

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

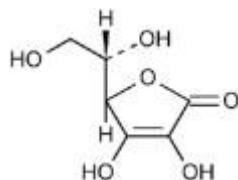
2.1 Vitamin C

Vitamin C merupakan vitamin yang diperlukan oleh tubuh untuk membentuk kolagen dan antioksidan yang dibutuhkan tubuh sehingga termasuk kedalam senyawa esensial (Harefa *et al.*, 2020). Vitamin C termasuk kedalam vitamin yang larut dalam air yang memiliki penamaan lain yaitu asam askorbat (Goodman & Gilman, 2018). Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI, Vitamin C memiliki pemerian Hablur atau serbuk putih atau kekuningan, dengan kelarutan yang mudah larut dalam air, namun tidak larut dalam pelarut organik (Departemen Kesehatan RI, 2020). Yang memiliki fungsi sebagai senyawa pembantu pembentukan jaringan tubuh, serta dapat merangsang produksi sel darah merah dan menjaga ketahanan tubuh terhadap infeksi. Vitamin C dapat ditemukan dalam sayur dan buah-buahan segar. Vitamin C merupakan vitamin yang mudah rusak serta tidak stabil, selain itu vitamin ini mudah sekali hilang saat melewati proses dengan suhu panas.

Vitamin C merupakan vitamin yang sangat dikenali di kalangan masyarakat terlebih karena efek antioksidannya yang terkandung dalam vitamin C. Vitamin C yang terkandung dalam makanan seperti sayuran dan buah-buahan bisa dikatakan besar dibandingkan dengan kandungan vitamin lainnya, yaitu pada kisaran 10-100 mg/100 gram (Doseděl *et al.*, 2021).

Vitamin C atau asam askorbat adalah mikronutrien yang penting dalam fungsi biologis dan biokimia, namun tubuh manusia tidak dapat mensintesis vitamin C karena tidak terdapatnya salah satu enzim terakhir dalam biosintesisnya, namun vitamin ini diketahui berperan sebagai pendonor elektron atau disebut juga reduktor.

2.1.1 Sifat fisikokimia vitamin C



Gambar 1 Struktur vitamin C
(Departemen Kesehatan RI, 2020)

Vitamin C mempunyai pemerian: serbuk atau hablur berwarna putih atau agak kekuningan yang berubah warna ketika terkena cahaya, dalam bentuk larutan mudah terdegradasi. Kelarutannya: mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam kloroform, eter dan benzen (Departemen Kesehatan RI, 2020).

Vitamin C merupakan pendonor elektron atau dapat disebut juga zat pereduksi yang memberikan efek fisiologis (Padayatty & Levine, 2016), karenanya vitamin C dapat menjadi antioksidan. Vitamin C dalam bentuk larutan tidak stabil dibandingkan bentuk tablet karena adanya zat-zat pengoksidasi seperti oksigen, juga tidak stabil terhadap zat lainnya seperti kadar pH dan suhu yang tinggi (Doseděl *et al.*, 2021). Vitamin C merupakan vitamin yang tersusun dari turunan heksosa yang larut dalam air namun mudah teroksidasi, proses oksidasi dapat terjadi lebih cepat jika analit terpapar oleh adanya panas, selain itu juga dalam struktur vitamin C terdapat gugus kromofor dimana hal tersebut membuat vitamin C dapat menyerap sinar radiasi elektromagnetik pada daerah Uv atau Visible. Vitamin C termasuk kedalam vitamin yang larut dalam air yang memiliki sifat tidak stabil yang dapat rusak ketika dilakukan pemanasan (Eka *et al.*, 2023).

2.1.2 Sediaan vitamin C

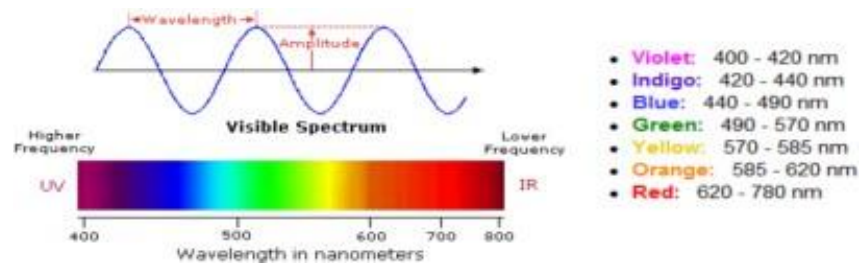
Sediaan vitamin C terdiri dari bentuk tablet, tablet effervescent, granul effervescent, sirup dan krim. Tablet merupakan sediaan padat yang berisi zat aktif dan juga zat tambahan yang sesuai dengan cara pembuatan dengan cara kempa langsung atau granulasi. Pembuatan tablet yang populer diantaranya metode kempa langsung, granulasi basah dan granulasi kering (Sulaiman & Sulaiman, 2020). Tablet terdapat dalam berbagai jenis diantaranya tablet triturat atau tablet kecil dengan proses pembuatan dikempa, tablet bukan yang dimana cara penggunaannya disimpan

dibawah lidah, lalu tablet kunyah dan tablet *effervescent* (Departemen Kesehatan RI, 2020).

Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI tablet effervescent adalah tablet yang mengandung selain zat aktif, mengandung campuran asam diantaranya asam sitrat, asam tartrat dan bahan basa yaitu natrium bikarbonat yang dibuat dengan proses kempa, dengan cara penggunaan dilarutkan dalam air yang akan menghasilkan karbondioksida (Departemen Kesehatan RI, 2020). Tablet effervescent adalah tablet yang dibuat dapat larut dalam air dan menghasilkan karbon dioksida, yang dibuat dengan metode kompresi dari granul hingga menjadi padat yang disimpan dalam kemasan dengan tutup rapat beserta pengering didalamnya. Tablet effervescent merupakan tablet yang dirancang begitu unik karena tablet dirancang untuk hancur saat kontak dengan air dan menghasilkan karbon dioksida (Ghuge & Rajhans, 2021).

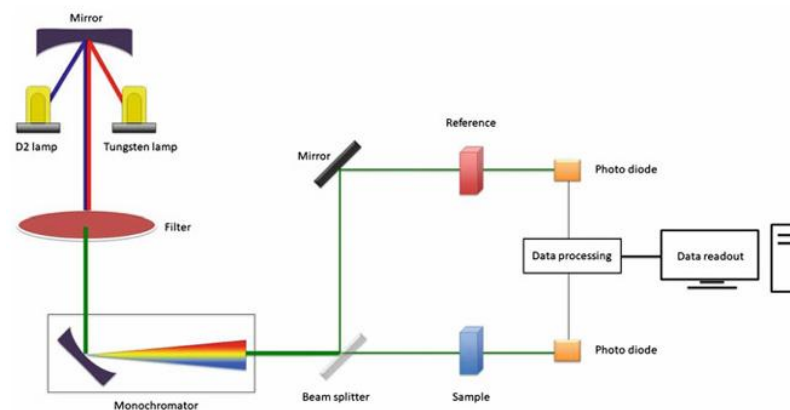
2.2 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode berdasarkan pada penyerapan cahaya oleh suatu zat dan digunakannya hukum penyerapan cahaya. Biaya yang terhitung murah serta kemudahan saat peng aplikasiannya, metode ini sering digunakan dalam proses analisis suatu senyawa (Patel *et al.*, 2022). Spektrofotometri UV-vis merupakan metode yang sering digunakan untuk mendapatkan data karakterisasi dari berbagai bahan, baik molekul organik, hingga gugus organik atau padatan dan cairan yang memiliki gugus fungsi (Patel *et al.*, 2022). Metode ini memiliki prinsip penyerapan pada sinar tampak dan ultraviolet yang menghasilkan spektrum dengan absorbansi yang berbeda-beda, dimana spektrum tersebut dihasilkan dari interaksi cahaya oleh suatu zat (Patel *et al.*, 2022). Metode ini memiliki dua daerah serapan berbeda yaitu daerah ultraviolet dan daerah sinar tampak yang berada pada rentang 200-400 nm untuk ultra violet dan 400-800 nm untuk sinar tampak (Abriyani Ermi *et al.*, 2022). Daerah sinar tampak merupakan daerah yang dapat dilihat oleh mata manusia (Patel *et al.*, 2022).



Gambar 2 Gambaran gelombang dari sinar elektromagnetik
(Patel *et al.*, 2022)

Panjang gelombang tersebut dihasilkan dari serapan cahaya yang menjadi salah satu syarat dalam analisis menggunakan metode ini adalah adanya kromofor dan auksokrom. Kromofor merupakan bagian dari molekul senyawa yang menyerap sinar dengan energi kuat pada daerah ultraviolet atau sinar tampak, contoh kromofor diantaranya heksana, aseton, asetilena, benzena, karbonil. Namun auksokrom merupakan gugus fungsi yang memiliki elektron bebas yang berikatan dengan kromofor yang mengoptimalkan penyerapan cahaya pada daerah ultraviolet atau sinar tampak, contoh auksokrom diantaranya gugus hidroksi, amina, dan halida (Suharti Tati, 2017). Gugus tersebut dapat dianalisis pada saat terkena cahaya yang dipancarkan melewati analit menggunakan komponen spektrofotometri lainnya.



Gambar 3 Komponen alat spektrofotometer Uv-Vis
(Ortega *et al.*, 2022)

Dari komponen ini sumber dari radiasi dihasilkan yang dibedakan berdasarkan panjang gelombang, diantaranya lampu deuterium (190 nm- 370 nm), lampu halogen (320 nm-1100 nm) pada instrumen yang menggunakan lampu ini, analisis yang bisa dilakukan hanya pada daerah sinar tampak saja, lalu lampu xenon (190 nm-1100 nm) (Patel *et al.*, 2022).

1. Monokromator

Pada bagian ini, cahaya yang dihasilkan dari sumber radiasi disaring untuk menghasilkan cahaya monokromatik. Dalam bagian ini radiasi cahaya masuk kedalam suatu sudut, lalu yang keluar dari suatu celah hanya radiasi dengan panjang gelombang tertentu saja, cahaya tersebut keluar saat celah keluarnya digerakan. Monokromator terdiri dari celah masuknya cahaya dari sumber radiasi, lensa pengubahan cahaya, celah keluar (Patel *et al.*, 2022)

2. Tempat penampungan sampel / Kuvet

Kuvet adalah tempat atau wadah dari suatu sampel yang akan dianalisis yang terbuat dari kuarsa bening dengan bentuk persegi panjang yang dapat dilewati oleh semua panjang gelombang yang digunakan untuk analisis menggunakan metode spektrofotometri (Patel *et al.*, 2022).

3. Detektor

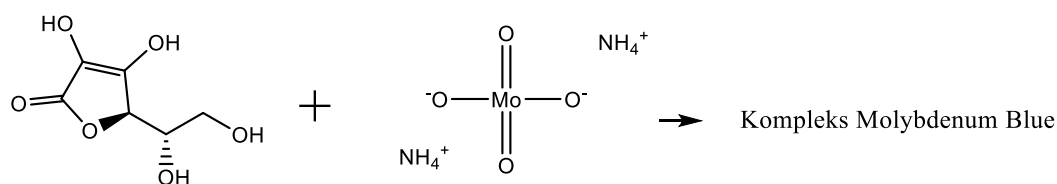
Ini merupakan komponen penting dalam analisis dengan metode spektrofotometri, dalam komponen ini energi cahaya yang dipancarkan melalui sampel akan diubah menjadi impuls listrik yang akan dibaca kembali oleh perangkat pembaca (Patel *et al.*, 2022). Biasanya *software* dalam komputer, pada komponen ini lah penentuan terbacanya absorbansi dan spektrum yang dihasilkan.

2.3 Analisis Vitamin C dengan Pereaksi Amonium Molibdat

Vitamin C bekerja dengan cara menyumbangkan elektron kepada oksidator yang membutuhkannya (Baits *et al.*, 2022). Dalam hal ini, amonium molibdat berperan sebagai oksidator. Ketika vitamin C direaksikan dengan amonium molibdat, diharapkan larutannya menjadi lebih stabil (Gavrilova *et al.*, 2020). Molibdenum memiliki sifat, yaitu mampu membentuk warna jika direaksikan dengan vitamin C. Reaksi yang terjadi menghasilkan warna yang terlihat pada spektrum sinar tampak.

Larutan yang terbentuk biasanya akan berubah warna menjadi kebiruan dalam (Gavrilova *et al.*, 2020).

Menurut Gavrilova (2020) vitamin C dapat dianalisis menggunakan amonium molibdat yang bereaksi membentuk *molybdenum blue*. Reaksi ini menghasilkan larutan yang lebih stabil. Saat vitamin C bereaksi dengan amonium molibdat dalam kondisi asam, terjadi reaksi redoks. Vitamin C bertindak sebagai reduktor yang mereduksi ion molibdenum (Mo VI) menjadi (Mo V), sehingga terbentuk kompleks berwarna biru kehijauan. Warna ini khas dan dapat diukur pada panjang gelombang sinar tampak (Prieto *et al.*, 2013). Keunggulan metode ini adalah vitamin C tidak mudah terdegradasi atau membentuk kompleks lain, sehingga menghasilkan pengukuran yang lebih akurat. Reaksi yang terjadi adalah $C_6H_8O_6 + C_2H_2O_4 + 2(NH_4)_2MoO_4 + 4H \rightarrow C_6H_6O_6 + 2CO_2 + 2MoO_2 + 4NH_4 + 4H_2O$



Gambar 4 Reaksi vitamin C dengan amonium molibdat

2.4 Validasi Metode

Validasi metode merupakan proses untuk mengkonfirmasi bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi persyaratan serta mencapai tujuan yang diharapkan (Sahriawati *et al.*, 2019). Tujuan dari validasi metode adalah untuk mendapatkan bukti jika semua prosedur yang digunakan mendapatkan hasil sesuai dengan yang diinginkan walaupun dilakukan secara berulang kali (Harmita, 2004). Proses validasi meliputi uji linieritas, uji spesifisitas, uji presisi dan akurasi dan pengujian batas deteksi dan batas kuantisasi (Ramadhan & Musfiroh, 2021). Sedangkan menurut ICH parameter validasi meliputi uji spesifisitas atau selektivitas, uji linieritas, kisaran, batas deteksi, batas kuantifikasi, presisi, akurasi, ketahanan dan kesesuaian sistem.

1. Selektivitas

Selektivitas merupakan kemampuan dari suatu metode analisis untuk mengukur hanya analit yang diinginkan secara akurat dan spesifik dengan adanya zat lain dalam

matriks sampel tertentu (Rachmawati, 2024). Selektivitas mengacu pada kemampuan metode dapat menentukan analit tertentu pada campuran kompleks (Rambla-Alegre *et al.*, 2012). Pada analisis kali ini, agar analisis yang dilakukan hanya memberikan hasil untuk vitamin C maka selektivitas yang dilakukan adalah menggunakan reagen yaitu amonium molibdat yang merupakan reagen spesifik untuk vitamin C.

2. Uji Linieritas

Linieritas adalah kemampuan dari suatu metode yang memberikan respon (nilai y) yang berbanding lurus dengan konsentrasi (nilai x) yang digunakan, yang dilihat dari parameter regresi linier $y=a+bx$ dan juga parameter koefisien variasi fungsi atau V_{x0} (Rachmawati, 2024).

$$\frac{S_y}{x} = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{n - 2}}$$

$$S_{x0} = \frac{S_y}{b}$$

$$V_{x0} = \frac{S_{x0}}{x} \times 100\%$$

Keterangan,

n = jumlah sampel

b = slope

3. Uji Sensitivitas

Batas deteksi adalah kadar terkecil dari suatu analit yang dapat terdeteksi oleh instrumen yang memberikan hasil yang signifikan dibandingkan blanko, sedangkan batas kuantisasi adalah kadar terkecil dari suatu analit yang dapat digunakan untuk penentuan presisi dan akurasi yang dapat memenuhi persyaratan cermat dan seksama (Rachmawati, 2024).

$$\text{Batas deteksi} = \frac{3 \times S_y/x}{b}$$

$$\text{Batas kuantifikasi} = \frac{10 \times S_y/x}{b}$$

4. Akurasi

Akurasi adalah ketepatan suatu metode analisis yang memberikan hasil ketepatan antara nilai yang terukur dengan nilai yang didapatkan yang dinyatakan sebagai *%recovery*. Akurasi dapat dilakukan dengan metode penambahan baku dan

metode simulasi. Untuk percobaan pengukuran konsentrasi, dibuat setidaknya lima sampel yang mengandung analit dan juga placebo dengan rentang konsentrasi 50% hingga 150% dari kandungan yang diharapkan (Harmita, 2004; Rachmawati, 2024).

$$\% \text{perolehan kembali} = \frac{\text{konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

5. Presisi

Presisi adalah ukuran dari kedekatan atau keterulangan antara hasil-hasil yang didapatkan dari beberapa kali proses pengukuran pada sampel yang sama. Presisi memiliki tingkatan yang berbeda diantaranya:

- a. Keterulangan yaitu ketepatan hasil pada kondisi percobaan yang sama baik dari sisi analisis, peralatan, tempat maupun waktu analisis. Dilakukan sebanyak 6-15 kali pengulangan
- b. Presisi antara atau kebalikan dari presisi keterulangan yaitu ketepatan hasil pada kondisi percobaan yang berbeda baik dari sisi analisis, peralatan, tempat maupun waktu analisis pada jangka waktu yang diperpanjang. Dilakukan sebanyak 6-15 kali pengulangan.
- c. Ketertiruan yaitu ketepatan yang merujuk pada hasil dari laboratorium lain, dengan melakukan analisis pada baku standar sebanyak 5-6 kali pengulangan oleh satu analis dan menggunakan satu peralatan dan di hari yang sama, lalu melakukan analisis pada sampel sebanyak 5-6 kali pengulangan dengan tiga konsentrasi berbeda (Rachmawati, 2024)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$