Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam
Volume 6, Nomor 1, Tahun 1997
ISSN 0853-0033

PENENTUAN ASAM ASKORBAT SECARA SPEKTROFOTOMETRI MENGGUNAKAN PENGOMPLEK O-FENANTROLIN

(Determination of ascorbic acid spectrophotomet-rically using o-phenanthroline as a compexing agent)

Yulizar Yusuf, Umiati Loekman dan Efrizon Farit
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang

ABSTRACT

Determination of ascorbic acid with o-phenanthroline have been spectrophotometrically . Optimum condition was found at λ = 508 nm, pH 5.0 - 6.0 reaction completion, after 10 minutes.

The method have been used to determine the concentration of ascorbic acid in citrus fruits from Malee (guana juice). The result showed that fruit contained 227.6 ppm ascorbic acid with recovery of 100.96%, and relative standard deviation of 1.35%.

PENDAHULUAN

Asam askorbat (vitamin C) merupakan senyawa yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia. Walaupun banyak asam askorbat sintesis tersedia, namun yang terdapat di alam lebih baik khasiatnya. Asam askorbat banyak ditemukan pada sayur-sayuran dan buah-buahan segar (Harper H.A., et all, 1979). Asam askorbat sangat berperan melawan infeksi dan stres, membantu kerja hormon dan pembentukan sel-sel tubuh (Bushway R.J., *et al*, 1984).

Struktur asam askorbat mirip dengan struktur monosakarida yang didalam air dapat berbentuk sebagai asam L - askorbat dan asam L- dehidro askorbat yang strukturnya sebagai berikut :

Asam L-dehidroaskorbat secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perobahan lebih lanjut menjasi asam L - diketogulonat (Howende E.S., 1973). Kekurangan asam askorbat (vitamin C) dalam tubuh akan menyebabkan penyakit skorbut dengan gejala antara lain mudah terjadi pendarahan pada gusi, bulu mudah rontok.

Penentuan asam askorbat yang umum digunakan adalah metoda iodometri dengan menggunakan Cu(II), kromatografi dan metoda spektrofotometri dengan menggunakan berbagai pengomplek seperti ferozin o-fenantrolin. Dalam penelitian ini dicoba menggunakan o-fenantrolin sebagai pengomplek, dimana pada prinsipnya asam askorbat dapat mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II), dan selanjutnya Fe o-fenantrolin yang terbentuk diukur dengan alat spektrofotometer

METODOLOGI PENELITIAN

Reagen yang digunakan pada penentuan kondisi optimum adalah reagen murni. Dan untuk aplikasi metoda digunakan sampel minuman kaleng dengan merk Malee (guana juice).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 5 ml asam askorbat 20 ppm, ditambahkan 5 ml buffer asetat pH = 5, 1 ml larutan Fe(III) 0,002 M dan 1 ml o-fenantrolinphenantrolin 0,1 % dalam labu ukur 25 ml. Absorban diukur pada variasi panjang gelombang 450 - 550 nm.

Hubungan pH dengan absorban.

Dicampurkan larutan sesuai prosedur (1) diatas tetapi pH larutan divariasikan dengan menambahkan pH buffer 3,5 - 6,5 dan diukur absorbannya pada λ optimum diatas.

Hubungan waktu kestabilan kompleks dengan absorban
Dicampurkan larutan sesuai prosedur (1) diatas dan dilakukan pengukuran setiap 5 menit dengan menggunakan λ optimum dan pH buffer optimum.

Pengaruh Fe(III) terhadap absorban.
Dicampurkan larutan sesuai prosedur (1) diatas, hanya volume Fe (III) 0,002 M divariasikan antara 1,6 - 2,4 ml. Absorban diukur pada kondisi optimum yang telah diperoleh diatas.

Pengaruh o-fenantrolin dengan absorban.
Dicampurkan larutan sesuai prosedur (1) diatas, hanya o-fenantrolin 0,1 % divariasikan dari 0,8 - 1,6 ml. Absorban di ukur pada kondisi optimum yang telah di peroleh di atas.

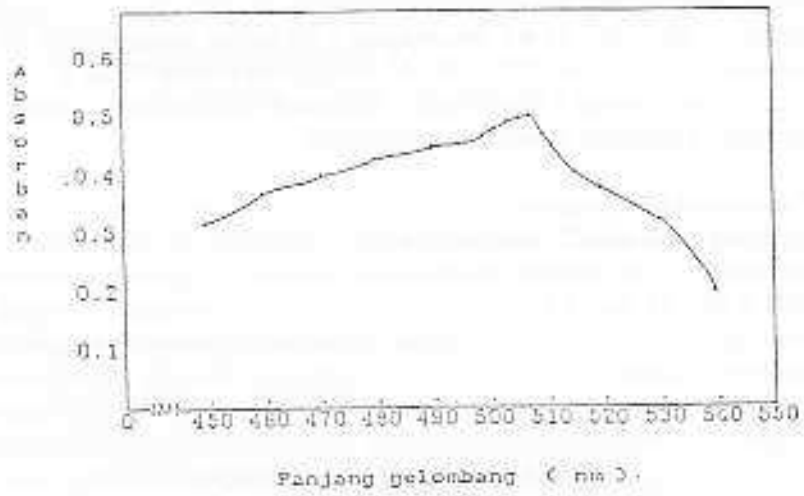
Aplikasi metoda
Pengukuran sampel
Kedalam labu ukur 25 ml dimasukkan 5 ml buffer asetat pH 5,5 , 5 ml sampel, 1,8 ml Fe (III) 0,002 M dan 1,2 ml o-fenantrolin 0,1 %. Diencerkan hingga tanda batas. Absorban diukur pada kondisi optimum yang telah di peroleh sebelumnya.

Penentuan Recovery
Kedalam labu ukur 25 ml dimasukkan 5 ml buffer asetat pH 5,5, 5 ml sampel, 1 ml larutan standar asam askorbat 25 ppm, 1,8 ml Fe (III) 0,002 M dan 1,2 mb o-fenantrolin 0,1 %. diencerkan hingga tanda batas. Absorban diukur pada kondisi yang optimum yang telah diperoleh diatas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan antara panjang gelombang dengan absorban
Penentuan panjang gelombang maksimum ditujukan untuk mengetahui nilai panjang gelombang dimana komponen menyerap maksimum terhadap sinar monokromatis yang digunakan. Hasil penentuan panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari gambar diatas terlihat bahwa respon serapan meningkat dengan bertambahnya panjang gelombang pengukuran dan mencapai absorban optimum pada panjang gelombang 508 nm. Sedangkan pada panjang gelombang yang besar dari 508 nm terjadi penurunan absorbsi. Hal ini berarti bahwa tingkat energi cahaya yang sesuai dengan struktur senyawa kompleks besi(II) – o-fenantrolin ini adalah pada panjang gelombang 508 nm. Bila cahaya jatuh pada senyawa, maka sebagian cahaya diserap oleh molekul-molekul yang sesuai dengan struktur dari molekul senyawa tersebut. Bila cahaya mempunyai energi yang sama dengan perbedaan energi antara tingkat dasar dengan tingkat teraksitasi jatuh pada senyawa, maka elektron-elektron pada tingkat dasar dieksitasikan ketingkat tereksitasi, dan sebagian energi cahaya yang sesuai dengan panjang gelombang itu diserap. Karena perbedaan energi antara tingkat dasar dengan tingkat tereksitas spesifik untuk tiap-tiap senyawa, maka frekuensi yang diserap juga tertentu (panjang gelombang tertentu).

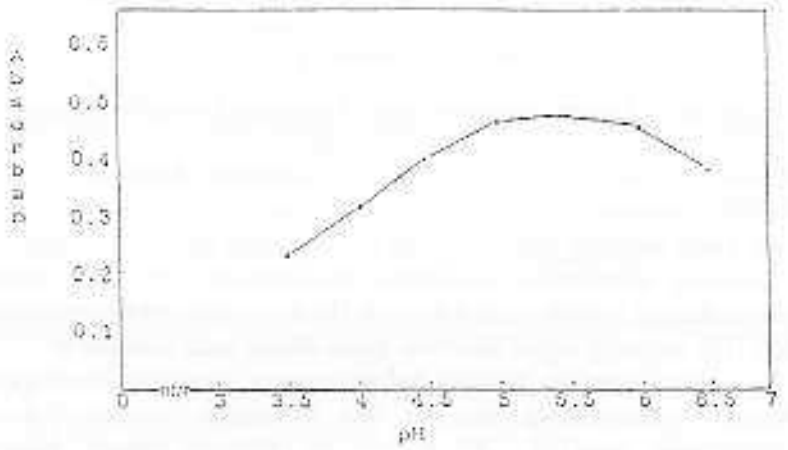


Gambar 1. Hubungan antara panjang gelombang dengan absorban

Pengaruh pH larutan terhadap absorban

Hubungan antara pH larutan buffer dengan absorban pada penentuan asam askorbat dengan metode ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Dari kurva terlihat bahwa respon absorban meningkat dengan naiknya pH larutan, daan mencapai optimum pada pH larutan 5,0 - 6,0. Hal ini menunjukkan bahwa pada pH larutan 5,0 - 6,0 kompleks antara besi(II) dengan o-fenantrolinphenantrolin dapat terbentuk dengan sempurna, sedangkan pada pH larutan kecil dari 5,0 absorban turun. Hal ini disebabkan reaksi antara besi(II) dengan o-fenantrolin menghasilkan ion H^+. Pada konsentrasi ion H^+ tinggi, maka kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri (reaktan) sehingga kompleks yang terbentuk sedikit, maka absorban rendah. Pada pH larutan lebih dari 6 kemungkinan terjadi pengendapan besi hidroksida, sehingga kompleks yang terbentuk sedikit dan absorban turun.

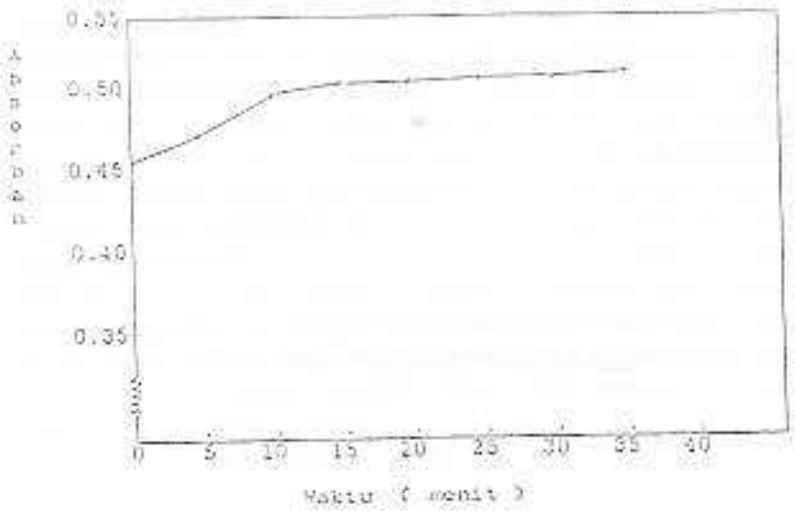


Gambar 2. Hubungan antara pH larutan dengan absoban

Hubungan kesempurnaan reaksi kompleks dengan absorban

Penentuan waktu kestabilan kompleks dalam metoda ini bertujuan untuk mengetahui selang waktu dimana warna kompleks stabil dan baik digunakan untuk analisa. Hasil penentuan waktu kestabilan kompleks dapat dilhat pada Gambar 3.

Dari gambar diatas dapat terlihat bahwa respon meningkat dengan bertambahnya waktu dan stabil setelah waktu 10 menit. Hal ini berarti bahwa pengukuran dapat dilakukan setelah waktu pembentukan warna kompleks selama 10 menit.



Gambar 3. Hubungan antara waktu kestabilan kompleks dengan absorban

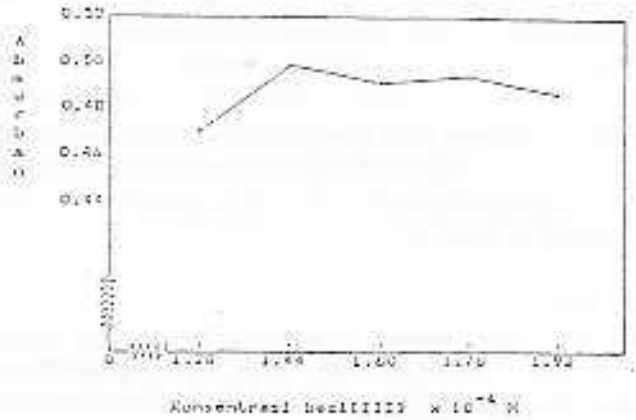
Hubungan antara konsentrasi besi (III) dengan absorban

Besi (III) merupakan sumber dari besi (II) dimana besi (III) direduksi oleh asam askorbat menghasilkan besi (II) dan bereaksi dengan o-fenantrolin membentuk kompleks. Penambahan besi (III) harus sesuai dengan jumlah asam askorbat. Hasil pengukuran penambahan besi (III) terhadap signal absorban dapat dilihat pada Gambar 4.

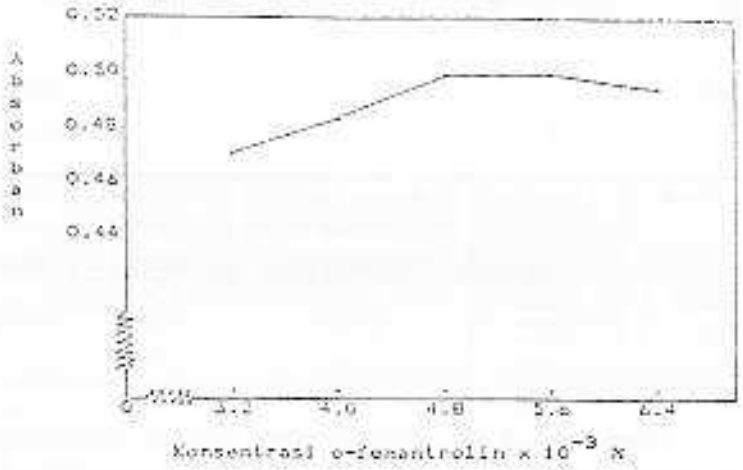
Dari gambar terlihat bahwa respon absorban meningkat dengan bertambahnya besi(III) dan mencaspai optimum pada penembahan besi(III) 1,44 x 10^{-4} M. Hal ini berarti bahwa penambahan besi(III) 1,44 x 10^{-4} M telah mengikuti persamaan reaksi stokiometri, sedangkan penambahan besi(III) besar dari 1,44 x 10^{-4} M respon absorban terlihat agak mendatar. Berarti kelebihan besi(III) tidak memberikan gangguan yang berarti dalam pengukuran.

Hubungan antara konsentrasi o-fenantrolin dengan absorban

O-FENANTROLINphenantrolin berfungsi sebagai pengompleks dari besi (III) yang dihasilkan dari reduksi besi (III) oleh asam askorbat. Hubungan antara penambahan o-fenantrolin 0,1 % dengan signal absorban dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Hubungan antara konsentrasi besi (III) 0,0002 M dengan absorban



Gambar 5. Hubungan antara o-fenantrolin 0.1% dengan absorban

Dari Gambar 5 terlihat bahwa absorban meningkat dengan bertambahnya o-fenantrolinphenantrolin, dan mencapai optimum pada penambahan o-fenantrolinphenantrolin 4,8 x 10^{-3} %. Hal ini berarti bahwa reaksi yang terbentuk antara besi (II) dengan o-fenantrolinphenantrolin telah mengikuti persamaan reaksi stoikiometri. Sedangkan pada penambahan o-fenantrolinphenantrolin lebih dari 4,8 x 10^{-3} % absorban kelihatan agak mendatar. Berarti kelebihan o-fenantrolinphenantrolin tidak memberikan gangguan yang berarti dalam pengukuran.

Aplikasi Metoda

Aplikasi metoda pada sampel ditujukan untuk melihat sejauh mana metoda dengan kondisi-kondisi yang telah didapatkan dapat menentukan kandungan asam askorbat dalam sampel. Nilai konsentrasi asam askorbat dalam sampel dihitung dari ekstrapolasi hasil pengukuran absorban pada kurva kalibrasi standar asam askorbat dari persamaan : Y = 0,0064 + 0,1243 X. Hasil pengukuran asam askorbat pada sampel minuman kaleng dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari perhitungan didapatkan kandungan asam askorbat dalam sampel Malee adalah = 227.6 ppm

Tabel 1. Penentuan konsentrasi asam askorbat pada minuman kaleng

Merek	Absorban	Kons. vit. C berdasarkan kurva regresi (ppm)	Kons. vit C sampel (ppm)	Rata-rata (ppm)
Malee 1	0,285	2,241	224,1	227,6
2	0,292	2,297	229,7	
3	0,290	2,285	228,5	

Untuk melihat ketepatan metoda dengan kondisi-kondisi yang telah didapatkan, dapat dilihat dari harga rekoveri. Hasil perhitungan rekoveri dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari hasil perhitungan rekoveri rata-rata dari jenis sampel minuman kaleng Malee adalah = 100,96 %. Dari harga rekoveri yang

diperoleh menunjukkan bahwa ketepatan metoda pada penentuan konsentrasi asam askorbat dalam sampel minuman kaleng cukup tinggi, karena nilai rekoveri yang baik menurut literatur adalah 100 ± 10 %.

Tabel 2. Rekoveri metoda penentuan asam askorbat pada sampel minuman kaleng.

Merek	Kons.vit.C berdasarkan regresi (ppm)	Kons.vitC ditambahkan (ppm)	Kons.vit.C ditemukan (ppm)	Reco-fenantrolinvery %	Rata-rata (%)
Malee 1	2,241	1,0	3,247	100,6	
2	2,297	1,0	3,279	98,2	100.96
3	2,285	1,0	3,327	104,2	

Untuk melihat ketelitian metoda dapt dilihat dari nilai standar deviasi relatif. Dari hasil perhitungan diperoleh standar deviasi relatif untuk penetuan asam askorbat dalam sampel minuman kaleng jenis Malee 1,35%
Untuk standar deviasi relatif yang baik adalah maksimum 5 %. Dengan demikian metoda penentuan asam askorbat ini ketelitiannya cukup baik.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kondisi optimum metoda spektrofotometri untuk penentuan asam askorbat diperoleh : serapan maksimum pada panjang gelombang 508 nm, pH 5,0 - 6,0, dan kesempurnaan reaksi komplek setelah 10 menit.
2. Metoda ini diaplikasikan terhadap sampel jenis Malee (guava juice) diperoleh konsentrasi asam askorbat 227,6 ppm recovery 100,96 %, standar deviasi relatif 1,35 %

DAFTAR PUSTAKA

Bushway R.J.*et.al*, . 1984. *J. Food Sci.* 49 : 75 – 81

Harold, A. H. 1969. Review of Physiological chemistry". 12 th ed. Lange Medikal Publication California,1969.

Harold A. H. and Rowelly .W., 1979. *Biokimia*. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.

Samberlich H. E.,"A New Titrimetris Method for Determination of Vitamin C."*J. Anal Biochem*, 53, 1973, pp. 245 - 251.