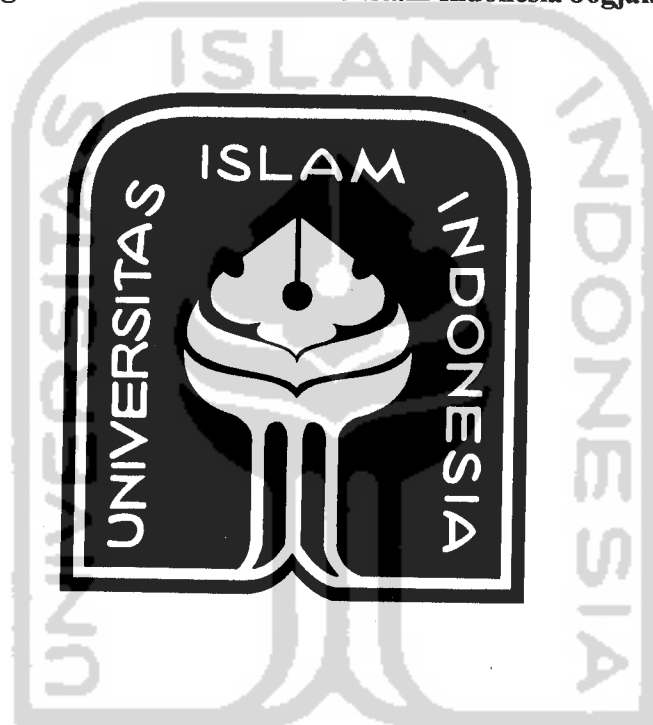


**PENENTUAN KADAR VITAMIN C DALAM MINUMAN  
SARI BUAH JERUK KEMASAN MENGGUNAKAN  
METODE SPEKTRIFOTOMETRI DAN TITRIMETRI  
DENGAN PEREAKSI 2,6-DIKLOROFENOLINDOFENOL**

**SKRIPSI**

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



**Disusun oleh :**

**RITA MINARSIH**

**No. Mhs : 99 612 070**

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

**PENENTUAN KADAR VITAMIN C DALAM MINUMAN  
SARI BUAH JERUK KEMASAN MENGGUNAKAN  
METODE SPEKTROFOTOMETRI DAN TITRIMETRI  
DENGAN PEREAKSI 2,6-DIKLOROFENOLINDOFENOL**

Oleh :

**RITA MINARSIH**  
**No. Mhs : 99 612 070**

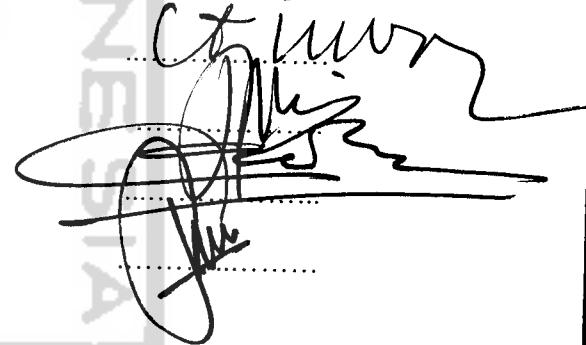
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 1 maret 2004

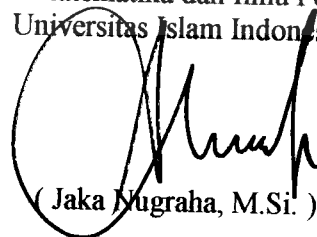
Penguji :

1. Dr. Chairil Anwar
2. Dwiwarso Rubiyanto S.Si
3. Drs. Allwar, M.Sc.
4. Rudy Syahputra M.Si

Tanda tangan



Mengetahui,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia



( Jaka Nugraha, M.Si. )

*“Sungguh bersama kesukaran pasti ada kemudahan,*

*Dan bersama kesukaran pasti ada kemudahan,*

*Karena itu bila selesai suatu tugas, mulailah tugas yang lain dengan sungguh-sungguh.....*

*Hanya kepada Tuhan-mu hendaknya kau berharap.....*

*( QS. As-Syari : 5-8 )*

Hanya bila kita benar-benar sadar dan mengerti

bahwa waktu kita di dunia terbatas.....

dan bahwa kita tak punya cara untuk mengetahui kapan waktu kita habis,

kita akan menghayati setiap hari dengan sepenuh-penuhnya, seolah-olah

hidup kita hanya tinggal sehari itu.

*( Elisabeth Kubler-Ross )*

*Kupersembahkan untuk  
orang-orang tercinta dalam hidupku*

*Bapak (alm.) & Mama'*

*Mba' Ik & Mas Men, Yu' Eni & Mas Heri, Yu' Umi, Yu' Ida,*

*Mas Andi & Mba' Devi, Mba' Culis & Mas Rahmat*

*Bidadari-bidadara kecilku....., Uti, De2k Karis & De2k Amin*

*Sahabat sejatiku kelak,.....*

Dengan kerendahan dan ketulusan hati ku-ucapkan terimakasih buat saudara2 dan teman2-ku yang bersedia menemani, membantu dan menghiburku hingga sampai ke pintu ini.....

- Keluarga besarku di Lampung, makasih buat segalanya.....
- Pak de & Bu de Kutoarjo, makasih ya de udah ngebolehin jadi tempat pulkam sejenak,
- Mas Suhar & Mbak Nani, Cuma mas n mbak kakakku yang ada di Jogja yang udah baik banget bagi2 pengalaman n hobi mbontoti aku kalo maen k sana "I like it", makasih banget....
- Abangku, makasih ya bang udah sabar banget ngebantuin aku dalam banyak hal, menghibur, tempat curhat sekaligus temen berantem dan suka nganterin aku ampe rela bolos kuliah walaupun itu emang salah satu hobimu.....
- Sobat karibku Nia, temen seperjuanganku kaya' Sri, Rini, Pi2t, Ute, Boim "Printer" dll, thanx ya semangatnya, candanya, nasehat, ceritanya n gosipnya..... "They are my best friend"
- GH Club : Jaiant, Suneo, Kenji, Sisimaru, Doraemon, Aroh, Gober, Si ndut Sesi, Inza manis, Aunun, Lifi, Wien, poor n Anita, "We are Family"
- Batalyon 8, Walaupun kalian jahat tapi kalian udah ngasih begitu banyak pengalaman berharga "Repling, Survival, Mountenering dll, Pingin lagi....."
- Chemist' 99 n Almamaterku, Semoga berarti di antara berjuta arti lainnya.
- Belalang tempurku, thanx ya....I always with U.
- Jogja, thanx udah jadi tempat hidupku n saksi bisu selama 4,5 tahun terakhir ini.

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum, Wr. Wb.,*

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “ **PENENTUAN KADAR VITAMIN C DALAM MINUMAN SARI BUAH JERUK KEMASAN MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI DAN TITRIMETRI DENGAN PEREAKSI 2,6-DIKLOROFENOLINDOFENOL**”.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian syarat mencapai derajat sarjana sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Selama penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan dan masukan dari berbagai pihak. Pada kesempatan penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Jaka Nugraha M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
2. Bapak Dr. Chairil Anwar, selaku dosen pembimbing 1, yang telah banyak memberikan bimbingan, kritik dan saran hingga terselesainya skripsi ini.
3. Bapak Dwiwarso Rubiyanto S.Si. selaku dosen pembimbing II atas masukan dan saran demi sempurnanya skripsi ini.
4. Bapak Riyanto M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia.



5. Seluruh Dosen Jurusan Kimia F-MIPA, atas wawasan dan ilmu pengetahuan yang telah diberikan.
6. Seluruh staf laboratorium kimia beserta operator spektrofotometri khususnya kepada pak Eko yang telah banyak membantu dalam penelitian hingga selesainya skripsi ini.
7. Seluruh Staf Pengajaran F-MIPA atas pelayanan administrasi dan birokrasi hingga terselesainya skripsi ini.
8. Teman-teman kimia khususnya angkatan '99 atas kerjasama dan dukungannya.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahannya, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk perbaikan demi sempurnanya skripsi ini. Akhirnya semoga dengan segala kekurangan skripsi ini, masih dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada dan bagi semua pihak yang membutuhkan.

*Wassalamualaikum Wr. Wb.*

Jogjakarta, Maret 2004

Penyusun

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>Halaman judul</b> .....	i
<b>Halaman pengesahan</b> .....	ii
<b>Halaman persembahan</b> .....	iii
<b>Kata pengantar</b> .....	v
<b>Daftar isi</b> .....	vii
<b>Daftar gambar</b> .....	x
<b>Daftar tabel</b> .....	xi
<b>Daftar lampiran</b> .....	xii
<b>Intisari</b> .....	xiii
<b>Abstract</b> .....	xiv
<b>BAB I Pendahuluan</b>	
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	2
1.3 Tujuan penelitian.....	3
1.4 Manfaat penelitian.....	3
<b>BAB II Tinjauan pustaka</b>	
2.1 Sumber vitamin C.....	4
2.2 Tata nama vitamin C.....	5
2.3 Sifat kimia vitamin C.....	6

2.4 Sifat fisika vitamin C.....	10
2.5 Fungsi dan kebutuhan vitamin C.....	10
2.6 Stabilitas.....	11
2.7 Pengolahan vitamin C.....	12
2.8 Analisis vitamin C pada bahan pangan.....	13
2.9 Spektrofotometri UV-Vis.....	14
2.10 Serapan oleh senyawa.....	16
2.11 Analisis kuantitatif dengan serapan radiasi elektromagnetik.....	17
2.12 Hukum-hukum kuantitatif.....	17
2.13 Titrasi dengan 2,6-diklorofenolindofenol.....	20
<b>BAB III Dasar teori</b>	
3.1 Vitamin C.....	21
3.2 Hipotesis.....	22
<b>BAB IV Metodologi penelitian</b>	
4.1 Alat dan bahan.....	23
4.2 Cara kerja.....	23
4.2.1 Metode Spektrofotometri.....	23
4.2.2 Metode Titrimetri.....	26
4.3 Analisis hasil.....	27
<b>BAB V Hasil penelitian dan pembahasan</b>	
5.1 Penyediaan sampel.....	29
5.2 Metode Spektrofotometri.....	29
5.2.1 Penentuan panjang gelombang maksimum.....	29



5.2.2 Waktu kestabilan reaksi vitamin C - 2,6-diklorofenolindofenol.....	30
5.2.3 Pembuatan kurva baku vitamin C.....	31
5.2.4 Penetapan kadar vitamin C dalam sampel.....	33
5.2.5 Uji limit deteksi untuk parameter Spektrofotometri UV-Vis.....	34
5.2.6 Ketelitian.....	34
5.2.7 Ketepatan.....	35
5.3 Metode Titrimetri .....	35
5.3.1 Pengukuran kadar vitamin C dalam sampel.....	35
5.3.2 Ketelitian .....	36
5.3.3 Ketepatan .....	37
5.4 Perbandingan hasil dari metode Spektrofotometri UV-Vis dengan Titrimetri .....	37
<b>BAB VI Kesimpulan</b> .....	39
<b>Daftar Pustaka</b> .....	40
<b>Lampiran</b> .....	42

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur vitamin C .....	5
Gambar 2. Isomer optis aktif vitamin C .....	7
Gambar 3. Reaksi oksidasi vitamin C .....	8
Gambar 4. Reaksi reversibel vitamin C .....	8
Gambar 5. Reaksi oksidasi vitamin C oleh iodin .....	14
Gambar 6. Diagram Spektrofotometer UV-Vis .....	15
Gambar 7. Reaksi oksidasi vitamin C oleh 2,6-diklorofenolindofenol .....	20
Gambar 8. Kurva $\lambda$ serapan maksimum vitamin C .....	30
Gambar 9. Waktu kestabilan vitamin C menggunakan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol .....	31
Gambar 10. Kurva baku vitamin C pada $\lambda$ 514,5 nm .....	32
Gambar 11. Histogram perbandingan kadar vitamin C (mg/100mL) menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis .....	33
Gambar 12. Histogram perbandingan kadar vitamin C (mg/100mL) menggunakan metode Titrimetri .....	36
Gambar 13. Histogram perbandingan kadar vitamin C (mg/100mL) antara metode Spektrofotometri UV-Vis dengan Titrimetri .....	37

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kandungan vitamin C pada beberapa makanan .....	4
Tabel 2. Sifat fisika vitamin C .....	10
Tabel 3. Kebutuhan vitamin C setiap hari .....	11
Tabel 4. Hasil penentuan kadar vitamin C pada buah tomat segar .....	14
Tabel 5. Persiapan larutan untuk kurva baku .....	24
Tabel 6. Uji statistik perbandingan ketelitian dan ketepatan metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimetri .....	38
Tabel 7. Data absorbansi sampel 1 .....	45
Tabel 8. Data absorbansi sampel 2 .....	46
Tabel 9. Data absorbansi sampel 3 .....	46
Tabel 10. Uji data statistik untuk parameter Limit deteksi .....	50
Tabel 11. Uji data statistik untuk ketelitian menggunakan Spektrofotometri UV- Vis .....	51
Tabel 12. Uji data statistik untuk ketelitian menggunakan Titrimetri .....	53



## DAFTAR LAMPIRAN

---

	Halaman
Lampiran 1. Pembuatan larutan.....	42
Lampiran 2. Perhitungan konsentrasi vitamin C dalam sampel.....	45
Lampiran 3. Uji data statistik untuk metode Spektrofotometri UV-Vis.....	50
Lampiran 4. Uji data statistik untuk metode Titrimetri .....	53



**PENENTUAN KADAR VITAMIN C DALAM MINUMAN  
SARI BUAH JERUK KEMASAN MENGGUNAKAN  
METODE SPEKTROFOTOMETRI DAN TITRIMETRI  
DENGAN PEREAKSI 2,6-DIKLOROFENOLINDOFENOL**

---

**INTISARI**

Rita Minarsih  
99 612 070

Telah dilakukan penelitian mengenai penentuan kadar vitamin C dalam minuman sari buah jeruk kemasan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan titrimetri dengan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar vitamin C dalam sampel dan bagaimana ketelitian dan ketepatan hasil yang didapatkan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimetri.

Hasil penelitian secara Spektrofotometri UV-Vis didapatkan kadar vitamin C dalam sampel 1,2 dan 3 berturut-turut adalah 36,5 mg/100mL; 42,0 mg/100mL dan 49,0 mg/100mL. Penentuan kadar vitamin C dengan metode ini memberikan hasil ketelitian dan ketepatan yang baik dengan koefisien variansi 0,656 % dan limit deteksi sebesar 0,8366 mg/mL.

Hasil penelitian secara Titrimetri didapatkan kadar vitamin C dalam sampel 1,2 dan 3 masing-masing adalah 35,8 mg/100mL; 34,8 mg/100mL dan 47,7 mg/100mL. Penentuan kadar vitamin C dengan metode ini juga memberikan hasil ketelitian dan ketepatan yang baik dengan koefisien variansi 0,0036 %.

Kata kunci : Vitamin C, Spektrofotometri UV-Vis, Titrimetri, minuman sari buah jeruk kemasan.

# **DETERMINATION OF ASCORBIC ACID CONTENT IN ORANGE EXTRACT DRINKING PACKAGE USING SPECTROPHOTOMETRY AND TITRIMETRY METHODS WITH REAGENT 2,6-DICHLOROPHENOLINDOPHENOL**

## **ABSTRACT**

Rita Minarsih  
99 612 070

It had been carried out determination of ascorbic acid content in orange extract drinking package by using Spectrophotometry UV-Vis and Titrimetry methods with reagent 2,6-dichlorophenolindophenol. The recent of experiment are knowing the ascorbic acid contents in the samples and how about the accurate and precise results of the Spectrophotometry UV-Vis and Titrimetry methods.

Spectrophotometry UV-Vis result of ascorbic acid contents from the samples 1, 2 and 3 respectively are 36,5 mg/100mL; 42,0 mg/100mL and 49,0 mg/100mL. Determination of ascorbic acid contents gave a good accurate and precise results with a variance coefficient 0,656 % and limit of detection 0,8366 mg/mL

Titrimetry result of ascorbic acid contents from the samples 1, 2 and 3 respectively are 35,8 mg/100mL; 34,8 mg/100mL and 47,7 mg/100mL. Determination of ascorbic acid contents it also gave a good accurate and precise results with a variance coefficient 0,0036%.

Keywords : Ascorbic acid, Spectrophotometry UV-Vis, Titrimetry, Orange extract drinking package.

# 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. Karena berbagai macam vitamin tidak dapat disintesis oleh tubuh, maka untuk memenuhi kebutuhan vitamin sebagian melalui konsumsi makanan. Vitamin adalah senyawa organik, dan air atau senyawa anorganik lain tidak dapat digolongkan sebagai vitamin. Vitamin merupakan senyawa yang efektif dalam jumlah yang sangat kecil. Salah satu vitamin yang dibutuhkan manusia yaitu vitamin C atau biasa dikenal dengan asam askorbat. Adapun sumber vitamin C terbanyak terdapat pada buah jeruk, tomat, arbei, semangka, apel dan sayuran hijau.

Defisiensi vitamin C dapat menyebabkan sintesis kolagen terganggu dan dapat menyebabkan skorbut. Kebutuhan vitamin C dalam reaksi pembentukan kolagen bersifat enzimatis. Selain itu vitamin C juga berfungsi untuk mempertahankan struktur gigi, tulang, jaringan pengikat dan dinding pembuluh darah kapiler.

Dalam penelitian ini akan ditentukan kadar vitamin C dalam minuman ringan yang merupakan sari buah jeruk kemasan yang beredar di pasaran khususnya kota Jogjakarta, dalam hal ini sampel yang diambil diinisialkan dalam

bentuk nomor yaitu nomor 1, 2 dan 3. Minuman ringan ini relatif sering dikonsumsi karena mengandung vitamin C yang cukup tinggi di samping rasanya yang enak. Vitamin C bersifat sangat tidak stabil, dalam larutan mudah dioksidasi menjadi asam dehidro-L-askorbat. Asam dehidro-L-askorbat dapat dihidrolisis lebih lanjut menghasilkan produk degradasi yang bersifat irreversibel, yaitu asam diketo-L-gulonat. Degradasi vitamin C dipengaruhi banyak hal antara lain temperatur, pH dan kondisi lain selama proses pembuatan dan penyimpanan. Oleh karena itu perubahan kadar vitamin C dalam makanan dan minuman sangat mungkin terjadi, maka perlu dilakukan penelitian ulang mengenai kadar vitamin C pada bahan makanan dalam hal ini adalah minuman ringan dalam kemasan.

Pada penelitian ini akan dilakukan penentuan kadar vitamin C dalam minuman ringan sari buah jeruk kemasan dengan menggunakan dua metode yang banyak dipakai diberbagai instansi termasuk dalam industri makanan dan minuman yaitu metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimetri.

## **1.2 Rumusan masalah**

Permasalahan yang diangkat dari penelitian ini adalah :

1. Berapakah kadar vitamin C yang terdapat dalam minuman ringan sari buah jeruk kemasan ?
2. Bagaimana ketelitian dan ketepatan hasil analisis statistik yang didapatkan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimetri ?

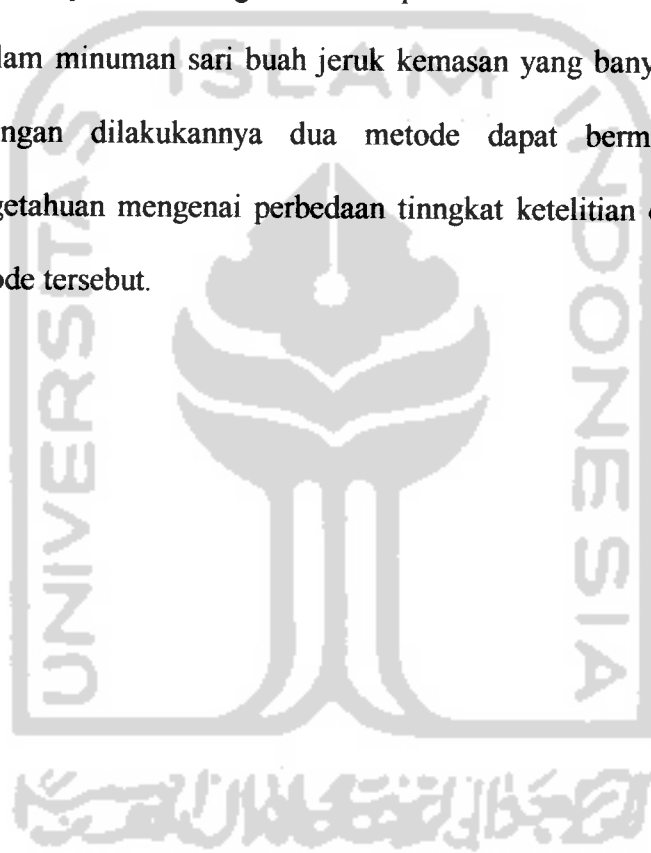


### **.1.3 Tujuan penelitian**

Untuk mengetahui kadar Vitamin C dalam sampel dan perbedaan tingkat ketelitian dan ketepatan metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimeti.

### **1.4 Manfaat penelitian**

Setelah dilakukan penelitian maka diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai seberapa besar kadar vitamin C yang terkandung di dalam minuman sari buah jeruk kemasan yang banyak beredar di pasaran dan dengan dilakukannya dua metode dapat bermanfaat untuk memberikan pengetahuan mengenai perbedaan tingkat ketelitian dan ketepatan antara kedua metode tersebut.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Sumber vitamin C

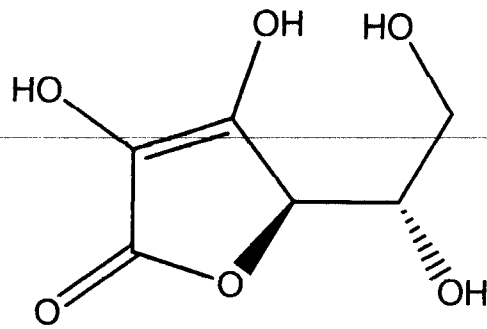
Vitamin yang tergolong larut dalam air adalah vitamin C dan vitamin-vitamin B kompleks. Vitamin C terdapat dalam semua jaringan hidup, yang mempunyai tugas mempengaruhi reaksi oksidasi-reduksi. Sumber utama vitamin C dalam makanan adalah sayur dan buah.

Tabel 1. Kandungan vitamin C pada beberapa makanan

Produk	Vitamin C (mg/100 g)
Kismis hitam ( <i>Ribes sp.</i> )	200
Kol brusel ( <i>Brassica oleracea gemmifera</i> )	100
Blumkol	70
Kol	60
Bayam	60
Jeruk	50
Sari jeruk	40-50
Jeruk lemon	50
Polong	25
Tomat	20
Apel	5
Selada	15
Wortel	6
Susu	2,1-2,7
Kentang	30

Demam, J.M., 1997

Vitamin C mula-mula dikenal sebagai asam heksuronat dengan rumus kimia  $C_6H_8O_6$ , karena berkhasiat sebagai antiskorbut maka dinamakan asam askorbat atau vitamin C, berbentuk kristal putih, stabil dalam keadaan kering, sangat larut dalam air dan mudah teroksidasi (Andarwulan, N. dan Koswara, S., 1992). Rumus struktur vitamin C adalah sebagai berikut (Anonim, 1995):



**Gambar 1. Struktur vitamin C**

## 2.2 Tatanama vitamin C

Sejak ditemukan, banyak nama telah diberikan pada vitamin C. Nama-nama tersebut dapat digolongkan menjadi nama umum, nama sejarah dan nama kimia (Andarwulan, N. dan Koswara, S., 1989).

### 2.2.1 Nama umum

#### 1. Vitamin C

Nama ini 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 Hawort pada tahun 1933.

#### 3. Asam ceritamat (*ceritamic 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.

### 2.2.2 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-skorbutin

Pertama kali diusulkan oleh Holst pada tahun 1912.

3. Vitamin anti-skorbut (*anti-scorbutat vitamine*)

4. Scorbutamin

Diusulkan oleh R. L. Jones pada tahun 1928.

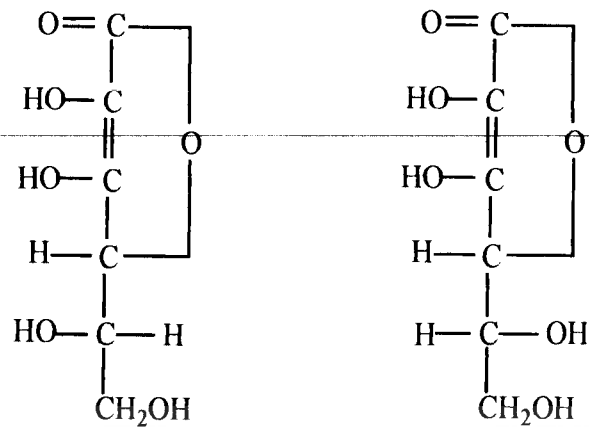
### 2.2.3 Nama kimia

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

### 2.3 Sifat kimia vitamin C

Vitamin C mempunyai satu atom karbon asimetris maka terdapat isomer yang optis aktif, yaitu asam L-askorbat dan asam D-askorbat.



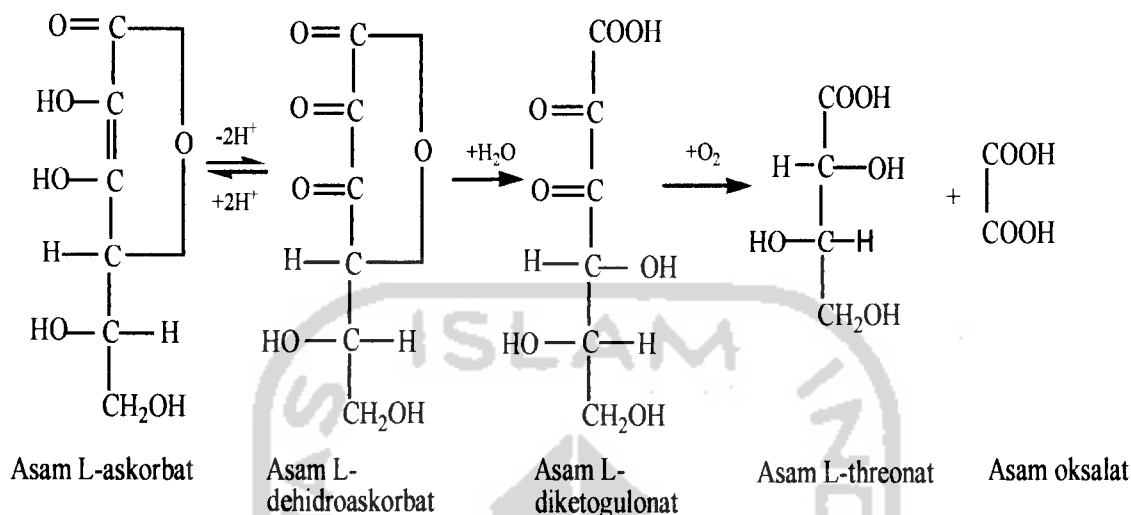
Asam L-askorbat

Asam D-askorbat

**Gambar 2. Isomer optis aktif vitamin C**

Vitamin C merupakan asam dengan konfigurasi mirip dengan monosakarida. Vitamin C mempunyai kemampuan untuk mereduksi cukup kuat. Kemampuan mereduksi senyawa ini tergantung pada tingkat kemudahan lepasnya atom hidrogen pada gugus hidroksil-enadiol pada atom C-2 dan C-3. Vitamin C mudah teroksidasi menjadi asam dehidro-L-askorbat antara lain oleh udara, halogen, feri klorida, hidrogen peroksida, 2,6-diklorofenol-indofenol, kalium permanganat dan selenium oksida.

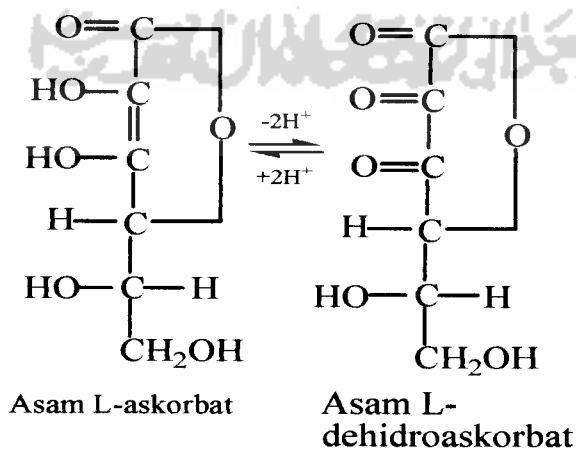
Adapun reaksi oksidasi vitamin C adalah sebagai berikut (Deman, J.M., 1997) :



**Gambar 3. Reaksi oksidasi vitamin C**

Reaksi oksidasi vitamin C bersifat reversibel dengan adanya senyawa yang mereduksi misalnya hidrogen iodida atau hidrogen sulfida, tanpa mempengaruhi cincin laktonnya. Reaksi reversibel ini tergantung pada suasana lingkungan pada saat reaksi berlangsung, misalnya pada suasana asam maka reaksi akan bergeser kearah kiri.

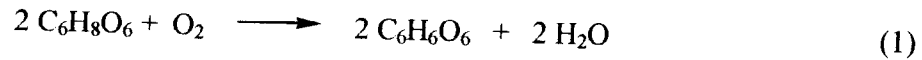
Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



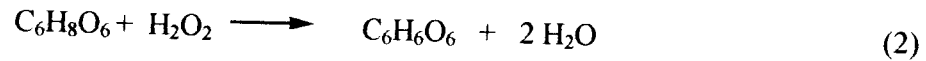
**Gambar 4. Reaksi reversibel vitamin C**

Vitamin C lebih stabil dalam keadaan kering dan kestabilannya akan menurun bila terkena cahaya. Reaksi oksidasi vitamin C dalam larutan air sangat tergantung pada beberapa faktor misalnya pH, temperatur, adanya oksigen dan logam tertentu terutama tembaga. Vitamin C paling stabil pada pH 4-6 seperti yang dikutip oleh Handayani U. S., 1994, pernyataan lain yang dikutip oleh Handayani, U.S. (1994) adalah bahwa Vitamin C stabil pada pH di bawah 7. Connors (1986) menyebutkan bahwa degradasi vitamin C mencapai maksimum pada pH 4 dan stabilitas maksimum tercapai pada pH 2-3 dan pH 6. Vitamin C merupakan senyawa yang sangat peka terhadap panas. Dengan adanya oksigen dan panas, vitamin C mudah dioksidasi dengan laju yang sebanding dengan kenaikan temperatur. Asam dehidro- L-askorbat masih mempunyai aktivitas biologik sebagai antiskorbut. Selanjutnya pada keadaan basa, netral, serta adanya pengaruh cahaya, panas dan oksigen, asam dehidro-L-askorbat akan mengalami hidrolisis dengan pecahnya inti lakton sehingga terbentuk asam diketo-L-gulonat, yang tidak lagi mempunyai aktivitas biologik sebagai antiskorbut. Asam diketo-L-gulonat apabila mengalami oksidasi lebih lanjut akan menjadi asam oksalat dan asam L-treonat. Sebagian besar logam, terutama tembaga akan mengkatalis oksidasi vitamin C. Asam sitrat, asam metafosfat, EDTA, 8-hidroksikuinolin dan glikol dapat menghambat terjadinya oksidasi vitamin C. Vitamin C dapat mengalami oksidasi dengan adanya aktivitas enzim askorbat oksidase, maupun askorbat peroksidase.

Adapun reaksinya adalah sebagai berikut :



asam L-askorbat      asam dehidro-L-askorbat



asam L-askorbat      asam dehidro-L-askorbat

Oksidasi vitamin C akan berlangsung lambat pada temperatur rendah dan pH rendah (Winarno, F.G., 2002).

#### 2.4 Sifat fisika vitamin C

Sifat fisika vitamin C, seperti di bawah ini :

Tabel 2. Sifat fisika vitamin C

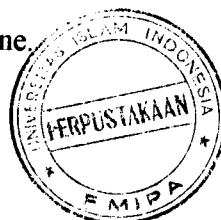
Sifat Fisika	Sifat Vitamin C
Kenampakan	Kristal berwarna putih, tidak berbau dan rasa asam.
Bentuk kristal	Monoklin, kadang-kadang seperti jarum
Titik leleh	190-192 °C
Densitas	1,65
Aktifitas optik $[\alpha]^{25}$ $[\alpha]^{23}$	+ 20,5° sampai + 21,5° (dalam air) + 48° (dalam metanol)
Potensial redoks [Eo]	+ 0,166 V (pH 4)

Handajani, U.S., 1994

#### 2.5 Fungsi dan kebutuhan vitamin C

Vitamin C berperan dalam mempertahankan zat-zat interselluler normal, tulang rawan, dentin dan tulang. Selain itu vitamin C juga berperan penting dalam oksidasi fenil alanin dan tirosin. Adapun fungsi vitamin C yang lain 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 dari dopamine.





4. Berperan sebagai protektif dan kuratif terhadap penyakit yang disebabkan arteroskeloris.
5. Sebagai transferor hidrogen dalam pernafasan sel.

Kekurangan vitamin C dapat menyebabkan skorbut yaitu pembuluh darah rapuh sehingga mudah terjadi pendarahan, gusi menggelembung 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 per hari adalah :

**Tabel 3. Kebutuhan vitamin C setiap hari**

Umur (tahun)	Kebutuhan vitamin C (mg)
0 - 1	35
1 - 10	45
11 - 14	50
15 - 18	60
Dewasa	60
Hamil	80
Menyusui	100

Ganiswara, S.G., dkk., 1995

## 2.6 Stabilitas

Vitamin C bersifat sangat sensitif terhadap pengaruh-pengaruh luar yang menyebabkan kerusakan seperti suhu, konsentrasi gula dan garam, pH, oksigen, enzim, katalisator logam dll.

Vitamin C termasuk vitamin yang labil, termasuk yang dikandung oleh bahan makanan. Vitamin C mudah rusak pada penyimpanan dan pemasakan serta

berbagai proses teknologi 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.

## 2.7 Pengolahan Vitamin C

Vitamin C bersifat sangat larut dalam air, akibatnya sangat mudah hilang akibat luka di permukaan atau pada waktu pemotongan bahan pangan. Dalam *processed food*, kehilangan terbanyak terjadi akibat degradasi kimiawi. Dalam bahan pangan yang kaya akan vitamin C seperti produk buah-buahan, kehilangan biasanya berhubungan dengan reaksi kecoklatan non-enzimatis. Tabel komposisi bahan pangan kemungkinan tidak dapat digunakan untuk memperkirakan kandungan vitamin C yang sebenarnya, karena pada beberapa jenis makanan sejumlah vitamin C sering digunakan sebagai bahan tambahan selama pengolahan.

Pengaruh aktivitas air terhadap stabilitas vitamin C juga telah mendapat perhatian para ahli. Beberapa ahli telah menunjukkan bahwa kecepatan pengrusakan dalam bahan pangan akan meningkat dengan meningkatnya aktivitas air, walaupun pengaruh energi aktivasi tidak tetap. Jumlah vitamin C yang hilang pada pengalengan buah-buahan yang disebabkan oleh *processing* (sterilisasi makanan kaleng), dan kehilangan biasanya disebabkan karena penanganan yang salah. Sterilisasi komersial yang diadakan pada waktu itu menghasilkan retensi vitamin C sebesar 92-97 % pada sari buah kalengan (Andarwulan, N. dan Kuswara, S., 1992). Data lain diperoleh pada pembentukan flakes dari apel,

kehilangan vitamin C karena pengupasan adalah 8 %, 62 % pada *blanching*, 10 % pada pembuatan *puree* (hancuran) dan hanya 5 % pada proses dengan *drum-drying*.

Vitamin C relatif stabil pada sari buah jeruk yang ber-pH rendah dengan kandungan sitrat tinggi. Tetapi karena DHA sangat labil pada kedua keadaan di atas, maka selama pengolahan buah dan sari buah sebaiknya dilakukan pada kondisi deaerasi (kandungan oksigen rendah). Wadah yang digunakan terbuat dari gelas atau stainless steel, dan aktivitas enzim harus dicegah. Walaupun kehilangan vitamin C pada pembuatan sari buah hanya sedikit, tetapi kehilangan selama penyimpanan mungkin terjadi pada jumlah besar, dan sebaliknya penyimpanan dilakukan pada suhu 10 °C atau kurang.

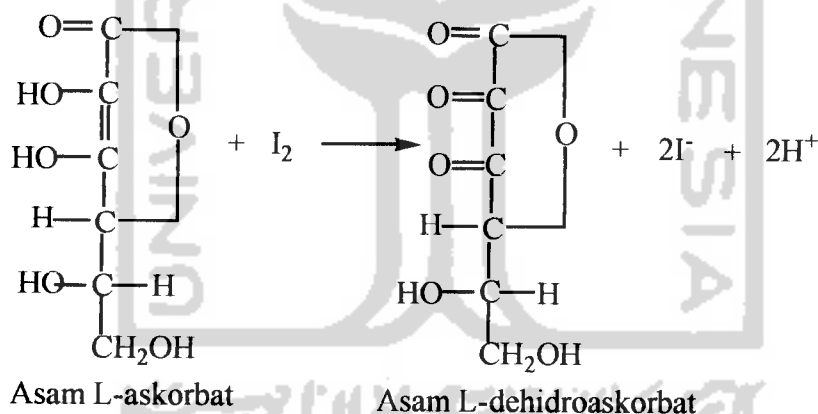
### **2.8 Analisis vitamin C pada bahan pangan**

Banyak metode analisis yang dikembangkan untuk penentuan kadar vitamin C dengan matriks yang bervariasi. Tiap metode analisis mempunyai prinsip dasar, keunggulan dan kelemahan sendiri-sendiri. Analisis vitamin C dapat dilakukan antara lain dengan metode titrimetri, metode kolorimetri, spektrofotometri, spektrofotometri, kromatografi gas dan HPLC. Handayani, U.S., (1994) mengutip bahwa telah dilakukan penelitian tentang studi komparatif penentuan kadar vitamin C pada buah tomat segar dengan metode titrimetri menggunakan 2,6-diklorofenol-indofenol sebagai pereaksi dan dengan HPLC. Hasil analisis dengan kedua metode tersebut seperti tercantum pada tabel berikut :

**Tabel 4. Hasil penentuan kadar vitamin C pada buah tomat segar**

Sampel	Kadar Vitamin C (mg/100 gram)	
	Metode HPLC	Metode titrimetri
1	18,8 ± 0,8	18,6 ± 1,0
2	13,1 ± 0,4	12,9 ± 0,6
3	17,6 ± 1,0	17,6 ± 0,6
4	14,9 ± 0,6	14,6 ± 0,3
5	15,9 ± 0,7	15,8 ± 0,9
6	17,3 ± 0,8	16,6 ± 0,5

Sedangkan untuk metode titrimetri menggunakan pereaksi iodin mempunyai prinsip dasar bahwa vitamin C akan dioksidasi oleh iodin membentuk asam dehidro-L-askorbat. Indikator yang digunakan adalah amilum. Titik akhir titrasi ditandai dengan terjadinya warna biru dari iod-amilum. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :

**Gambar 5. Reaksi oksidasi vitamin C oleh iodin**

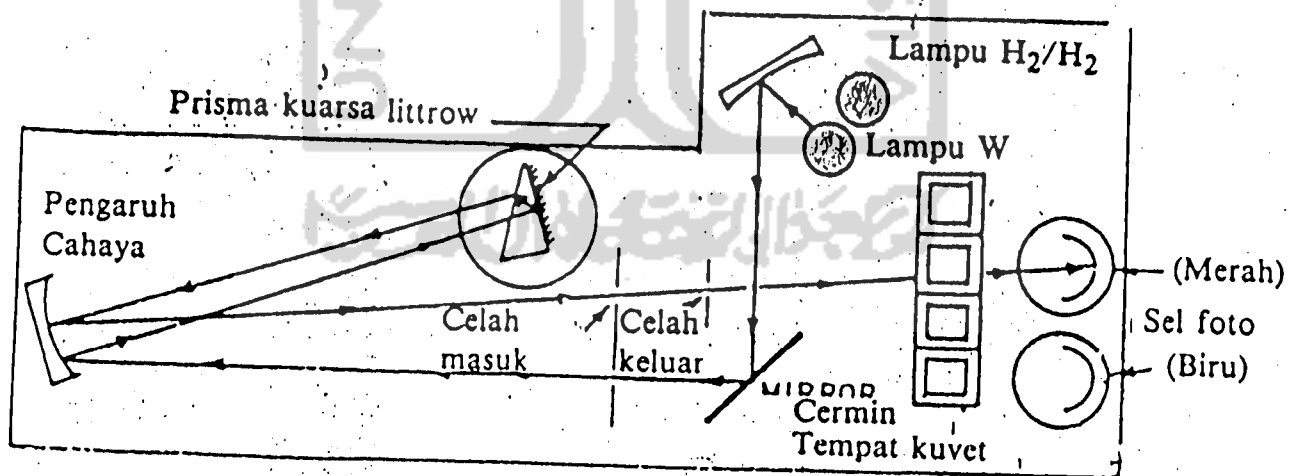
Vitamin C dengan Iod akan membentuk ikatan rangkap dengan atom C nomor 2 dan 3 sehingga ikatan rangkap hilang.

## 2.9 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan

atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Kelebihan spektrometer dibandingkan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi dan ini di peroleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating ataupun celah optis. Pada filter, sinar dengan panjang gelombang yang diinginkan di peroleh dengan berbagai filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek panjang gelombang tertentu. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinue, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blangko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blangko ataupun pembanding.

Berikut adalah diagram dari spektrofotometer UV-VIS :



Gambar 6. Diagram spektrofotometer UV-Vis

## 2.10 Serapan oleh senyawa

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 di antara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Oleh karena itu maka serapan radiasi ultraviolet/terlihat sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. 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 120-200 nm, daerah ini dikenal sebagai daerah ultraviolet vakum dan relatif tidak banyak memberikan keterangan. Di atas 200 nm eksitasi elektron dari orbital-orbital p dan d dan orbital  $\pi$  terutama sistem terkonjugasi  $\pi$  segera dapat diukur dan spektra yang diperoleh banyak memberikan keterangan. Dalam praktek spektra ultraviolet digunakan terbatas pada sistem-sistem terkonjugasi. Meskipun demikian terdapat keuntungan yang selektif dari serapan ini yaitu gugus karakteristik dapat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Spektrum ultraviolet adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitansi atau absorbansi). Sering juga data ditunjukkan sebagai gambar grafik atau tabel yang menyatakan panjang gelombang lawan serapan molar atau log dari serapan molar,  $E_{\max}$  atau  $\log E_{\max}$ .

### 2.11 Analisis kuantitatif dengan serapan radiasi elektromagnetik

Dalam mempelajari serapan secara kuantitatif, berkas radiasi dikenakan pada cuplikan dan intensitas radiasi yang ditransmisikan diukur. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas dari berkas radiasi yang ditransmisikan bila spesies penyerap tidak ada dengan intensitas yang ditransmisikan bila spesies penyerap ada. Kekuatan radiasi (yaitu intensitas) dari berkas cahaya sebanding dengan jumlah foton per detik yang melalui satu satuan luas penampang. Jika foton yang mengenai cuplikan tenaga yang sama dengan yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga, maka serapan dapat terjadi. Kekuatan radiasi juga diturunkan dengan adanya penghamburan dan pemantulan, namun demikian pengurangan-pengurang ini sangat kecil bila dibandingkan dengan serapan.

### 2.12 Hukum-hukum kuantitatif

Perubahan-perubahan tenaga radiasi yang terjadi bila radiasi monokromatik melalui sel penyerap dapat diuraikan sebagai berikut :

Mula-mula sel diisi dengan larutan blanko yang biasanya terdiri dari pelarut dan konstituen cuplikan yang lain dari pada spesies penyerap utama. Dengan larutan blanko dalam sel kekuatan cahaya dari radiasi yang dipancarkan menggambarkan kekuatan cahaya yang masuk dikurangi dengan yang hilang oleh penghamburan, pemantulan dan serapan oleh konstituen lain (biasanya sangat kecil). Kekuatan cahaya dinyatakan sebagai  $I_0$ .

Bila radiasi berjalan melalui segmen cuplikan A, maka dengan menggunakan notasi diferensial kalkulus,  $dI$  menyatakan penurunan kekuatan

cahaya dalam lapisan yang sangat kecil,  $db$  yaitu sejumlah radiasi yang diserap dalam lapisan ini. Serapan tenaga membutuhkan interaksi fisika antara foton dan spesies-spesies penyerap sehingga jumlah kemungkinan tumbukan yang terjadi dalam lapisan ini adalah sebanding dengan jumlah spesies penyerap dalam lapisan dan jumlah foton yang melalui. Jika jumlah spesies penyerap dilipatkan, maka jumlah tumbukan juga berlipat; demikian juga pelipatan jumlah foton juga melipatkan jumlah tumbukan. Jadi hilangnya tenaga cahaya,  $dI$ , berbanding langsung dengan  $N$  (jumlah spesies penyerap) dan  $I$  (jumlah foton per luas penampang per detik). Untuk lapisan  $db$ , jumlah spesies penyerap adalah :

$$N = (6,22 \times 10^{20} \text{ spesies/m mol}) (C \text{ m mol/mL}) (db \times X \times Y \text{ mL})$$

Dimana  $db$ ,  $X$  dan  $Y$  adalah dimensi-dimensi linier dari lapisan ( anggap  $1 \text{ cc} = 1 \text{ mL}$ ).

Karena  $X$  dan  $Y$  konstan, maka :

$$N = k' \text{ cdb},$$

Dimana  $k' = (6,02 \times 10^{20}) (X \times Y) \text{ spesies} - \text{Cm}^2 / \text{m mol}$ . Jumlah tumbukan adalah sebanding dengan hasil kali  $N \times I$  atau :

$$dI \propto NI = k' I \text{ cdb}$$

Sehingga :

$$dI = -kI \text{ cdb} \tag{1}$$

Dimana  $k$  adalah tetapan penyebanding, tanda negatif digunakan karena menyatakan penurunan kekuatan cahaya sebagai kenaikan  $db$ . Integrasi persamaan (1) untuk seluruh panjang sel, memberikan hilangnya kekuatan cahaya yang disebabkan serapan oleh cuplikan.



$$I_0 \int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = -k \int_0^b c db$$

$$\ln \frac{I_t}{I_0} = -k bc$$

Dan perubahan dari logaritma alam menjadi log bilangan dasar 10, diperoleh :

$$2,303 \log I_t/I_0 = -k bc$$

atau

$$\log \frac{I_t}{I_0} = \frac{-k}{2,303} bc = -\epsilon bc \quad (2)$$

dimana  $\epsilon$  didefinisikan sebagai serapan molar (juga disebut koefisien ekstingsi molar). Jika konsentrasi diberikan dalam gram/liter, maka  $\epsilon$  diganti menjadi  $a$  yang di sebut sebagai *serapan spesifik*. Pengertian  $I_t/I_0$  didefinisikan sebagai transmitansi (simbol, T) yang merupakan fraksi dari kekuatan cahaya masuk yang transmisikan oleh cuplikan. Proses transmisi didefinisikan dengan  $100 \times T$ . Hingga dari persamaan (2) diperoleh :

$$\log T = -\epsilon bc \text{ atau } -\log T = \epsilon bc$$

$-\log T$  didefinisikan juga sebagai absorbansi (simbol A) atau kerapatan optik, sehingga :

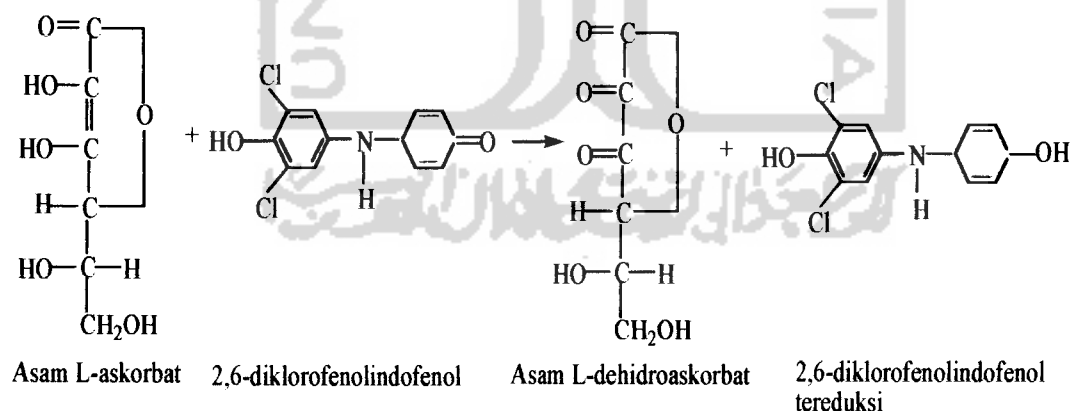
$$-\log T = A = \epsilon bc \quad (3)$$

Harga  $\epsilon$  adalah karakteristik untuk molekul atau ion penyerap dalam pelarut tertentu dan pada panjang gelombang tertentu. Harga  $\epsilon$  tidak tergantung pada konsentrasi dan panjang lintasan radiasi. Persamaan (3) dikenal sebagai hukum Beer-Lambert, hukum Bougner-Beer, atau lebih mudah *hukum Beer*. Dalam penurunan hukum ini dianggap bahwa, (1) radiasi yang masuk adalah

monokromatik, (2) spesies penyerap berkelakuan tak tergantung satu terhadap lainnya dalam proses penyerapan, (3) penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai luas penampang yang sama, (4) dengan radiasi tenaga adalah cepat (tidak terjadi fluoresensi), dan (5) indeks bias tak tergantung pada konsentrasi (tidak berlaku pada konsentrasi yang tinggi). Persamaan (3) menunjukkan bahwa penentuan absorbansi atau transmitansi akan menghasilkan konsentrasi jika  $\epsilon$  dan  $b$  diketahui.

### 2.13 Titrasi dengan 2,6-diklorofenolindofenol

Cara lain dalam penentuan vitamin C adalah dengan 2,6-diklorofenolindofenol. Vitamin C dapat direduksi oleh 2,6-diklorofenolindofenol sehingga terjadi perubahan warna. Larutan 2,6-diklorofenolindofenol dalam suasana basa atau netral akan berwarna biru sedangkan dalam suasana asam akan berwarna merah muda. Reaksi yang terjadi selama titrasi antara vitamin C dengan 2,6-diklorofenolindofenol adalah sebagai berikut :



**Gambar 7. Reaksi oksidasi vitamin C oleh 2,6 Diklorofenolindofenol**

## BAB III

### DASAR TEORI

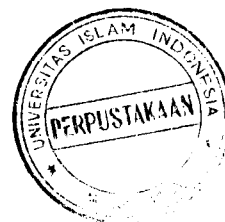
---

#### 3.1 Vitamin C

Vitamin C disebut juga asam askorbat hal ini karena bila dalam tubuh kekurangan vitamin C akan timbul penyakit yang dikenal sebagai skorbut. Vitamin C dalam larutan air mudah teroksidasi menjadi asam dehidro-L-askorbat. Tingkat kemudahan vitamin C untuk teroksidasi tergantung pada beberapa faktor antara lain temperatur, perubahan pH, enzim, logam, potensial redoks, kadar awal vitamin C dan waktu.

Vitamin C sangat diperlukan oleh tubuh untuk mempertahankan daya tahan tubuh meskipun dikonsumsi dalam jumlah kecil. Vitamin C mempunyai peranan yang sangat penting dalam berbagai reaksi biokimia antara lain dalam metabolisme ion logam, terutama besi. Vitamin C akan mengubah ion feri menjadi ion fero, sehingga vitamin C membantu penyerapan ion fero dan sifat ini sangat penting pada pencegahan anemia. Vitamin C juga penting dalam sintesis kolagen, defisiensi vitamin C menyebabkan sintesis kolagen terganggu dan sebagai akibatnya akan timbul penyakit skorbut. Dalam sintesis kolagen terlibat reaksi enzimatis yaitu hidroksilasi prolin dan hidroksilasi lisin. Dengan tidak adanya vitamin C maka beberapa bentuk kolagen seratnya menjadi tidak normal dan jumlahnya menjadi lebih sedikit.

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air, bila dikonsumsi dalam jumlah yang berlebihan relatif tidak membahayakan kesehatan karena



sebagian besar diekskresikan melalui urine, dan sebagian vitamin C yang dikeluarkan melalui urine berupa oksalat. Walaupun demikian vitamin C yang dikonsumsi secara berlebihan misal sampai 10 gram per hari menimbulkan peluang terjadinya batu oksalat dalam ginjal. Vitamin C dapat disintesis antara lain dari glukosa dengan bantuan enzim gulono oksidase, dapat juga secara mikrobiologis antara lain dengan mikroba *Acetobacter sub oksidans* atau dari *Aspergillus niger*.

Penentuan kadar vitamin C dengan spektrofotometer visibel harus dengan menggunakan pengomplek sehingga akan terbentuk kompleks warna antara vitamin C dengan pengompleknya. Intensitas warna inilah yang nantinya akan diukur absorbansinya pada spektrofotometer.

Selain itu vitamin C dapat ditentukan dengan metode titrimetri menggunakan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol. Titik ekuivalen dapat diamati dengan terjadinya warna merah jambu mantap yang stabil selama 15 detik. Warna ini timbul karena semua vitamin C sudah mereduksi 2,6-diklorofenolindofenol sehingga kelebihan sedikit saja dari larutan 2,6-diklorofenolindofenol sudah akan terlihat dengan terjadinya pewarnaan.

### 3.2 Hipotesis

Metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimetri dengan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol dapat digunakan untuk menganalisis kadar vitamin C dalam sari buah jeruk kemasan dengan mudah dan kedua metode memiliki ketelitian dan ketepatan yang tinggi untuk dipakai dalam analisis kadar vitamin C yang digunakan sebagai tambahan dalam bahan makanan yang beredar di pasaran.

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

---

#### 4.1 Alat dan bahan

##### 4.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, buret dan statif serta alat-alat gelas yang lazim digunakan dalam laboratorium.

##### 4.1.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah minuman ringan sari buah jeruk kemasan, air suling, vitamin C murni ( $C_6H_8O_6$ ), asam sitrat ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ), asam metaphospat ( $HPO_3$ ), 2,6-diklorofenolindofenol, natrium hidroksida (NaOH) dan aseton.

#### 4.2 Cara kerja

##### 4.2.1 Metode spektrofotometri

###### 4.2.1.1 Pembuatan larutan

###### a. $HPO_3$ 3%

Ditimbang  $HPO_3$  sebanyak 15 gram dan dilarutkan dalam akuades hingga 500 mL.

###### b. Buffer sitrat

Dicampurkan sejumlah tertentu asam sitrat 0,55 M dengan NaOH 1 M, larutkan dalam akuades dan encerkan hingga 100 mL.

**c. Buffer phospat-sitrat**

Dicampurkan larutan  $\text{HPO}_3$  3% dengan buffer sitrat dengan perbandingan 4 : 1.

**d. 2,6-Diklorofenolindofenol 0,88 M**

Ditimbang seksama 2,6-diklorofenolindofenol sebanyak 0,0236 gr dan dilarutkan dengan akuades sampai 100 mL.

**e. Standar vitamin C 1 mg/mL**

Ditimbang standar vitamin C sebanyak 0,10 gr dan dilarutkan dalam buffer phospat sitrat sampai volumenya 100 mL

**4.2.1.2 Penentuan kondisi optimum dalam analisis vitamin C**

**a. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum**

Dipipet 1 mL larutan standar vitamin C 1 mg/mL ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian encerkan dengan buffer phospat sitrat sampai batas dan kocok hingga homogen. Dari larutan ini diambil 5 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,3 mL larutan 2,6-diklorofenolindofenol. Diukur absorbansinya pada range panjang gelombang 400-700 nm.

**b. Pembuatan kurva baku**

**Tabel 5. Persiapan larutan untuk kurva baku**

Kons. Vitamin C (mg/mL)	Vol. vitamin C (mL)	Vol. buffer phospat-sitrat (mL)
0	0,0	50,0
0,004	0,2	49,8
0,008	0,4	49,6
0,012	0,6	49,4
0,016	0,8	49,2
0,02	1,0	49,0

Dipipet larutan standar vitamin C dalam buffer phospat-sitrat dengan kadar bervariasi (0,004 ; 0,008 ; 0,012 ; 0,016 ; 0,02) sebanyak 5 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 1,3 mL larutan 2,6-diklorofenolindofenol, kocok hingga homogen. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

**c. Waktu kestabilan**

Dipipet larutan standar vitamin C dengan konsentrasi 0,02 mg/mL sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1,3 mL larutan 2,6-diklorofenolindofenol, dikocok hingga homogen. Diukur absorbansinya dengan waktu pengujian selama 30 menit pada panjang gelombang maksimum.

**4.2.1.3 Analisis vitamin C dalam sampel**

Diencerkan 1 mL larutan sampel dengan buffer phospat-sitrat dalam labu ukur 50 mL. Diambil 5 mL, kemudian tambahkan 1,3 mL larutan 2,6-diklorofenolindofenol. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

**4.2.1.4 Uji ketelitian dan ketepatan**

Pada lima buah tabung reaksi dimasukkan masing-masing 5 mL larutan standar vitamin C 0,02 mg/mL, kemudian tambahkan masing-masing 1,3 mL larutan 2,6-diklorofenolindofenol, dikocok hingga homogen. Ukur absorbansi masing-masing larutan pada panjang gelombang maksimum.

## **4.2.2 Analisis kuantitatif vitamin C secara titrimetri dengan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol.**

### **4.2.2.1 Pembuatan larutan**

#### **a. 2,6-diklorofenolindofenol $9,3 \times 10^{-3}$ M**

Ditimbang seksama 0,5 gr 2,6-diklorofenolindofenol, kemudian larutkan dalam 200 mL akuades.

#### **b. Asam metaphospat 10 %**

Ditimbang seksama 10 gr  $\text{HPO}_3$  kemudian larutkan dalam 100 mL akuades.

### **4.2.2.2 Pembakuan larutan 2,6-diklorofenolindofenol**

Dilarutkan 0,025 gr vitamin C baku ke dalam 60 mL asam metaphospat 10 % dan diencerkan dengan akuades sampai 125 mL. Dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, titrasi dengan larutan 2,6-diklorofenolindofenol hingga titik akhir titrasi yang ditandai dengan terbentuknya warna merah muda mantap yang stabil selama 15 detik. Dilakukan titrasi blangko dengan mengganti larutan baku vitamin C dengan akuades. Cara ini dilakukan replikasi 3 kali untuk mengetahui ketelitian dan ketepatan pada penentuan kadar vitamin C.

### **4.2.2.3 Penetapan kadar vitamin C dalam sampel**

Sejumlah 25,0 mL sari buah jeruk dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL, kemudian ditambahkan asam metaphospat sampai tanda. Dipipet 10,0 mL masukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu ditambahkan 2,5 mL aseton dan dititrasi dengan larutan 2,6-diklorofenolindofenol hingga terbentuk titik akhir titrasi yang



ditandai dengan terbentuknya warna muda mantap yang stabil selama 15 detik. Dilakukan titrasi blangko dengan menggantikan larutan sampel dengan akuades.

Kesetaraan larutan 2,6-diklorofenolindofenol dengan vitamin C diperoleh dari jumlah volume 2,6-diklorofenolindofenol yang digunakan untuk titrasi sejumlah baku vitamin C.

### 4.3 Analisis hasil

Analisis hasil data menggunakan analisis secara statistik untuk mengetahui apakah di dalam penentuan kadar vitamin C memberikan hasil yang tepat dan teliti. Suatu hasil dikatakan teliti (*accurate*) bila mendekati harga sebenarnya walaupun penyebarannya luas. Sedangkan suatu hasil dikatakan tepat (*precise*) bila derajat penyebarannya terhadap purata kecil, meskipun karena kesalahan sistematik, purata berbeda agak besar dengan harga sebenarnya (Elisartika, Y., 2003). Standar deviasi sering digunakan dalam pengukuran ketepatan. Semakin kecil standar deviasi yang dihasilkan maka semakin baik ketepatan yang didapatkan dari suatu pengukuran. Ketepatan dalam persen ditunjukkan oleh koefisien variansi (Connors, 1982).

$$CV = (S_{y/x} / \bar{X}) \times 100 \%$$

Dimana : CV : koefisien variansi

$S_{y/x}$  : standar deviasi

$\bar{X}$  : kadar rata-rata

Faktor yang berpengaruh dalam metode analisis adalah batas deteksi yaitu konsentrasi atau jumlah terkecil yang masih bisa dideteksi dengan metode yang

digunakan (Gottschalk, 1962). Rumus perhitungan yang digunakan (Miller, N. & Miller, C., 1991) adalah :

$$Y = 3 S_{y/x} + a$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

Dimana :

$S_{y/x}$  : standar deviasi

$a$  : intersep



## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

---

Pada penelitian ini ditentukan kondisi optimum alat pada penentuan kadar vitamin C dalam sari buah jeruk kemasan, serta mengetahui kadar vitamin C yang terkandung di dalamnya. Hasil analisis data yang dibahas meliputi penyediaan sampel, pemilihan kondisi optimum alat dan metode serta penentuan kadar vitamin C dalam sampel.

#### 5.1 Penyediaan sampel

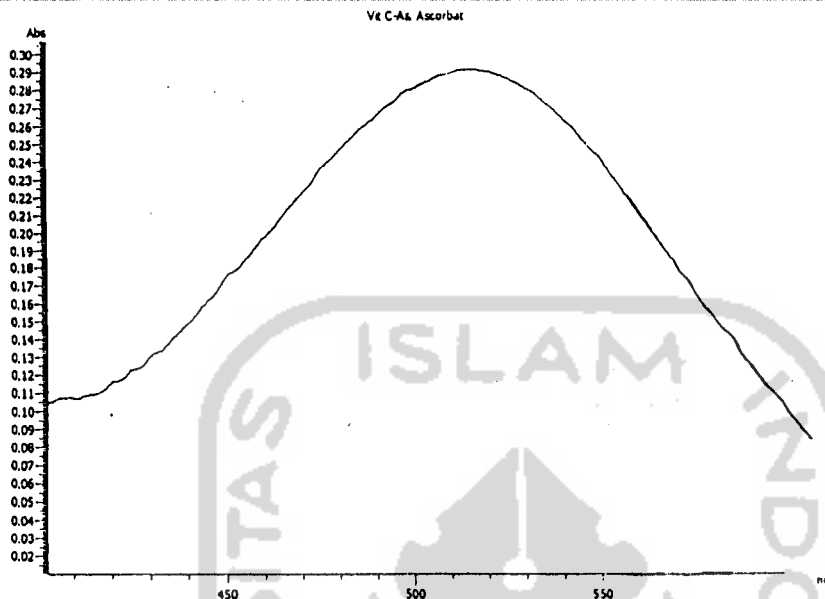
Bahan yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini adalah minuman sari buah jeruk kemasan. Tiap kemasan sampel mempunyai tanggal kadaluarsa yang relatif masih lama. Dipilih minuman sari buah jeruk karena mengandung kadar vitamin C yang cukup tinggi dan banyak disukai oleh anak-anak maupun orang dewasa serta banyak beredar di pasaran khususnya kota Jogjakarta.

#### 5.2 Metode Spektrofotometri

##### 5.2.1 Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur absorbansi dari larutan berwarna merah muda yang dihasilkan dari reaksi antara vitamin C dengan 2,6-diklorofenolindofenol. Setelah dilakukan pengukuran absorbansi pada range panjang gelombang antara 400 nm sampai 700 nm didapatkan panjang gelombang maksimum 514,5 nm karena terjadi absorbansi

maksimum pada panjang gelombang ini. Hasil penentuan panjang gelombang optimum vitamin C didapatkan kurva sebagai berikut :



**Gambar 8. Kurva panjang gelombang serapan maksimum vitamin C**

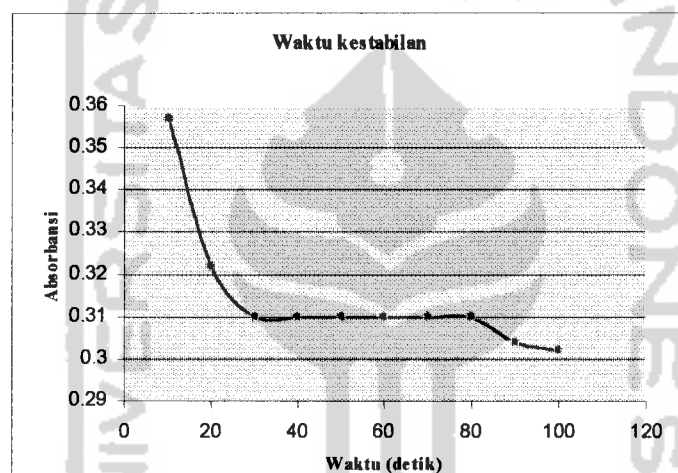
Berdasarkan hasil yang didapatkan absorbansi maksimum yang dihasilkan dari vitamin C 1 mg/mL adalah 0,291 pada panjang gelombang 514,5 nm. Langkah pengukuran selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang 514,5 nm agar mendapatkan hasil yang lebih spesifik.

### 5.2.2 Waktu kestabilan reaksi vitamin C-2,6-diklorofenolindofenol

Pada spektrofotometri UV-Vis, intensitas serapan diukur pada panjang gelombang tertentu sesuai dengan pembentukan warna sebagai hasil reaksi. Oleh karena itu senyawa yang tidak berwarna harus direaksikan dengan pereaksi warna yang sesuai (Elisartika, Y., 2003). Pembentukan reaksi atau hasil reaksi ini umumnya tidak stabil maka perlu dicari interval waktu pada saat serapan stabil. Langkah ini disebut penentuan waktu kestabilan.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa waktu yang dibutuhkan untuk menyelesaikan semua proses reaksi hingga reaksi menjadi stabil adalah 30-80 detik dihitung sejak penambahan reaksi tersebut. Karena pada waktu menunjukkan detik ke-30 sampai 80 terlihat absorbansi vitamin C yang stabil, setelah 80 detik terlihat absorbansi yang menurun.

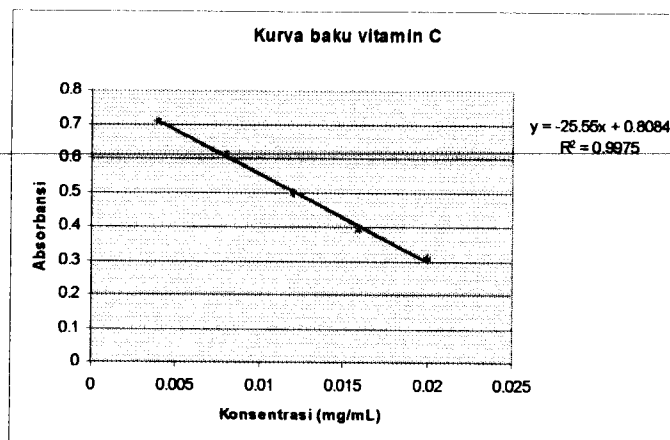
Dari waktu kestabilan yang didapat terlihat adanya selang waktu yang sempit sehingga waktu untuk melakukan semua proses harus cermat dan cepat agar diperoleh serapan yang maksimal sesuai dengan waktu kestabilan.



**Gambar 9. Waktu kestabilan vitamin C menggunakan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol**

### 5.2.3 Pembuatan kurva baku vitamin C.

Untuk mendapatkan kadar vitamin C dibutuhkan kurva standar. Pada pembuatan kurva standar larutan vitamin C dibuat suatu seri kadar (0,004 mg/mL; 0,008 mg/mL; 0,012 mg/mL; 0,016 mg/mL dan 0,02 mg/mL). Masing-masing seri kadar diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514,5 nm dan didapatkan kurva sebagai berikut :



**Gambar 10. Kurva baku vitamin C pada panjang gelombang 514,5 nm.**

Pada kurva baku vitamin C di atas terlihat bahwa absorbansi vitamin C yang semakin menurun pada konsentrasi yang semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena semakin banyak konsentrasi vitamin C yang bereaksi dengan 2,6-diklorofenolindofenol pada volume dan konsentrasi yang sama maka kepekatan warna dari 2,6-diklorofenolindofenol akan semakin berkurang karena mengalami reaksi reduksi oleh vitamin C, sehingga intensitas warna yang terabsorpsi oleh alat dalam hal ini spektrofotometer UV-Vis juga akan berkurang. Warna yang dihasilkan dari reaksi antara vitamin C dengan 2,6-diklorofenolindofenol adalah dari merah menjadi merah muda hingga bening apabila vitamin C yang bereaksi berlebih.

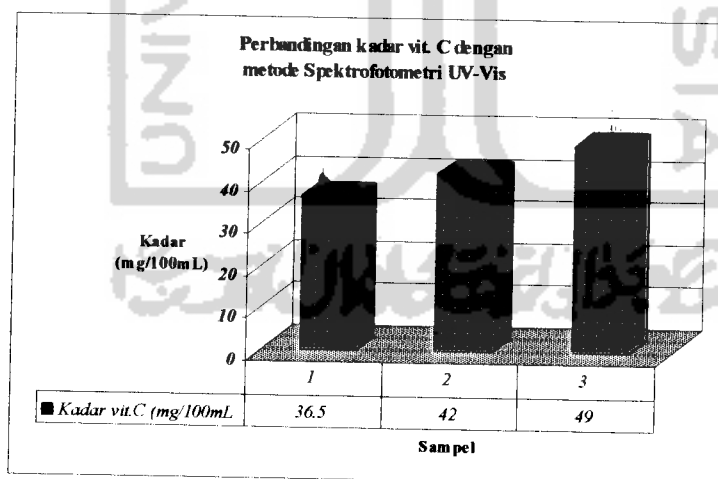
Dari harga koefisien korelasi yang didapatkan pada kurva baku, terlihat bahwa dalam daerah konsentrasi yang diamati terdapat hubungan yang jelas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan. Dengan adanya hubungan yang linier ini maka dilakukan analisis pada daerah tersebut untuk menentukan kadar vitamin C dalam sampel. Dari data absorbansi yang didapat pada berbagai konsentrasi

larutan standar vitamin C dapat dibuat persamaan regresi linier sebagai berikut:  $y = -25,55x + 0,8084$  dengan harga koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9975, slope ( $b$ ) = -25,55 dan intersep ( $a$ ) = 0,8084.

#### 5.2.4 Pengukuran kadar vitamin C dalam sampel

Kadar vitamin C dalam sampel diukur pada panjang gelombang 514,5 nm. Larutan sampel sebelum diukur absorbansinya terlebih dahulu dilarutkan dalam buffer phospat-sitrat untuk mempertahankan pH dan kondisi vitamin C supaya tidak mengalami kerusakan akibat oksidasi oleh udara maupun cahaya. Prinsip dari reaksi ini adalah terjadinya reaksi reduksi larutan berwarna 2,6-diklorofenolindofenol oleh vitamin C. Warna yang terbentuk dari reaksi ini adalah merah muda.

Kadar vitamin C yang didapatkan dalam sampel 1,2 dan 3 secara berturut-turut adalah 36,5 mg/100mL; 42,0 mg/100mL dan 49,0 mg/100mL, sehingga diperoleh histogram sebagai berikut :



Gambar 11. Histogram perbandingan kadar vitamin C (mg/100mL) menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis

### 5.2.5 Uji limit deteksi untuk parameter Spektrofotometri UV-Vis

Suatu metode analisis dalam spektrofotometer UV-Vis dikatakan baik jika memiliki parameter yang baik. Limit deteksi adalah parameter yang dapat menunjukkan konsentrasi atau jumlah yang masih bisa dideteksi dengan metode yang digunakan (Gottschalk, 1962).

Dengan menggunakan persamaan  $y = 3 S_{y/x} + a$ , didapatkan nilai  $y = 0,8366$  mg/mL, maka metode analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis mempunyai limit deteksi yang baik karena berada di antara 0,0003 – 20 mg/mL (Ellen, 2003).

### 5.2.6 Ketelitian

Untuk menguji apakah dalam penentuan kadar vitamin C dengan metode Spektrofotometri ini teliti atau tidak maka dilakukan uji statistik untuk ketelitian. Uji ketelitian ini menggambarkan kesesuaian antara beberapa hasil yang telah diukur dengan cara yang sama. Uji ini menggunakan larutan standar vitamin C 0,02 mg/mL yang diukur absorbansinya sebanyak 5 kali pada panjang gelombang 514,5 nm. Dari hasil pengukuran didapatkan absorbansi : 0,319; 0,301; 0,239; 0,310 dan 0,308.

Dengan menggunakan persamaan regresi linier  $y = -25,494x + 0,8073$ , diperoleh nilai standar deviasi ( $S_{y/x}$ ) =  $1,29 \times 10^{-4}$  dan t hitung sebesar -5,996. Nilai t tabel pada selang kepercayaan 95 % untuk nilai gawat n-1 adalah 2,78. Maka t hitung < t tabel, berarti penentuan kadar dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dapat dikatakan teliti.



### 5.2.7 Ketepatan

Semakin kecil standar deviasi ( $S_{y/x}$ ) yang dihasilkan maka semakin baik ketepatan yang didapatkan dari suatu pengukuran. Ketepatan dalam persen ditunjukkan oleh koefisien variansi (Connors, 1982).

$$CV = (S_{y/x}/\bar{X}) \times 100 \%$$

Harga  $S_{y/x}$  yang diperoleh =  $1,29 \times 10^{-4}$  sedangkan kadar rata-rata vitamin C standar ( $\bar{X}$ ) = 0,019654, sehingga didapatkan harga  $CV = 0,657 \%$ .

Berdasarkan harga CV yang didapatkan maka tingkat kesalahan adalah 0,657 % sehingga penentuan kadar dengan metode ini mempunyai tingkat ketepatan yang tinggi yaitu 99,343 %.

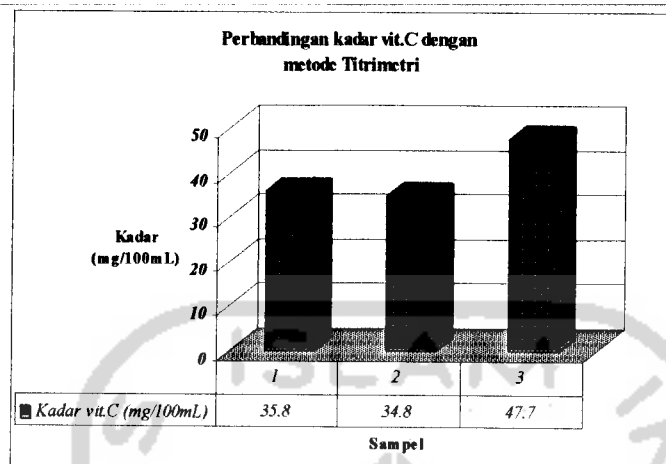
## 5.3 Metode Titrimetri

### 5.3.1 Pengukuran kadar vitamin C dalam sampel

Pemeriksaan kadar vitamin C dalam sampel juga dilakukan dengan metode lain yang resmi digunakan di AOAC (1990), yaitu metode titrimetri dengan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol.

Larutan 2,6-diklorofenolindofenol dalam suasana netral atau basa akan berwarna biru sedangkan dalam suasana asam akan berwarna merah muda. Apabila 2,6-diklorofenolindofenol direduksi oleh vitamin C maka akan menjadi tidak berwarna, dan bila semua vitamin C sudah mereduksi 2,6-diklorofenolindofenol maka kelebihan larutan 2,6-diklorofenolindofenol sedikit saja sudah akan terlihat dengan terjadinya pewarnaan. Untuk perhitungan maka perlu dilakukan standarisasi larutan 2,6-diklorofenolindofenol dengan vitamin C standar.

Kadar vitamin C dalam sampel 1,2 dan 3 adalah 35,8 mg/100mL; 34,8 mg/100mL dan 47,7 mg/100mL sehingga diperoleh histogram sebagai berikut :



**Gambar 12. Histogram perbandingan kadar vitamin C (mg/100mL) menggunakan metode Titrimetri**

### 5.3.2 Ketelitian

Uji statistik untuk ketelitian pada penetapan kadar dengan metode Titrimetri dilakukan dengan cara menguji pembakuan larutan 2,6-diklorofenolindofenol menggunakan larutan standar vitamin C sebanyak 3 kali. Variabel yang diambil untuk uji data statistik adalah banyaknya bobot (mg) vitamin C yang terdapat dalam 10 mL larutan baku vitamin C sebagai variabel 1 dan berapa banyak volume 2,6-diklorofenolindofenol yang dipakai untuk titrasi sebagai variabel 2. Dari hasil pemeriksaan didapatkan harga variabel 1 secara berturut-turut adalah : 2,45 mg, 2,29 mg dan 2,45 mg sedangkan variabel 2 adalah 1,5 mL, 1,4 mL dan 1,5 mL.

Dengan menggunakan persamaan regresi linier  $y = 0,625x - 0,0132$  diperoleh nilai standar deviasi ( $S_{y/x}$ ) =  $8,66 \times 10^{-5}$  dan  $t$  hitung sebesar -80. Nilai  $t$



tabel pada selang kepercayaan 95 % untuk nilai gawat  $n-1$  adalah 4,30. Maka  $t$  hitung  $< t$  tabel, berarti penentuan kadar dengan metode Titrimetri dapat dikatakan teliti.

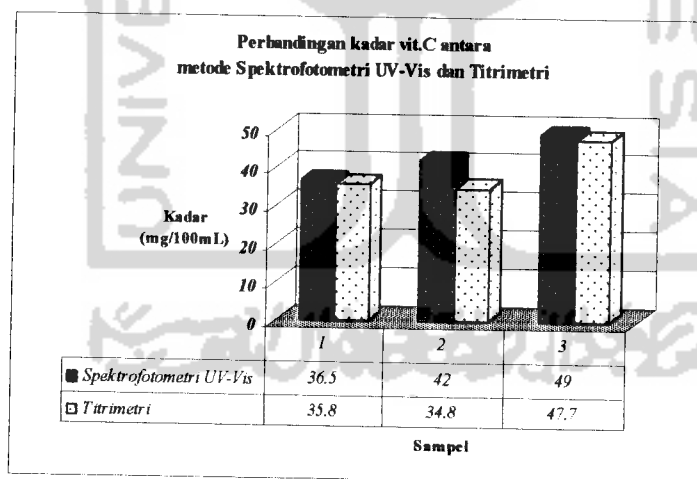
### 5.3.3 Ketepatan

Penentuan kadar dengan metode ini memperoleh harga  $S_{y/x}$  sebesar  $8,66 \times 10^{-5}$  sedangkan kadar rata-rata vitamin C standar  $(\bar{X}) = 2,392$  sehingga didapatkan harga  $CV = 0,0036 \%$ .

Berdasarkan harga CV yang didapatkan maka tingkat kesalahan adalah  $0,0036 \%$  sehingga penentuan kadar dengan metode ini mempunyai tingkat ketepatan yang tinggi yaitu  $99,9964 \%$ .

### 5.4 Perbandingan hasil dari metode spektrofotometri dengan titrimetri

Perbandingan kadar vitamin C dalam sampel dengan pengujian secara spektrofotometri dan titrimetri dapat dilihat pada histogram sebagai berikut :



**Gambar 13. Histogram perbandingan kadar vitamin C (mg/100mL) antara metode Spektrofotometri UV-Vis dengan Titrimetri**

Dari histogram di atas didapatkan data statistik untuk mengetahui ketepatan dan ketelitian dari masing-masing metode. Perbandingan hasil uji data statistik disajikan pada tabel berikut :

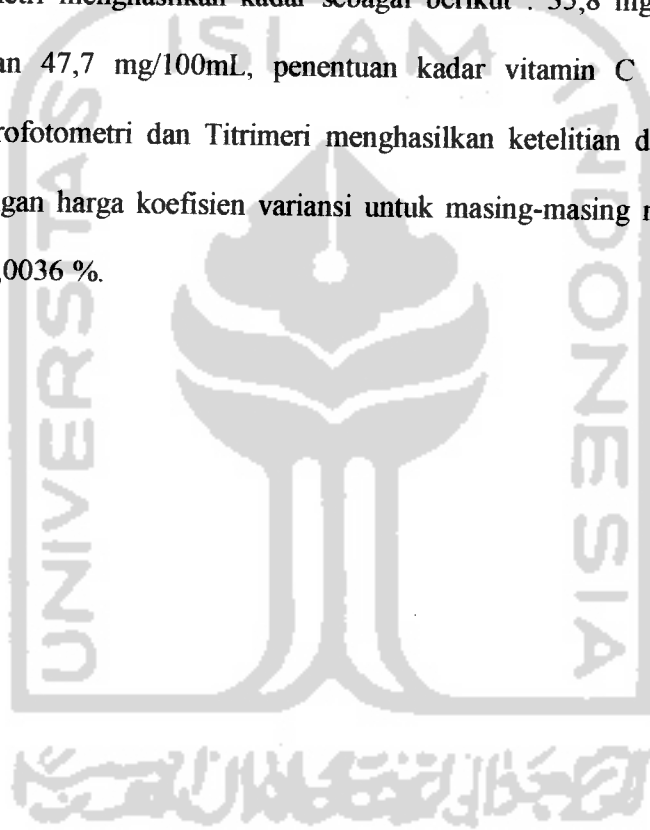
**Tabel 6. Uji statistik perbandingan ketelitian dan ketepatan metode Spektrofotometri UV-Vis dan Titrimetri**

No.	Uji statistik	Spektrofotometri UV-Vis	Titrimetri
1	<b>Ketelitian :</b>		
	- t hitung	-5,996	-80
	- t tabel	2,780	4,30
	- Standar deviasi	$1,29 \times 10^{-4}$	$8,66 \times 10^{-5}$
2	<b>Ketepatan :</b>		
	CV	0,657 %	0,0036

## BAB VI

### KESIMPULAN

Konsentrasi vitamin C yang didapatkan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis pada sampel 1,2 dan 3 berturut-turut adalah 36,5 mg/100mL; 42,0 mg/100mL dan 49,0 mg/100mL sedangkan pemeriksaan dengan metode Titrimetri menghasilkan kadar sebagai berikut : 35,8 mg/100mL; 34,8 mg/100mL dan 47,7 mg/100mL, penentuan kadar vitamin C menggunakan metode Spektrofotometri dan Titrimetri menghasilkan ketelitian dan ketepatan yang baik dengan harga koefisien variansi untuk masing-masing metode adalah 0,657 % dan 0,0036 %.



## DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., dan Koswara, S., 1992, *Kimia Vitamin*, Edisi 1, 24-40, Rajawali Pers, Jakarta.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, 39, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Aulia, U.S.B., 2003, *Identifikasi Vitamin C pada Buah Semu Jambu Mete (*Anacardicum occidentale*, L) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis*, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, UII, Jogjakarta.
- Biokimia, Staf.Lab., 2001, *Penuntun Praktikum Biokimia*, 11-12, Laboratorium Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta.
- Connors, K.A., 1982, *A Textbook of Pharmaceutical Analysis*, Third Edition, John Willey & Son, New York.
- Connors, K.A., 1986, *Chemical Stability of Pharmaceutical, A Hand Book for Pharmacist*, Second Editio, John Willey & Son, New York.
- Demam, J.M., 1997, *Kimia Makanan*, Edisi kedua, 408-414, ITB, Bandung
- Elisartika, Y., 2003, *Penetapan Kadar Natrium Diklofenak secara Spektrofotometri dengan menggunakan Pereaksi Ceri Ammonium Sulfat*, Skripsi, Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, UII.
- Ganiswara, S.G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, 722-724, Gaya Baru, Jakarta.
- Gottschalk, G., 1962, in Eckschlager, K., 1969, *Errors, Meansurment and Results Chemical Analysis*, Van Nonstrand Reinhold Company Ltd, London.
- Handajani, U.S., 1994, *Pengaruh Temperatur, pH dan Pengawet terhadap Stabilitas Vitamin C dalam Sari Buah Jeruk*, Tesis, Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.
- Harris, D.C., 1998, *Quantitative Chemical Analysis*, Fifth Edition, 856, Erlangga, Jakarta.
- Khopkar, S.M., 2002, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, 191-227, UI Press, Jakarta.

- Meloan, C.E., & Pomeranz, Y., 1973, *Food Analysis Laboratory Experiments*, 116-117, The Avi Publishing Company, INC.
- Miller, N. & Miller, C., 1991, *Statistika untuk Kimia Analitik*, Edisi ke-2, ITB, Bandung.
- Noegrohati, S. & Sastrohamidjojo, H., 1982, *Spektroskopi Ultraviolet dan Terlihat*, 10-11, Laboratorium Analisa Kimia/Fisika Pusat Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.
- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Spektroskopi*, Edisi ke-2, 1-39, Liberty, Jogjakarta.
- Subakti, P., 1993, *Penetapan Kadar Vitamin C secara Spektrofotometri Sinar Tampak menggunakan Pereaksi 1-kloro-2,4-dinitrobenzen dalam Sediaan Farmasi tanpa Pemisahan terlebih dahulu*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan*, Edisi ke-4, 117, Liberti, Jogjakarta
- Underwood, A.L. & Day Jr., R.A., 2002, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi ke-6, Erlangga, Jakarta.
- Winarno, F.G., 2002, *Kimia Pangan dan Gizi*, 131-133, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wuryaningsih, 1996, *Pengaruh Waktu Penyimpanan pada Suhu Rendah terhadap Kandungan Vitamin C pada Buah Cabe Merah (Capsicum annum L)*, Naskah Seminar, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.

## Lampiran 1

## PEMBUATAN LARUTAN

1. 500 mL HPO<sub>3</sub> 3 %

Ditimbang 15 gr HPO<sub>3</sub> dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 500 mL

## 2. 100 mL Buffer sitrat

Buffer sitrat dibuat dari pencampuran asam sitrat 0,55 M dengan NaOH 1 M.

## ❖ 100 mL Asam sitrat 0,55 M

$$M = \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{V.larutan}}$$

$$0,55 = \frac{\text{massa}}{210} \times \frac{1000}{100}$$

$$= 11,55 \text{ gr}$$

Ditimbang asam sitrat sebanyak 11,55 gr dilarutkan dalam 100 mL akuades.

## ❖ 100 mL NaOH 1 M

$$M = \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{V.larutan}}$$

$$1 = \frac{\text{massa}}{40} \times \frac{1000}{100}$$

$$= 4 \text{ gr}$$



Ditimbang 4 gr NaOH dilarutkan dalam 100 mL akuades.

❖ **100 mL buffer sitrat**

Untuk membuat buffer sitrat maka dicampurkan 11,55 gr asam sitrat dan 4 gr NaOH kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades.

**3. 500 mL Buffer phospat-sitrat**

Buffer phospat-sitrat dibuat dengan mencampurkan  $\text{HPO}_3$  3 % dengan buffer sitrat dengan perbandingan 4 : 1.

**4. 100 mL 2,6-diklorofenolindofenol 0,88 M**

$$\begin{aligned}
 M &= \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{V.larutan}} \\
 0,88 &= \frac{\text{massa}}{268} \times \frac{1000}{100} \\
 &= 2,3584 \times 10^{-2} \text{ gr} \\
 &= 23,584 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Ditimbang 23,584 mg 2,6-diklorofenolindofenol dilarutkan dalam 100 mL akuades.

**5. 100 mL standar vitamin C 0,006 M dalam buffer phospat-sitrat**

$$\begin{aligned}
 M &= \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{V.larutan}} \\
 0,006 &= \frac{\text{massa}}{176} \times \frac{1000}{100} \\
 &= 0,1056 \text{ gr}
 \end{aligned}$$

Ditimbang 0,1 gr standar vitamin C dan dilarutkan dalam 100 mL buffer phospat sitrat.

**6. 100 mL larutan 2,6-diklorofenolindofenol  $9,3 \times 10^{-3}$  M untuk titrasi**

Ditimbang 0,5 gr 2,6-diklorofenolindofenol dan dilarutkan dalam 200 mL akuades.

**7. 100 mL  $\text{HPO}_3$  10 % untuk titrasi**

Ditimbang 10 gr  $\text{HPO}_3$  dan dilarutkan dalam 100 mL akuades.



## Lampiran 2

## PERHITUNGAN KONSENTRASI VITAMIN C

## 1. Secara spektrofotometri

## a. Sampel 1 (netto 200 mL)

Tabel 7. Data absorbansi sampel

No.	Absorbansi
1	0,619
2	0,624
3	0,622

Rata-rata absorbansi = 0,622

Persamaan kurva kalibrasi :  $y = bx + a$ 

$$\text{Maka : } 0,622 = -25,55x + 0,8084$$

$$x = \frac{0,622 - 0,8084}{-25,55}$$

$$x = 0,0073 \text{ mg/mL}$$

Faktor pengenceran 50 kali maka  $x = 0,365 \text{ mg/mL}$ 

Maka dalam 100 mL sampel terdapat vitamin C sebesar 36,5 mg.

**b. Sampel 2 (netto 125 mL)**

**Tabel 8. Data absorbansi sampel**

No.	Absorbansi
1	0,595
2	0,595
3	0,593

Rata-rata absorbansi = 0,594

Persamaan kurva kalibrasi :  $y = -25,55 x + 0,8084$

$$\text{Maka : } 0,594 = -25,55 x + 0,8084$$

$$x = \frac{0,594 - 0,8084}{-25,55}$$

$$x = 0,0084 \text{ mg/mL}$$

Faktor pengenceran 50 kali maka  $x = 0,42 \text{ mg/mL}$

Maka dalam 100 mL sampel terdapat vitamin C sebanyak 42,0 mg.

**c. Sampel 3 (netto 200 mL)**

**Tabel 9. Data absorbansi sampel**

No.	Absorbansi
1	0,557
2	0,558
3	0,557

Rata-rata absorbansi = 0,557

Persamaan kurva kalibrasi :  $y = -25,55 x + 0,8084$

$$\text{Maka : } 0,557 = -25,55 x + 0,8084$$

$$x = \frac{0,557 - 0,8084}{-25,55}$$

$$x = 0,0098 \text{ mg/mL}$$

Faktor pengenceran 50 kali maka  $x = 0,49 \text{ mg/mL}$

Maka dalam 100 mL sampel terdapat vitamin C sebanyak 49,0 mg.

## 2. Secara titrimetri

### a. Pembakuan larutan 2,6-diklorofenolindofenol

- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi blangko ( $V_0$ ) : 0,1 mL
- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi standar ( $V_1$ ) : 1,47 mL
- Bobot (mg) vitamin C yang setara dengan 10 mL larutan baku vitamin C

adalah :

$$\begin{aligned} \rightarrow V_1 - V_0 \\ &= 1,47 \text{ mL} - 0,1 \text{ mL} \\ &= 1,37 \text{ mL} \end{aligned}$$

Pada pembuatan larutan baku vitamin C, 0,03 gr vitamin C dilarutkan dalam 125 mL air.

$$\begin{aligned} \rightarrow 0,03 \text{ gr} / 125 \text{ mL} \\ &= 30 \text{ mg} / 125 \text{ mL} \\ &= 0,24 \text{ mg} / 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Maka dalam 10 mL larutan baku terdapat : 2,4 mg / 10 mL.

$$\rightarrow 2,4 \text{ mg vitamin C} \sim 1,37 \text{ mL 2,6-diklorofenolindofenol}$$

$$\rightarrow 1,75 \text{ mg vitamin C} \sim 1 \text{ mL 2,6-diklorofenolindofenol.}$$

**b. Penentuan kadar vitamin C dalam sampel 1**

- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi blangko ( $V_0$ ) : 0,1 mL
- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi sampel ( $V_1$ ) : 25,7 mL
- Volume sampel ( $V_2$ ) : 10 mL

- Kadar vitamin C : 
$$\frac{V_1 - V_0}{V_2} \times \text{kesetaraan}$$

$$: \frac{25,7 \text{ mL} - 0,1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1,75 \text{ mg}$$

$$: 4,48 \text{ mg}$$

Faktor pengenceran 2 kali maka :  $4,48 \times 2 = 8,96 \text{ mg}$

Jadi kadar vitamin C yang terdapat dalam 100 mL sampel adalah 35,8 mg.

**c. Penentuan kadar vitamin C dalam sampel 2**

- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi blangko ( $V_0$ ) : 0,1 mL
- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi sampel ( $V_1$ ) : 24,95 mL
- Volume sampel ( $V_2$ ) : 10 mL

- Kadar vitamin C : 
$$\frac{V_1 - V_0}{V_2} \times \text{kesetaraan}$$

$$: \frac{24,95 \text{ mL} - 0,1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1,75 \text{ mg}$$

$$: 4,35 \text{ mg}$$

Faktor pengenceran 2 kali maka :  $4,35 \times 2 = 8,697 \text{ mg}$

Jadi kadar vitamin C yang terdapat dalam 100 mL sampel adalah 34,8 mg.

**d. Penentuan kadar vitamin C dalam sampel 3**

- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi blangko ( $V_0$ ) : 0,1 mL

- Volume rata-rata 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi sampel ( $V_1$ ) : 34,2 mL

- Volume sampel ( $V_2$ ) : 10 mL

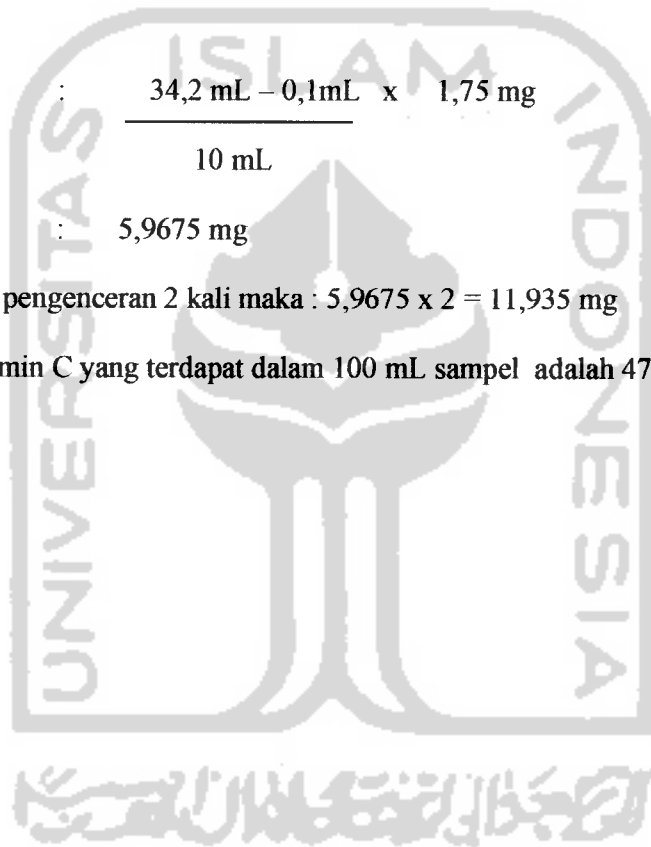
- Kadar vitamin C : 
$$\frac{V_1 - V_0}{V_2} \times \text{kesetaraan}$$

$$: \frac{34,2 \text{ mL} - 0,1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1,75 \text{ mg}$$

$$: 5,9675 \text{ mg}$$

Faktor pengenceran 2 kali maka :  $5,9675 \times 2 = 11,935 \text{ mg}$

Jadi kadar vitamin C yang terdapat dalam 100 mL sampel adalah 47,7 mg.



### Lampiran 3

## UJI DATA STATISTIK UNTUK LIMIT DETEKSI, KETELITIAN DAN KETEPATAN PADA PENENTUAN KADAR VITAMIN C MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI

### 1. Limit deteksi

Dari persamaan regresi linier  $y = -25,55x + 0,8084$  didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 10. Uji data statistik untuk parameter Limit deteksi

$x_i$	$x_i^2$	$y_i$	$\hat{y}_i$	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0,004	$1,6 \times 10^{-5}$	0,708	0,7062	$1,8 \times 10^{-3}$	$3,24 \times 10^{-6}$
0,008	$6,4 \times 10^{-5}$	0,607	0,6040	$3,0 \times 10^{-3}$	$9,00 \times 10^{-6}$
0,012	$1,4 \times 10^{-4}$	0,500	0,5018	$-1,8 \times 10^{-3}$	$3,24 \times 10^{-6}$
0,016	$2,6 \times 10^{-4}$	0,387	0,3996	$-1,2 \times 10^{-2}$	$1,59 \times 10^{-4}$
0,012	$4,0 \times 10^{-4}$	0,307	0,2974	$9,6 \times 10^{-3}$	$9,22 \times 10^{-5}$

$$\sum (y_i - \hat{y}_i)^2 = 2,67 \times 10^{-4}$$

$$\begin{aligned} \diamond S_{y/x} &= [\sum (y_i - \hat{y}_i)^2 / n - 2]^{1/2} \\ &= [2,67 \times 10^{-4} / 5 - 2]^{1/2} \end{aligned}$$

$$S_{y/x} = 9,4 \times 10^{-3}$$

$$\begin{aligned} \diamond y &= 3 S_{y/x} + a \\ &= 3 (9,4 \times 10^{-3}) + 0,8084 \end{aligned}$$

$$y = 0,8366$$

Maka nilai  $y$  untuk limit deteksi ditemukan 0,8366 mg/mL.





## 2. Ketelitian

Dari larutan standar vitamin C 0,02 mg/mL yang diuji sebanyak 5 kali didapatkan absorbansi : 0,319;0,301;0,293;0,310 dan 0,308 maka dari persamaan regresi linier  $y = -25,55x + 0,8084$  didapatkan data sebagai berikut :

**Tabel 11. Uji data statistik untuk parameter ketelitian**

$x_i$	$x_i^2$	$y_i$	$\hat{y}_i$	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0,01915	$3,667 \times 10^{-4}$	0,319	0,3191	$-1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-8}$
0,01986	$3,944 \times 10^{-4}$	0,301	0,3009	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-8}$
0,02017	$4,068 \times 10^{-4}$	0,293	0,2931	$-1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-8}$
0,01951	$3,806 \times 10^{-4}$	0,310	0,3099	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-8}$
0,01958	$3,834 \times 10^{-4}$	0,308	0,3081	$-1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-8}$

$$\sum (y_i - \hat{y}_i)^2 = 5 \times 10^{-8}$$

Dari data di atas di dapatkan persamaan regresi linier  $y = -25,494x + 0,8073$

$$\begin{aligned} \diamond S_{y/x} &= [ \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 / n-2 ]^{1/2} \\ &= [ 5 \times 10^{-8} / 5-2 ]^{1/2} \\ &= 1,29 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

$$\diamond t \text{ hitung} = \bar{x} - \mu / ( S_{y/x} / \sqrt{n} )$$

Dimana,  $\bar{x}$  : Konsentrasi rata-rata analisis

$\mu$  : Konsentrasi sebenarnya

Maka :

$$\begin{aligned} t \text{ hit.} &= 0,019654 - 0,02 / (1,29 \times 10^{-4} / \sqrt{5}) \\ &= -5,996 \end{aligned}$$

Dengan selang kepercayaan 95% nilai t tabel untuk derajat kebebasan n-1 = 2,78 jadi t hitung < t tabel ( -5,996 < 2,78 ) maka penetapan kadar dengan metode spektrofotometri UV-Vis dikatakan teliti.

### 3. Ketepatan

$$CV = (S_{y/x} / \bar{x}) 100\%$$

Dimana  $S_{y/x} = 1,29 \times 10^{-4}$

$$\bar{x} = 0,019654$$

maka :  $CV = (1,29 \times 10^{-4} / 0,019654) \times 100 \%$

$$= 0,657 \%$$

Jadi tingkat kesalahan pada penetapan kadar adalah 0,657 % dengan demikian maka penentuan kadar vitamin C dengan menggunakan metode ini mempunyai ketepatan yang tinggi yaitu 99,343 %.



## Lampiran 4

**UJI DATA STATISTIK UNTUK KETELITIAN DAN KETEPATAN  
PADA PENENTUAN KADAR VITAMIN C MENGGUNAKAN  
METODE TITRIMETRI**

**1. Ketelitian**

Dari pembakuan larutan 2,6-diklorofenolindofenol yang dilakukan sebanyak tiga kali maka didapatkan data sebagai berikut :

**Tabel 12. Uji data statistik untuk parameter ketelitian  
menggunakan metode Titrimetri**

$x_i$	$x_i^2$	$y_i$	$\hat{y}_i$	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
2,45	6,0025	1,5	1,50005	$-5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-9}$
2,29	5,2441	1,4	1,40004	$-5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-9}$
2,45	6,0025	1,5	1,50005	$-5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-9}$

$$\sum (y_i - \hat{y}_i)^2 = 7,5 \times 10^{-9}$$

Keterangan :

$x_i$  : Bobot (mg) vitamin C yang setara dengan 10 mL larutan baku vitamin C.

$y_i$  : Volume (mL) larutan 2,6-diklorofenolindofenol untuk titrasi.

Dari data di atas di dapatkan persamaan regresi linier  $y = 0,625x - 0,0312$

$$\begin{aligned} \diamond S_{y/x} &= [\sum (y_i - \hat{y}_i)^2 / n-2]^{1/2} \\ &= [7,5 \times 10^{-9} / 3-2]^{1/2} \\ &= 8,66 \times 10^{-5} \end{aligned}$$

$$\diamond t \text{ hitung} = \bar{x} - \mu / (S_{y/x} / \sqrt{n})$$

Dimana,  $\bar{x}$  : Bobot (mg) rata-rata analisis.

$\mu$  : Bobot (mg) sebenarnya.

$$\begin{aligned} \text{Maka : } t \text{ hit.} &= 2,396 - 2,4 / (8,66 \times 10^{-5} / \sqrt{3}) \\ &= -80 \end{aligned}$$

Dengan selang kepercayaan 95 % nilai t tabel untuk derajat kebebasan n-1 = 4,30 jadi t hitung < t tabel ( -80 < 4,30 ) maka dalam penentuan kadar vitamin C dengan metode ini memberikan hasil yang teliti.

#### 4. Ketepatan

$$CV = (S_{y/x} / \bar{x}) 100\%$$

Dimana  $S_{y/x} = 8,66 \times 10^{-5}$

$$\bar{x} = 2,396$$

$$\begin{aligned} \text{maka } CV &= (8,66 \times 10^{-5} / 2,396) \times 100 \% \\ &= 0,0036 \% \end{aligned}$$

Jadi tingkat kesalahan dalam penentuan kadar vitamin C adalah sebesar 0,0036 %, dengan demikian maka dalam penentuan kadar mempunyai ketepatan yang tinggi yaitu 99,9964 %.