

**TINJAUAN PROSES PENENTUAN PROSEDUR KADAR VITAMIN C
SECARA KIMIA DI PT. TEKAD MANDIRI CITRA**

Hadi Pranoto dan Meiti Rosmiati

Politeknik Piksi Ganesha Bandung

E-mail: hadipranoto182@gmail.com dan maytearose@gmail.com

Diterima:

25 September
2021

Direvisi:

Disetujui:

Abstrak

Asam askorbat adalah senyawa kimia yang disebut juga vitamin C dengan rumus molekul $C_6H_8O_6$ larut dalam air dan memiliki sifat antioksidan. Karena sifatnya yang menguntungkan bagi kesehatan, maka kebutuhan manusia akan vitamin C semakin meningkat. Semakin berkembangnya produk-produk makanan, minuman, obat-obatan dsb, yang mengandung vitamin C maka diperlukan pengawasan terhadap kadar vitamin C dalam produk obat jadi tersebut. Dalam penelitian ini dilakukannya validasi metode analisis vitamin C dengan spektrofotometri UV-Visibel yang selanjutnya digunakan untuk analisis vitamin C pada obat jadi. Parameter metode validasi dalam penelitian ini meliputi uji presisi, uji linearitas, uji selektifitas, batas deteksi, batas kuantifikasi, dan uji akurasi. Akurasi dari metode ini ditentukan berdasarkan hasil perolehan kembali menggunakan metode spike standar, sedangkan presisi diukur dengan menghitung simpangan baku relative. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa metode analisis dalam penetapan kadar asam askorbat dengan spektrofotometri UV-Visible merupakan metode yang baik digunakan, relative murah dan mudah yang dapat menghasilkan ketelitian dan ketepatan yang tinggi.

Kata kunci: *Asam askorbat, validasi metode analisis dan spektrofotometri UV-Visibel*

Abstract

Ascorbic acid is a chemical compound also known as vitamin C with molecular formula $C_6H_8O_6$ dissolve in water and has antioxidant properties. Because it is beneficial to health, the human need for vitamin C increases. The continued development of food products, beverages, medicines, etc., which contain vitamin C it is necessary to supervise the levels of vitamin C in the product. In this study does validate methods of analysis of vitamin C with UV-visible spectrophotometry was then used for analysis of vitamin C in the finished drug product. Parameter validation methods in the study include a test of precision, linearity test, test of selectivity, detection limit, quantification limit, the test sample, and test accuracy. The accuracy of this method is determined based on the results of spike recoveries using standard methods, while the precision is measured by calculating the relative standard deviation of repeated measurements by ten times. From the results of the study concluded that the method of analysis in the determination of ascorbic acid levels by UV-Visible spectrophotometry is an excellent method to use, relatively inexpensive and easy to

produce high precision and accuracy.

Keywords: Ascorbic acid, validation of analytical methods and UV-visible spectrophotometry

Pendahuluan

Vitamin C adalah salah satu zat gizi yang berperan sebagai antioksidan efektif atau mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan, termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi (Tambunan, Ningsih, Ayu, & Nanda, 2018). Vitamin C merupakan vitamin yang termasuk dalam kelompok vitamin larut dalam air dan dikenal sebagai vitamin anti askorbut karena berkhasiat menyembuhkan penyakit skorbut. Vitamin C dikonsumsi untuk melengkapi kebutuhan tubuh akan vitamin C, terutama ketika asupan vitamin C dari makanan tidak bisa memenuhi kebutuhan tubuh (Niryani, 2018). Namun, vitamin C hanya digunakan sebagai pelengkap kebutuhan nutrisi tubuh, bukan sebagai pengganti nutrisi dari makanan (Kurniawan & Amirah, 2019).

Kebutuhan vitamin C yang dianjurkan Angka Kecukupan Gizi (AKG) bagi laki-laki dan perempuan berusia lebih dari 13 tahun sebesar 60 mg/hari (Suria & Puspowati, 2017). Keadaan *stress metabolic* seperti tindakan operatif, trauma, kanker, dan luka bakar meningkatkan kebutuhan vitamin C. Penggunaan pil anti hamil dan kebiasaan merokok menurunkan kadar vitamin C plasma (Halimah & Satria, 2015). Dosis 60 mg/hari tersebut dibuat berdasarkan kebutuhan rata-rata untuk mencegah penyakit skorbut (Tiowati, 2020). Namun beberapa bukti ilmiah perlunya meningkatkan asupan vitamin C karena dihubungkan dengan upaya untuk menurunkan penyakit kronis seperti penyakit kardiovaskuler, kanker, dan katarak. Vitamin C diberikan 100-200 mg/hari dan tidak melebihi 1000 mg/hari, hal ini dianggap cukup untuk melindungi tubuh dari penyakit dan pemberian dosis melebihi 1000 mg/hari dapat memberikan efek samping (Islamy, 2020).

Defisiensi vitamin C dapat menimbulkan beberapa gejala, dari yang ringan sampai berat. Defisiensi ringan ditandai dengan timbulnya kelelahan, anoreksia, nyeri otot dan lebih mudah stress dan infeksi, sedangkan defisiensi berat menimbulkan penyakit skorbut. Bila pengobatan yang diberikan terlambat dapat menyebabkan kematian (Ningsih, 2017).

Vitamin C sebenarnya merupakan vitamin yang relatif tidak toksik, tetapi pernah dilaporkan asupan 1gram/hari dapat menimbulkan mual dan diare, tes glukosa darah kurang akurat dan terbentuknya batu ginjal (Tandra, 2017). Konsumsi vitamin C berlebihan dapat menyebabkan *rebound scurvy*, sehingga individu yang telah terbiasa mengkonsumsi dalam jumlah yang banyak, bila hendak menghentikan kebiasaan tersebut harus secara bertahap (Wardaya, Sumego, & Utami, 2019).

Metode Penelitian

Dalam penelitian ini, vitamin C diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Contoh uji yang digunakan adalah berasal dari obat jadi yang sering beredar dipasaran. Obat jadi ditimbang selanjutnya diencerkan sepuluh kali dengan menggunakan aquabides. Alat dan Bahan Alat yang digunakan : spektrofotometri UV-Vis dengan sistem optik radiasi berkas ganda (*double beam*). Alat alat gelas seperti: *beaker* gelas, pipet ukur, pipet gondok, labu ukur, pipet tetes, cuvet, neraca analitik, botol semprot. Dan bahan penelitian ini meliputi : Asam askorbat (vitamin C) (s), *Aquabidest* (aq), Obat jadi

yang beredar di pasaran. Prosedur Percobaan metode ini menggunakan metode spektrofotometri dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis.

Hasil dan Pembahasan

Penentuan panjang gelombang maksimum dari vitamin C dilakukan dengan menggunakan larutan standar vitamin C pada konsentrasi 6 ppm dan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 160-800 nm. diperoleh nilai panjang gelombang maksimum terjadi pada daerah panjang gelombang 266 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,788. Linieritas adalah kemampuan metode analisis untuk menghasilkan respon yang sesuai terhadap konsentrasi analit yang terdapat didalam sampel, kemudian diperoleh data konsentrasi versus absorbansi seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Data Absorbansi Larutan Standar Vitamin C

No	Konsentrasi larutan standar vitamin C (mg/L)	Absorbansi
1	0	0,26
2	1	0,259
3	2	0,246
4	3	0,26
5	4	0,26
6	5	0,26
7	6	0,247
8	7	0,246
9	8	0,259
10	9	0,249
11	10	0,246

Diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) pada penentuan kadar vitamin C dalam obat jadi sebesar 0,9956. Nilai koefisien determinasi yang didapat mendekati satu dan sesuai dengan syarat keberterimaan yaitu nilai koefisien determinasi hasil uji linieritas adalah $> 0,9970$ (Chan, 2004).

Limit Of Detection (LOD) dan *Limit Of Quantitation* (LOQ) merupakan nilai konsentrasi analit terkecil yang mampu menghasilkan signal cukup besar sehingga mampu terdeteksi. LOQ adalah konsentrasi analit yang menghasilkan signal lebih besar dari blanko atau konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang masih bisa diukur dengan menggunakan presisi dan akurasi yang baik, sesuai kondisi prosedur yang telah disepakati (Riyanto, 2014). Nilai LOD dan LOQ penelitian yang menggunakan metode kurva kalibrasi merupakan nilai konsentrasi terkecil analit yang dapat diukur oleh instrument. Penentuan LOD dan LOQ dengan blanko pada analisis kadar vitamin C dalam sampel obat jadi dengan spektrofotometri UV-Vis double beam didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 2. Data hasil uji LOD dan LOQ larutan standar vitamin C dengan spektrofotometri UV-Vis.

Konsentrasi standar	Absorbansi (Y)
0	0
1	0,26
2	0,259
3	0,246
4	0,26
5	0,26
6	0,247
7	0,246
8	0,259
9	0,249
10	0,246
Sy/x	0,0225
LOD	0,83077
LOQ	2,76923

Besarnya standar deviasi residual dapat dihitung dengan persamaan :

$$S(y/x) = \sqrt{\sum(y-y_i)^2}$$

Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai limit deteksi pada penentuan larutan standar vitamin C dengan spektrofotometri UV-Vis adalah sebesar 3,1781 mg/L. Nilai ini menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat terukur oleh spektrofotometri UV-Vis. Jadi, untuk analisis kadar vitamin C dengan spektrofotometri masih dapat terbaca serapannya dengan batas limit 3,1781 mg/L. Hasil limit kuantitasi yang diperoleh sebesar 0,9521 mg/L nilai ini menunjukkan kuantitas terkecil dari analit yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

Presisi adalah suatu nilai yang menunjukkan kedekatan antara hasil uji satu dengan hasil uji lainnya dalam satu rangkaian pengujian (Aprilia, 2018). Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif dan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (repeatability) atau ketertiruan (*reproducibility*). Kriteria umum keberterimaan nilai presisi yaitu dengan memberikan nilai simpangan baku relatif (RSD) sesuai persyaratan yaitu apabila $\%RSD \leq 2\%$ atau $\%RSD < \%CV$ Horwitz. Namun kriteria ini fleksibel tergantung konsentrasi analit yang dianalisis, jumlah sampel dan kondisi laboratorium (Setyawan, 2018). Presisi penentuan kadar vitamin C dengan spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Data hasil pengujian kadar vitamin C dalam obat jadi dengan spektrofotometri UV-Vis.

Konsentrasi contoh (x)	$x-\bar{x}$	$(x-\bar{x})^2$
1,5389	-0,0333	0,0011
1,6387	0,0665	0,0044
1,5389	-0,0333	0,0011
$\bar{X}=1,5722$		$\sum=0,0066$

Hasil uji presisi pada validasi metode penentuan kadar vitamin C dalam obat jadi ini adalah sebesar 3,66% sedangkan nilai %CV Horwitz diperoleh sebesar 14,94%. Suatu metode pengujian dikatakan selektif jika metode memberikan nilai simpangan baku relatif (%RSD) atau presisi sebesar $\leq 2\%$ (Pratama, Pirdaus, Rinawati, Sagala, & Suhelmi, 2016). Sedangkan menurut Kantasubrata (2011), syarat keberterimaan penentuan presisi dalam bentuk keterulangan (*repeatability*) yaitu, jika nilai %RSD lebih kecil atau sama dengan %CV Horwitz, sehingga bisa dikatakan bahwa metode uji yang digunakan ini memiliki ketelitian yang tinggi dan bisa digunakan sebagai metode uji penentuan kadar vitamin C dalam obat jadi.

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan nilai kedekatan hasil uji dengan kadar sebenarnya atau nilai acuan yang telah ditentukan (Iskandar, Panggabean, & Kartika, 2017). Akurasi dapat ditentukan melalui dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode adisi yaitu dengan menambahkan larutan standar ke dalam sampel dengan konsentrasi tertentu atau biasa disebut larutan spike. Konsentrasi yang ditambahkan adalah 100 mg/L sebanyak 0,4 mL ke dalam sampel 0,15 mL kemudian ditambah dengan akuades 9 mL.

Tabel 4. Data absorbansi dan konsentrasi contoh serta contoh spike pada pengujian vitamin C secara spektrofotometri UV-Vis.

Data	Absorbansi		Rata-rata		Konsentrasi (mg/L)
Contoh Spike	0,333	0,332	0,332	0,332	6,4491
Contoh	0,086	0,091	0,086	0,088	1,5788
% Recovery					116,51%

Hasil uji akurasi (% *Recovery*) penentuan kadar vitamin C dalam obat jadi yaitu sebesar 116,51%. Menurut Harmita (2004) nilai *recovery* yang diterima pada konsentrasi ppm yaitu 110-120%. Ketidakpastian Pengukuran Ketidakpastian pengukuran merupakan tingkat kesalahan yang tidak diketahui yang tersisa dalam pengukuran. Terdapat tiga tahapan menentukan ketidakpastian yaitu ketidakpastian baku, ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas. Rumus untuk menentukan kadar Vitamin C pada obat jadi untuk penelitian ini adalah rumus penetapan kadar selanjutnya nilai ketidakpastian pengukuran pada pengujian vitamin C dipengaruhi oleh konsentrasi dari kurva kalibrasi, massa sampel obat jadi, volume pengambilan sampel yang terdiri dari pipet ukur 1 mL, pipet ukur 10 mL, volume total larutan yang terdiri dari labu ukur 10 mL, keterulangan (*repeatability*), berat molekul vitamin (C₆H₈O₆), dan kemurnian bahan. Hasil validasi Setelah pengujian dilakukan validasi terhadap proses pengujian vit c secara spektrofotometri dengan mengevaluasi kesesuaiannya dengan parameter parameter yang sesuai dengan tabel berikut ini.

Tabel 5. Hasil Validasi menggunakan spektrofotometri uv-vis.

Parameter	Parameter Dalam Prosedur Validasi				
	Identiti	Impurities		Potensi	Komposisi
		Quantiti	Limits		
Akurasi		√		√	√
Presisi		√		√	√
Spesifisitas	√	√	√	√	√
Robustness	√	√	√	√	√
Linearitas dan Range		√		√	√
LOD	√		√		
LOQ		√			

Dari hasil evaluasi tersebut pengujian vitamin C dengan cara spektrofotometri telah memenuhi parameter akurasi dimana hasilnya menunjukkan angka yang memenuhi standar yang ditetapkan, parameter presisi menunjukkan hasil angka yang tidak memberikan deviasi terlalu besar, parameter spesifitas menunjukkan evaluasi tersebut memberikan hasil spesifitas kepada zat aktif vitamin C, berdasarkan parameter *robustness* menunjukkan bahwa metode spektrofotometri tidak terpengaruh oleh perubahan kondisi biarpun dalam setiap kondisi pengujian dikondisikan agar terdapat lingkungan yang seperti suhu, kelembaban, perubahan ph, reagenya, dan berdasarkan parameter linearitas dan range metode tersebut memberi respon profesional dan dalam rentang atau range dengan hasil deviasi yang kecil.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil validasi metode penentuan kadar vitamin C obat jadi adalah akurasi metode bagus dilihat dari %recovery yaitu sebesar 116,51% yang masuk dalam nilai rata-rata. Presisi menunjukkan hasil angka yang tidak memberikan deviasi terlalu besar. Spesifitas menunjukkan evaluasi tersebut memberikan hasil spesifitas kepada zat aktif vitamin C. Nilai linieritas yang didapat dari koefisien determinasi (R^2) yaitu sebesar 0,9956 dan telah memenuhi persyaratan yang baik. Nilai LOD dan LOQ dari pengujian yang didapat adalah 0,83077 mg/L dan 2,7692 mg/L. Kadar vitamin C pada Obat jadi didapat nilai sebesar 3,1781.

Bibliografi.

- Aprilia, Anisa Cahyani. (2018). *Validasi Metode Penentuan Nilai Kalori Batu Bara Menggunakan Bom Kalorimeter Di Balai Pengujian Dan Identifikasi Barang Tipe A Jakarta.*
- Halimah, Nuur, & Satria, Andry Praja. (2015). *Analisis Praktik Klinik Keperawatan pada Pasien Diabetes Melitus Tipe II, Hepatitis B, dan Dekubitus Grade 2 Terhadap Pemberian Posisi Miring 30 Derajat di Ruang High Care Unit RSUD Abdul Wahab Syahrani Samarinda Tahun 2015.*
- Iskandar, Bayu, Panggabean, Aman Sentosa, & Kartika, Rudi. (2017). Validasi metode penentuan arsenik pada sampel air sumur bor dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom di PT. Geoservices Balikpapan. *Prosiding Seminar Kimia*, 34–39.

- Islamy, Rithio Chandraca. (2020). *Pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (Ocimum Citriodorum) terhadap jumlah neutrofil tikus jantan yang dipapar asap rokok*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Kurniawan, Yusup Adi, & Amirah, Zahrotul. (2019). *Inovasi Pengolahan Singkong Dengan Standart Menu Chinese Food Sebagai Makanan Pokok Pengganti Nasi*. Surabaya: Politeknik NSC Surabaya.
- Ningsih, Ulfa Dwi. (2017). *Perbedaan Kadar Vitamin C Pada Buah Kersen (Muntingia calabura L.) Berwarna Merah dan Hijau Muda*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Niryani, Puput. (2018). *Faktor Risiko Gizi dan Antioksidan terhadap Kejadian Anemia pada Remaja Putri di MTs Nurul Ulum Karangasawah Kecamatan Tonjong Kabupaten Brebes*. Semarang: Muhammadiyah University Semarang.
- Pratama, Dian Septiani, Pirdaus, Purna, Rinawati, Rinawati, Sagala, Sophia L., & Suhelmi, Ifan Suhelmi R. (2016). Validasi metode analisis logam Na, K, Mg dan Ca pada air tua (bittern) menggunakan Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer (MP-AES). *Jurnal Standardisasi*, 17(3), 187–198.
- Riyanto, H. Yatim. (2014). *Paradigma Baru pembelajaran: Sebagai referensi bagi pendidik dalam Implementasi Pembelajaran yang Efektif dan berkualitas*. Jakarta: Prenada Media.
- Setyawan, Ajrieh. (2018). Validasi Metode Analisis Logam Pada Limbah Radioaktif Cair Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom. *Buletin Limbah Vol. 15 No. 1 Tahun 2018*, 15.
- Suria, Rafirana Narawesti, & Puspawati, Susi Dyah. (2017). *Hubungan Antara Pengetahuan Tentang Anemia, Tingkat Konsumsi Protein, Zat Besi, Dan Vitamin C Dengan Kadar Hemoglobin Pada Siswa Sekolah Menengah Atas Di Sman 3 Ponorogo*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Tambunan, Lilis Rosmainar, Ningsih, Widia, Ayu, Ni Putu, & Nanda, Haula. (2018). Penentuan Kadar Vitamin C Beberapa Jenis Cabai (Capsicum sp.) dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Kimia Riset*, 3(1), 1–5.
- Tandra, Hans. (2017). *Segala sesuatu yang harus anda ketahui tentang diabetes*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Tiowati, Sulis. (2020). *Pengaruh Pemberian Tablet Fe Dan Vitamin C Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin Pada Ibu Hamil Trimester Iii Dengan Anemia Di Pmb Nurhasanah Bandar Lampung Tahun 2020*. Lampung: Poltekkes Tanjungkarang.
- Wardaya, Wardaya, Sumego, Mintoro, & Utami, Desi Sundari. (2019). Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Asam Urat Dan Superoxide Dismutase Di Ketinggian 25.000 Kaki Pada Siswa Susjursartakes. *Jurnal Kesehatan Aeromedika*, 5(2), 48–53.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).