



**VALIDASI METODE SPEKTRIFOTOMETRI VISIBEL UNTUK  
PENETAPAN KADAR VITAMIN C PADA TEH HIJAU  
(*Camellia sinensis* (L.) O.K)**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**HASANAH  
N111 05 648**

PERPUSTAKAAN UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	16 - 12 - 09
Asal Dari	farmasi
Banyaknya	1 dus
Barga	Hasanudin
No. Inventaris	

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2009**

VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL UNTUK  
PENETAPAN KADAR VITAMIN C PADA TEH HIJAU  
(*Camellia sinensis* (L.) O.K)

HASANAH

N111 05 648

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



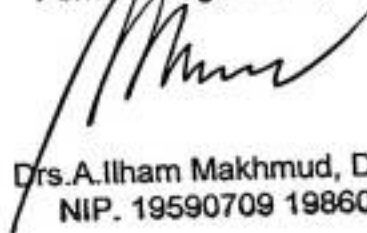
Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, M.Sc., Apt  
NIP. 19460614 197503 1 001

Pembimbing Pertama,



Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt  
NIP. 19481002 198203 2 001

Pembimbing Kedua,



Drs. A. Ilham Makhmud, Dip.Sc., Apt  
NIP. 19590709 198601 1 001

Pada tanggal      Desember 2009

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur penulis ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Mengetahui, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat terselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini. Namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bpk Prof.Dr.H. Tadjuddin Naid, M.Sc., Apt selaku pembimbing utama, Ibu Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt selaku pembimbing pertama dan Bpk Drs.A.Ilham Makhmud, Dip.Sc.,Apt selaku pembimbing kedua atas waktu, bimbingan dan nasehat-nasehatnya selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi UNHAS sampai terselesaikannya skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi UNHAS beserta seluruh staf, Kepala Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS beserta staf, atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih kepada teman-teman mahasiswa Fakultas Farmasi angkatan 2005, terkhusus teman-teman seperjuangan Mimma Merdiana,

Ulfa, Suriani Beddu, Juniar Syafitri P., A. Tenri Wali, Balqis, Musyahidah, dan Herlina Husain atas bantuan dan dukungannya. Terkhusus lagi kepada Safri dan teman-teman asrama kak Ipeh, kak Ria, kak Subi, Nina, Tina, Rara dan Elly atas perhatian, bantuan dan dukungannya. Terima kasih pula penulis sampaikan untuk Lukman M., Ibu Adriana Pidun yang telah memberikan perhatian dan bantuan selama pelaksanaan penelitian.

Akhirnya semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril dari kedua orang tua tercinta, Ayahanda M. Idris Dohe, Ibunda Hj. Aminah dan kedua kakakku Ida Royanti, A.Md beserta suami Yunus, dan Hamdan serta kedua adikku Romadan dan Habibie.

Akhirnya semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin...

Makassar, Desember 2009

Hasanah

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang validasi metode spektrofotometri untuk penetapan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K ). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah metode spektrofotometri visibel dapat digunakan dalam menentukan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil validasi yaitu pengujian presisi pada larutan sampel memiliki nilai RSD ( simpangan baku relatif) sebesar 4,83 %. Akurasi (persen perolehan kembali) vitamin C adalah sebesar 102,40 % untuk penambahan baku konsentrasi 70 %, 95,80 % untuk penambahan baku konsentrasi 100 %, dan 98,33 % untuk penambahan baku konsentrasi 130 %. Nilai linearitas vitamin C sebesar 0,9969. Nilai batas deteksi sebesar 0,939 bpj dan nilai batas kuantitas adalah 2,846 bpj.

Kata kunci : validasi, spektrofotometri , vitamin C, *Camellia sinensis* (L.) O.K.

## ABSTRACT

The research validation of spectrophotometric method for vitamin C determination in green tea (*Camellia sinensis* (L.) O.K) has been done. The aim of this research is to know whether the visible spectrophotometric method can be used for vitamin C determination in green tea (*Camellia sinensis* (L.) O.K). The validation results show that RSD (Relative Standard Deviation) value for precision test in sample solution is 4,30 %. Accuracy (% recovery) of vitamin C is 102,40 % for standard 70 % addition, 95,80 % for standard 100 % addition, and 98,33 % for standard 130 % addition. Linearity value for vitamin C is 0,9969. Limit of detection value is 0,939 bpj and limit of quantitation is 2,846 bpj.

Key words : validation, spectrophotometric, vitamin C, *Camellia sinensis* (L.) O.K.

## DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Uraian Tanaman .....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	4
II.1.4 Komponen Kimia Tanaman.....	5
II.1.5 Manfaat Tanaman.....	6
II.2 Uraian Vitamin C.....	7
II.2.1 Uraian Bahan Vitamin C.....	7
II.2.2 Analisis Vitamin C.....	8
II.3 Uraian Umum Validasi .....	10

II.4 Uraian Umum Spektrofotometer Sinar Tampak .....	15
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....	18
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	18
III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel .....	18
III.2.1 Pengambilan Sampel .....	18
III.2.2 Pengolahan Sampel.....	18
III.3 Penyiapan Bahan Penelitian .....	19
III.3.1 Pembuatan Larutan Pengekstraksi .....	19
III.3.2 Pembuatan Pereaksi 2,6 D 0,04% .....	19
III.3.3 Pembuatan Larutan Asam Metafosfat 2%.....	19
III.4 Pembuatan Kurva Baku Asam Askorbat .....	20
III.4.1 Pembuatan Larutan Baku .....	20
III.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	20
III.4.3 Pembuatan Kurva Baku .....	20
III.5 Prosedur Validasi Metode Analisis.....	21
III.5.1 Presisi.....	21
III.5.2 Akurasi.....	21
III.5.2.1 Pembuatan Baku Asam Askorbat Konsentrasi 70%, 100% dan 130%.....	22
III.5.2.2 Pengujian Akurasi .....	23
III.5.3 Linieritas.....	24
III.5.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitas .....	24



iii.6 Pengumpulan dan Analisis Data .....	25
iii.7 Pembahasan Hasil.....	25
iii.8 Pengambilan Kesimpulan .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
<b>IV.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>26</b>
IV.1.1 Hasil Presisi .....	26
IV.1.2 Hasil Akurasi.....	26
IV.1.2 Hasil Linieritas .....	27
IV.1.1 Hasil Batas Deteksi dan Batas Kuantitas.....	27
IV.2 Pembahasan .....	28
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>31</b>
V.1 Kesimpulan.....	31
V.2 Saran.....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>32</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>37</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Perolehan Kembali Analit pada Konsentrasi Berbeda.....	12
2. Perbandingan Konsentrasi Analit dan Presisi .....	13
3. Hasil Pengukuran Serapan Larutan Vitamin C Baku pada Panjang Gelombang Maksimum 507 nm .....	34
4. Hasil Pengukuran Serapan Vitamin C pada Sampel untuk Presisi .....	34
5. Hasil Pengukuran Serapan Baku Vitamin C Konsentrasi 70%, 100% dan 130% .....	35
6. Hasil Pengukuran Serapan Sampel dan Serapan Sampel Ditambah Baku Vitamin C Konsentrasi 70% .....	35
7. Hasil Pengukuran Serapan Sampel dan Serapan Sampel Ditambah Baku Vitamin C Konsentrasi 100% .....	35
8. Hasil Pengukuran Serapan Sampel dan Serapan Sampel Ditambah Baku Vitamin C Konsentrasi 130% .....	35



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Delapan Tahap Metode Validasi Menurut USP .....	11
2. Kurva Baku Larutan Standar Asam Askorbat pada Panjang Gelombang 507 nm.....	36
3. Foto Tanaman Teh.....	56
4. Foto Teh Hijau Kering .....	57

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja pengujian presisi.....	37
2. Skema kerja pengujian akurasi .....	38
3. Skema kerja pengujian linieritas.....	39
4. Skema kerja pengujian batas deteksi dan batas kuantitas .....	40
5. Perhitungan kurva baku .....	41
6. Perhitungan presisi.....	42
7. Perhitungan akurasi .....	45
8. Perhitungan linieritas.....	49
9. Perhitungan batas deteksi dan batas kuantitas.....	50
10. Hasil pengukuran serapan vitamin C baku.....	52
11. Hasil pengukuran presisi .....	53
12. Hasil pengukuran akurasi .....	54
13. Determinasi tanaman teh hijau.....	55

## DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
A	absorban
RSD	relative standard deviation (simpangan baku relatif)
CV	koefisien variasi
SD	standard deviation (simpangan baku)
N / n	jumlah pengukuran
LOD	limit of detection (batas deteksi)
LOQ	limit of quantitation (batas kuantitas)
bpj	bagian per juta
$\Sigma$	jumlah
$\bar{x}$	konsentrasi rata-rata sampel
$\sigma$	simpangan baku respon analitik dari blanko
p.a.	pro analisis
b	slope
r	koefisien korelasi

## BAB I

### PENDAHULUAN

Vitamin adalah suatu zat senyawa kompleks yang sangat dibutuhkan oleh tubuh kita yang berfungsi untuk membantu pengaturan atau proses kegiatan tubuh. (1)

Asam askorbat (vitamin C) berfungsi sebagai reduktor dan katalis dalam susunan yang luas dari reaksi biokimia dan prosesnya. Vitamin C adalah bagian dari asam askorbat karena kemampuannya sebagai obat dan mencegah dari penyakit. Vitamin C sedikit stabil dari vitamin-vitamin lainnya. Makin cepat rusak dengan adanya logam, terutama tembaga, besi, dan dengan adanya enzim. Bisa juga terpapar dengan oksigen dan cahaya. Itu semua sangat berbahaya pada vitamin C jika terdapat dalam makanan. (2, 3)

Ada beberapa macam teh (*Camellia sinensis*) yang ada di dunia saat ini. Diantara yang menyebabkan terdapatnya beberapa macam teh adalah lokasi tumbuhnya, seperti: teh Cina, Sri Lanka, Jepang, Indonesia, atau teh Afrika. (4)

Teh dapat dikelompokkan dalam tiga jenis, yaitu teh hijau (tidak difermentasi), teh oolong (semifermentasi), dan teh hitam (fermentasi penuh). (5)

Teh hijau, seperti juga teh hitam, berasal dari tumbuhan yang sama. Nama dan wujudnya menjadi berbeda karena proses persiapan yang dijalani berbeda. Teh hijau diproses dengan cara khusus.

Setelah dipetik, daun teh akan mengalami pengasapan. Proses ini akan mengeringkan daun teh, namun tidak sampai mengubah warna daun. Kondisi inilah yang menyebabkan air seduhan daun teh tetap terlihat berwarna hijau muda. (4)

Berdasarkan hasil penelitian Pusat Penelitian Teh dan Kina, pada setiap 100 gram teh hitam terkandung 19,4 gram protein, 10,9 gram serat, 2,5 gram lemak, dan 32,1 gram gula. Kandungan teh hijau dalam setiap 100 gram terdapat 24 gram protein, kandungan serat 10,6 gram, lemak sebanyak 4,6 gram, dan kandungan gulanya 35,2 gram, dalam teh hijau mengandung vitamin C. Untuk setiap 100 gram teh hijau, terkandung 250 mg vitamin C. (6)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis adalah ketepatan (akurasi), ketelitian (presisi), selektivitas, linearitas, batas deteksi dan batas kuantitasi. (7)

Penentuan kadar vitamin C dapat dilakukan dengan metode titrimetri dan spektrofotometri. Pada metode spektrofotometri visibel dapat diukur serapannya dengan menggunakan pereaksi warna 2,6-diklorofenol indofenol pada panjang gelombang maksimum.

Permasalahannya sekarang apakah metode spektrofotometri visibel dapat digunakan dalam menentukan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah metode spektrofotometri dapat digunakan dalam menentukan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu metode yang dapat digunakan dalam menentukan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K).



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman

##### II.1.1 Klasifikasi (8)

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Dialypetalae
Ordo	: Parietales/Cistales
Famili	: Theaceae
Genus	: Camellia
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i> (L.) O.K

##### II.1.2 Nama Daerah (8)

Nama Jawa	: Enteh
Nama Melayu	: Teh

##### II.1.3 Morfologi (9)

Umumnya ditanam di perkebunan, dipanen secara manual, dan dapat tumbuh pada ketinggian 200 - 2.300 m dpl. Teh berasal dari kawasan India bagian Utara dan Cina Selatan. Ada dua kelompok varietas teh yang terkenal, yaitu var. *assamica* yang berasal dari Assam dan var. *sinensis* yang berasal dari Cina. Varietas *assamica* daunnya agak besar dengan ujung yang runcing, sedangkan varietas *sinensis* daunnya lebih

kecil dan ujungnya agak tumpul. Pohon kecil, karena seringnya pemangkasan maka tampak seperti perdu. Bila tidak dipangkas, akan tumbuh kecil ramping setinggi 5 - 10 m, dengan bentuk tajuk seperti kerucut. Batang tegak, berkayu, bercabang-cabang, ujung ranting dan daun muda berambut halus. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berseling, helai daun kaku seperti kulit tipis, bentuknya elips memanjang, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi halus, pertulangan menyirip, panjang 6 - 18 cm, lebar 2 - 6 cm, warnanya hijau, permukaan mengkilap. Bunga di ketiak daun, tunggal atau beberapa bunga bergabung menjadi satu, berkelamin dua, garis tengah 3 - 4 cm, warnanya putih cerah dengan kepala sari berwarna kuning, harum. Buahnya buah kotak, berdinding tebal, pecah menurut ruang, masih muda hijau setelah tua cokelat kehitaman. Biji keras, 1 - 3. Pucuk dan daun muda yang digunakan untuk pembuatan minuman teh. Perbanyakkan dengan biji, setek, sambungan atau cangkokan.

#### II.1.4 Komponen Kimia (5)

Bahan-bahan kimia dalam daun teh dapat digolongkan menjadi empat kelompok besar, yaitu substansi fenol (katekin/polifenol, flavonol), substansi bukan fenol (karbohidrat, substansi pektin, alkaloid, vitamin (Vitamin C, K, A, B1, dan B2), Mineral ( Mg, K, F, Na, Ca, Mn ) ), substansi penyebab aroma , dan enzim ( amilase, peroksidase).

## **11.1.5 Manfaat Tanaman (10)**

### ***Pencernaan***

Essential oils dan polyphenols membantu dalam proses mencernakan makanan melalui stimulasi peristalsis dan pembuatan cairan pencernaan.

### ***Gigi***

Semua teh, tetapi khususnya teh hijau, mengandung fluoride, sebuah mineral yang mencegah pertumbuhan bakteri yang menuju ke kebusukan gigi.

### ***Kanker***

Polyphenols dalam teh hijau baru diketahui berfungsi sebagai antioxidants dan mampu menurunkan kemungkinan terkena kanker kulit, kanker paru-paru, kanker usus dan kanker hati pada binatang dalam laboratorium.

### ***Vitamin***

Teh hijau mengandung vitamin C dosis tinggi . Teh juga mengandung vitamin yang lain dalam jumlah sedikit beserta mineral penting bagi tubuh kita seperti kalium.

### ***Kalori***

Hanya 4 kalori per cangkir (hitam, oolong, hijau).

### ***Susunan Saraf***

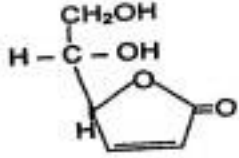
Meningkatkan kesadaran, konsentrasi, dan mencegah kelelahan.

### **Sebagai Obat Tradisional**

Dipercaya di beberapa budaya sebagai pemajuan umur panjang. Dipakai di berbagai daerah sebagai obat anti-bakteri. Daun basahya dipakai untuk kompres pada gigitan serangga, dan terbakarnya sinar matahari, sebagai pengering untuk infeksi fungi dan sebagai penyegar untuk mata yang lelah.

## **II.2 Uraian Vitamin C**

### **II.2.1 Uraian Bahan Vitamin C (11)**

Nama latin	: Acidum ascorbicum
Nama Lain	: Asam askorbat, Vitamin C
Rumus molekul	: $C_6H_8O_6$
Rumus bangun	: 
Berat molekul	: 176,13
Pemerian	: Serbuk atau hablur; putih atau agak kuning; tidak berbau; rasa asam; oleh pengaruh cahaya lambat laun menjadi gelap. Dalam keadaan kering, mantap di udara, dalam larutan cepat teroksidasi.
Kelarutan	: Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol (95%) P, praktis tidak larut

dalam klorofom P, dalam eter P dan dalam benzene P.

Penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya

Khasiat : Antiskorbat

### II.2.2 Analisis Vitamin C (12)

Asam askorbat dapat dianalisis dengan cara bioassay atau prosedur kimiawi. Prosedur yang biasa digunakan dalam metode kimia didasarkan pada salah satu dari dua prinsip yaitu:

- Pengukuran laju reduksi dari bahan pengoksidasi tertentu seperti biru metilen, 2,6-diklorofenol indofenol.
- Pengukuran kompleks berwarna yang dihasilkan dari asam dehidroaskorbat dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin.

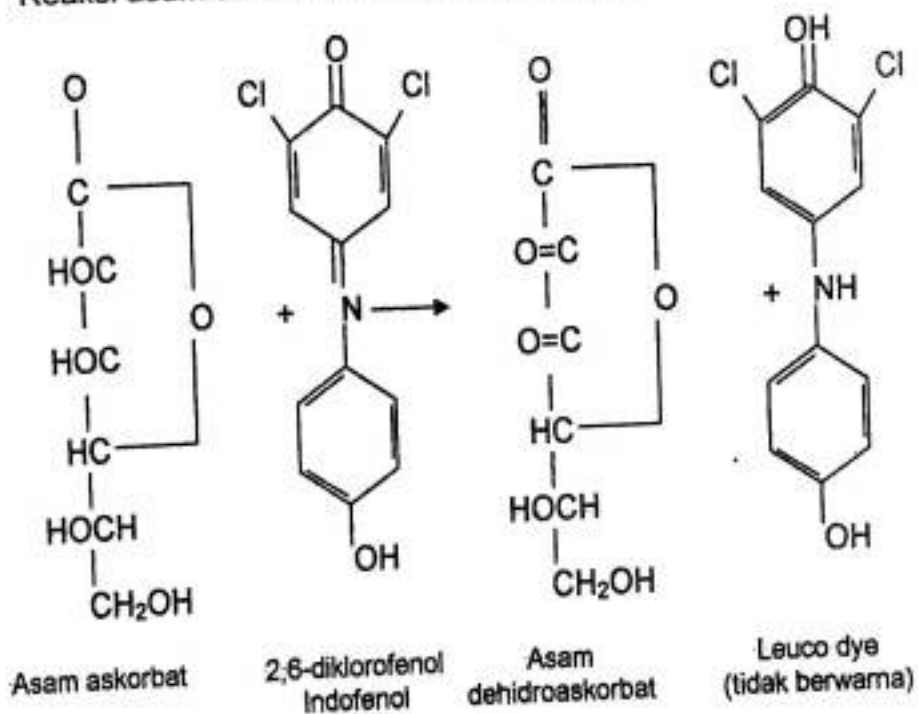
Zat warna biru 2,6 diklorofenol indofenol pada keadaan stokiometri direduksi komponen tidak berwarna oleh asam askorbat (bentuk reduksi). Jumlah asam askorbat digambarkan oleh laju atau tingkat perubahan ini dapat diukur dengan titrasi atau dengan kolorimetri fotoelektrik.

Terdapat sejumlah metode analisis untuk vitamin C, metode kimia tergantung dari :

1. Bahan pereduksi dari gugus 1,2-enediol yang memungkinkan perubahan absorban dalam indicator dye atau
2. Bentuk hidrazone atau fluorophores

Pengukuran vitamin C dengan menggunakan 2,6 diklorofenol indofenol pertama kali ditemukan oleh Tilmans pada tahun 1972. Indofenol sering pula disebut "dye" yang berwarna biru dalam larutan basa dan merah dalam larutan asam. Asam askorbat akan mereduksi dye dan terbentuk dehidroaskorbat dan indofenol yang tereduksi jadi tidak berwarna. Metode ini spesifik di dalam larutan dengan kisaran 1-3, 5. Perubahan warna dapat dilihat secara fotometri atau secara kolorimetri (505-520 nm). Cara kolorimetri didasarkan pada pengukuran jumlah larutan 2,6 diklorofenol indofenol yang dihilangkan warnanya oleh asam askorbat.

Reaksi asam askorbat dan natrium 2,6-diklorofenol indofenol



### 4.3. Uraian Umum Validasi (7, 13, 14)

Validasi merupakan suatu proses yang terdiri atas paling tidak 4 langkah nyata, yaitu: (1) validasi perangkat lunak (*software validation*), (2) validasi perangkat keras / instrumen (*instrument/hardware validation*), (3) validasi metode, dan (4) kesesuaian sistem (*system suitability*).

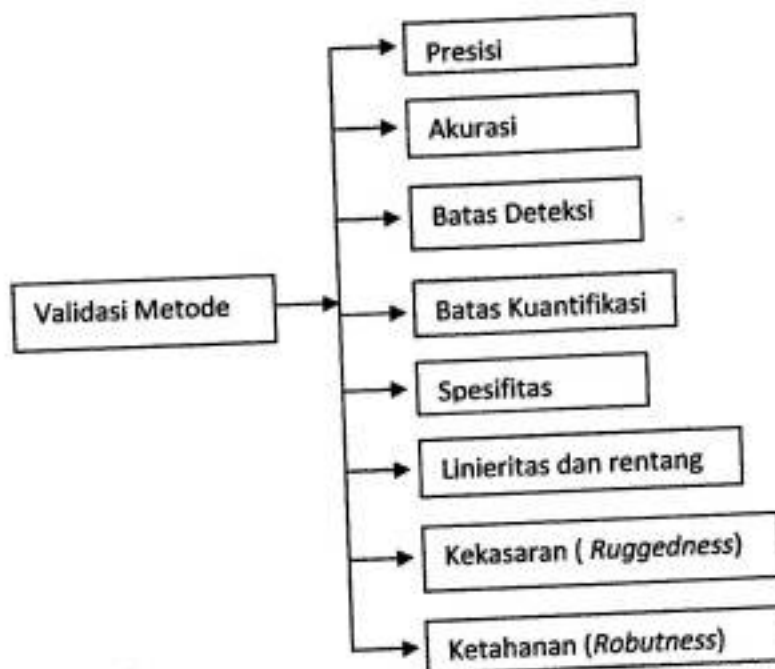
Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.

Validasi metode menurut United States Pharmacopeia (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduksibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi, ketika:

- Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu
- Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi
- Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu

- Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda
- Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antara 2 metode, seperti metode baru dan metode baku.

Menurut USP ( United States Pharmacopeia), ada 8 langkah dalam validasi metode analisis sebagaimana terlihat dalam gambar 1 :



Gambar 1. Delapan tahap metode validasi menurut USP. ( Sumber: Swartz and Krull, 1997. Kimia Farmasi Analisis , Gandjar, IG dan Rohman Abdul, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, hal.464)

### 1. Akurasi (Ketepatan)

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel.



Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai persentasi perolehan kembali.

Perhitungan perolehan kembali dapat juga ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{C_F - C_A}{C^*_A} \times 100$$

dimana;

$C_F$  = konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran

$C_A$  = konsentrasi sampel sebenarnya

$C^*_A$  = konsentrasi analit yang ditambahkan

Tabel 1. Perolehan Kembali Analit pada Konsentrasi Berbeda

Analit pada Matriks Sampel	Rasio analit	Unit	% Rata-rata Perolehan Kembali
100	1	100%	98-102
$\geq 10$	$10^{-1}$	10%	98-102
$\geq 1$	$10^{-2}$	1%	97-103
$\geq 0.1$	$10^{-3}$	0.1%	95-105
0.01	$10^{-4}$	100 bpj	90-107
0.001	$10^{-5}$	10 bpj	80-110
0.0001	$10^{-6}$	1 bpj	80-110
0.00001	$10^{-7}$	100 ppb	80-110
0.000001	$10^{-8}$	10 ppb	60-115
0.0000001	$10^{-9}$	1 ppb	40-120

Sumber : Huber L. Validation of Analytical Methods and Processes. Marcel Dekker. Germany. 2003.

## 2. Presisi (Keteelitian)

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik.

Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data.

$$\text{RSD} = \frac{100 \times \text{SD}}{\bar{X}} ; \text{ yang mana } \bar{X} \text{ merupakan rata-rata data,}$$

dan SD adalah standar deviasi serangkaian data.

Tabel 2. Perbandingan Konsentrasi Analit dan Presisi

Analit (%)	Rasio analit	Unit	KV (%)
100	1	100%	<1.3
10	10 <sup>-1</sup>	10%	<1.8
1	10 <sup>-2</sup>	1%	<2.7
0.1	10 <sup>-3</sup>	0.1%	<3.7
0.01	10 <sup>-4</sup>	100 bpj	<5.3
0.001	10 <sup>-5</sup>	10 bpj	<7.3
0.0001	10 <sup>-6</sup>	1 bpj	<11
0.00001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb	<15
0.000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb	<21
0.0000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb	<30

Sumber : Huber L. Validation of Analytical Methods and Processes. Marcel Dekker, Germany. 2003.

## 3. Batas Deteksi (*limit of detection*, LOD)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat

dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko ( $y_b$ ) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ( $3S_b$ ).

LOD juga dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*,  $S$ ) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus,  $LOD = 3,3 (SD/S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep  $y$  pada garis regresi.

#### 4. Batas Kuantifikasi (*limit of quantification*, LOQ)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan).

Metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan *slope* ( $S$ ) kurva baku sesuai dengan rumus:  $LOQ = 10(SD/S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep  $y$  pada garis regresi.

## 5. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya.

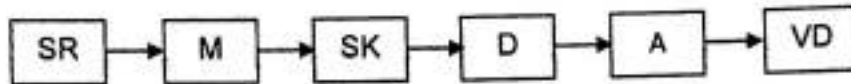
### 11.4 Uraian Umum Spektrofotometer Sinar Tampak (15,16)

Analisis spektrofotometri merupakan suatu analisis instrumental yang membahas tentang interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik. Analisis spektrometri sinar tampak adalah pengukuran  $\lambda$  maksimal dari suatu senyawa berwarna dalam larutan tergantung pada serapan (Absorpsi).

Spektrofotometer menggunakan cahaya monokromatis. Jika cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu larutan maka perbandingan intensitas sinar yang keluar (I) terhadap sinar yang masuk ( $I_0$ ) disebut transmittan (T). Sedangkan harga negatif dari transmittan merupakan serapan (A).

$$\frac{1}{I_0} = T; \text{Log } T = \text{Log } \frac{1}{I_0} = A$$

Pada umumnya konfigurasi dasar setiap spektrofotometer berupa susunan peralatan optik terkonstruksi sebagai berikut:



Keterangan :

SR : Sumber Radiasi  
 SK : Sampel Kompartemen  
 A : Amplifier

M : Monokromator  
 D : Detektor  
 VD : Visual Display/ Meter

### **Sumber Radiasi**

Beberapa macam sumber radiasi yang dipakai pada spektrofotometer adalah lampu deuterium, lampu tungsten dan lampu merkuri. Lampu deuterium dapat dipakai pada daerah panjang gelombang 180-370 nm (daerah UV deekat). Sedangkan pada panjang gelombang 486-651,1 nm memberikan 2 garis spektra yang dapat dipakai untuk menggeser ketetapan panjang gelombang pada spektrofotometer. Lampu tungsten merupakan campuran filamen tungsten dan gas iodin (halogen). Lampu tungsten dapat dipakai pada panjang gelombang 380-900 nm, sedangkan lampu merkuri merupakan suatu lampu yang mengandung uap merkuri tekanan rendah. Biasanya lampu merkuri ini digunakan pada daerah ultra lembayung khususnya di sekitar panjang gelombang 365 nm.

### **Monokromator**

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis.

Monokromator pada spektrofotometer biasanya terdiri dari susunan : celah masuk – filter – prisma – kisi - celah keluar.

### ***Sampel Kompartemen***

Tempat sampel (sampel kompartemen) berupa kuvet atau sel merupakan wadah yang dianalisis. Dianjurkn setiap kali memakai kuvet selalu dibersihkan dengan alkohol absolut atau direndam di dalamnya.

### ***Detektor***

Detektor merupakan suatu bagian spektrofotometer yang penting karena kualitas detektor akan menentukan kualitas spektrofotometer. Fungsi detektor di dalam spektrofotometer adalah merubah signal radiasi menjadi signal elektronik. Pada detektor didinginkan kepekaan radiasi yang rendah, kemampuan respon kuantitatif dan signal elektronik yang ditransfer oleh detektor dapat diaplikasikan oleh penguat (amplifier) ke recorder.

### ***Amplifier/Penguat dan Visual Display***

Amplifier dibutuhkan pada signal elektronik yang dialirkan setelah melewati detektor untuk menguatkan karena penguat dengan resistensi masukan yang tinggi sehingga rangkaian detektor tidak tersadap habis yang menyebabkan keluaran yang cukup besar untuk dapat dideteksi oleh suatu alat pengukur (meter).

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah labu erlenmeyer, labu tentukur 10 ml; 50 ml; 100 ml; 500 ml (Pyrex), neraca analitik, pipet mikro 100 – 1000  $\mu$ l (Humapette), pipet volume 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml; 5 ml (Pyrex), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601), stopwatch, vial coklat.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air steril untuk irigasi (Wida W), air suling, asam askorbat p.a. ( $C_6H_8O_6$ ) (Merck), asam asetat (HOAC), asam metafosfat p.a. ( $HPO_3$ ) (Merck), kertas indikator pH universal, Natrium bikarbonat ( $NaHCO_3$ ) (Merck), 2,6-Diklorofenol indofenol (Merck).

#### III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

##### III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah teh hijau yang berbentuk daun kering yang dibeli di salah satu toko di Makassar.

##### III.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel teh hijau ditimbang sebanyak 2,5 g dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Setelah itu, sampel diekstraksi dengan cara larutan pengestraksi yang terdiri dari campuran asam metafosfat dan asam asetat ditambahkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 25 ml, dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 30 menit, disaring, diukur pH

larutan dan diperoleh filtrat yang akan digunakan dalam analisis selanjutnya.

### **III.3 Penyiapan Bahan Penelitian**

#### **III.3.1 Larutan Pengekstraksi ( $\text{HPO}_3$ )**

Asam metafosfat ( $\text{HPO}_3$ ) ditimbang sebanyak 15 gram, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dalam 40 ml asam asetat ( $\text{HOAC}$ ) dan 200 ml air steril. Larutan ini kemudian diencerkan kembali hingga 500 ml dengan air steril dan disaring. Larutan pengekstraksi siap digunakan dalam analisis selanjutnya.

#### **III.3.2 Pereaksi 2,6-Diklorofenol indofenol 0,04 %**

2,6-diklorofenol indofenol ditimbang sebanyak 50 mg dan natrium bikarbonat sebanyak 42 mg dilarutkan dalam air panas ( $85^\circ\text{C} - 95^\circ\text{C}$ ), kemudian didinginkan, dan diencerkan sampai volume 50 ml. Larutan tersebut disaring, dipipet 10 ml dan diencerkan sampai volume 25 ml dengan air steril.

#### **III.3.3 Asam metafosfat 2 %**

Asam metafosfat ( $\text{HPO}_3$ ) ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian dilarutkan dalam air steril hingga 100 ml.



### **III.4 Pembuatan Kurva Baku Asam Askorbat**

#### **III.4.1 Pembuatan Larutan Baku**

Asam askorbat (p.a.) ditimbang seksama sebanyak 50 mg, dimasukkan dalam labu tentukur 50 ml, ditambahkan dengan larutan asam metafosfat 2 % hingga 50 ml (1000 bpj). Dipipet 1 ml dari larutan tersebut, dimasukkan dalam labu tentukur 50 ml, ditambahkan dengan larutan asam metafosfat 2 % hingga 50 ml (20 bpj).

#### **III.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan asam askorbat baku (20 bpj) dipipet 3 ml, dicukupkan volume hingga 10 ml dengan asam metafosfat 2 % (6 bpj). Larutan ini dipipet 3 ml, ditambahkan 0,3 ml 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, dilakukan pengukuran pada spektrofotometer visibel panjang gelombang 500-600 nm. Sebagai blanko digunakan asam metafosfat 2 % dan panjang gelombang maksimumnya adalah 507 nm.

#### **III.4.3 Pembuatan Kurva Baku**

Larutan asam askorbat baku (20 bpj) dipipet sebanyak 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml; dan 5 ml. kemudian masing-masing dicukupkan volumenya hingga 10 ml dengan larutan asam metafosfat 2 % hingga diperoleh konsentrasi 2 bpj; 4 bpj; 6 bpj; 8 bpj; dan 10 bpj. Dari masing-masing konsentrasi dipipet 3 ml, ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur pada spektrofotometer visibel. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum yaitu 507 nm.

### III.5 Prosedur Validasi Metode Analisis

#### III.5.1 Presisi (Ketelitian)

Sampel 2,5 g ditimbang sebanyak 7 kali kemudian diekstraksi. Filtrat hasil ekstraksi sampel dipipet sebanyak 1 ml, kemudian diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 100 ml. Pengenceran pertama dipipet sebanyak 1 ml dan diencerkan kembali dengan asam metafosfat 2 % hingga 10 ml. Larutan tersebut masing – masing dipipet 3 ml, kemudian ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur serapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

Presisi dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

1. Hasil analisis adalah  $X_1, X_2, X_3 \dots X_n$ , maka simpangan bakunya

adalah

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

2. Simpangan baku relatif atau koefisien variansi (KV) adalah :

$$RSD (KV) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \%$$

#### III.5.2 Akurasi (ketepatan)

Uji ini dilakukan dengan cara menambahkan larutan baku asam askorbat dengan konsentrasi 70 %, 100 %, dan 130 % ke dalam sampel yang akan diperiksa, kemudian diukur serapannya. Larutan baku asam

askorbat dengan konsentrasi 4,2 bpj ; 6 bpj; dan 7,8 bpj mewakili 70 %, 100 %, dan 130 % dari konsentrasi 6 bpj pada larutan baku asam askorbat.

### **III.5.2.1 Pembuatan baku asam askorbat konsentrasi 70 %,100 %, dan 130 %**

Baku vitamin C konsentrasi 70 % (4,2 bpj) dibuat dengan cara asam askorbat p.a. ditimbang sebanyak 4,2 mg, diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 100 ml. Diambil 1 ml dari larutan tersebut, diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 10 ml.

Baku vitamin C konsentrasi 100 % (6 bpj) dibuat dengan cara asam askorbat p.a. ditimbang sebanyak 6 mg, diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 100 ml. Diambil 1 ml dari larutan tersebut, diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 10 ml.

Baku vitamin C konsentrasi 130 % (7,8 bpj) dibuat dengan cara asam askorbat p.a. ditimbang sebanyak 7,8 mg, diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 100 ml. Diambil 1 ml dari larutan tersebut, diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 10 ml.

Masing-masing larutan baku tersebut dipipet 3 ml, kemudian ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur serapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

### III.5.2.2 Pengujian Akurasi

Sampel 2,5 g ditimbang sebanyak 3 kali kemudian diekstraksi. Filtrat hasil ekstraksi sampel dipipet sebanyak 1 ml, kemudian diencerkan dengan asam metafosfat 2 % hingga 100 ml. Pengenceran pertama dipipet sebanyak 1 ml dan diencerkan kembali dengan asam metafosfat 2 % hingga 10 ml. Larutan tersebut dipipet 3 ml, kemudian ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur serapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

Hasil pengenceran di atas diambil 2 ml, dimasukkan ke dalam vial coklat, ditambahkan 1 ml larutan baku vitamin C konsentrasi 70 % (4,2 bpj), dihomogenkan, ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur serapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

Prosedur pengujian akurasi dengan penambahan baku konsentrasi 100 % dan 130 % sama dengan prosedur di atas. Penimbangan dilakukan sebanyak 3 kali pada masing - masing konsentrasi.

Pengujian akurasi dapat dihitung melalui % perolehan kembali (% recovery) dengan rumus :

$$\frac{(C_F - C_A)}{C^*_A} \times 100 \%$$

$C_F$  = konsentrasi sampel + baku vitamin C

$C_A$  = konsentrasi sampel sebenarnya

$C^*_A$  = konsentrasi baku vitamin C yang ditambahkan

### III.5.3 Linearitas

Larutan baku asam askorbat dibuat dalam konsentrasi 2 bpj; 4 bpj; 6 bpj; 8 bpj; dan 10 bpj, kemudian Larutan tersebut masing – masing dipipet 3 ml, kemudian ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur serapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Koefisien korelasi ( $r$ ) dihitung dari analisis regresi linier  $Y = a + bX$  pada kurva baku.

### III.5.4 Batas Deteksi dan Batas kuantitas

Larutan baku asam askorbat dibuat dalam konsentrasi 2 bpj; 4 bpj; 6 bpj; 8 bpj; dan 10 bpj, kemudian Larutan tersebut masing – masing dipipet 3 ml, kemudian ditambahkan 0,3 ml larutan 2,6-diklorofenol indofenol, dikocok, diukur serapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Batas deteksi dan batas kuantitas dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva baku, setelah diperoleh data simpangan baku respon analitik dari blanko dan slope ( $b$ ) pada persamaan garis  $y = a + bx$ .

Batas deteksi dan batas kuantitas dihitung berdasarkan rumus :-

$$Q = \frac{k \times S_b}{S_l}$$

$k = 3,3$  untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitas

$S_b$  = simpangan baku respon analitik dari blanko ( $S_y / x$ )

$S_l$  = arah garis linier dari kurva antara respon terhadap konsentrasi

### **III.6 Pengumpulan Data dan analisis data**

Data yang telah diperoleh dari masing-masing pengukuran kadar vitamin C dalam sampel dianalisis secara statistik.

### **III.7 Pembahasan hasil**

Pembahasan dilakukan berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data.

### **III.8 Pengambilan Kesimpulan**

Kesimpulan diambil berdasarkan analisis data dan pembahasan hasil.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

##### IV.1.1 Hasil Presisi

No	Bobot Sampel (mg)	Serapan Vitamin C pada sampel	Kadar Sampel (%)	Nilai SD	Nilai KV (%)
1.	2500,4	0,333	7,972	0,3479	4,30
2.	2500,6	0,340	8,140		
3.	2500,5	0,363	8,695		
4.	2500,1	0,314	7,514		
5.	2500,3	0,336	8,044		
6.	2500,7	0,342	8,188		
7.	2500,3	0,337	8,068		

##### IV.1.2 Hasil Akurasi

- Akurasi Rentang 70%

N	Bobot Sampel (mg)	Baku yang Ditambahkan (mg)	Serapan Vitamin C			% Perolehan Kembali
			Sampel + Baku	Baku	Sampel	
1	2500,2	4,2	0,424	0,120	0,303	102,98
2	2500,4		0,436	0,120	0,316	102,12
3	2500,2		0,428	0,120	0,308	102,12
						$\bar{x} = 102,40$

- Akurasi Rentang 100 %

N	Bobot Sampel (mg)	Baku yang Ditambahkan (mg)	Serapan Vitamin C			% Perolehan Kembali
			Sampel + Baku	Baku	Sampel	
1	2500,4	6	0,513	0,213	0,311	95,96
2	2500,1		0,492	0,213	0,287	97,38
3	2500,3		0,499	0,213	0,301	94,06
						$\bar{x} = 95,80$

- Akurasi Rentang 130 %

N O	Bobot Sampel (mg)	Baku yang Ditambahkan (mg)	Serapan Vitamin C			% Perolehan Kembali
			Sampel + Baku	Baku	Sampel	
1	2500,1	7,8	0,524	0,272	0,258	98,71
2	2500,0		0,517	0,272	0,240	102,78
3	2500,2		0,525	0,272	0,273	93,50
						$\bar{x} = 98,33$

#### IV.1.3 Hasil Linieritas

No	Konsentrasi Vitamin C (bpj)	Serapan Vitamin C
1.	2	0,082
2.	4	0,161
3.	6	0,266
4.	8	0,340
5.	10	0,407

$$a = 0,025$$

$$b = 0,04145$$

$$r = 0,9969$$

#### IV.1.4 Hasil Batas Deteksi dan Batas Kuantitas

No	Konsentrasi Vitamin C (bpj)	Serapan Vitamin C	LOD (bpj)	LOQ (bpj)
1.	2	0,082	0,939	2,846
2.	4	0,161		
3.	6	0,266		
4.	8	0,340		
5.	10	0,407		

Keterangan :

KV = koefisien variansi

LOD = Limit Of Detection (batas deteksi)

LOQ = Limit Of Quantification (batas kuantitas)



## IV.2 Pembahasan

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.(7)

Pengukuran pada penelitian ini menggunakan 5 parameter yaitu akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi dan batas kuantitas dari beberapa parameter dalam validasi metode analisis.

Berdasarkan hasil penelitian dari Pusat Penelitian Teh dan Kina, dalam teh hijau mengandung vitamin C. Untuk setiap 100 gram teh hijau, terkandung 250 mg vitamin C (6). Hasil penelitian dari teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K) diperoleh kadar rata-rata vitamin C sebesar 8,088 % atau sebesar 202,2 mg. Kadar yang diperoleh cukup besar, hal ini kemungkinan disebabkan oleh faktor lain misalnya spesies tanaman, tempat tumbuh yang berbeda, dan lain-lain . Penetapan kadar vitamin C secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum 507 nm menggunakan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol. Reaksi ini didasarkan atas pengukuran jumlah larutan 2,6-diklorofenol indofenol yang dihilangkan warnanya oleh vitamin C membentuk indofenol yang tidak berwarna. Sehingga semakin tinggi konsentrasi vitamin C (standar), maka semakin besar pula warna yang dihilangkan. Dengan demikian akan berpengaruh terhadap intensitas warna yang dihasilkan dan absorbansi masing – masing konsentrasi, sebagai akibat kurva berbentuk dalam

persamaan regresi linier menurun. Metode ini spesifik di dalam larutan dengan kisaran pH 1 – 3,5 (12), sehingga dalam setiap pengujian dilakukan pengukuran pH, dan pH larutan yang diperoleh adalah 3.

Pada parameter presisi diperoleh nilai KV (koefisien variansi) atau RSD (simpangan baku relatif) sebesar 4,30 %, nilai koefisien variansi pada penetapan kadar vitamin C dalam teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K) sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan yaitu kurang dari 5,3 % untuk sampel dengan konsentrasi 100 bpj (14). Hal ini menunjukkan bahwa metode spektrofotometri memiliki ketelitian yang baik.

Pada parameter akurasi rentang 70% diperoleh rata-rata perolehan kembalinya sebesar 102,40%, untuk rentang 100% diperoleh rata-rata perolehan kembalinya sebesar 95,80%, dan untuk rentang 130% diperoleh rata-rata perolehan kembalinya sebesar 98,33%. Nilai persen perolehan kembali pada penetapan kadar vitamin C dalam teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K) memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan yaitu sebesar 80-110% untuk analit konsentrasi 100 bpj (14). Hal ini menunjukkan bahwa metode spektrofotometer mampu memperoleh kembali sejumlah vitamin C dengan baik dan akurat.

Pada parameter linieritas diperoleh nilai kemiringan/slope(b) sebesar 0,04145, intersep (a) sebesar 0,0025, dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9969. Nilai r antara 0,90 – 1,00 menunjukkan korelasi yang sangat tinggi, kuat sekali, dan dapat diandalkan (17). Koefisien korelasi ini memberikan hasil yang linier karena memenuhi kriteria penerimaan yaitu  $\geq$

0,98 (18), sehingga penggunaan metode spektrofotometri dapat digunakan untuk analisis vitamin C dengan hasil yang baik.

Pada parameter batas deteksi diperoleh nilai LOD (*limit of detection*) sebesar 0,939 bpj. Dari hasil tersebut terlihat bahwa konsentrasi terendah dari larutan standar yang masih dapat dideteksi oleh alat adalah 0,939 bpj, sehingga pada konsentrasi di bawah nilai tersebut, vitamin C tidak dapat terdeteksi lagi.

Pada parameter batas kuantitas LOQ (*limit of quantification*) sebesar 2,846 bpj. Dari hasil tersebut terlihat bahwa konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama adalah 2,846 bpj.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa metode spektrofotometri visibel dinyatakan valid untuk penetapan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K) karena memenuhi parameter validasi yang telah ditetapkan, yaitu akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi dan batas kuantitas.

#### V.2 Saran

1. Sebaiknya dilakukan kalibrasi terlebih dahulu terhadap alat spektrofotometer sebelum digunakan.
2. Disarankan untuk dilakukan penelitian validasi penetapan kadar vitamin C pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) O.K) dengan menggunakan metode yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. *Pengertian dan Definisi Vitamin C: OrganisasiOrg*. [serial on internet]. 14 Mei 2006 [dikutip 18 Januari 2009]. Available from: <http://organisasi.org.com>
2. Zempleni, J., Rucker R., Mc Cormick D., dan Suttie J, editors. *Handbooks of vitamins 4th ed.*. CRC Press. New York. 2007. hal. 490. Available as PDF file
3. Deman, J.M.. *Principles of Food Chemistry. 3rd ed.* Aspen Publisher. Maryland. 1999. hal. 368. Available as PDF file
4. Dhani. 2007. *Khasiat Teh Hijau: Healthy*. [serial on internet]. 19 Mei 2007 [2 April 2009]. Available from: <http://vanillamist.com>
5. Syah, A. *Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. PT. Agromedia Pustaka. Bogor. 2006. hal. 35 – 6, 47-57
6. Manurung, N. (2008). *Teh Hijau-Anti Kanker : Masenchipz*. [serial on internet]. 17 Oktober 2007 [dikutip 2 April 2009] Available from: <http://kompas.co.id>
7. Harmita. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya: Majalah Ilmu Kefarmasian Vol.1 no.3*. [serial on internet]. Desember 2004. [dikutip 12 Januari 2009] Available from: <http://departemen farmasi FMIPA UI.com>
8. Tambaru, E. *Klasifikasi Teh Hijau*. Yayasan Keseragaman Hayati Sulawesi. Makassar. 2009
9. Sahwan. *Manfaat Teh Hijau*. [serial on internet]. 11 Februari 2008. [dikutip 15 Agustus 2009]. Available from: <http://iptek.net.com>

10. Dharma Teas. *Manfaat Bagi Kesehatan*. [serial on internet]. 21 Maret 2008. [dikutip 2 April 2009]. Available from: <http://dharmateas.com>
11. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. Ed III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1979. hal. 47
12. Apriyantono, A. *Analisis Pangan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 1989. hal. 167
13. Gandjar, I. B., dan Rahman, A. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 2007. hal. 456, 463-469
14. Huber, L. *Validation of Analytical Methods and Processes*. Marcel Dekker. Germany. 2003. Available as PDF file
15. Underwood, A.L. Day. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Ed IV. Erlangga. Jakarta. 1990. hal 132
16. Hasmawati. *Formulasi Jus Tomat ( Lycopersicum esculentum) dan Penentuan Kadar Vitamin C secara Spektrofotometri UV-VIS*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2008. hal 16-7
17. Saefuddin, A. *Statistika Dasar*. PT.Grasindo. Jakarta. 2009. hal.111
18. Ermer J, editor. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*. WILEY-VCH Verlag. Weinheim. 2005. Available as PDF file. hal 253