga cara pengukuran biologis dengan menggunakan marmut yaitu :

1. Metode preventif, untuk mengukur jumlah terkecil dalam vitamin C yang dapat mencegah timbulnya tanda-tanda sariawan secara makro misalnya penurunan berat badan
2. Metode kuratif, untuk mengukur jumlah vitamin C terkecil untuk menyembuhkan sariawan pada marmut
3. Metode histologis, memeriksa gigi marmut. Pada gigi yang terkena sariawan, terjadi pengapuran dan terbentuk lapisan tulang yang tidak beraturan.

### **3.7 Spektrofotometri UV-Visibel**

Spektrofotometri UV-Visibel merupakan metode Spektrofotometer yang didasarkan pada adanya serapan sinar pada daerah ultraviolet (UV) dan sinar tampak ( Visibel ) dari satu senyawa. Senyawa dapat dianalisis dengan metode ini jika memiliki kemampuan menyerap pada daerah ultraviolet atau daerah tampak. Senyawa yang dapat menyerap intensitas pada daerah ultraviolet disebut dengan kromofor, sedangkan untuk melakukan analisis senyawa dalam daerah tampak, senyawa harus memiliki warna.

Identifikasi kualitatif dari suatu senyawa serapan kromofor adalah berupa spektra yang ditunjukkan dari panjang gelombang versus absorbansi. Setiap kromofor akan memberikan suatu titik spesifik yang disebut dengan panjang gelombang maksimum. Selanjutnya, untuk analisis sampel murni identifikasi pada panjang gelombang maksimum dapat digunakan untuk analisis kuantitatif, karena absorbansi

sampel akan berbanding lurus dengan konsentrasi sampel, sesuai dengan hukum Lambert-Beer.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dengan A adalah absorbansi, b adalah tebal sampel dan c adalah konsentrasi sampel.

Konsep pengukuran absorbansinya didasarkan pada linearitas absorbansi dan konsentrasi sampel. Konsep tersebut diilhami oleh hukum Lambert-Beer :

$$(\log I_0/I_t = A = abC)$$

Dimana :

$I_0$  = Intensitas sinar radiasi mula-mula sebelum ditransmisikan

$I_t$  = Intensitas sinar radiasi yang sudah ditransmisikan

A = Absorbansi / serapan atom-atom sampel terhadap sinar radiasi yang dipancarkan dari lampu HCL

Ab = Konstanta

C = Konsentrasi sampel yang dianalisis yang linear/berbanding lurus dengan absorbansinya

Menggunakan persamaan regresi linear diperoleh formulasi :

$$(\log I_t = -abC + \log I_0) \text{ atau secara matematis : } (y = bx + a)$$

Dimana :

y = Absorbansi

x = Konsentrasi sampel

$b = \text{Slope}$

$a = \text{Intersep}$

Jika suatu berkas radiasi monokromator (yakni radiasi dengan panjang gelombang tunggal) diarahkan medium yang berisi larutan kimia dalam lapisan-lapisan yang sama tebalnya, maka tiap lapisan akan menyerap fraksi radiasi yang sama besar, atau tiap lapisan mengurangi daya radiasi berkas itu dengan fraksi yang sama besar. Hubungan tersebut ditemukan oleh Lambert-Beer (Day, R.A. dan Underwood, 1999).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra ultraviolet dan terlihat dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Disebabkan karena hal ini, maka serapan radiasi ultraviolet atau terlihat sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Panjang gelombang serapan adalah merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan. Pemisahan tenaga yang paling tinggi diperoleh bila elektron-elektron dalam ikatan  $\sigma$  tereksitasi yang menimbulkan serapan dalam daerah dari 120 hingga 200 nm. Daerah ini dikenal sebagai daerah ultraviolet vakum dan relatif tidak banyak memberikan keterangan. Diatas 200 nm eksitasi elektron dari orbital-orbital p, d dan orbital  $\pi$  terutama sistem terkonjugasi –  $\pi$  segera dapat diukur dan spektra

yang diperoleh memberikan banyak keterangan. Dalam praktik, spektrofotometri ultraviolet digunakan terbatas pada sistem-sistem terkonjugasi.

Meskipun demikian terdapat keuntungan yang selektif dari serapan ultraviolet, yaitu gugus-gugus karakteristik dapat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Sebagian besar dari molekul yang relatif kompleks mungkin transparan dalam ultraviolet sehingga kita mungkin memperoleh spektrum yang semacam dari molekul yang sederhana. Spektrum ultraviolet adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitan atau absorbansi).

### 3.8. Spektrofotometri UV – Derivatif

Secara teoritis senyawa fenol akan memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 270 nm, ini disebabkan oleh ikatan rangkap terkonjugasi pada ikatan cincin benzena yang dimilikinya. Serapan pada sampel senyawa aromatik terjadi oleh adanya transisi elektronik dari orbital molekul ikatan  $\pi$  menuju orbital molekul anti ikatan  $\pi^*$ .

Untuk spektra tunggal, derivatif pertama dari spektra adalah plot dan gradien dari absorpsi dan menunjukkan nilai panjang gelombang dan penampilan maksimum dan minimum. Jarak vertikal dari kedua batas disebut dengan amplitudo, yang nilainya berbanding lurus dengan konsentrasi analit. Spektra derivatif dapat diperoleh dengan memproses sinyal output dari spektrofotometri reguler yang memiliki desain optik khusus. Derferensial terhadap spektra akan membedakan serapan kasar dari

suatu sampel, sehingga dengan spektra derivatif sensitifitas akan lebih tinggi, fungsi yang didapatkan sebagai berikut :

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \epsilon}{d\lambda^n} bc$$

Secara teoritis, nilai dari  $\frac{dA}{d\lambda}$  adalah nol pada panjang gelombang maksimum

$\lambda_{\text{maks}}$ . Untuk campuran ( M ) yang terdiri dari spesies tak berinteraksi , misalnya A dan B, serapan atau absorbansi dapat dinyatakan sebagai :

$$A_M = A_A + A_B$$

Sehingga :

$$\frac{d^n A_M}{d\lambda^n} = \frac{d^n \epsilon_A}{d\lambda^n} bc_A + \frac{d^n \epsilon_B}{d\lambda^n} bc_B$$

Hal ini memungkinkan untuk mengukur nilai sesungguhnya dari derivatif untuk mengintrepetasi suatu spesies. Dalam analisis spektrofotometri secara umum, dapat digunakan metode analisis kuantitatif menggunakan kurva baku maupun standarisasi. Analisis sampel menggunakan kurva baku didasarkan pada kesesuaian respon absorbansi yang dihasilkan oleh larutan baku ( standar ) dan sampel.

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **4.1 Alat dan Bahan yang digunakan**

##### **4.1.1 Alat yang digunakan**

1. Spektrofotometri UV-Vis Merk Hitachi Varian U-2010 buatan Jepang.
2. Neraca analitik model Sartorius tipe Bp 410.
3. Gelas beker 50 mL
4. Labu ukur 500 mL
5. Pipet tetes
6. Gelas arloji
7. Pipet ukur 5 mL

##### **4.1.2 Bahan yang digunakan**

1. Sampel minuman instan dengan merek A, B dan C
2. Akuades buatan Laboratorium Kimia Lanjut FMIPA UII
3. Asam askorbat buatan Merck

#### **4.2 Preparasi sampel**

Sampel yang digunakan adalah minuman instan yang dilarutkan dalam akuades, sampel minuman ini mengandung vitamin C. Digunakan tiga jenis minuman instan yang masing masing memiliki kadar vitamin C yang berbeda beda, langkah pertama adalah menimbang sampel 1 gr kemudian dilarutkan dalam akuades sampai homogen. Sampel yang sudah dilarutkan akuades tersebut dicari nilai absorbansi menggunakan

spektrofotometer dengan masing- masing sampel dilakukan pengulangan tiga kali pengukuran nilai absorbansi. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk penentuan besarnya kandungan vitamin C.

### **4.3 Cara Penelitian**

#### **4.3.1 Penentuan kadar vitamin C dengan menggunakan metode spektrofotometri reguler**

- a. Penentuan nilai panjang gelombang maksimum larutan vitamin C diukur pada interval panjang gelombang 200 nm sampai 400 nm.
- b. Pembuatan kurva baku dari larutan standar, larutan vitamin C masing- masing pada variasi konsentrasi 1,0 ppm, 2,0 ppm, 3,0 ppm, 4,0 ppm, 5,0 ppm.
- c. Penentuan nilai absorbansi sampel.

#### **4.3.2 Penentuan kadar vitamin C dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif**

- a. Penentuan nilai panjang gelombang maksimum  
Spektra yang diperoleh dari penentuan nilai panjang gelombang pada metode reguler diderivatif<sup>1</sup> dengan menekan tombol d<sup>1</sup> dari spektra hasil ditentukan nilai panjang gelombang maksimum derivatif<sup>1</sup>
- b. Pembuatan kurva baku
- c. Penentuan absorbansi sampel.

#### 4.4 Analisis Data :

##### a. Tabel data kurva baku

**Tabel 1.** Tabel data kurva baku

Konsentrasi (ppm)	Spektrofotometri reguler	Spektrofotometri derivatif
1,0	Absorbansi 1	Absorbansi 1'
2,0	Absorbansi 2	Absorbansi 2'
3,0	Absorbansi 3	Absorbansi 3'
4,0	Absorbansi 4	Absorbansi 4'
5,0	Absorbansi 5	Absorbansi 5'

##### b. Persamaan spektrofotometri reguler.

Data dari tabel 1 diperoleh persamaan regresi linear untuk menentukan konsentrasi vitamin C pada sampel dengan menggunakan metode spektrofotometri reguler yaitu :

$$y = ax + b$$

##### c. Persamaan spektrofotometri derivatif diperoleh persamaan :

Hubungan linear antara konsentrasi standar dengan absorbansi pada metode derivatif didapatkan persamaan regresi linear, untuk menentukan kandungan vitamin C pada sampel dengan metode spektrofotometri derivatif yaitu :

$$y = a'x + b'$$

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

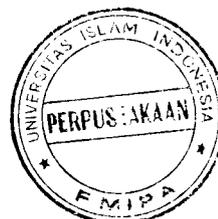
Pada penelitian ini ditentukan kadar vitamin C dalam minuman instan bermerk A, B dan C dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif. Secara teoritis asam askorbat atau vitamin C memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 265 nm, panjang gelombang tersebut berdasarkan kemampuan vitamin C yang terlarut dalam air untuk menyerap sinar ultraviolet, yang memiliki interval panjang gelombang 200nm sampai 400nm.

#### 5.1 Penyediaan Sampel

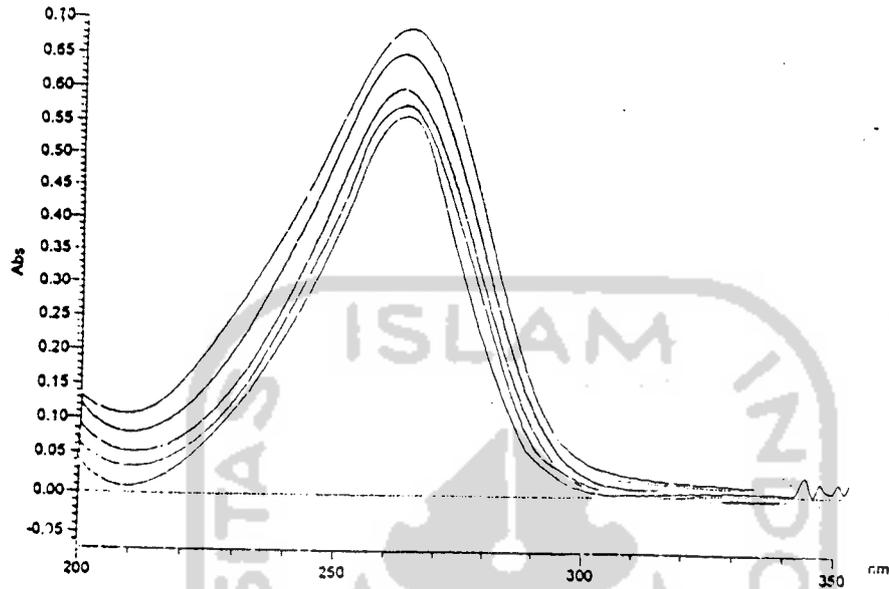
Bahan yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini adalah minuman instan bermerek A, B dan C. Tiap kemasan sampel mempunyai batas kadaluarsa yang relatif masih lama. Dipilihnya minuman ini karena mengandung kadar asam askorbat yang cukup tinggi dan banyak disukai oleh masyarakat khususnya bagi mereka yang membutuhkan banyak energi dalam aktivitasnya. Pada kemasan minuman instan tertera kadar vitamin C yang berbeda.

#### 5.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Reguler

Penentuan panjang gelombang maksimum vitamin C dengan metode spektrofotometri reguler dilakukan pada variasi konsentrasi. Larutan vitamin C pada konsentrasi 1,0 ppm, 2,0 ppm, 3,0 ppm, 4,0 ppm dan 5,0 ppm dicari nilai panjang



gelombang maksimumnya. Kurva panjang gelombang maksimum vitamin C dengan metode spektrofotometri reguler disajikan dalam gambar 3.



**Gambar 3** Kurva panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometri reguler

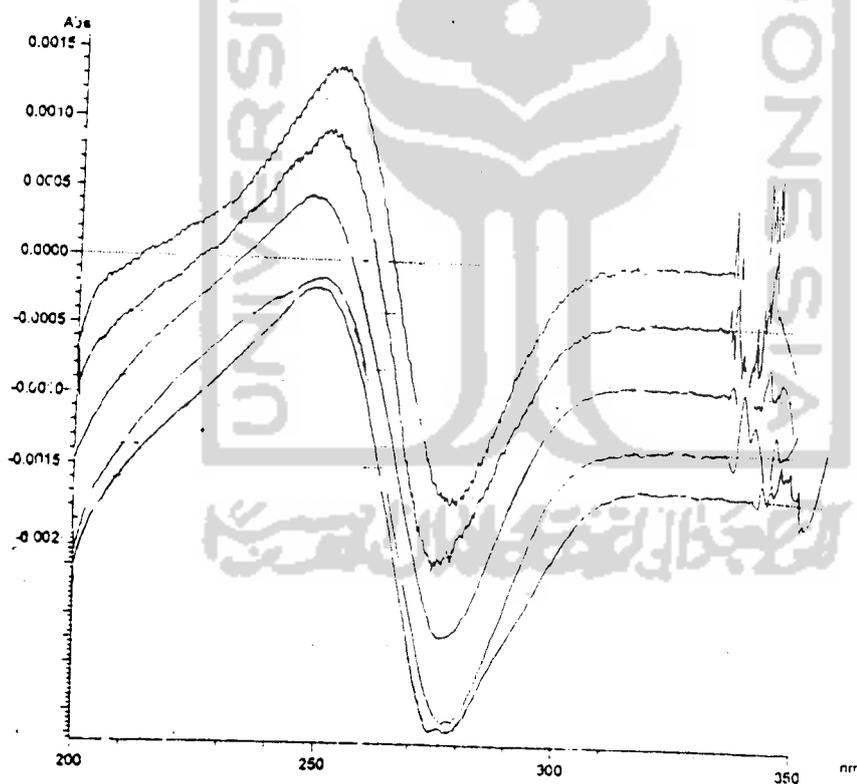
Berdasar pada gambar 3 terlihat bahwa setiap konsentrasi memberikan nilai panjang gelombang yang berbeda. Perbedaan ini disebabkan masih adanya gangguan penyerapan pada spektra panjang gelombang maksimum pada metode spektrofotometri reguler. Data selengkapnya mengenai panjang gelombang maksimum pada tiap-tiap konsentrasi dapat dilihat dalam tabel 2

**Tabel 2.** Data panjang gelombang maksimum metode spektrofotometri reguler

Konsentrasi (ppm)	$\lambda$ maks (nm)
1,0	265,0
2,0	264,6
3,0	263,8
4,0	263,2
5,0	264,2

### 5.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Vitamin C dengan Metode Spektrofotometri Derivatif

Penentuan nilai panjang gelombang maksimum dengan metode spektrofotometri derivatif diperoleh dari spektra penentuan panjang gelombang maksimum pada metode reguler yang diturunkan. Caranya dengan menekan tombol *d1* pada spektra yang diperoleh dari metode reguler, spektra yang dihasilkan adalah spektra panjang gelombang maksimum pada derivatif<sup>1</sup>. Spektra panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dari metode spektrofotometri derivatif dapat dilihat dalam gambar 4.



Gambar 4 Kurva panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometri derivatif

Dari spektra panjang gelombang maksimum dengan metode spektrofotometri derivatif diperoleh nilai panjang gelombang maksimum yang tetap yaitu pada 252,4 nm. Data selengkapnya mengenai nilai panjang gelombang maksimum dengan metode derivatif pada konsentrasi 1,0 ppm, 2,0 ppm, 3,0 ppm, 4,0 ppm dan 5,0 ppm dapat dilihat dalam tabel 3.

**Tabel 3.** Data panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometri derivatif

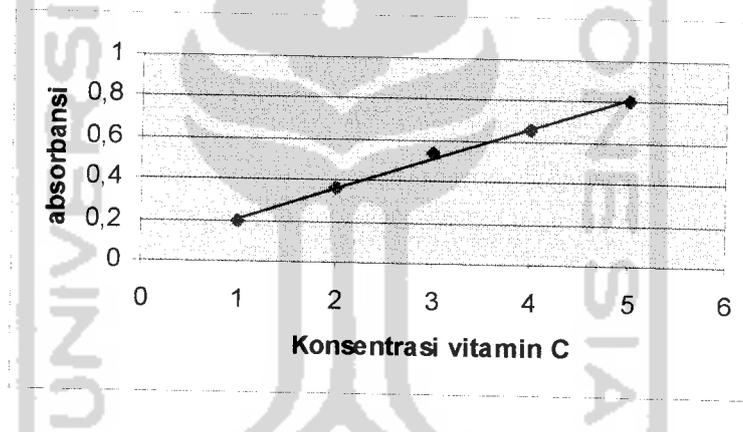
Konsentrasi (ppm)	$\lambda$ maks (nm)
1,0	252,4
2,0	252,4
3,0	252,4
4,0	252,4
5,0	252,4

Dari tabel terlihat bahwa nilai panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dalam metode derivatif menunjukkan nilai yang tetap. Pada variasi konsentrasi nilai panjang gelombang maksimum ini tidak mengalami perubahan. Kelebihan dari metode ini adalah sedikitnya gangguan pada penyerapan spektra, salah satu hal yang menunjukkan bahwa metode ini tidak lagi ada gangguan penyerapan adalah pada nilai panjang gelombang maksimum yang tetap, hal ini menunjukkan bahwa dalam penyerapan spektra panjang gelombang maksimum sudah tidak terjadi gangguan-gangguan penyerapan.

## 5.4 Pembuatan Kurva Baku Vitamin C dengan metode Spektrofotometri Reguler dan metode Spektrofotometri Derivatif

### 5.4.1 Pembuatan kurva baku dengan metode spektrofotometri reguler

Kurva baku dibuat dari hasil pengukuran absorbansi standar vitamin C dengan konsentrasi yang bervariasi. Pada pembuatan kurva baku vitamin C dengan metode reguler terlihat bahwa absorbansi vitamin C semakin meningkat pada konsentrasi yang semakin besar juga. Pembuatan kurva baku ini dimaksudkan untuk memperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ), nilai slope ( $b$ ) dan nilai intersep ( $a$ ). Kurva hubungan antara absorbansi dan konsentrasi satandar vitamin C dengan metode spektrofotometri reguler dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5** Kurva baku standar dengan metode reguler

Dari kurva kalibrasi diatas, diperoleh nilai absorbansi yang bervariasi. Nilai absorbansi semakin meningkat dengan naiknya harga konsentrasi. Data konsentrasi dan absorbansi selengkapnya dapat dilihat dalam tabel 4.

**Tabel 4.** Data absorbansi dan konsentrasi pada kurva baku dengan metode reguler

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1,0	0,192
2,0	0,365
3,0	0,543
4,0	0,656
5,0	0,806

Apabila dihitung nilai koefisien korelasinya, terlihat bahwa dalam daerah konsentrasi yang diamati terdapat hubungan yang jelas antara absorbansi dan konsentrasi larutan. Hal ini ditandai dengan hubungan grafik yang linear, dari kurva baku didapatkan persamaan regresi linear sebagai berikut :  $r = 0,9969$ ,  $a = 0,0567$ ,  $b = 0,1519$  sehingga :

$$y = 0,1519 x + 0,0567.$$

Dalam penelitian ini juga dilakukan perhitungan stastika terhadap regresi. Perhitungan ini meliputi penentuan nilai penyimpangan untuk slope (Sb) dan nilai penyimpangan untuk intersep (Sa). Nilai dari penyimpangan untuk slope (b) diperoleh dari persamaan :

$$S_b = \frac{\frac{S_y}{x}}{\left\{ \sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}}$$

Dari penentuan nilai Sb diperoleh nilai Sb untuk persamaan reguler adalah 0,0879. Apabila nilai Sb atau penyimpangan terhadap nilai b dibandingkan dengan nilai b pada metode reguler sebesar 0,1519, maka nilai slope (b) dapat digunakan dalam persamaan regresi linear. Nilai Sb yang masih kurang dari nilai b

menunjukkan bahwa nilai tersebut masih dalam daerah harga b, maka nilai b dapat digunakan dalam persamaan regresi linear tersebut. nilai b bisa dianggap signifikan dalam persamaan regresi linear. Selain nilai Sb juga ditentukan nilai Sa.

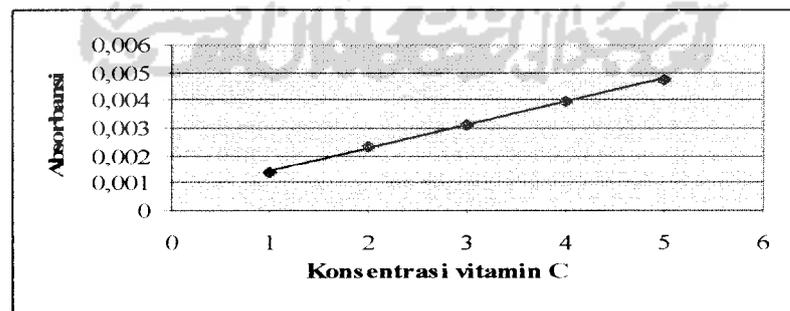
Nilai penyimpangan untuk intersep (a) diperoleh dari persamaan ;

$$S_a = \frac{S_y}{x} \left\{ \frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

Dari penentuan nilai Sa diperoleh 0,291, nilai Sa yang lebih besar dari nilai intersep (a), menunjukkan bahwa nilai intersep (a) pada persamaan regresi linear tidak signifikan apabila dimasukkan kedalam persamaan  $y = bx + a$ . Maka persamaan yang digunakan untuk perhitungan kadar adalah  $y = 0,1519 x$ .

#### 5.4.2 Pembuatan kurva baku dengan metode spektrofotometri derivatif

Pada pembuatan kurva baku dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif, diukur juga nilai absorbansi pada variasi konsentrasi yang sama dengan metode reguler. Kurva yang diperoleh dari absorbansi dan konsentrasi dengan metode derivatif dapat dilihat dalam gambar 6.



**Gambar 6** Kurva baku standar dengan metode derivatif

Dari kurva baku diatas dapat dilihat bahwa nilai absorbansi berbanding lurus dengan nilai konsentrasi, data selengkapnya mengenai nilai absorbansi disajikan dalam tabel 5

**Tabel 5.** Data absorbansi dan konsentrasi kurva baku dengan metode derivatif

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1,0	$1,40 \times 10^{-3}$
2,0	$2,35 \times 10^{-3}$
3,0	$3,10 \times 10^{-3}$
4,0	$3,97 \times 10^{-3}$
5,0	$4,76 \times 10^{-3}$

Dari kurva baku diatas dapat diperoleh nilai  $r = 0,99941$ ,  $a = 6,41 \times 10^{-4}$ . dan nilai  $b = 8,34 \cdot 10^{-4}$  Sehingga :  $y = 8,34 \cdot 10^{-4} x + 6,41 \cdot 10^{-4}$ . Pada metode derivatif juga ditentukan nilai penyimpangan untuk slope ( $S_a$ ) dan intersep ( $S_b$ ), perhitungan ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah nilai slope dan nilai intersep signifikan apabila dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear. Setelah ditentukan nilai  $S_a$  dan  $S_b$  diperoleh nilai  $S_a$  sebesar 0,00160 dan nilai  $S_b$  sebesar 0,000484. Dari nilai yang diperoleh untuk  $S_a$  dan  $S_b$  maka, nilai  $S_b$  dapat dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear karena nilai  $S_b$  masih lebih kecil dari pada nilai  $b$ , namun untuk nilai  $S_a$  tidak signifikan apabila dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear, karena nilai  $S_a$  yang lebih besar dari nilai  $a$ . Persamaan yang diperoleh untuk penentuan kadar adalah  $y = 8,34 \cdot 10^{-4} x$ .

Apabila dilihat dari harga koefisien korelasinya ( $R^2$ ), terlihat bahwa dalam daerah konsentrasi yang diamati terdapat hubungan yang jelas antara absorbansi

dengan konsentrasi larutan. Dengan adanya hubungan yang linier ini maka dilakukan analisis pada daerah tersebut untuk menentukan kadar asam askorbat dalam sampel. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) menunjukkan ketelitian dari metode dengan menggunakan persamaan regresi linear, nilai linearitas dikatakan baik apabila nilai  $r$  tersebut mendekati 1 atau sama dengan 1. Untuk persamaan pada metode reguler diperoleh nilai  $r$  sebesar 0,9969 dan untuk persamaan pada metode derivatif diperoleh nilai  $r$  sebesar 0,99941. Dari nilai  $r$  yang diperoleh pada masing-masing metode terlihat bahwa persamaan pada metode derivatif lebih bagus bila dibandingkan dengan persamaan pada metode reguler.

#### **5.4.3 Penentuan harga Limit Deteksi**

Penelitian ini dilakukan dua jenis metode yaitu metode reguler dan metode derivatif, karena penelitian ini bersifat perbandingan maka diperlukan limit deteksi untuk membandingkan nilai kebenaran dari kedua metode tersebut. Untuk mendapatkan limit deteksi dari setiap metode diperlukan persamaan :  $y_B = 3s_b$ . Nilai limit deteksi untuk persamaan reguler adalah 0,264, sedangkan untuk persamaan derivatif sebesar  $1,45 \times 10^{-3}$ . Dari nilai limit deteksi yang diperoleh dari kedua persamaan menunjukkan bahwa nilai limit deteksi untuk persamaan derivatif lebih kecil, ini menunjukkan bahwa persamaan derivatif lebih teliti. Dari perhitungan statistik, yaitu penentuan nilai penyimpangan pada slope ( $S_b$ ) dan penyimpangan pada intersep ( $S_a$ ), dapat dibandingkan secara jelas pada tabel 6.

**Tabel 6.** Data nilai Sa dan Sb

Metode	R (Linearitas)	Slope (b)	Sb	Intersep (a)	Sa
Reguler	0,9969	0,1519	0,0879	0,0567	0,2910
Derivatif	0,9994	0,0008	0,0005	0,0006	0,0016

### 5.5 Penentuan Konsentrasi Sampel

Penentuan jumlah kadar vitamin C dalam minuman instan dengan metode spektrofotometri reguler dan derivatif langkah pertama adalah penentuan absorbansi pada masing – masing sampel ( sampel A, B dan C ). Hasil pembacaan absorbansi pada masing-masing sampel digunakan untuk menghitung kadar dalam sampel menggunakan persamaan :  $y = 0,1519 x$  untuk perhitungan kadar dengan metode reguler dan  $y = 8,34 \cdot 10^{-4} x$  untuk metode derivatif. Data selengkapnya mengenai perbandingan hasil pengukuran kadar vitamin C pada minuman instan dapat dilihat dalam tabel 7.

**Tabel 7.** Perbandingan hasil pengukuran kadar pada kedua metode

Sampel	Reguler			Sampel	Derivatif		
	Abs	C	Konsentrasi (ppm)		Abs	C	Konsentrasi (ppm)
A	0,240	1,579	1,593±0,023	A	0,00014	0,168	0,164±0,014
	0,243	1,599			0,00014	0,156	
	0,243	1,599			0,00013	0,528	
B	0,183	1,205	1,207±0,008	B	0,00044	0,528	0,528±0,000
	0,184	1,211			0,00044	0,528	
	0,183	1,203			0,00044	0,528	
C	0,269	1,771	1,773±0,007	C	0,00013	0,156	0,156±0,000
	0,269	1,771			0,00013	0,156	
	0,270	1,777			0,00013	0,156	

Suatu analisis dikatakan memiliki tingkat ketelitian baik bukan hanya menghasilkan nilai konsentrasi yang besar. Standar deviasi merupakan salah satu kriteria yang menunjukkan tingkat keberhasilan dalam suatu analisis, nilai standar deviasi sempurna apabila diperoleh nilai sebesar nol. Pada nilai absorbansi yang diperoleh terlihat bahwa suatu analisis dikatakan sempurna apabila nilai absorbansi yang didapatkan selalu tetap pada tiap-tiap pengulangan pengukuran, hal ini terlihat bahwa tidak ada gangguan pada penyerapan spektra absorbansi. Pada penelitian ini penentuan konsentrasi sampel juga menggunakan standar deviasi, hal ini dimaksudkan untuk menguji tingkat ketelitian dalam analisis. Masing-masing sampel dihitung nilai standar deviasi dari perolehan nilai konsentrasi pada tiap absorbansi, nilai konsentrasi dituliskan sebagai :  $\bar{x} \pm t \frac{SD}{\sqrt{3}}$

Dari penentuan konsentrasi tiap-tiap sampel diperoleh nilai konsentrasi menggunakan metode reguler sebagai berikut :

$$\text{Sampel A} = 1,593 \pm 0,023 \text{ ppm.}$$

$$\text{Sampel B} = 1,207 \pm 0,008 \text{ ppm.}$$

$$\text{Sampel C} = 1,773 \pm 0,007 \text{ ppm.}$$

Dengan menggunakan metode derivatif diperoleh nilai konsentrasi sebagai berikut :

$$\text{Sampel A} = 0,164 \pm 0,014 \text{ ppm.}$$

$$\text{Sampel B} = 0,528 \pm 0,000 \text{ ppm.}$$

$$\text{Sampel C} = 0,156 \pm 0,000 \text{ ppm.}$$

Dari hasil penentuan kandungan vitamin C dengan metode derivatif dan reguler dapat ditentukan tingkat selektifitas dari kedua metode tersebut. Hasil yang didapatkan pada metode derivatif lebih baik dari hasil penentuan kandungan dengan menggunakan metode reguler. Pada hasil penentuan kandungan vitamin C dengan metode derivatif terlihat bahwa nilai standar deviasi yang diperoleh lebih baik apabila dibandingkan dengan metode reguler. Nilai simpangan baku yang baik apabila nilai simpangan bakunya nol, hal ini menunjukkan bahwa dalam suatu metode menunjukkan tingkat selektifitas yang tinggi karena tidak memiliki simpangan baku yang besar walaupun telah dilakukan pengulangan. Pada penentuan kandungan vitamin C dengan metode derivatif diperoleh nilai standar deviasi yang lebih kecil dibandingkan dengan metode reguler, nilai standar deviasi metode derivatif pada sampel B dan sampel C menunjukkan nilai yang sempurna yaitu nol.

Berdasarkan penentuan nilai limit deteksi menunjukkan bahwa metode spektrofotometri derivatif menunjukkan tingkat sensitifitas yang lebih tinggi. Limit deteksi adalah satuan konsentrasi terkecil yang dapat di deteksi oleh suatu alat atau metode, semakin kecil nilai limit deteksi maka akan semakin teliti alat atau metode tersebut. Pada penentuan nilai limit deteksi diperoleh nilai limit deteksi metode derivatif lebih kecil apabila dibandingkan dengan metode reguler, hal ini menunjukkan bahwa metode derivatif lebih teliti apabila dibandingkan dengan metode reguler.

### 5.5 Pengujian Recovery

Untuk memastikan keberhasilan metode diperlukan suatu pengujian recovery, pengujian recovery dimaksudkan untuk menentukan prosentase keberhasilan dari suatu analisis. Pada penelitian ini digunakan dua metode, maka untuk membuktikan prosentase keberhasilan dilakukan uji recovery pada masing-masing metode. Nilai prosentase yang ditunjukkan pada kedua metode menunjukkan perbedaan, apabila prosentase yang ditunjukkan mendekati seratus persen maka metode tersebut sempurna. Data selengkapnya mengenai hasil penentuan recovery dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8.** Data Recovery

<b>Pengukuran</b>	<b>Absorbansi Reguler</b>	<b>Absorbansi Derivatif</b>
Standar (0,5 ppm)	0,101	0,00019
Sampel	0,091	0,00006
Standar & Sampel	0,182	0,00025
Recovery	88,98 %	94,34 %

Dari hasil penentuan recovery, metode spektrofotometri derivatif lebih baik apabila dibandingkan metode spektrofotometri reguler. Nilai prosentase Recovery metode spektrofotometri derivatif lebih besar apabila dibandingkan dengan Recovery metode spektrofotometri reguler, maka tingkat keberhasilan metode derivatif lebih tinggi apabila dibandingkan dengan metode reguler.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Dari hasil pengamatan dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Metode spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk penentuan kandungan vitamin C dalam minuman instan.
2. Kandungan vitamin C dalam minuman instan dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif diperoleh berturut-turut sebagai berikut :  
Sampel A =  $0,164 \pm 0,014$  ppm.  
Sampel B =  $0,528 \pm 0,000$  ppm.  
Sampel C =  $0,156 \pm 0,000$  ppm.
3. Kandungan vitamin C dalam minuman instan dengan menggunakan metode spektrofotometri reguler diperoleh berturut-turut sebagai berikut :  
Sampel A =  $1,593 \pm 0,023$  ppm.  
Sampel B =  $1,207 \pm 0,008$  ppm.  
Sampel C =  $1,773 \pm 0,007$  ppm.
4. Pengujian Recovery reguler = 88,98 %  
Pengujian Recovery derivatif = 94,34 %

#### 6.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut guna penentuan vitamin C dalam minuman instan dengan metode derivatif dengan memperhatikan faktor pelarut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., dan Koswara, S., 1992, *Kimia vitamin*, edisi 1, 24-40. Rajawali pers, Jakarta.
- Aydogmus, Z., dan Cetin, S. M., 2001, *Determination of Ascorbic Acid in Vegetables by Derivative Spectrophotometry*, Turk J Chem, Vo.26, 697-702. Istanbul University, Istanbul.
- Berasturi, F., Jimens, A. I., Arias, J. J., 2001, *UV-Visible First Derivative Spectrophotometry Applied to Analysis of a Vitamin Mixture*, J. Chem. Ed., Vol 78., 793-795.
- Demam, J. M., 1997, *Kimia Makanan*, edisi kedua, 408-414. ITB, Bandung.
- Fatimah, I., 2003, *Analisis Fenol dalam Sampel Air Menggunakan Spektrofotometri Derivatif*, edisi kesepuluh, 23-25. jurnal Logika, Lembaga Penelitian UII, Jogjakarta.
- Khopkar, S. M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI press, Jakarta.
- Minarsih, R., 2004, *Menentukan dan Membandingkan Kadar Vitamin C ( Asam Askorbat ) pada Cabe Merah ( Capsicum Annum L ) dengan Cabe Rawit ( Capsicum Trutecens ) Sebelum dan Sesudah Pengeringan Menggunakan Metode Titrasi Iodin*, Skripsi, UII, Jogjakarta.
- Miller, J.C., 1991, *Statistik untuk Kimia Analitik*, edisi 2, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sastromidjojo, H., 1991, *Spektroskopi* edisi 2, 11-15. Liberty, Jogjakarta.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi., 1997, *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Edisi 4, Liberty, Jogjakarta.
- Underwood, A. L., 1998, *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi 4, 390-397. Erlangga, Jakarta
- Wuryaningsih, 1996, *Pengaruh Waktu Penyimpanan pada Suhu Rendah Terhadap Kandungan Vitamin C pada Buah Cabe Merah ( Capsicum Annum L )*, Naskah Seminar, UGM, Jogjakarta.

### Lampiran 1.

Perhitungan nilai  $S_a$ ,  $S_b$  dan limit deteksi pada persamaan reguler :

### Lampiran 2.

Data penentuan harga  $S_a$  (penyimpangan intersep) pada metode reguler

$x$	$y$	$y_i - \bar{y}_i$	$(y_i - \bar{y}_i)^2$
1	0,192	-0,3204	0,1026
2	0,365	-0,1474	0,0217
3	0,543	0,0306	0,0009
4	0,656	0,1436	0,0206
5	0,806	0,2936	0,0862
			$\sum_i 0,2320$

$$\frac{S_y}{x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \bar{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

$$\frac{S_y}{x} = 0,2780$$

### Lampiran 3.

Data penentuan harga  $S_b$  (penyimpangan slope) pada metode reguler

$x$	$x_i - \bar{x}_i$	$(x_i - \bar{x}_i)^2$	$x^2$
1	-2	4	1
2	-1	1	4
3	0	0	9
4	1	1	16
5	2	4	25
		$\sum_i = 10$	$\sum_i = 55$

Penentuan nilai Sa :

$$Sa = \frac{Sy}{x} \left\{ \frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

$$Sa = 0,291$$

Penentuan nilai Sb :

$$Sb = \frac{Sy}{x} \left\{ \sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}$$

$$Sb = 0,0879$$

$$\begin{aligned} \text{Limit deteksi} &= 3 \times Sb \\ &= 0,264 \end{aligned}$$

#### Lampiran 4.

Perhitungan nilai Sa, Sb dan limit deteksi pada persamaan derivatif :

#### Lampiran 5.

Data penentuan harga Sa (penyimpangan intersep) pada metode derivatif

x	y	$y_i - \bar{y}_i$	$(y_i - \bar{y}_i)^2$
1	0,00140	-0,00172	$2,96 \times 10^{-6}$
2	0,00235	-0,00077	$5,90 \times 10^{-7}$
3	0,00310	-0,00002	$4,00 \times 10^{-10}$
4	0,00397	0,00085	$7,23 \times 10^{-7}$
5	0,00479	0,00167	$2,78 \times 10^{-6}$
		$\sum_i$	$7,06 \times 10^{-6}$

$$\frac{S_y}{x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \bar{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

$$\frac{S_y}{x} = 0,00153$$

### Lampiran 6.

Data penentuan harga Sb (penyimpangan slope) pada metode derivatif

x	$x_i - \bar{x}_i$	$(x_i - \bar{x}_i)^2$	$x^2$
1	-2	4	1
2	-1	1	4
3	0	0	9
4	1	1	16
5	2	4	25
		$\sum_i = 10$	$\sum_i = 55$

$$S_b = \frac{S_y}{x} \left\{ \sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}$$

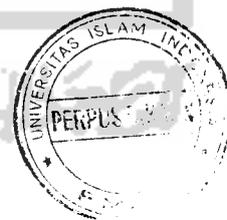
$$S_b = 0,000484$$

$$S_a = \frac{S_y}{x} \left\{ \frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

$$S_a = 0,00160$$

$$\text{Limit deteksi} = 3 \times S_b$$

$$= 0,00145$$



### Lampiran 7.

Penentuan kadar dengan metode spektrofotometri reguler

### Lampiran 8.

Data absorbansi sampel dengan metode reguler

Sampel	Absorbansi
A	0,240
	0,243
	0,243
B	0,183
	0,184
	0,138
C	0,269
	0,269
	0,270

Dari harga absorbansi yang diperoleh dapat ditentukan kadar sampel dengan persamaan :  $y = 0,1519 x$

Diperoleh harga konsentrasi pada masing-masing absorbansi pada lampiran 9

### Lampiran 9.

Konsentrasi sampel dengan metode reguler

Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Konstrasi rata-rata (ppm)
0,240	1,579	1,593
0,243	1,599	
0,243	1,599	
0,183	1,205	1,207
0,184	1,211	
0,138	1,203	
0,269	1,771	1,773
0,269	1,771	
0,270	1,777	

Penentuan harga konsentrasi dengan metode spektrofotometri reguler

menggunakan persamaan :

$$\bar{x} \pm t \frac{SD}{\sqrt{3}}$$

$\bar{x}$  = Konsentrasi rata rata

$t(n-1)$  = 4,3

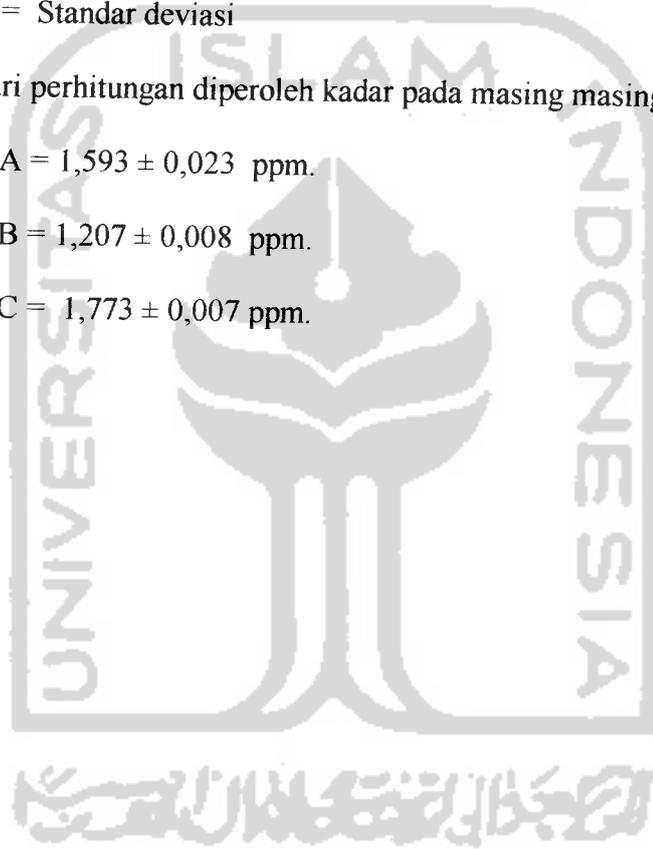
SD = Standar deviasi

Hasil dari perhitungan diperoleh kadar pada masing masing sampel sebesar :

Sampel A =  $1,593 \pm 0,023$  ppm.

Sampel B =  $1,207 \pm 0,008$  ppm.

Sampel C =  $1,773 \pm 0,007$  ppm.



**Lampiran 10.**

Penentuan kadar dengan metode spektrofotometri derivatif.

**Lampiran 11.**

Data absorbansi sampel dengan metode derivatif

Sampel	Absorbansi
A	0,240
	0,243
	0,243
B	0,183
	0,184
	0,138
C	0,269
	0,269
	0,270

Dari harga absorbansi yang diperoleh dapat ditentukan kadar sampel dengan persamaan :  $y = 8,34 \cdot 10^{-4} x$

Maka diperoleh harga konsentrasi pada masing-masing absorbansi pada lampiran 12.

**Lampiran 12.**

Konsentrasi sampel dengan metode derivatif

Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Konstrasi rata-rata (ppm)
0,00014	0,168	0,164
0,00014	0,168	
0,00013	0,156	
0,00044	0,528	0,528
0,00044	0,528	
0,00044	0,528	
0,00013	0,156	0,156
0,00013	0,156	
0,00013	0,156	

Penentuan harga konsentrasi dengan metode spektrofotometri deivatif menggunakan persamaan :

$$\bar{x} \pm t \frac{SD}{\sqrt{3}}$$

$\bar{x}$  = Konsentrasi rata rata

t (n-1) = 4,3

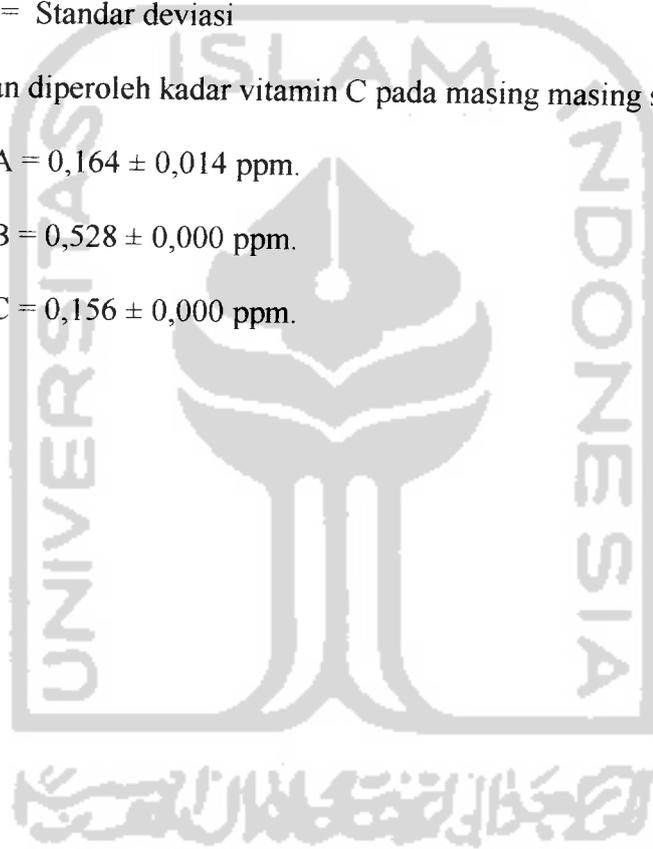
SD = Standar deviasi

Hasil perhitungan diperoleh kadar vitamin C pada masing masing sampel sebesar :

Sampel A = 0,164 ± 0,014 ppm.

Sampel B = 0,528 ± 0,000 ppm.

Sampel C = 0,156 ± 0,000 ppm.



### Lampiran 13.

Perhitungan Recovery

1. Metode Reguler :

$$\begin{aligned} \text{Recovery} &= \frac{(\text{Konsentrasi Standar + Sampel}) - \text{Konsentrasi Standar}}{\text{Konsentrasi Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{1,198 - 0,665}{0,599} \times 100\% \\ &= 88,98\% \end{aligned}$$

2. Metode Derivatif :

$$\begin{aligned} \text{Recovery} &= \frac{(\text{Konsentrasi Standar + Sampel}) - \text{Konsentrasi Standar}}{\text{Konsentrasi Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29976 - 0,23189}{0,07194} \times 100\% \\ &= 94,34\% \end{aligned}$$

