

TEKNIK KOREKSI LATAR BELAKANG  
PENETAPAN KADAR VITAMIN C DALAM MINUMAN RINGAN  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET

Mahyuddin

Staf Pengajar Jurusan Farmasi FMIPA Unand

ABSTRACT

A background correction technique to determine vitamin C concentration in beverages. Was developed determination of vitamin C concentration was based on the difference between UV absorption of pure vitamin C solution and oxidized vitamin C solution at 265 nm. The vitamin C was oxidized by means of Cu(II) ion as catalyst. Results this technique showed good recovery with standart error about 5%.

PENDAHULUAN

Vitamin C ditemukan didalam sayur-sayuran dan buah-buahan segar, karena itu vitamin C sering disebut Fresh Food Vitamin. Dalam tubuh manusia vitamin C sangat dibutuhkan untuk pembentukan kolagen, pereduksi ion ferri menjadi ion ferro, membantu dalam mekanisme respirasi dan kerja hormon.

Untuk memenuhi kebutuhan vitamin C, seringkali industri minuman ringan menambahkan sejumlah vitamin C sintetis ke dalam minuman ringan (juice), sebagai bahan aditif. Demikian pula zat-zat aditif lain seperti zat aroma, gula, asam sitrat dan lain-lain, disamping vitamin C yang berasal dari buah-buahan segar itu sendiri.

Perlu diketahui bahwa, vitamin C merupakan vitamin yang sangat mudah larut dalam air dan sangat mudah rusak karena teroksidasi. Proses ini dipercepat oleh panas, sinar matahari, alkali, enzim dan oksidator serta katalis tembaga dan besi.

Penetapan kadar vitamin C dalam minuman ringan penting bagi industri minuman ringan, sebagai kendali mutu minuman ringan tersebut.

Penentuan kadar vitamin C secara titrasi volumetri seperti : metoda 2,6-dikloroindofenol dan metoda N-bromosuksinamida dan lain-lain, tidak praktis digunakan untuk jumlah sampel yang banyak dan memerlukan reagen yang banyak. Disamping itu metoda ini juga memerlukan waktu analisa lama.

Metoda spektrofotometri adalah cara yang umum digunakan didalam laboratorium industri minuman, karena pemakaian secara langsung spektrofotometri ultraviolet merupakan metoda yang cepat dan sederhana. Akan tetapi pada metoda ini terdapat serapan latar belakang yang cukup tinggi, yang disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terdapat dalam minuman ringan tersebut. Pada penelitian ini akan diperkenalkan suatu teknik koreksi latar belakang secara spektrofotometri ultraviolet. Dengan teknik ini penentuan vitamin C di dalam minuman segar ditentukan oleh perbedaan serapan maksimum vitamin C didalam larutan dengan larutan yang kandungan vitamin C di dalamnya telah dioksidasi dengan bantuan katalis Cu(II).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mencari/mendapatkan suatu metoda analisa (khususnya vitamin C) yang lebih cepat dengan tingkat ketelitian yang dapat dipertanggung jawabkan serta biaya yang lebih murah. Manfaatnya adalah jika dari pengujian metoda ini didapatkan hasil yang baik maka metoda ini akan sangat berguna sekali dalam kendali mutu industri minuman ringan maupun pada laboratorium pengawasan obat dan makanan untuk pengendalian mutu sediaan yang beredar di pasaran.

## **BAHAN DAN CARA KERJA.**

### **Bahan dan Alat**

Dalam pelaksanaan penelitian ini diperlukan bahan-bahan dan alat-alat sebagai berikut:

### **Bahan-Bahan:**

1. Natrium asetat p.a.
2.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  p.a.
3. EDTA p.a.
4. HCl p.a.

5. Vitamin C p.a.
6. Bahan yang diambil untuk analisa adalah minuman ringan jenis orange juice dalam kotak dan dalam kaleng dari bermacam-macam merk yang beredar di pasar dalam keadaan kemasan yang baik.

**Alat-alat:**

1. Spektrofotometer UV/VIS model 550 S.
2. Sentrifus.
3. Mikroburet 5 ml
4. Buret 50 ml
5. Labu ukur 50, 100, 250, 1000 ml
6. Pipet gondok 1, 5, 10, 25 ml
7. Termometer.

**Cara Kerja.**

Untuk melakukan penelitian ini disiapkan reagen yang digunakan, yaitu:

- Larutan vitamin C 1000 ppm dibuat dengan melarutkan vitamin C pro analisa/Merck.
- Larutan Cu(II) 1000 ppm dibuat dengan melarutkan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pro analisa.
- Larutan EDTA  $5 \times 10^{-4} \text{ M}$  dibuat dengan melarutkan EDTA pro analisa.
- Larutan natrium asetat 1 M dan larutan HCl 1 M.
- Kompleks Cu(II)-EDTA yaitu dengan mencampurkan larutan Cu(II) dan larutan EDTA pada pH 6.

Selanjutnya penentuan/pemilihan panjang gelombang serapan maksimum dari larutan vitamin C ditambah dengan larutan Cu(II)-EDTA. Setelah diketahui panjang gelombang maksimumnya, dibuat kurva kalibrasi dengan mengukur larutan standar. Kemudian dikerjakan persiapan dan pengukuran sampel dengan pengenceran beberapa kali dan disentrifus. Kadar vitamin C dalam minuman tersebut dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Vit. C (ppm)} = \frac{X \cdot \Delta A}{S}$$

- X = Faktor pengenceran  
 $\Delta A = A1 - A2$   
 S = Slope kurva kalibrasi

Untuk melihat ketelitian dari metoda ini dilakukan pula uji rekoveri dengan menggunakan vitamin C murni sebagai sampel.

### HASIL DAN DISKUSI

Dari serangkaian penelitian didapatkan bahwa panjang gelombang serapan maksimum dari vitamin C 6 ppm dalam larutan Cu(II)-EDTA  $6,2 \times 10^{-5} \text{ M}$  pada pH 6 adalah 265 nm. Sedangkan kemampuan katalisa Cu(II) 5 ppm pada pH 6 terhadap vitamin C dapat dibuktikan karena vitamin C yang teroksidasi menghasilkan suatu senyawa baru yang dapat menyerap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 220nm.

Hasil serapan sampel dan serapan uji rekoveri dapat dilihat pada Tabel I dan Tabel II berikut ini.

Tabel 1 : Hasil pengukuran serapan sampel dengan pengenceran 6x6 untuk sampel A, B, dan C dan 8x6 untuk sampel D dan E

Perlakuan	Absorban sampel				
	A	B	C	D	E
A1	0,542	0,678	0,688	0,627	0,244
A2	0,354	0,474	0,441	0,353	0,101
A2	0,352	0,475	0,447	0,359	0,098
A2	0,347	0,473	0,442	0,362	0,102
A2	0,352	0,471	0,439	0,355	0,096
A2	0,349	0,467	0,437	0,357	0,097
A2	0,353	0,477	0,442	0,358	0,101
A2	0,355	0,470	0,446	0,356	0,97

**Tabel II.**

Hasil penentuan konsentrasi vitamin C dalam minuman ringan dan uji rekoverti dapat dilihat pada Tabel 3 dan tabel 4 berikut ini.

Perlakuan	A	B	C	D	E
A1	0,725	0,877	0,869	0,775	0,382
A1	0,723	0,879	0,871	0,774	0,384
A1	0,727	0,875	0,870	0,775	0,381
A2	0,542	0,678	0,688	0,627	0,244

Hasil penentuan konsentrasivitamin C dalam minuman ringan dan uji rekoverti dapat dilihat pada Tabel III dan Tabel IV berikut ini

**Tabel III.**

Konsentrasi vitamin C dalam minuman ringan dalam ppm.

A		B		C		D		E	
Hasil	Rata2	Hasil	Rata2	Hasil	Rata2	Hasil	Rata2	Hasil	Rata2
79,2	80,1	85,9	86,5	104,0	103,6	153,8	151,5	80,3	81,5
80,0		85,4		101,5		150,5		81,9	
82,1		86,3		103,6		148,8		79,7	
80,0		87,2		104,8		152,7		83,1	
81,3		88,8		105,7		151,6		82,5	
79,6		84,6		103,6		151,0		80,3	
78,7		87,6		101,9		152,1		82,5	
RSD : 1,48%		1,65%		1,44%		1,06%		1,65%	

**Tabel IV.**  
**Hasil uji rekoveri.**

Sampel	Vitamin C ditambahkan ppm	Vitamin C ditemukan ppm	Rekoveri (%)
A	80,0	77,05	96,31
B	80,0	83,80	104,75
C	80,0	76,65	95,80
D	80,0	82,90	103,60
E	80,0	77,65	97,05

Dari serangkaian percobaan yang telah dilakukan ternyata serapan maksimum spektrum ultraviolet vitamin C dengan konsentrasi 6,5 ppm dalam larutan kompleks Cu(II)-EDTA pada pH 6 adalah 265 nm, hanya sedikit berbeda dari serapan maksimum yang dilaporkan dalam monografi vitamin C, yaitu 267 nm. Hal ini dianggap normal karena penyimpangan ini dapat disebabkan oleh kondisi perlakuan dan spektrofotometer yang digunakan berbeda.

Penentuan kurva kalibrasi dengan menggunakan larutan standar vitamin C antara 0,0 - 12,0 ppm dan penentuan dilakukan pada panjang gelombang 265 nm didapatkan hubungan garis lurus antara kadar kadar vitamin C dengan serapannya dengan persamaan garis  $Y = 0,08458 X + 1,773 \times 10^{-2}$  dan koefisien korelasi 0,99565, sedangkan kemiringannya didapatkan dari persamaan garis yaitu  $0,085 \text{ ppm}^{-1}$  (dibulatkan dari 0,08458  $\text{ppm}^{-1}$ ). Hasil ini cukup baik jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu dengan kemiringan 0,086  $\text{ppm}^{-1}$ .

Hasil uji rekoveri didapatkan antara 96,31% sampai 104,75% yang berasal dari sampel yang berbeda seperti tertera pada Tabel 4. Karena daya oksidasi katalis Cu(II) terhadap vitamin C sedikit dipengaruhi oleh adanya senyawa-senyawa tertentu yang berada dalam minuman ringan tersebut, seperti asam sitrat menyebabkan kesalahan sebesar -4,4%, sukrosa (gula) -4,5%, pemanis sakarin -4,8%, amilum +4,8%, dan EDTA -4,0%. Pada label sampel A tertera adanya kandungan gula dan asam sitrat, sedangkan hasil uji rekoverinya sebesar 96,31%.

Daya oksidasi terhadap vitamin C (vitamin C murni) pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dengan bantuan katalis  $\text{Cu(II)}$  5 ppm ternyata semua vitamin C habis teroksidasi, dimana pada daerah 265 nm tidak terjadi serapan, tetapi menghasilkan senyawa baru yang memiliki puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 220 nm dalam larutan kompleks  $\text{Cu(II)-EDTA}$  pada pH 6.

Perlakuan pada sampel yang belum dioksidasi juga memperlihatkan puncak serapan pada panjang gelombang 220 nm. Dari hasil oksidasi terhadap sampel juga menghasilkan puncak serapan pada panjang gelombang 220 nm yang memiliki intensitas serapan yang lebih tinggi dari pada sampel yang belum dioksidasi. Perbedaan intensitas serapan tersebut diatas menunjukkan serapan latar belakang sampel yang cukup tinggi, dimana pada panjang gelombang 390 nm serapan tidak dimulai dari nol baik untuk sampel yang belum dioksidasi maupun sesudah dioksidasi.

Jika senyawa yang memiliki puncak serapan pada panjang gelombang 220 nm hanya berasal dari hasil oksidasi vitamin C saja, ini dapat diambil sebagai indikasi bahwa cukup banyak vitamin C dalam minuman tersebut telah mengalami kerusakan sebelum dikonsumsi. Kerusakan ini dapat terjadi pada saat pengolahan minuman tersebut sebelum dimasukkan ke dalam kotak minuman atau faktor penyimpanan yang kurang baik, karena vitamin C sangat mudah teroksidasi dan proses ini dipercepat oleh panas, sinar matahari, katalis, oksidasi dan katalis (2, 5, 7). Dan perlu diperhatikan bahwa kerusakan vitamin C pada ruangan terbuka pada suhu kamar relatif cukup besar.

Hasil akhir dari penentuan kadar vitamin C dalam minuman ringan seperti pada Tabel 3 ternyata kandungan vitamin C di dalamnya cukup memenuhi batasan kadar vitamin C dalam minuman ringan.

### KESIMPULAN

Dari serangkaian percobaan yang telah dilakukan dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada penentuan kadar vitamin C di dalam minuman ringan dengan metoda koreksi latar belakang secara spektrofotometri ultraviolet, dapat dilakukan secara cepat dan mudah serta tidak membutuhkan jumlah cuplikan yang banyak.
2. Pada metoda ini vitamin C dalam minuman ringan tidak perlu diekstraksi atau diisolasi dengan reagen-reagen.
3. Penentuan kadar vitamin C hanya berdasarkan pada perbedaan serapan antara larutan yang mengandung vitamin C dengan larutan yang kandungan vitamin C nya telah dioksidasi pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dengan bantuan katalis  $\text{Cu(II)}$ .
4. Pada metoda ini kesalahan penentuan yang diakibatkan oleh senyawa-senyawa lain yang berada dalam minuman ringan tersebut dapat dihilangkan menjadi sekecil mungkin, sehingga kesalahan penentuan hanya berkisar kurang lebih 5%.
5. Vitamin C yang berada dalam minuman ringan yang dianalisa ternyata cukup memenuhi standar kadar vitamin C di dalam minuman ringan. Meskipun sebagian kandungan vitamin C nya mengalami kerusakan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bauernfeind, J.C. and D.M. Pinkert. (1980), *Food Processing with Added Ascorbic Acid. Advanced in Food Research*, Academic Press, New York and London, 18, 219-247.
- Barakat, M.Z., M.F.A. El-Wagab and M.M. El-And, (1953), Action of N-Bromosuccinamide on Ascorbic Acid, *Anal. Chem*, 27, 195.
- Fung, Y.S. and S.F. Luh, (1985), *Analyst*, 110.
- Harwits, W. (Editor), (1980), *Official of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, 13<sup>th</sup> Ed., Washington D.C.
- Oi, W.L., Shin F.L. and Kit S.W., (1986), *Anal. Chem*, 111.
- Pecsok, R.L., L.D. Shields, T. Cairns and I.G. Mac William, (1976), *Modern Methods of Chemical Analysis*, Second Edition. Jhon Wiley & Sons, New York.
- Winarno, F.G., (1984), *Kimia Pangan dan Gizi*, PT. Gramedia Jakarta.