

REVIEW: METODE ANALISIS KADAR VITAMIN C

Novalisha Techinamuti, Rimadani Pratiwi
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung, Sumedang Km 21 Jatinangor 45363
Telp./Fax. (022) 779 6200
novalisha.techman@gmail.com

ABSTRAK

Vitamin C merupakan vitamin larut dalam air dan sering digunakan sebagai suplemen. Fungsi vitamin C bisa meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit dan sebagai antioksidan yang menetralkan radikal bebas didalam darah maupun cairan. Analisis vitamin C dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya vitamin C dalam sampel sedangkan analisis kuantitatif dilakukan untuk mengetahui kadar vitamin C dalam sampel. Artikel review ini akan mengulas mengenai analisis kualitatif dan kuantitatif vitamin C. Analisa kualitatif yang diuraikan adalah dengan menggunakan pereaksi benedict dan analisis kuantitatif yang diuraikan meliputi titrasi asam basa, iodimetri, penggunaan diklorofenolindofenol (DCIP), spektrofotometri, dan metode DPPH.

Kata kunci : Vitamin C, Analisis kualitatif, Analisis kuantitatif

ABSTRACT

Vitamin C is a water-soluble vitamin and is often used as a supplement. The function of vitamin C can increase the body's resistance to disease and as an antioxidant that neutralizes free radicals in the blood and fluids. Vitamin C can be analyzed qualitatively and quantitatively. Qualitative analysis was conducted to determine the presence or absence of vitamin C in the sample while quantitative analysis was done to determine the levels of vitamin C in the sample. This review article will cover the qualitative and quantitative analysis of vitamin C. The qualitative analyzes can be performed using benedict reagents and quantitative analysis including acid-base titration, iodimetric method, dichlorophenolindophenol (DCIP) method, spectrophotometric method, and DPPH method.

Keywords: *Vitamin C, Qualitative analysis, Quantitative analysis*

Diserahkan: 4 Juli 2018, Diterima 4 Agustus 2018

PENDAHULUAN

Vitamin C atau asam L-askorbat, atau askorbat adalah nutrisi penting bagi manusia dan hewan. Vitamin yang memiliki aktivitas vitamin C adalah asam askorbat dan garamnya, dan beberapa bentuk teroksidasi dari molekul seperti asam dehidroaskorbat. Askorbat dan asam

askorbat keduanya secara alami terdapat dalam tubuh ketika salah satu dari asam ini bertemu dalam sel karena perubahan bentuk yang disebabkan oleh pH (Wadge, 2003).

Vitamin C adalah vitamin yang paling tidak stabil dari semua vitamin dan mudah rusak selama pemrosesan dan

penyimpanan. Laju perusakan meningkat karena kerja logam, terutama tembaga, besi, dan juga oleh kerja enzim. Eksposur oksigen, pemanasan yang terlalu lama dengan adanya oksigen, dan eksposur terhadap cahaya semuanya merusak kandungan vitamin C makanan. Enzim yang mengandung tembaga atau besi dalam gugus prostetikanya merupakan katalis yang efisien untuk penguraian asam askorbat. Asam L-askorbat (vitamin C) adalah lakton (ester dalam asam hidroksikarboksilat) dan diberi ciri oleh gugus enadiol, yang menjadikannya senyawa pereduksi yang kuat (Demam, 1997).

Vitamin C dari alam bisa ditemukan pada buah-buahan ataupun sayuran. Contoh buah-buahan lokal yang diketahui kaya akan vitamin C adalah buah lemon lokal, jeruk nipis, jambu biji, apel Malang dan nenas. (Almatsier, 2001). Di beberapa negara, dosis yang biasa dianjurkan berkisar dari 60-90 mg vitamin C per hari. Tapi rata-rata setiap orang membutuhkan 1000 miligram atau lebih setiap harinya (Dymas, 2011; Khairina, 2008). Orang yang tidak suka makan buah-buahan, mengakibatkan kekurangan vitamin C. Akibat dari kekurangan vitamin C, antara lain akan mengalami sariawan yaitu bibir pecah-pecah bahkan badan menjadi lemas. Banyak orang mengambil tablet vitamin C yang dijual di pasaran

karena dapat menggantikan vitamin yang ada di bahan alam. Kelebihan vitamin C bisa memberikan dampak negatif yaitu bisa menimbulkan efek yang buruk terhadap tubuh. Misalnya badan menjadi pucat dan kurus. (Khairina, 2008; Almatsier, 2001).

Terdapat beberapa metode untuk mengetahui kadar vitamin C pada suatu bahan pangan. Diantaranya adalah metode titrasi, metode spektrofotometri, metode titrasi iodium dan metode DPPH. Dari uraian-uraian di atas, maka ulasan artikel dilakukan untuk membahas metode – metode yang yang digunakan untuk menganalisis kadar vitamin C dalam suatu sampel.

POKOK BAHASAN

ANALISIS KUALITATIF

Analisis kualitatif dari vitamin C dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi benedict. Cara kerja dari metode ini yaitu: Ekstrak buah dan filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet sebanyak 5 tetes. Kemudian ditambah 15 tetes pereaksi benedict dan dipanaskan di atas api kecil sampai mendidih selama 2 menit. Adanya perubahan warna hijau kekuningan menandakan adanya vitamin C pada sampel (Fadriyanti, 2015).

ANALISIS KUANTITATIF

Analisis kuantitatif dari vitamin C dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya:

Titration Asam-Basa

Titration Asam Basa merupakan contoh analisis volumetri, yaitu, suatu cara atau metode, yang menggunakan larutan yang disebut titran dan dilepaskan dari perangkat gelas yang disebut buret. Bila larutan yang diuji bersifat basa maka titran harus bersifat asam dan sebaliknya. Untuk menghitungnya kadar vitamin C dari metode ini adalah dengan $\text{mol NaOH} = \text{mol asam Askorbat}$ (Sastrohamidjojo, 2005).

Langkah awal yang dilakukan adalah dengan memasukkan sampel ke dalam tabung erlenmeyer sebanyak 100 mL. Setelah itu, ambil 5mL larutan vitamin C sebagai titran. Kemudian, teteskan indikator sebanyak 0.15mL. Akhirnya, NaOH sehingga tampak perubahan warna. Amati perubahan warna dan catatkan volume NaOH. Uji positif timbul warna kuning (Pauling, 1970).

Metode Titration 2,6 D (Dichloroindophenol)

Analisis Vitamin C juga dilakukan dengan metode titration 2,6 D (Dichloroindophenol) yang dimulai pada tahun 1964 dan berakhir pada tahun 1966.

Pada titration ini, persiapan sampel ditambahkan asam oksalat atau asam metafosfat, sehingga mencegah logam katalis lain mengoksidasi vitamin C. Namun, metode ini jarang dilakukan karena harga dari larutan 2,6 dan asam metafosfat sangat mahal (Helrich, 1990).

Prinsip analisis kadar vitamin C metode titration 2,6-diklorofenol yaitu menetapkan kadar vitamin C pada bahan pangan berdasarkan titration dengan 2,6-diklorofenol indofenol dimana terjadinya reaksi reduksi 2,6-diklorofenol indofenol dengan adanya vitamin C dalam larutan asam. Asam askorbat mereduksi 2,6-diklorofenol indofenol dalam suatu larutan yang tidak berwarna. Titik akhir titration ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda dalam kondisi asam (Bintang, 2010).

Reaksi yang terjadi antara reagen dengan sampel saat pengujian yaitu reaksi reduksi 2,6-diklorofenol indofenol dengan vitamin C dalam larutan asam. Asam askorbat akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif. Selanjutnya semidehidroaskorbat mengalami reaksi disproportionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat (Hashmi, 2004).

Kelebihan analisis kadar vitamin C menggunakan metode titrasi 2,6-diklorofenol dibandingkan dengan metode lain yaitu zat pereduksi lain tidak mengganggu penetapan kadar vitamin C. Selain itu reaksi terjadi secara kuantitatif sehingga dapat diketahui jumlah atau kadarnya. Disamping itu metode ini juga praktis dan spesifik untuk larutan asam askorbat pada pH 1-3,5. Pada pH rendah atau suasana asam akan memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan dalam suasana netral atau basa. Oleh karena itu, metode titrasi ini paling banyak digunakan untuk analisis kadar vitamin C dibandingkan metode lain (Legowo, 2004).

Metode Spektrofotometri

Berbagai macam analisis dilakukan untuk mengetahui kadar vitamin C. Penelitian dengan menggunakan metode spektrofotometri dilakukan pada tahun 1966 sampai dengan tahun 1967 (Helrich, 1990). Spektrofotometri ultra violet adalah bagian dari teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer.

Spektrofotometer UV adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmitansi, reflektansi dan absorpsi dari cuplikan sebagai fungsi dari panjang

gelombang. Spektrofotometer terdiri dari alat spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu manakala fotometer pula adalah alat pengukur intensitas cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan. Spektrofotometer pula digunakan untuk mengukur energi cahaya secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, diemisikan atau direfleksikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Skoog, 1996).

Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum sinar tampak yang sinambung dan monokromatis. Sel pengabsorpsi untuk mengukur perbedaan absorpsi diantara blanko dengan cuplikan ataupun pembanding. Penggunaan spektrofotometri UV melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga penggunaan spektrofotometri UV lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. (Dachriyanus, 2004).

Cara menentukan kadar vitamin C adalah dengan menimbang 2 g sampel vitamin C yang telah dihaluskan. Larutkan sampel tersebut dalam 50 mL aquadest kemudian menanda batas larutan dalam labu takar 250mL. Setelah itu larutan diencerkan hingga 200 kali, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (David, 2015).

Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode *in vitro* yang memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, dkk.,2007).

Metode ini sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel. Metode ini hanya membutuhkan senyawa DPPH yang bersifat stabil dan senyawa pembandingan seperti vitamin A, vitamin C dan vitamin E. Selain itu, metode ini tidak memerlukan substrat karena radikal bebas sudah tersedia secara langsung untuk mengganti substrat (Packer, 2002).

Hasil dapat diamati dengan perubahan larutan dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna menunjukkan bahwa DPPH telah tereduksi oleh proses donasi hydrogen atau electron dari senyawa antioksidan sehingga warnanya berubah dari violet ke kuning dan DPPH tidak memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm (Yamaguchi, 1998).

Metode Titrasi Iodium

Titration lain yang dapat dilakukan adalah titration Iodium. Metode ini juga paling banyak digunakan, karena murah, sederhana, dan tidak memerlukan peralatan laboratorium yang canggih. Titration ini memakai Iodium sebagai oksidator yang mengoksidasi vitamin C dan memakai amilum sebagai indikatornya. (Wijanarko, 2002). Metode titration iodometri langsung (iodimetri) mengacu kepada titration dengan suatu larutan iod standar. Metode titration iodometri tak langsung (iodometri) adalah berkenaan dengan titration dari iod yang dibebaskan dalam reaksi kimia (Bassett, 1994). Prosedur penetapan kadar vitamin C secara iodimetri: Sekitar 400mg asam askorbat yang ditimbang seksama dilarutkan dalam campuran yang terdiri atas 100mL air bebas oksigen dan 25mL asam sulfat encer. Larutan dititrasi dengan iodium 0.1N menggunakan indikator kanji sampai terbentuk warna biru. Larutan standar yang digunakan dalam kebanyakan proses iodometri adalah natrium tiosulfat. Garam ini biasanya berbentuk sebagai pentahidrat $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Larutan tidak boleh distandarisasi dengan penimbangan secara langsung, tetapi harus distandarisasi dengan standar primer. Larutan natrium thiosulfat tidak stabil untuk waktu yang lama (Day & Underwood, 1981) Tembaga murni dapat digunakan sebagai standar primer untuk natrium thiosulfat dan

dianjurkan apabila thiosulfat harus digunakan untuk penentuan tembaga. (Day & Underwood, 1981).

Metode iodometrik menggunakan dua jenis indikator, yaitu kanji dan Iodin yang dapat bertindak sebagai indikator bagi dirinya sendiri. Iodin juga memberikan warna ungu atau violet yang intensitas untuk zat-zat pelarut seperti karbon tetra korida dan kloroform. Namun demikian larutan dari kanji lebih umum dipergunakan, karena warna biru gelap dari kompleks iodin-kanji bertindak sebagai suatu tes yang amat sensitif untuk iodine. Dalam beberapa proses tak langsung banyak agen pengoksida yang kuat dapat dianalisis dengan menambahkan kalium iodida berlebih dan mentitrasi iodin yang dibebaskan. Karena banyak agen pengoksida yang membutuhkan larutan asam untuk bereaksi dengan iodin, Natrium tiosulfat biasanya digunakan sebagai titrannya.

Titration Iodium juga adalah salah satu metode analisis yang dapat digunakan dalam menghitung kadar Vitamin C. Dimana, suatu larutan vitamin C (asam askorbat) sebagai reduktor dioksidasi oleh Iodium, sesudah vitamin C dalam sampel habis teroksidasi, kelebihan Iodium akan segera terdeteksi oleh kelebihan amilum yang dalam suasana basa berwarna biru muda. Kadar vitamin C dapat diketahui dengan perhitungan 1ml 0,01 N larutan

Iodium = 0,88 mg asam askorbat. Kekurangan dari metode ini yaitu ketidakakuratan nilai yang diperoleh karena vitamin C dapat dipengaruhi oleh zat lain (Wijanarko, 2002).

KESIMPULAN

Metode yang digunakan untuk analisis vitamin C dalam sampel bervariasi. Pada analisis kualitatif, dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi benedict. Pada analisis kuantitatif, terdapat metode titrasi asam basa, metode iodimetri, metode diklorofenolindofenol (DCIP), metode spektrofotometri, dan metode DPPH.

Metode spektrofotometri dan titrasi 2,6 D (Dichloroindophenol) jarang dilakukan karena memerlukan biaya yang mahal. Analisis menggunakan metode asam basa dan iodimetri merupakan metode yang banyak digunakan karena murah, sederhana, dan tidak memerlukan peralatan laboratorium yang canggih,

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Dr. Rimadani Pratiwi M.Si., Apt selaku dosen pembimbing, Rizky Abdullah, Ph.D., Apt selaku dosen pengampu mata kuliah Metodologi Penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Basset, J., R. C. Denney, G.H Jeffrey, J. Mendhom. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik*. Jakarta : EGC.
- Bintang,M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta : Penerbit Erlangga
- Dachriyanus, D. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: Andalas University Press, pp.1-2, 8-9.
- David R. Caprette, 2015, *Principles of Spectrophotometry, available online at <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/protein/spectrophotometer.htm>* [Accessed on 2 Juni 2018]
- Day, R.A. dan A.L. Underwood. 1981. *Analisa Kimia Kuantitatif, Edisi Keempat*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Deman, John,M. 1997. *Kimia Makanan*. Bandung : Penerbit ITB
- Dymas, 2011. Pro dan Kontra Vitamin C dalam Mengobati Penyakit Influenza. *Food technopreneur*.
- Fadriyanti,2015. *Makalah Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Vitamin B, C K*. Available at: <http://documentslide.com/documents/makalah-analisis-kualitatif-dan-kuantitatif-vitamin-b-c-kdocx.html> [diakses pada 2 Juni 2018]
- Hashmi M.H. 2004. *Assay of Vitamins in Pharmaceutical Preparations*. London : John Wileyand Sons
- Helrich, Kenneth. 1990. *Official Methods Of Analysis Of Association Of Official Analytical Chemist Volume Two*. USA : Association Of Official Analytical
- Khairina, D. 2008. *Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Status Gizi*. Jakarta: FKM UI.
- Legowo, A.M. & Nurwantoro. 2004. *Diktat Kuliah Analisis Pangan*. Semarang : UPT – Pustaka Universitas Diponegoro
- Packer, L, Traber, MG, Kraemer, K, Frei, B. 2002. *The antioxidant vitamins C and E: vitamins C and E for health*. J Am Oil Chem Soc.
- Pauling,L. 1970. *General Chemistry Edisi 4*. Jakarta : Gaya Baru
- Sastrohamidjojo., Hardjono. 2005.v *Kimia Dasar*. Yogyakarta : UNY Press
- Skoog. D.A. 1996, *Fundamental of Analytic Chemistry*, Seventh edition. USA: Saunders College Publishing.
- Sunarni, T., Pramono, S., Asmah, R. 2007. *Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (Stelechocarpus burahol (Bl.) Hook f. & Th.), M.F.I., 18 (3) : 111 - 116*
- Wadge, 2003. *Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals*. Food Standards Agency.
- Wijanarko., Simon Bambang. 2002. *Analisis Hasil Pertanian*. Malang : Universitas Brawijaya
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J., 1998. *HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-scavenging Activity of Food by Using 1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazyl*. Biosci. Biotechnol. Biochem., 62 (6), 1201-1204.