

Evi Triyana Damayanti, dkk_Kimia Analitik

Perbandingan Metode Penentuan Vitamin C pada Minuman Kemasan Menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Vis dan Iodimetri

Evi Triyana Damayanti, Puji Kurniawati
Universitas Islam Indonesia D III Analisis Kimia
Jalan Kaliurang km 14,5 Sleman Yogyakarta 55584, Indonesia
e-mail: etriyanad@gmail.com

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil dari metode iodimetri dan spektrofotometer UV-Vis, untuk mengetahui metode yang akurat dalam menentukan kadar vitamin C. Hasil analisis vitamin C pada minuman kemasan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan iodometri masing-masing yaitu 202,1918 mg dan 238,2904 mg. Parameter penentuan vitamin C secara spektrofotometri UV-Vis meliputi uji presisi % RSD = 0,6585%, linearitas $r = 0,9958$, batas deteksi dan batas kuantifikasi, LOD = 2,1546 dan LOQ = 7,1819, dan akurasi % R = 105,38%. Penentuan vitamin C secara iodometri menunjukkan % RSD = 1,2402%. Hasil uji t pada kedua metode tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan.

Kata kunci: vitamin C, spektrofotometri UV-Vis, iodimetri

Abstract: The aim of this study was to compare the results of vitamin C analysis using iodimetry and UV-Vis spectrophotometry method. The results of vitamin C analysis on beverage packaging using UV-Vis spectrophotometry and iodimetry were 202.1918 mg and 238.2904 mg. The parameters of UV-Vis spectrophotometry method were precision (% RSD= 0.6585%), linearity ($r = 0.9958$), limit of detection (LOD = 2.1546), limit of quantitation (LOQ = 7.1819), and accuracy (% R = 105.38 %). The iodimetry method showed % RSD= 1,2402% for n=15. The results of t-test on both methods showed no significant difference.

Keywords: vitamin C, UV-Vis spectrophotometry, iodimetry

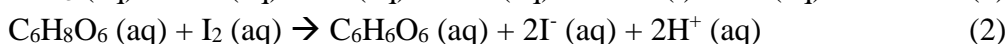
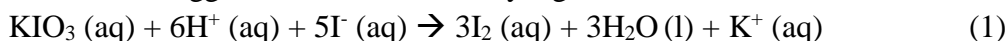
Vitamin C merupakan salah satu senyawa yang sangat dibutuhkan pada reaksi metabolisme tubuh. Kekurangan vitamin C pada makanan yang dikonsumsi dapat menyebabkan penurunan daya tahan tubuh. Jumlah kecukupan gizi terhadap konsentrasi vitamin per hari yang berhubungan dengan kesehatan harus disesuaikan dengan *Recommended Daily Allowance* (RDA) (Yuliarti, 2009). Penyakit *deficiency disease scurvy* dapat dicegah dengan asupan vitamin C paling sedikit 10 mg per hari (Weber, dkk., 1996). Kebutuhan vitamin C dapat dipenuhi dengan mengkonsumsi buah dan sayur. Perkembangan produksi makanan yang terus berkembang menyebabkan maraknya produk olahan buah dan sayur dalam bentuk makanan atau minuman kemasan. Produk turunan olahan buah dan sayur tersebut

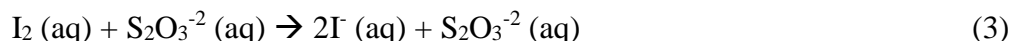
harus dipantau kandungan gizinya. Salah satunya adalah kandungan vitamin C pada produk minuman kemasan.

Proses aktivitas biologi dapat mengubah asam askorbat (vitamin C) menjadi *L-dehydroascorbic acid* (DHA) lewat proses oksidasi yang kemudian dapat diubah menjadi asam asetat dalam tubuh manusia (Al Majidi & Al Quruby, 2016). Metabolisme manusia tidak dapat mensintesis vitamin C karena tidak memiliki enzim gulonolaktose oksidase yang dapat mengubah glukosa menjadi asam askorbat di dalam hati yang biasanya terdapat pada mamalia (Padayatty, dkk., 2003). Selain itu, vitamin C dapat berfungsi sebagai antioksidan dan dapat mengurangi resiko kanker payudara, kolon, rektum, dan paru-paru (Al Majidi & Al Quruby, 2016). Menurut Permenkes RI Nomor 75 Tahun 2013 tentang Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan Bagi Bangsa Indonesia menyatakan bahwa kebutuhan vitamin C per hari minimal yaitu 40 - 50 mg (bayi di bawah 1 tahun), 40 mg (umur 1 - 3 tahun), 45 mg (umur 4 - 6 tahun), 45 - 50 mg (umur 7 - 12 tahun), 100 mg (wanita hamil) dan 150 mg (ibu menyusui).

Penentuan vitamin C pada bahan makanan dan minuman kemasan dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri dan titrasi. Metode spektrofotometri dapat dilakukan dengan metode oksidasi asam askorbat menjadi *dehydroascorbic acid* dalam larutan brom yang mengandung asam asetat kemudian dikomplekskan dengan 2,4-diitrofenilhidrazin (DNPH) dan diukur absorbansinya pada 521 nm (Kapur, dkk, 2012; Al Majidi & Al Quruby, 2016). Pembentukan senyawa kompleks dengan DNPH dilakukan pada suhu 37°C dan didinginkan dengan penangas es yang ditetesi dengan H₂SO₄ 85% (Mussa & Sharaa, 2014). Selain itu, penentuan vitamin C dapat dianalisis dengan menggunakan titrasi redoks berupa titrasi balik iodometri. Prinsip analisis ini adalah mereaksikan asam askorbat dengan iodin dan larutan iodin yang tersisa dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat. Penentuan vitamin C juga dapat dilakukan dengan proses titrasi menggunakan larutan *indophenol dye* (Kumar, dkk., 2013). Melo, dkk. (2006) melakukan titrasi vitamin C menggunakan 2,6-dichlorophenolindophenol (DCIP). Penentuan vitamin C juga dapat dilakukan dengan metode HPLC dan reaksi enzimatik (Bekele & Geleta, 2015).

Penelitian ini membandingkan penentuan vitamin C pada minuman kemasan dengan metode spektrofotometri dan titrasi. Prinsip analisis secara spektrofotometri UV dilakukan dengan mengukur vitamin C secara langsung pada panjang gelombang 265 nm karena vitamin C memiliki gugus kromofor, sedangkan metode titrasi yang digunakan adalah titrasi iodometri. Reaksi redoks yang terjadi pada titrasi iodometri dapat dilihat pada persamaan 1, 2 dan 3. Parameter Parameter pengujian dengan alat spektrofotometer UV-Vis ini meliputi presisi, linearitas, *Limit of Detection* (LOD), *Limit of Quantitation* (LOQ) serta akurasi. Titrasi iodimetri menggunakan bahan standar yang sudah distandardisasi.





METODE

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu : spektrofotometer UV-Vis (Hitachi UH 5300), alat-alat gelas, timbangan analitik (Ohaus P224), corong, buret, kertas saring, dan kuvet. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam askorbat (Merck), KIO_3 (Merck), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Merck), I_2 (Merck), H_2SO_4 (Merck), amilum (Merck), akuades dan sampel minuman kemasan yang mengandung vitamin C.

Cara Kerja :

Penentuan Kadar Vitamin C Dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Penetapan Kadar Sampel

Minuman kemasan disaring kemudian dipipet 0,5 mL, setelah itu filtratnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Filtrat ditambahkan aquades sampai tanda batas kemudian dihomogenkan. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yaitu 265 nm, diulang sampai 15 kali pengukuran.

Penentuan Akurasi Dengan *Spike Matrix*

Minuman kemasan disaring kemudian dipipet 0,5 mL, setelah itu filtratnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Filtrat ditambahkan 2 mL larutan induk vitamin C 100 ppm kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas dan homogenkan. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 265 nm dan dilakukan pengujian duplo.

Penentuan Kadar Vitamin C Dengan Titrasi Iodimetri

Vitamin C pada minuman kemasan ditetapkan dengan larutan Iodium yang sudah distandarisasi, yaitu dengan cara dipipet 10 mL larutan sampel lalu dimasukkan ke dalam erlemeyer. Larutan ditambahkan 1,2 mL larutan H_2SO_4 10 %, ditambahkan beberapa tetes larutan amilum 1% dan dititrasi dengan larutan I_2 standar sampai berwarna biru diulang 15 kali.

HASIL

Hasil Analisis Vit C Dengan Spektrofotometer UV-Vis

Tabel 1. Karakteristik Performa Kurva Kalibrasi

Parameter	Nilai
Koefisien determinasi (R^2)	0,990
Koefisien korelasi (R)	0,995
Intersep, abs	0,074
Slope, $\text{abs} \cdot \text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$	0,051

Tabel 2. Penentuan LOD dan LOQ

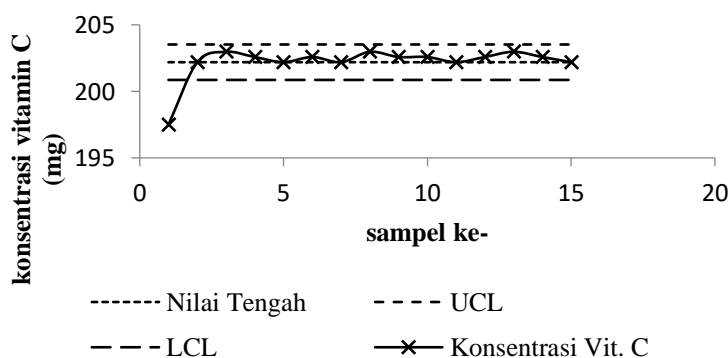
C asam askorbat (ppm)	absorbansi (y)	\hat{y}	(y - \hat{y})	(y - \hat{y}) ²
2	0,162	0,1756	-0,0136	0,000185
4	0,248	0,2778	-0,0298	0,000888
8	0,512	0,4822	0,0298	0,000888
12	0,727	0,6866	0,0404	0,001632
16	0,904	0,891	0,013	0,000169
20	1,055	1,0954	-0,0404	0,001632
			Σ	0,005394
SD	0,0367			
LOD	2,1546			
LOQ	7,1819			

Tabel 3. Penentuan Presisi

sampel	Absorbansi sampel	konsentrasi (ppm) x	$\bar{x} - \hat{x}$	($\bar{x} - \hat{x}$) ²	Konsentrasi sampel (mg)
1	0,578	1974,951076	-46,966732	2205,873905	197,4951076
2	0,59	2021,917808	0,000000	0,000000	202,1917808
3	0,592	2029,745597	7,827789	61,274275	202,9745597
4	0,591	2025,831703	3,913894	15,318569	202,5831703
5	0,59	2021,917808	0,000000	0,000000	202,1917808
6	0,591	2025,831703	3,913894	15,318569	202,5831703
7	0,59	2021,917808	0,000000	0,000000	202,1917808
8	0,592	2029,745597	7,827789	61,274275	202,9745597
9	0,591	2025,831703	3,913894	15,318569	202,5831703
10	0,591	2025,831703	3,913894	15,318569	202,5831703
11	0,59	2021,917808	0,000000	0,000000	202,1917808
12	0,591	2025,831703	3,913894	15,318569	202,5831703
13	0,592	2029,745597	7,827789	61,274275	202,9745597
14	0,591	2025,831703	3,913894	15,318569	202,5831703
15	0,59	2021,917808	0,000000	0,000000	202,1917808
\bar{x}		2021,917808			
SD	1,331382				
%RSD	0,658475				

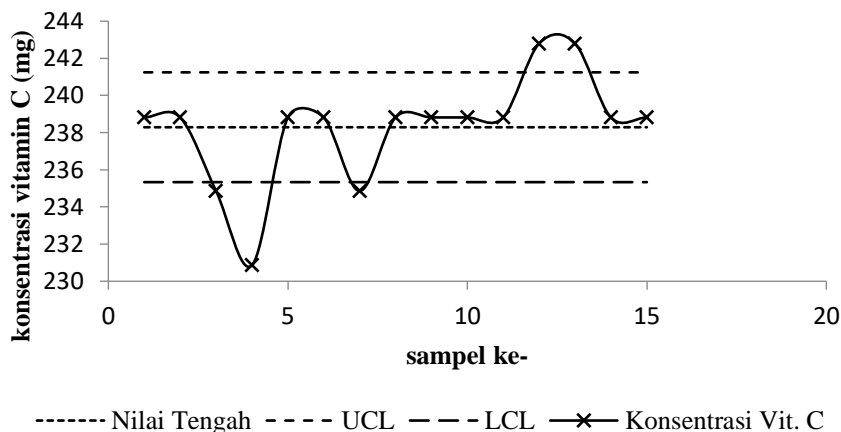
Tabel 4. Penentuan Persen Temu Balik (% Recovery, %R)

Spike	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
1	0,668	12,2172
2	0,668	12,2172
%R	105,38%	



Gambar 1. Control Chart Penentuan Vitamin C secara Spektrofotometri UV-Vis

Hasil Analisis Vit C Dengan Metode Iodimetri



Gambar 2. Control Chart Penentuan Vitamin C secara Iodometri

Tabel 5. Penentuan Uji T

	197,4951076	238,8187
Mean	202,5272575	238,2527
Variance	0,090901397	9,382873
Observations	14	14
Pearson Correlation	0,092819352	
Hypothesized Mean Difference	0	
Df	13	
t Stat	-43,82737428	
P(T<=t) one-tail	8,2369E-16	
t Critical one-tail	1,770933396	
P(T<=t) two-tail	1,64738E-15	
t Critical two-tail	2,160368656	

PEMBAHASAN

Penentuan Vitamin C secara Spektrofotometri UV-Vis Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan karena panjang gelombang suatu senyawa dapat berbeda bila ditentukan pada kondisi dan alat yang berbeda. Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) merupakan panjang gelombang dimana terjadi eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi maksimum. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengukur perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi yang paling besar untuk mendapatkan panjang gelombang dimana kepekaan analisis yang maksimum diperoleh (Gandjar & Rohman, 2007). Pada penentuan panjang gelombang ini didapatkan 265 nm, yang menunjukkan bahwa serapan vitamin C berada pada daerah UV karena masuk rentang panjang gelombang 200 - 400 nm.

Linearitas

Linearitas adalah kemampuan (dalam rentang) metode analisis memberikan respon secara langsung atau bantuan transformasi matematik yang baik, untuk mendapatkan hasil dari variabel data (absorbansi dan rentang kurva) dimana secara langsung proporsional dengan konsentrasi (sesuai analit) dalam contoh kisaran yang ada, serta untuk mengetahui kemampuan standar dalam mendeteksi analit dalam contoh (Chan, dkk., 2004). Syarat nilai koefisiensi korelasi (r) yang didapat harus memiliki nilai $> 0,995$ (Ermer & Miller, 2005). Penentuan kurva kalibrasi dilakukan dengan menganalisis serangkaian konsentrasi larutan standar vitamin C yaitu asam askorbat dengan rentang konsentrasi 4 - 20 ppm. Hasil penentuan linearitas dapat dilihat pada Gambar 1 yaitu nilai $r = 0,9958$ dan memberikan persamaan linear yaitu $y = 0,051x + 0,074$. Berdasarkan hasil tersebut, koefisien korelasi yang diperoleh menunjukkan adanya linearitas antara variabel x dan y .

Presisi

Presisi menunjukkan adanya derajat kesesuaian hasil uji yang dilakukan secara individual, yang merupakan penyebaran hasil uji secara individual dari nilai rata-rata dimana proses analisis dilakukan berulang pada sampel yang berasal dari campuran homogen (Riyanto, 2014). Nilai presisi dapat ditentukan dengan membandingkan *Relative Standard Deviation* (RSD) atau *Coefficient Variation* (CV) dengan syarat keberterimaan. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai $\% RSD \leq 2\%$ (Harmita, 2004). Berdasarkan data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai standar deviasi yang diperoleh sebesar 13,31382 dan nilai $\%$ standar deviasi relative ($\% RSD$) sebesar 0,658475%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode uji yang digunakan pada penentuan vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Visibel memenuhi syarat nilai $\% RSD$ yang diterima. Nilai penentuan vitamin C secara spektrofotometer UV-Vis adalah 202,192 mg dan nilai tersebut tidak sesuai dengan AKG yang tertera pada produk. Hal tersebut dapat terjadi karena vitamin C dapat mengalami oksidasi dengan udara sehingga hasil analisis dapat mengalami ketidaksesuaian jika tidak dianalisis dengan cepat.

Akurasi (Accuracy)

Kedekatan nilai hasil uji dari harga sebenarnya dapat dinyatakan dengan nilai akurasi. Nilai akurasi ini merupakan ukuran prosedur analisis dapat tepat mengukur konsentrasi analit yang sebenarnya (Mursyidi & Rohman, 2007). Tabel 4 menunjukkan bahwa hasil $\%$ *recovery* yang diperoleh yaitu sebesar 105,38%. Menurut Harmita (2004), *range* nilai $\%$ *recovery* analit yang dapat diterima adalah 99-110%. Nilai $\%$ *recovery* yang diperoleh masuk dalam *range* yang dapat diterima sehingga dapat dikatakan metode ini memiliki akurasi yang baik.

LOD dan LOQ

Limit of Detection (LOD) atau batas deteksi merupakan jumlah atau konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi, namun tidak perlu diukur sesuai dengan nilai sebenarnya. *Limit of Quantitation* (LOQ) atau batas kuantitasi adalah jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif pada tingkat ketelitian dan kerapatan yang baik. Hasil dari penentuan LOD dan LOQ dapat dilihat pada Tabel 1. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai LOD 2,1546 mg/L, nilai ini menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Sedangkan LOQ sebesar 7,1819 mg/L yang artinya pada konsentrasi tersebut bila dilakukan pengukuran masih dapat memberikan kecermatan.

Penentuan Vitamin C secara Iodimetri

Titration iodometri merupakan jenis reaksi redoks yang mengukur jumlah iodin yang tersisa dari hasil reaksi redoks antara vitamin C dengan reaktan. Indikator yang digunakan adalah amilum yang ditambahkan saat sudah mendekati titik akhir titrasi. Hal tersebut dilakukan agar amilum tidak membungkus iodine sehingga penentuan titik akhir dapat ditentukan secara tepat. Titrasi ini menggunakan baku iodine (I_2) digunakan untuk senyawa-senyawa yang bersifat reduktor yang cukup kuat seperti vitamin C (Mursyidi & Rohman, 2007). Hasil analisis vitamin C dengan titration iodimetri dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil analisis iodometri dari replikasi sebanyak 15 kali menunjukkan nilai % RSD 1,2402% sehingga data hasil penentuan vitamin C memiliki tingkat presisi yang baik. Nilai konsentrasi vitamin C yang diperoleh yaitu 238,2904 mg dan kesesuaian nilai tersebut jauh dari nilai AKG yang tercantum dalam produk minuman kemasan. Analit yang dapat mengalami reaksi oksidasi dengan udara menyebabkan nilai analisisnya di bawah nilai sebenarnya.

Uji t (*t Test*)

Uji t digunakan untuk membandingkan nilai rata-rata dari dua populasi dengan selang kepercayaan tertentu. Pengujian dua kelompok data tersebut memberikan informasi adanya perbedaan kedua varian data yang diuji. Jika t hitung $< t$ Tabel maka kedua rata-rata tidak berbeda secara signifikan dan sebaliknya jika t hitung $> t$ Tabel maka kedua rata-rata berbeda secara signifikan (Rohman, 2014). Varian kedua kelompok yang diuji pada penelitian ini yaitu hasil analisis vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan hasil analisis vitamin C menggunakan metode iodimetri. Hasil yang diperoleh yaitu dapat dilihat pada Tabel 5, dengan nilai t hitung $\leq t$ Tabel ($-43,8274 < 1,7709$), yang dapat dikatakan bahwa kedua metode tersebut tidak berbeda secara signifikan.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil yang didapat, kedua metode penentuan vitamin C ini tidak berbeda secara signifikan. Dilihat dari hasil uji t nilai t hitung \leq t Tabel. Hasil pengukuran menunjukkan adanya ketidaksesuaian antara hasil analisis dengan nilai AKG yang tercantum dalam produk dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan titrasi iodometri. Kondisi ini terjadi karena vitamin C dapat mengalami oksidasi dengan udara sehingga pengukuran vitamin C harus dilakukan dengan cepat.

Penentuan vitamin C secara spektrofotometri harus dilakukan pengompleksan untuk menjaga kestabilan senyawa. Perlu dilakukan variasi pelarut pada pengujian vitamin C, misalnya etanol pa, untuk mempersempit daerah pergeseran batokromik. Perlu dilakukan pengujian kadar vitamin C pada jenis makanan, suplemen, serta buah dan sayur segar.

DAFTAR RUJUKAN

- Al Majidi, M. I. H. & Al Quruby, H. Y. 2016. Determination of Vitamin C (ascorbic acid) Contents in Various Fruit and Vegetable by UV-Spectrophotometry and Titration Methods. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 9(4): 2972-2974.
- Bekele, D.A & Geleta, G.S. 2015. Iodometric Determination of the Ascorbic Acid (Vitamin C) content of some Fruits consumed in Jimma Town Community in Ethiopia. *Res. J. Chem. Sci*, 5(1): 60-63.
- Chan, C.C., Herman Lam, Y.C.L., & Xue, M.Z. 2004. *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc Publication.
- Ermer, J.H. & Miller, M. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA.
- Gandjar, G.H. & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Jurnal Majalah Ilmu Komunikasi*, 1(3): 117-135
- Kapur, A., Haskovic, A., Copra-Janicijevic, A., Klepo, L., Topcagic, A., tahirovic, I., & Sofic, E. 2012. Spectrophotometric Analysis of Total Ascorbic Acid Content in Various Fruits and Vegetables. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 38: 39-42.
- Kerkenkes. 2013. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 75 Tahun 2013 tentang Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan Bagi Bangsa Indonesia*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.

- Kumar, G. V., Kumar, A., Patel, G.R.R., & Manjappa, S. 2013. Determination of Vitamin C in some fruits and vegetables in Davanagere city (Karnataka)-India. *Int. J. Of Pharm. & Life Sci*, 4(3): 2489-2491.
- Melo, E.A., Lima, V.L.A.G., Maciel, M.I.S., Caetano, A.C., & leal, F.L.L. 2006. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Braz. J. Food Technol*, 9(2): 89-94.
- Mursyidi, A. & Rohman. A. 2007. *Pengantar Kimia Farmasi Analisis Volumetri dan Gravimetri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Mussa, S. B. & Sharaa, I.E. 2014. Analysis of Vitamin C (ascorbic acid) Contents Packed Fruit Juice By UV-Spectrophotometry and Redox Titration Methods. *IOSR Journal of Applied Physics*, 6(5): 46-52.
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., & Levine, M. 2003. Vitamin C as An Antioxidant: Evaluation of its Role in Disease Preventive. *Journal of American Collage of Nutrition*, 22(1): 18-35.
- Riyanto, 2014. *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Yogyakarta: Deepublish.
- Rohman, A. 2014 *Statika dan Kemometrika Dasar dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Weber, P., Bendich, A., & Schalch, W. 1996. Vitamin C and Human Health – A Review of Recent data relevant to human requirements. *Intl. J. Vitam. Nutr. Res*, 66(1): 19-30.
- Yuliarti, N. 2009. *A To Z Food Supplement*. Yogyakarta: Andi.