

**PENETAPAN KADAR VITAMIN C PADA DAUN BAYAM HIJAU  
(*Amaranthus tricolor L*) SEGAR, REBUS DAN GORENG  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



**oleh :**

**Andrew Manuhara  
19133883 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENETAPAN KADAR VITAMIN C DAUN BAYAM HIJAU  
(*Amaranthus tricolor L*) SEGAR, REBUS DAN GORENG  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

*SKRIPSI*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai*

*Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

*Program Studi Farmasi pada Fakultas Farmasi*

*Universitas Setia Budi*

**Oleh :**

**Andrew Manuhara  
19133883 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

## PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

### PENETAPAN KADAR VITAMIN C PADA DAUN BAYAM HIJAU *(Amaranthus tricolor L)* SEGAR, REBUS DAN GORENG SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Oleh :

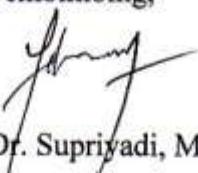
**Andrew Manuhara**  
**19133883 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Pengaji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 17 Juni 2017

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

  
Dr. Supriyadi, M.Si

Pembimbing Pendamping,

  
Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si

Pengaji:

1. Prof. Dr. M. Muchalal DEA
2. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Dr. Supriyadi, M.Si

1 .....

3 .....

2 .....

4 .....

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum

Surakarta, 17 Juni 2017



Andrew Manuhara

## **PERSEMBAHAN**

“Dia memberikan hikmah (ilmu yang berguna) kepada siapa yang dikehendaki-Nya.

Barang siapa yang mendapat hikmah itu

Sesungguhnya ia telah mendapat kebaikan yang banyak.

Dan tiadalah yang menerima peringatan melainkan orang-orang yang berakal”.

(Q.S. Al-Baqarah : 269)

“saya lebih suka melakukan aktivitas yang nyata dan berarti dibandingkan hanya berfantasi dan berdiam diri seolah memikirkan hal yang penting”

(Sasha Grey)

“Sekali anda mengerjakan sesuatu, jangan takut gagal dan jangan tinggalkan itu. Orang-orang yang berkeja dengan ketulusan dan kesungguhan hati adalah mereka yang paling berbahagia”

(Rin Sakuragi)

Temukan dirimu dan jadilah luar biasa, sukseslah dalam pekerjaan mu yang bernilai.

Skripsi ini Andrew persembahkan kepada :

- Abi Sholeh (Joko Anggoro) dan Ibu (Mujati) yang saya cintai dan sayangi, yang senantiasa memberikan dukungan material, moral, doa yang tiada henti.
- Kakakku Anjar Kalingga dan Adik-adikku tersayang Andhika Rizky dan Anindhita Mutiara yang telah memberikan semangat kepada penulis.
- Teman-teman FST-OA Angkatan 2013 yang telah membantu, mensuport, member masukkan dan member semangat kepada penulis.
- Kakak dan adik Tingkat tersayang yang telah memberikan dukungan kepada penulis.
- Teman-temanku Widanditya, Prasdian, Yogik, Andri, Hernawan, Dian, U’um, Angga, Arvin, Imam, Arsyad, Rhury, Ayuk, Nining yang banyak membantu dalam penulisan baik selama penggerjaan skripsi ini maupun di bangku perkuliahan.
- Teman ngopi “Mas Boy” Harry, Wahyu, Riky, Caroline, Dias, Bella, Dika, Yesica, Kiky, Via, Rifka, Florent, Tante Mira, Tante Yanti yang sudah menemani, memberi masukan, semangat dan hiburan selama menempuh perkuliahan ini.
- Almamater USB dan Keyakinanku.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi dengan judul "**PENETAPAN KADAR VITAMIN C DAUN BAYAM HIJAU (*Amaranthus tricolor L*) SEGAR, REBUS DAN GORENG SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**". Shalawat serta salam penulis curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, para sahabat serta kita sebagai umatnya. Penulis menyadari bahwa dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya bantuan, pembimbing, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melancarkan skripsi kepada penulis.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. drs. Supriyadi., M.Si dan Nuraini Harmastuti., S.Si, M.Si sebagai dosen pembimbing yang dengan sabar telah memberikan banyak masukan, bimbingan dan dukungan kepada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk dapat menguji penulis.
6. Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan hingga penulis dapat menyelesaikan studi di Program Studi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
7. Orang tua tercinta dan semua keluarga yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, dukungan baik moral maupun materi serta doa yang tak terhingga di setiap langkah penulis.
8. Laboran Farmasi Universitas Setia Budi, yang telah membantu mempersiapkan alat dan bahan selama penelitian.
9. Laboran Farmasi Universitas Muhammadiyah dan laboran Biologi Universitas Sebelas Maret, yang telah membantu menyediakan bahan-bahan dan lab selama penelitian.

10. Semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyelesaian skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda atas semua bantuan, dan dukungan yang diberikan.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih belum sempurna dan banyak kekurangan. Oleh karena itu saran serta kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca. Amiin Ya Rabbal“alamiin.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PERSEMBERAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Tanaman Bayam .....	5
1. Klasifikasi tanaman bayam .....	5
2. Nama lain .....	5
3. Morfologi tanaman .....	5
3.1 Akar.....	5
3.2 Batang.....	5
3.3 Daun.....	6
3.4 Bunga.....	6
3.5 Biji.....	6
4. Manfaat tanaman .....	6
5. Jenis bayam .....	7
6. Kandungan kimia dan zat gizi daun bayam.....	7
B. Vitamin C .....	8
1. Sejarah vitamin C .....	8

2.	Pengertian vitamin C .....	8
3.	Sifat vitamin C.....	9
4.	Metabolisme vitamin C .....	10
5.	Fungsi vitamin C .....	10
6.	Kekurangan dan kelebihan vitamin C .....	11
7.	Metode analisa vitamin C.....	12
7.1	Metode titrasi iodimetri.....	12
7.2	Metode titrasi 2,6-diklorofenol indofenol. ....	12
7.3	Metode Spektrofotometri. ....	13
7.4	Analisis kembali vitamin C yang ditambahkan pada sampel ( <i>Analisis Recovery</i> ). ....	16
7.5	Analisis Data Secara Statistik .....	17
C.	Landasan Teori .....	17
D.	Hipotesis .....	19
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
A.	Populasi dan Sampel.....	21
1.	Populasi .....	21
2.	Sampel.....	21
B.	Variabel Penelitian .....	21
1.	Identifikasi variabel utama .....	21
2.	Klasifikasi variabel utama .....	21
3.	Pengertian operasional variabel utama.....	22
C.	Alat dan Bahan .....	23
1.	Alat .....	23
2.	Bahan.....	23
D.	Jalannya Penelitian .....	23
1.	Pengambilan Sampel .....	23
2.	Pembuatan Larutan 2,6-diklorofenol indofenol .....	23
2.1	Pembuatan larutan asam oksalat 0.4 % .....	23
2.2	Pembuatan larutan NaHCO <sub>3</sub> 0,05 %.....	23
2.3	Penyiapan Larutan Sampel.....	23
2.4	Penetapan Kadar Vitamin C dalam Larutan Sampel.....	24
2.5	Uji Perolehan Kembali (Recovery). .....	24
3.	Prosedur Kerja Spektrofotometri UV-Vis .....	24
3.1	Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 1000 ppm. ....	24
3.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Vitamin C .....	24
3.3	Penentuan Operating time .....	24
3.4	Pembuatan Kurva Kalibrasi. ....	25
4.	Perlakuan pada penetapan kadar vitamin C pada daun bayam .....	25
4.1	Daun bayam mentah.....	25
4.2	Daun bayam rebus.....	25
4.3	Daun bayam goreng. ....	25
5.	Metode Analisa.....	26

6. Skema Jalannya Penelitian .....	27
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	29
1. Penentuan Panjang Gelombang maksimal .....	30
2. Penentuan <i>Operating Time</i> (OT).....	31
3. Penentuan kurva baku .....	32
4. Penetapan Limit of Detection dan Limit of Quantification .....	34
5. Penetapan kadar vitamin C pada sampel .....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	40
LAMPIRAN .....	42

## **DAFTAR GAMBAR**

Halaman

Gambar 1. Rumus Bangun Vitamin C (Almatsier ,2009).....	8
Gambar 2. Reaksi larutan dye terhadap vitamin C .....	13
Gambar 3. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis.....	14
Gambar 4. Reaksi 2,6-Diklorofenol Indofenol .....	19
Gambar 5. Kurva panjang gelombang maksimal baku banding vitamin C. ....	31
Gambar 6. Kurva <i>operating time</i> baku banding vitamin C .....	32
Gambar 7. Kurva baku vitamin C .....	33

## **DAFTAR TABEL**

Halaman

Tabel 1. Kandungan gizi pada tanaman bayam per 100 gram bahan zat.....	8
Tabel 2. Kurva baku vitamin C .....	33

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Halaman

Lampiran 1.	Determinasi tanaman bayam hijau ( <i>Amaranthus tricolor L</i> ) .....	43
Lampiran 2.	Pembuatan Larutan Baku dengan konsentrasi 1000 ppm.....	44
Lampiran 3.	Perhitungan Pembuatan Larutan untuk Kurva Kalibrasi.....	45
Lampiran 4.	Data Panjang Gelombang dan <i>Operating Time</i> .....	46
Lampiran 5.	Perhitungan LOD dan LOQ.....	48
Lampiran 6.	Preparasi sampel bayam ( <i>Amaranthus tri color L</i> ) segar, rebus dan goreng.....	50
Lampiran 7.	Penentuan Konsentrasi (X) Sampel.....	51
Lampiran 8.	Perhitungan (%) Persen Kadar Sampel .....	54
Lampiran 9.	Penimbangan Baku .....	57
Lampiran 10.	Panjang Gelombang Maks dan <i>OT</i> .....	58
Lampiran 11.	Bahan dan Alat .....	65
Lampiran 12.	Perlakuan Bayam.....	66

## INTISARI

**MANUHARA, A., 2017, PENETAPAN KADAR VITAMIN C DAUN BAYAM HIJAU (*Amaranthus tricolor L*) SEGAR, REBUS DAN GORENG SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Bayam merupakan sumber vitamin C pada sayuran. Vitamin C adalah zat gizi yang berperan sebagai antioksidan dan efektif mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pembentukan warna dengan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol dan penetapan kadar vitamin C secara spektrofotometri UV-Vis

Penelitian ini menggunakan variasi perlakuan yaitu mentah, rebus dan goreng. Setiap sampel ditimbang 25 g kemudian difiltrat bertujuan untuk menetapkan kadar vitamin C dalam daun bayam secara spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol, serta membandingkan hasil variasi perlakuan daun bayam. Pada penelitian ini kadar vitamin C dianalisis dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 535 nm dengan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol.

Hasil analisis vitamin C pada daun bayam dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol pada beda perlakuan didapat kan kadarnya yaitu pada daun bayam mentah hasil 0,07 %, rebus 0,0207 %, dan goreng 0,0037%. Variasi perlakuan penetapan kadar vitamin C mempunyai pengaruh pada hasil kadar vitamin C dalam daun bayam.

---

**Kata Kunci :** vitamin C, bayam hijau, spektrofotometri UV-Vis, 2,6-diklorofenol indofenol.

## ABSTRACT

**MANUHARA, A., 2017, DETERMINATION OF VITAMIN C CONTENT IN GREEN SPINACH LEAVES (*Amaranthus tricolor L*), BOILED, FRIED BY SPECTROPHOTOMETRY UV-VIS, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Spinach is a great source of vitamin C in vegetables. Vitamin C is a nutrient that acts as an antioxidant and effectively overcomes free radicals that can damage cells or tissues. The purpose of this research is to know the formation of color with reagent 2,6-dichlorophenol indofenol and determination of vitamin C concentration by UV-Vis spectrophotometry

This research uses variation of treatment that was raw, boiled and fried. Each sample was weighed 25 g and then dipped in a purpose to determine vitamin C content in spinach leaves by UV-Vis spectrophotometry with reagent 2,6-dichlorophenol indofenol, and compare the result of variation treatment spinach leaves. In this study vitamin C levels were analyzed by using Spectrophotometric UV-Vis method at 535 nm wavelength with reactant 2,6-dichlorophenol indofenol.

The result of vitamin C analysis on spinach leaves by using Spectrofotometric UV-Vis method with reagent 2,6-dichlorophenol indofenol on different treatment obtained is the level of raw spinach leaves 0,07 %, boiled 0.0207 %, and fried 0.0037 %. Treatment variation of vitamin C levels has an influence on vitamin C content in spinach leaves.

---

**Keywords:** vitamin C, green spinach, UV-Vis spectrophotometry, 2,6-dichlorophenol indophenol.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Masyarakat pada umumnya telah mengetahui bahwa sayuran adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Sayuran yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat adalah sayur bayam, sayur ini mudah diperoleh di mana saja. Sebagian besar masyarakat kurang begitu memahami apa saja manfaat yang dimiliki sayur bayam dan hanya sebagian kecil masyarakat yang tahu apa bahaya dari sayuran bayam jika salah dalam mengkonsumsinya.

Bayam hijau (*Amaranthus tricolor L*) dari sudut pandang manusia awam merupakan komoditas sederhana, dalam pengertiannya yaitu mudah didapat setiap saat, harga murah dan dapat diolah untuk makanan sederhana. Masing-masing jenis bayam mempunyai daerah sebar yang sangat luas karena mampu hidup di ekosistem yang beragam. Bayam kaya akan berbagai macam vitamin dan mineral, yakni vitamin A, vitamin C, niasin, thiamin, fosfor, riboflavin, natrium, kalium dan magnesium. Setiap jenis bayam yang memiliki kandungan vitamin dan mineral yang berbeda-beda (Rukmana, 2005).

Asam askorbat (vitamin C) adalah turunan heksosa dan diklasifikasikan sebagai karbohidrat yang erat kaitannya dengan monosakarida. Vitamin C dapat disintesis dari D-glukosa dan D-galaktosa dalam tumbuh-tumbuhan dan sebagian besar hewan. Vitamin C terdapat dalam dua bentuk di alam, yaitu L-asam askorbat (bentuk tereduksi) dan L-asam dehidro askorbat (bentuk teroksidasi). Oksidasi bolak-balik L-asam askorbat menjadi L-asam dehidro askorbat terjadi apabila bersentuhan dengan tembaga, panas, atau alkali (Akhilender, 2003).

Vitamin C atau asam askorbat adalah vitamin yang tergolong vitamin yang larut dalam air. Vitamin C sangat berguna bagi tubuh manusia dan merupakan sumber nutrisi yang harus ada setiap hari bagi tubuh. Sumber vitamin C sebagian besar tergolong dari sayur-sayuran dan buah-buahan terutama buah-buahan segar.

Asupan gizi rata-rata sehari sekitar 30 sampai 100 mg vitamin C yang dianjurkan untuk orang dewasa. Namun, terdapat variasi kebutuhan dalam individu yang berbeda (Sweetman, 2005).

Sifat vitamin C yaitu mudah teroksidasi oleh panas, cahaya, alkali, enzim, oksidator dan logam selain itu vitamin C sangat larut dalam air. Beberapa faktor yang mempengaruhi vitamin C diantaranya adalah pemanasan, yang menyebabkan rusak/berbahayanya struktur (Poedjiadi, 1994).

Sumber vitamin C secara umum terdapat dalam buah dan sayur. Pada buah dan sayur yang segar merupakan sumber vitamin C yang baik. Tubuh makhluk hidup setiap harinya membutuhkan vitamin C dari 25 sampai 30 mg per harinya. Vitamin C dapat juga beracun jika diambil atau dikonsumsi dalam dosis yang besar atau berlebihan, seperti vitamin C, pricipat hasil akhir dari katabolisme yang disebut sebagai asam oxalit (Lal, 2006).

Spektrofotometri merupakan metode analisis yang didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnet. Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, sedangkan pengukuran menggunakan spektrofotometer, metoda yang digunakan sering disebut dengan spektrofotometri (Sudarmaji 1996).

Spektrofotometer dalam ilmu kefarmasian digunakan untuk menganalisis kadar obat dan nutrisi seperti vitamin, protein dan sebagainya. Spektrofotometri dapat mengindikasikan bahwa setiap obat harus dapat bekerja secara maksimal dalam tubuh terutama dalam hal penyerapannya (Harmita, 2006).

Spektrofotometri menyiratkan pengukuran jauhnya penyerapan energi cahaya oleh suatu sistem kimia itu sebagai suatu fungsi dari panjang gelombang radiasi, demikian pula pengukuran penyerapan yang menyendiri pada suatu panjang gelombang tertentu. Keuntungan utama pemilihan metode spektrofotometri bahwa metode ini memberikan metode yang cepat, sederhana, spesifik, sensitive, dan dapat dipakai untuk analisis zat uji dalam jumlah/kadar yang kecil (Sudarmaji, 1996).

Spektrofotometri dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual dengan studi yang lebih mendalam dari absorpsi energi. Absorpsi radiasi oleh suatu sampel diukur pada berbagai panjang gelombang dan dialirkkan oleh

suatu perkam untuk menghasilkan spektrum tertentu yang khas untuk komponen yang berbeda.

Penelitian Wardani (2012) adalah validasi metode analisis dan penentuan kadar vitamin C pada minuman buah kemasan dengan spektrofotometri UV-Visibel, bahwa metode analisis dalam penetapan kadar asam askorbat dengan spektrofotometri UV-Visible merupakan metode yang baik digunakan, relatif murah dan mudah yang dapat menghasilkan ketelitian dan ketepatan yang tinggi. Penetapan kadar vitamin C yang menggunakan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol yang telah dilakukan secara konvensional yaitu titrasi 2,6-diklorofenol indofenol (Andarwulan dkk, 1992).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan pada kadar vitamin C dan mengetahui kadar masing-masingnya menggunakan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol dengan metode spektrofotometri UV-vis, karena selain metode yang digunakan cukup mudah, juga menghasilkan hasil yang akurat. Pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol itu sendiri merupakan pereaksi yang memiliki ikatan terkonjugasi dan memberi warna pada vitamin C. Maka perlu dilakukan analisis vitamin C dari daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor L*) segar, goreng dan rebus secara spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol.

## B. Perumusan Masalah

1. Apakah kadar vitamin C pada daun bayam hijau segar, rebus dan goreng memiliki perbedaan secara spektrofotometri UV-Vis?
2. Berapakah kadar vitamin C pada daun bayam mentah, rebus dan goreng secara spektrofotometri UV-Vis ?

## C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui adanya perbedaan antara kadar vitamin C segar, rebus dan goreng secara spektroforometri UV-Vis?
2. Mengetahui kadar vitamin C pada daun bayam (*Amaranthus tricolor L*) segar, rebus dan goreng secara spektrofotomeri UV-Vis.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi bagi banyak orang tentang kadar vitamin C dari daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor* L) pada olahan bayam yaitu dengan perlakuan direbus, digoreng dan dalam keadaan mentah. Karena vitamin C berfungsi sebagai pencegah kanker, menjaga kesehatan kulit, melancarkan peredaran darah, sebagai antioksidan yang menangkal radikal bebas, mencegah anemia, mencegah kram otot dan rambut bercabang yang diakibatkan kekurangan vitamin C.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Bayam**

##### **1. Klasifikasi tanaman bayam**

Klasifikasi tanaman bayam sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Sub kingdom : Tracheobionta  
Sub Divisi : Spermatophyta  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliophyta  
Sub Classis : Caryophyllidae  
Famili : Amaranthacea  
Genus : Amaranthus  
Spesies : *Amaranthus tricolor* L

(Tjirosoepomo, 2004).

##### **2. Nama lain**

(Jakarta): bayam glatik, b.putih, b.merah. (Jawa): bayem abrit, bayem lemah, bayam ringgit, bayam sekul, bayam siti, (Maluku): jawa lufife, tona magaahu, hohoruitoka tokara, baya roriha, loda kohori, nama asing: Chinese spinach (I) dan sinonim dari bayam adalah *gangeticus* (Saparinto, 2013).

##### **3. Morfologi tanaman**

Tanaman bayam dapat dilakukan anatomi dan morfologinya berdasarkan bentuknya berupa akar, batang, daun, bunga dan biji.

**3.1 Akar.** Bayam memiliki akar perdu (terma), akar tanaman bayam ini akan menembus tanah hingga kedalaman 20-40 cm bahkan lebih. Akar tanaman bayam ini tergolong akar tunggang dan memiliki serabutan di bagian atasnya.

**3.2 Batang.** Bayam memiliki batang tumbuh dengan tegak, tebal dan banyak mengandung air. Batang pada tanaman ini memiliki panjang hingga 0.5-1 meter dan memiliki cabang monodial. Batang bayam berwarna kecoklatan, abu-abu dan juga memiliki duri halus di bagian pangkal ujung batang tanaman bayam.

**3.3 Daun.** Tanaman ini memiliki daun tunggal, berwarna hijau muda dan tua, berbentuk bulat memanjang serta oval. Panjang daun pada bayam 1,5-6,0 cm bahkan lebih, dengan lebar 0,5 – 3,2 cm dan memiliki pangkal ujung daun runcing serta obtusus. Batang bayam disertai dengan tangkai yang berbentuk bulat dan memiliki permukaan opacus. Panjang tangkai ini mencapai 9.0 cm dan memiliki bagian tepi atau permukaan repandus.

**3.4 Bunga.** Bunga tanaman bayam ini memiliki kelamin tunggal, berwarna hijau tua, dan juga memiliki mahkota terdiri dari daun bunga 4-5 buah, benang sari 1-5, dan bakal buah 2-3 buah serta lainnya yang membantu dalam penyerbukan. Bunga tanaman bayam ini berukuran kecil dan memiliki panjang mencapai 1,5-2,5 cm, serta tumbuh di ketiak daun yang tersusun tegak. Penyerbukan bunga ini biasanya dibantu juga dengan binatang sekitar dan angin.

**3.5 Biji.** Bayam memiliki biji berukuran kecil, dan halus, memiliki bentuk bulat serta memiliki warna kecoklatan hingga kehitaman. Tanaman bayam terdapat beberapa jenis yang terdapat biji berwarna putih dan merah, contohnya bayam maksi (Tjirosoepomo, 2004).

#### 4. Manfaat tanaman

Bayam merupakan bahan sayuran yang bergizi tinggi dan digemari oleh semua lapisan masyarakat. Daun bayam dapat dibuat berbagai hidangan, bahkan disajikan sebagai hidangan mewah (elit). Di beberapa negara berkembang bayam dipromosikan sebagai sumber protein nabati, karena berfungsi ganda bagi pemenuhan kebutuhan gizi maupun pelayanan kesehatan masyarakat. Manfaat lainnya adalah sebagai bahan obat tradisional, dan juga untuk kecantikan. Akar bayam dapat digunakan sebagai obat penyembuh sakit disentri. Daun dan bunga bayam duri berkhasiat untuk mengobati penyakit asma dan eksim. Bahkan sampai batas tertentu, bayam dapat mengatasi berbagai jenis penyakit dalam. Untuk tujuan pengobatan luar, bayam dapat dijadikan bahan kosmetik (kecantikan). Biji bayam digunakan untuk bahan makanan dan obat-obatan. Biji bayam dapat dimanfaatkan sebagai pencampur penyeling terigu dalam pembuatan roti atau dibuat bubur biji bayam. Ekstrak biji bayam berkhasiat sebagai obat keputihan dan pendarahan yang berlebihan pada wanita yang sedang haid (Kersa, 2012).

## 5. Jenis bayam

Budidaya tanaman bayam di Indonesia hanya terdapat beberapa jenis sebagai berikut: Bayam cabut atau bayam sekul alias bayam putih (*Amaranthus tricolor L.*). Ciri-ciri bayam cabut adalah memiliki batang berwarna kemerah-merahan atau hijau keputih-putihan, dan memiliki bunga yang keluar dari ketiak cabang. Bayam cabut yang batangnya merah disebut bayam merah, sedangkan yang batangnya putih disebut bayam putih. Bayam tahun, bayam skop atau bayam kakap (*Amaranthus hybridus L.*).

Ciri-ciri bayam ini adalah memiliki daun lebar-lebar, yang dibedakan atas 2 spesies yaitu: *Ahybridus caudatus L* memiliki daun agak panjang dengan ujung runcing, berwarna hijau memerah-merahan atau merah tua, dan bunganya tersusun dalam rangkaian panjang terkumpul ada ujung batang. *Ahibridus paniculatus L* memiliki dasar daun yang lebar sekali, berwarna hijau, rangkaian bunga panjang tersusun secara teratur dan besar-besar pada ketiak daun. Varietas bayam unggul ada 7 macam yaitu; varietas giri hijau, giri merah, maksy, raja, betawi, kop, dan hijau. Sedangkan beberapa varietas bayam cabut unggul adalah cempaka 10 dan cempaka 20 (Kersa, 2012).

## 6. Kandungan kimia dan zat gizi daun bayam

Bayam Hijau (*Amaranthus tricolor L.*) banyak dipromosikan sebagai sayuran yang memiliki sumber gizi bagi penduduk di negara berkembang. Bayam hijau mengandung gizi yang tinggi dan komposisinya sangat lengkap oleh sebab itu bayam hijau sangat direkomendasikan untuk dikonsumsi sehari-hari. Untuk orang yang memiliki asam urat sangat tidak dianjurkan untuk mengkonsumsi sayuran ini karena memiliki kandungan purin yang tinggi sehingga dapat memicu penyakit itu kambuh atau memburuk (Rukmana, 1995).

Berikut merupakan kandungan komposisi dari daun bayam hijau masak (*Amaranthus tricolor L.*) oleh departemen kesehatan republik Indonesia:

**Tabel 1. Kandungan gizi pada tanaman bayam per 100 gram bahan zat.**

Zat gizi	Nilai gizi
Energi (kkal)	36.00
Protein (gram)	3.50
Lemak (gram)	0.50
Karbohidrat (gram)	6.50
Kalsium (mg)	267.00
Fosfor (mg)	67.00
Vitamin A (S.I)	6090.00
Vitamin B (mg)	0.08
Vitamin C (mg)	80.00
Air (gram)	87.00
Zat besi (mg)	3.90

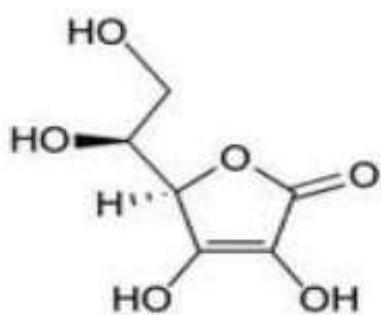
Sumber: Departemen Kesehatan RI (1992).

## B. Vitamin C

### 1. Sejarah vitamin C

Vitamin C pertama kali ditemukan oleh *Albert Szent-Gyorgyi*, seorang ilmuwan berkebangsaan Hungaria yang memenangkan *Nobel Prize in Physiology or Medicine* pada tahun 1937 atas karyanya dalam menemukan rumus bangun vitamin C. *Szent-Gyorgyi* berhasil menemukan vitamin C saat mengisolasi dari paprika pada tahun 1930. Glenn King berhasil mengisolasi zat antiskorbut dari jaringan adrenal, jeruk, dan kol yang dinamakan vitamin C. Zat ini kemudian berhasil disintesis pada tahun 1933 oleh Haworth dan Hirst sebagai asam askorbat (Almatsier, 2009).

Rumus bangun vitamin C (asam askorbat) adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Rumus Bangun Vitamin C (Almatsier ,2009)

### 2. Pengertian vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah suatu senyawa beratom karbon 6 yang dapat larut dalam air. Vitamin C merupakan vitamin yang disintesis dari glukosa dalam hati dari semua jenis mamalia, kecuali manusia. Manusia tidak

memiliki enzim gulonolaktone oksidase, yang sangat penting untuk sintesis dari prekursor vitamin C, yaitu 2-keto-1-gulonolakton jadi manusia tidak mampu mensintesis vitamin C dalam tubuhnya sendiri. Vitamin C yang ada di tubuh terdapat di dalam darah (khususnya leukosit), korteks anak ginjal, kulit, dan tulang. Vitamin C akan diserap disaluran cerna melalui mekanisme transport aktif (Sweetman, 2005).

### 3. Sifat vitamin C

Asam askorbat adalah salah satu senyawa kimia yang disebut vitamin C, berbentuk bubuk kristal kuning keputihan yang larut dalam air dan memiliki sifat-sifat antioksidan. Asam askorbat bersifat asam di alam dan larut dengan baik dalam air untuk memberikan larutan agak asam.

Asam askorbat merupakan antioksidan menakjubkan yang melindungi sel dari stres ekstraselular, dengan peningkatan proliferasi sel endotelial, stimulasi sintesis kolagen tipe IV, degradasi oksidasi LDL, menghambat aterosklerosis dan stres intraselular dengan memelihara kadar *α-tocopherol* pada eritrosit dan neuron, dan melindungi hepatosit dari stress oksidatif akibat paparan alkohol alil. Sifat antioksidan tersebut berasal dari gugus hidroksil dari nomor C 2 dan 3 yang mendonorkan ion H<sup>+</sup> bersama-sama dengan elektronnya menuju ke berbagai senyawa oksidan seperti radikal bebas dengan gugus oksigen atau nitrogen, peroksida dan superokksida.

Asam askorbat di dalam sitoplasma dengan konsentrasi senyawa Fe yang tinggi, dapat bersifat pro-oksidan oleh karena reaksi redoks Fe<sup>3+</sup> menjadi Fe<sup>2+</sup> yang menghasilkan senyawa superokksida dan pada akhirnya menjadi radikal bebas dengan gugus hidroksil yang sangat reaktif. Vitamin C juga bersifat hidrofil dan melindungi membran sel dari luar, karena terutama bekerja dalam cairan diluar sel. Pada tempat ini bisa terdapat radikal bebas yang lolos dari proses fagositosis dari fagosit. Sel tangkis ini terutama aktif selama aktivitas dari sistem pertahanan tubuh meningkat. Limfosit T juga membutuhkan banyak vitamin C agar dapat bekerja secara aktif. Disamping mengaktivasi fagosit vitamin C juga menstimulasi produk antiveron dengan daya antiviral. Oleh karena itu dalam keadaan stress kontinu dan pembebanan ketahanan berlebihan asupan vitamin C dosis tinggi sangat berguna (Rahardja, 2002).

#### **4. Metabolisme vitamin C**

Vitamin C mudah diabsorbsi secara aktif dan mungkin pula secara difusi pada bagian atas usus halus lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Rata-rata arbsorbsi adalah 90% untuk konsumsi diantara 20-120 mg/hari. Konsumsi tinggi sampai 12 gram hanya diarbsorbsi sebanyak 16%. Vitamin C kemudian di bawa ke semua jaringan. Konsentrasi tertinggi adalah di dalam jaringan adrenal, pituitary dan retina. Vitamin C diekskresikan terutama melalui urin, sebagian kecil di dalam tinja dan sebagian kecil di ekskresikan melalui kulit (Yuniastuti, 2008).

Tubuh dapat menyimpan hingga 1500 mg vitamin C bila dikonsumsi mencapai 100 mg/hari. Status vitamin C di dalam tubuh ditetapkan melalui tanda-tanda klinik dan pengukuran kadar vitamin C di dalam darah. Tanda-tanda klinik antara lain, perdarahan gusi dan perdarahan kapiler dibawah kulit. Tanda-tanda dini kekurangan vitamin C dapat diketahui apabila kadar vitamin C darah dibawah 0,20 mg/dl (Sunita, 2004).

#### **5. Fungsi vitamin C**

Vitamin C mempunyai banyak fungsi di dalam tubuh. Pertama, fungsi vitamin C adalah sebagai sintesis kolagen. Vitamin C mempunyai kaitan yang sangat penting dalam pembentukan kolagen, karena vitamin C diperlukan untuk hidroksilasi prolin dan lisin menjadi hidroksiprolin yang merupakan bahan penting dalam pembentukan kolagen. Kolagen merupakan senyawa protein yang mempengaruhi integritas struktur sel di semua jaringan ikat, seperti pada tulang rawan, matriks tulang, gigi, membran kapiler, kulit dan tendon. Fungsi vitamin C dalam kehidupan sehari-hari berperan dalam penyembuhan luka, patah tulang, perdarahan di bawah kulit dan perdarahan gusi. Asam askorbat penting untuk mengaktifkan enzim prolil hidroksilase, yang menunjang tahap hidroksilasi dalam pembentukan hidroksipolin, suatu unsur integral kolagen. Peran penting asam askorbat sangat mempengaruhi, tanpa asam askorbat serabut kolagen yang terbentuk di semua jaringan tubuh menjadi cacat dan lemah (Guyton, 2008).

Vitamin C berfungsi paling baik pada lingkungan air sehingga merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS). Vitamin C juga berperan dalam sel sebagai zat penyapu radikal bebas. Vitamin C dapat

langsung bereaksi dengan superokksida dan anion hidroksil, serta berbagai hidroperoksida lemak. Vitamin C sebagai antioksidan pemutus-reaksi berantai, memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E yang tereduksi (Sulistiyowati, 2006).

Absorpsi vitamin C dari usus berlangsung secara cepat dan sempurna (90%). Distribusinya ke seluruh jaringan. Persediaan untuk tubuh sebagian besar terdapat dalam korteks anak ginjal. Dalam darah sangat mudah dioksidasi secara reversibel menjadi dehidroaskorbat yang hampir sama aktifnya. Ekskresi berlangsung terutama sebagai metabolit dehidro dan sedikit sebagai asam folat (Rahardja, 2002).

Penelitian menunjukkan bahwa vitamin C memegang peranan penting dalam mencegah terjadinya aterosklerosis. Vitamin C mempunyai hubungan dengan metabolisme kolesterol. Kekurangan vitamin C menyebabkan peningkatan sintesis kolesterol. Peran Vitamin C dalam metabolisme kolesterol adalah dengan cara melalui:

- a. Vitamin C meningkatkan laju kolesterol dibuang dalam bentuk asam empedu
- b. Vitamin C meningkatkan kadar HDL, tingginya kadar HDL akan menurunkan resiko menderita penyakit aterosklerosis
- c. Vitamin C dapat berfungsi sebagai pencahar sehingga dapat meningkatkan pembuangan kotoran dan hal ini akan menurunkan pengabsorbsian kembali asam empedu dan konversinya menjadi kolesterol (Khomsan, 2010).

Studi yang sudah dilakukan meyimpulkan bahwa progresi pengapuran koroner bertambah sebesar 3% per tahun sejak usia seseorang melewati 20 tahun. Kenyataan ini membuktikan bahwa progresivitas pengapuran pembuluh koroner sesungguhnya memang menggulir secara tersembunyi dan menimbulkan bahaya yang bersifat laten. Penelitian klinis menunjukkan bahwa vitamin C menurunkan kolesterol dan trigliserida pada orang-orang yang mempunyai kadar kolesterol yang tinggi, tetapi tidak pada orang-orang yang mempunyai kadar kolesterol yang normal. Konsumsi vitamin C 1 g per hari setelah tiga bulan akan menurunkan kolesterol 10% dan trigliserida 40% (Khomsan, 2010).

## **6. Kekurangan dan kelebihan vitamin C**

Pemberian vitamin C pada keadaan normal tidak terlalu menunjukkan efek samping yang jelas, tetapi pada keadaan defisiensi pemberian vitamin C akan

menghilangkan gejala penyakit dengan cepat. Efek samping penggunaan vitamin C sebelum makan adalah rasa nyeri pada epigastrium (Gilman, 2006).

Overdosis vitamin C ( $>1000$  mg/hari) dapat menimbulkan efek toksik yang serius, yaitu batu ginjal, hiperoksaluria, diare yang berlangsung terus menerus (*severe diarrhea*), serta iritasi mukosa saluran cerna. Penyakit tersebut dapat diatasi dengan cukup meminum air yang banyak, agar vitamin C yang dikonsumsi segera dilarutkan oleh air dan diekskresikan melalui urine, keringat, dan feses (Fernandes, 2006).

FAO/WHO (2002) dalam Warner, 2007 menyatakan bahwa kelebihan vitamin C dapat berefek pada sistem saluran kemih, akan tetapi mekanisme yang mendasari hal ini belum dimengerti benar.

## 7. Metode analisa vitamin C

Ada beberapa metode dalam penentuan kadar vitamin C yaitu:

**7.1 Metode titrasi iodimetri.** Iodium akan mengoksidasi senyawa-senyawa yang mempunyai potensial reduksi yang lebih kecil dibandingkan iodium dimana dalam hal ini potensial reduksi iodum  $+0,535$  volt, karena vitamin C mempunyai potensial reduksi yang lebih kecil ( $+0,116$  volt) dibandingkan iodium sehingga dapat dilakukan titrasi langsung dengan iodium (Rohman, 2007).

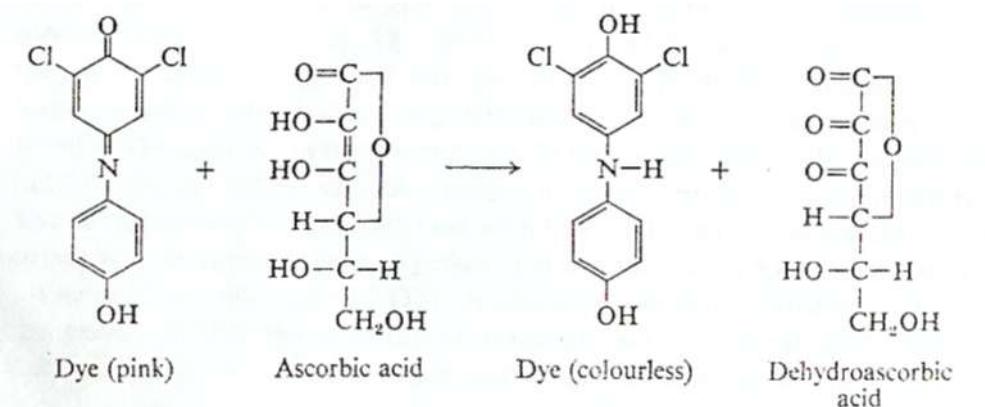
Deteksi titik akhir titrasi pada iodimetri ini dilakukan dengan menggunakan indikator amilum yang akan memberikan warna biru kehitaman pada saat tercapainya titik akhir titrasi (Rohman, 2007).

**7.2 Metode titrasi 2,6-diklorofenol indofenol.** Larutan 2,6-diklorofenol indofenol dalam suasana netral atau basa akan berwarna biru sedangkan dalam suasana asam akan berwarna merah muda. Apabila 2,6-diklorofenol indofenol direduksi oleh asam askorbat maka akan menjadi tidak berwarna, dan bila semua asam askorbat sudah mereduksi 2,6-diklorofenol indofenol maka kelebihan larutan 2,6-diklorofenol indofenol sedikit saja sudah akan terlihat terjadinya warna merah muda (Horwitz, 2002).

Metode larutan Dye pada saat ini merupakan cara yang paling banyak digunakan untuk menetapkan kadar vitamin C dalam bahan pangan. Prinsip penetapan kadar ini yaitu vitamin C dalam suasana asam akan mereduksi larutan dye membentuk larutan yang tidak berwarna. Apabila semua asam askorbat sudah

mereduksi larutan dye sedikit saja maka akan terlihat dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah jambu. Selain mengoksidasi vitamin C, pereaksi indofenol juga mengoksidasi senyawa senyawa lain, misalnya senyawa sulfhidril, thiosianat, senyawa piridium, bentuk tereduksi, dari turunan asam nikotin dan riboflavin.

Dalam larutan vitamin C terdapat juga bentuk dehydro asam askorbat yang tidak tertitrasi oleh indofenol atau tidak dapat ditentukan jumlahnya dengan senyawa indofenol. Agar dapat menghitung jumlah dehydro asam askorbat, diperlukan perlakuan untuk mengubah dehidro asam askorbat menjadi asam askorbat. Karena dehidro asam askorbat dalam jaringan segar jumlahnya sangat kecil dan tidak berarti sebagai sumber vitamin C, maka kadar vitamin C ditentukan dengan titrasi secara langsung menggunakan 2,6-diklorofenol indofenol. Bahan pangan yang akan ditentukan kadar vitamin C nya harus dilarutkan dengan asam lemah terlebih dahulu. Tujuan penggunaan asam dimaksudkan untuk mengurangi oksidasi vitamin C oleh enzim enzim oksidasi dan pengaruh glutation yang terdapat dalam jaringan tanaman. Asam lemah yang digunakan antara lain asam acetat, asam trikloro acetat, asam metafosfat dan asam oksalat. Sebaiknya titrasi dilakukan segera setelah perlakuan selesai (Andarwulan dkk, 2011)



Gambar 2. Reaksi larutan dye terhadap vitamin C

**7.3 Metode Spektrofotometri.** Instrumen yang digunakan untuk mempelajari serapan atau emis radiasi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang disebut spektrofotometer (Sastrohamidjojo, 2005).

Pada metode ini, larutan sampel (vitamin C) diletakkan pada sebuah kuvet yang disinari UV dengan panjang gelombang sama dengan molekul pada vitamin

C. Analisa menggunakan metode ini memiliki hasil yang akurat (Sudarmaji, 1996).

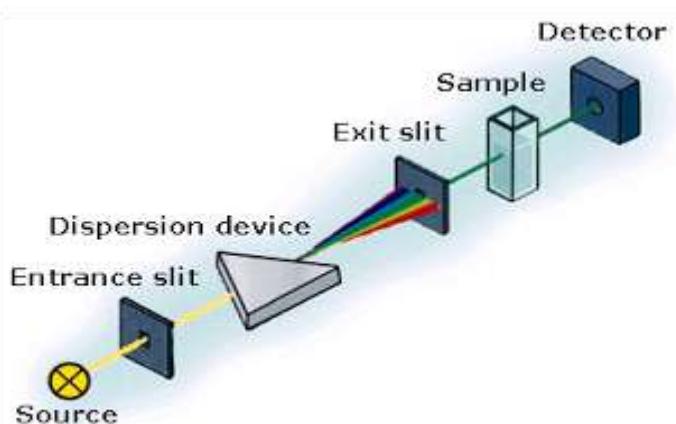
Spektrofotometri merupakan bagian dari fotometri dan dapat dibedakan dari filter fotometri sebagai berikut:

Daerah jangkauan spektrum, filter fotometer hanya dapat digunakan untuk mengukur serapan sinar tampak (380-780nm). Spektrofotometer dapat mengukur serapan di daerah tampak, UV (180-380nm) maupun IR (>750nm). Spetrofotometer merupakan sumber sinar yang berbeda pada masing-masing daerah (sinar tampak, UV, IR) Sumber sinar filter fotometer hanya untuk daerah tampak (Harmita, 2006).

Monokromator, filter fotometer menggunakan filter sebagai monokromator.

- Spektrofotometer digunakan kisi atau prisma yang daya resolusi lebih baik.
- Detektor, pada filter fotometer menggunakan detektor fotosel dan spektrofotometer menggunakan fototube.
- Tempat cuplikan pada daerah uv yang berupa larutan ditempatkan pada kuvet. Daerah uv biasanya digunakan Quartz.

Berikut gambar prinsip kerja alat spektrofotometer UV-Vis :



Gambar 3. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis

**7.3.1 Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis.** Interaksi yang terjadi antara energi yang berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi yang berupa molekul. Sumber radiasi spektrofotometer dapat digunakan lampu deuterium untuk radiasi sinar ultra violet sampai 350 nm, atau lampu filamen

untuk sinar tampak sampai infrared. Sinar yang dikeluarkan sumber radiasi merupakan sinar polikromatis, sehingga harus dibuat menjadi sinar monokromatis oleh monokromator.

**7.3.2 Prinsip metode spektrofotometri UV-Vis**, sampel menyerap radiasi (pemancar) elektromagnetis yang pada panjang gelombang tertentu dapat terlihat. Spektrofotometri ini menggunakan dua buah sumber cahaya berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya visible. Penggunaan utama spektroskopi ultraviolet-sinar tampak adalah dalam analisis kuantitatif. Penentuan kadar senyawa organik yang mempunyai struktur kromofor, serta mengabsorpsi radiasi ultraviolet-sinar tampak penggunaannya cukup luas. Penentuan kadar dilakukan dengan mengukur absorbsi pada panjang gelombang maksimum (puncak kurva), agar dapat memberikan absorbsi tertinggi untuk setiap konsentrasi (Harmita 2006).

Nilai konsentrasi senyawa yang di analisa dapat dihitung dengan rumus :

Lambert-Beer. Hukum Lambert Beer:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Keterangan :

A: absorban

a : absorbifitas

b : tebal larutan yang dilalui sinar (dalam cm)

c : konsentrasi (dalam mg/ml)

Harga tidak tergantung pada konsentrasi, jarak yang dilalui, dan intensitas radiasi yang datang, tetapi tergantung pada suhu pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi. Pelarut yang digunakan dalam spektrofotometri UV dan cahaya tampak harus dapat melarutkan sampel yang diuji dan dapat menransmisi pada daerah panjang gelombang yang diukur (Harmita 2006).

### **7.3.3 Penentuan *Limit of detection* dan *limit of quantification kurva baku*.**

**7.3.3.1 Limit of Detection (LOD)** ditentukan untuk mengetahui batas terkecil yang masih dapat dideteksi oleh alat spektrofotometer UV-Vis.

**7.3.3.2 Limit of Quantification (LOQ)** digunakan untuk menentukan konsentrasi terendah dari suatu zat yang masih dapat digunakan untuk

perhitungan kadar. Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko, batas deteksi merupakan uji batas. Batas kuantisi merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2006).

Penentuan batas deteksi suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisa itu menggunakan instrumen atau tidak. Pada analisis yang tidak menggunakan instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko.

Rumus di bawah ini dapat digunakan untuk perhitungan:

$$Q = \frac{k \times Sb}{Sl}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(y - yi)^2}{n-2}}$$

$$LOD = \frac{3 \times Sb}{Slope}$$

$$LOQ = \frac{10 \times Sb}{Slope}$$

$Q$  = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

$K$  = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitasi

$Sb$  = Simpangan baku respon analitik dari blanko

$Sl$  = Arah garis linier (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi slope (b pada persamaan garis  $y = a + bx$ ).

**7.4 Analisis kembali vitamin C yang ditambahkan pada sampel (*Analysis Recovery*).** Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% recovery) analit yang ditambahkan (Harmita, 2006).

Kecermatan (Recovery) ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (Spiked – placebo recovery) dan metode penambahan baku (Standard addition method). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (plasebo) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar analit sebenarnya). Dalam metode penambahan baku

dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit dengan konsentrasi tertentu pada sampel yang diperiksa, lalu dianalisis dengan metode tersebut. Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan (Harmita, 2006).

### **7.5 Analisis Data Secara Statistik.**

**7.5.1 Penolakan Hasil Pengamatan** di antara hasil yang diperoleh dari satu seri penetapan kadar terhadap satu macam sampel, ada kalanya terdapat hasil yang sangat menyimpang bila dibandingkan dengan yang lain tanpa diketahui kesalahannya secara pasti sehingga timbul kecenderungan untuk menolak hasil yang sangat menyimpang (Rohman, 2007).

Untuk memastikan hasil yang sangat menyimpang ditolak atau diterima, perlu dilakukan analisis data secara statistika. Pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ), hasil analisis ditolak jika  $Q_{hitung} > Q_{tabel}$  (Rohman, 2007).

**7.5.2 Uji Ketelitian (Presisi) Metode Analisis** adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual yang diterapkan secara berulang pada sampel. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku relatif (Relative Standard Deviation) atau koefisien variasi (Harmita, 2006).

Rumus perhitungan persen RSD (Harmita, 2006):

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{X} \times 100 \%$$

Keterangan: SD = standar deviasi

X = kadar rata-rata sampel

## **C. Landasan Teori**

Tanaman bayam ada beberapa spesies di Indonesia. Tanaman ini sudah tak asing lagi didengar oleh masyarakat dan merupakan bahan pangan yang memiliki banyak manfaat serta kandungan antioksidan seperti vitamin C. Daun bayam sering digunakan untuk bahan sayuran dan makanan dalam masakan dan biasa diolah menjadi berbagai bahan makanan yang direbus maupun digoreng dan bisa menjadi hidangan yang mewah (Hadisaputra, dkk 2012).

Sumber vitamin C terdapat pada berbagai tanaman segar seperti tanaman bayam (Lal, 2006). Penetapan kadar vitamin C dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Metode titrasi dengan larutan

2,6-diklorofenol (AOAC Method 967.21). Sifat vitamin C yaitu mudah teroksidasi oleh panas, cahaya, alkali, enzim, oksidator dan logam selain itu vitamin C sangat larut dalam air. Beberapa faktor yang mempengaruhi vitamin C diantaranya adalah pemanasan, yang menyebabkan rusak/berbahayanya struktur, pencucian daun setelah dipotong-potong terlebih dahulu, adanya alkali atau suasana basa selama pengolahan dan membuka tempat berisi vitamin C, sebab oleh udara akan terjadi oksidasi yang tidak reversible (Poedjiadi, 1994).

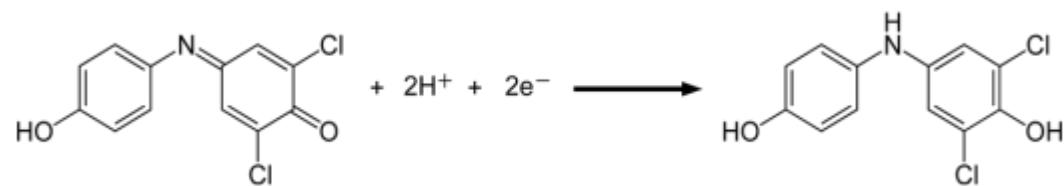
Pada dasarnya vitamin C sangat dipengaruhi oleh suhu, saat suhu panas maka kadar vitamin C biasanya akan berkurang. Semakin panas kadar vitamin C berkurang karena akan menguap dan asam askorbat yang memiliki senyawa alkohol akan berubah menjadi dehidro asam askorbat yang mana senyawa alkoholnya sudah menjadi keton yang menyebabkan kadar vitamin C tidak terdeteksi atau kadar yang tersisa saja yang bisa dihitung menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis. Pengaruh vitamin C juga bisa terjadi pada reagen tertentu. 2,6-diklorofenol indofenol adalah reagen yang akan mempengaruhi vitamin C pada saat dianalisis karena memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang akan terputus apabila tertambah vitamin C yang memiliki sifat mudah teroksidasi. Pada gambar 2 halaman 14 terlihat bahwa hidrogen pada vitamin C akan diberikan kepada 2,6-diklorofenol indofenol yang mengakibatkan indofenol menjadi tidak berwarna karena ikatan terkonjugasinya terputus. Jadi apabila kelebihan asam sedikit saja pada larutan 2,6-diklorofenol yang sudah luntur akan cepat berwarna menjadi pink (merah muda).

Metode larutan Dye pada saat ini merupakan cara yang paling banyak digunakan untuk menetapkan kadar vitamin C dalam bahan pangan. Prinsip penetapan kadar ini yaitu vitamin C dalam suasana asam akan mereduksi larutan dye membentuk larutan yang tidak berwarna. Apabila semua asam askorbat sudah mereduksi larutan dye sedikit saja maka akan terlihat dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah merah muda. Selain mengoksidasi vitamin C, reaksi indofenol juga mengoksidasi senyawa senyawa lain, misalnya senyawa sulfohidril, thiosianat, senyawa piridium, bentuk tereduksi, dari turunan asam nikotin dan riboflavin.

Larutan vitamin C terdapat juga bentuk dehydro asam askorbat yang tidak tertitrasi oleh indofenol atau tidak dapat ditentukan jumlahnya dengan senyawa

indofenol. Agar dapat menghitung jumlah dehydro asam askorbat, diperlukan perlakuan untuk mengubah dehidro asam askorbat menjadi asam askorbat. Karena dehidro asam askorbat dalam jaringan segar jumlahnya sangat kecil dan tidak berarti sebagai sumber vitamin C, maka kadar vitamin C ditentukan dengan titrasi secara langsung menggunakan diklorofenol indofenol. Bahan pangan yang akan ditentukan kadar vitamin C nya harus dilarutkan dengan asam lemah terlebih dahulu. Tujuan penggunaan asam dimaksudkan untuk mengurangi oksidasi vitamin C oleh enzim-enzim oksidasi dan pengaruh glutation yang terdapat dalam jaringan tanaman. Asam lemah yang digunakan antara lain asam acetat, asam trikloro acetat, asam metafosfat dan asam oksalat. Sebaiknya titrasi dilakukan segera setelah perlakuan selesai (Andarwulan dkk, 2005)

Asam askorbat akan mereduksi indikator dye (2,6-diklorofenol indofenol) dalam suatu larutan yang tidak berwarna (Nielsen, 2010).



DCPIP (berwarna biru) + H<sup>+</sup> menjadi DCPIPH (berwarna pink)

**Gambar 4. Reaksi 2,6-Diklorofenol Indofenol**

Pada penelitian ini, penambahan pereaksi 2,6-diklorofenol indofenol dimaksudkan untuk memberi warna untuk analisa kadar vitamin C pada daun bayam (*Amaranthus tricolor* L), senyawa produk berwarna yang dihasilkan seperti reaksi diatas berdasarkan strukturnya memiliki gugus kromofor yang berperan dalam sinar UV-Vis. Maka penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis ini sangat cocok untuk penelitian ini dan mudah dalam pelaksanaannya, serta menggunakan alat dan bahan yang sederhana dan hasil yang cukup akurat.

#### D. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori maka hipotesis dari penelitian ini adalah adanya perbedaan kadar vitamin C pada bayam hijau (*Amarantus tricolor* L) segar, rebus dan goreng secara spektrofotometri UV-Vis

Kadar vitamin C pada daun bayam hijau (*Amarantus tricolor* L) segar, rebus dan goreng dapat ditetapkan dengan metode penetapan kadar secara spektrofotometri UV-Vis.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi merupakan keseluruhan dari unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam (*Amaranthus tricolor L*) yang diambil di daerah Tawangmangu Karanganyar.

##### **2. Sampel**

Sampel merupakan bagian dari populasi yang dipilih melalui prosedur tertentu sehingga diharapkan mampu mewakili dari populasi. Sampel yang digunakan yaitu daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor L*) yang diambil sampelnya dengan variasi perlakuan daun bayam mentah, rebus dan goreng.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama berkaitan dengan identifikasi dari semua sampel yang diteliti langsung. Variabel utama adalah kadar vitamin C pada daun bayam mentah, rebus dan goreng berdasarkan pembentukan warna melalui reduksi oleh 2,6-diklorofenol indofenol secara spektrofotometri UV-Vis.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Klasifikasi variabel utama merupakan variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yakni variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas dalam penelitian maksudnya adalah variabel yang diinginkan untuk diteliti terhadap variabel tergantung. Variabel bebas adalah variabel utama dalam penelitian yang dapat berubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini merupakan perlakuan terhadap daun bayam mentah, rebus dan goreng yang hasil filtratnya direaksikan dengan 2,6-diklorofenol indofenol untuk pembentukan warna.

Variabel tergantung dalam penelitian maksudnya titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini merupakan intensitas warna 2,6-diklorofenol indofenol.

Variabel terkendali dalam penelitian maksudnya variabel yang mempengaruhi variabel tergantung selain variabel bebas. Variabel terkendali dalam penelitian ini merupakan tahapan analisis spektrofotometri uv-visibel, metode analisis, keadaan fisik tanaman bayam dan keadaan penelitian.

### **3. Pengertian operasional variabel utama**

Vitamin C merupakan salah satu jenis vitamin yang larut dalam air dan mempunyai peranan penting dalam menangkal berbagai penyakit. Vitamin mempunyai nama lain yang dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C murni yang digunakan diperoleh dari Takeda Indonesia.

2,6-diklorofenol indofenol merupakan indikator yang digunakan untuk penelitian ini. Dalam bahasa internasional disebut 2,6-Dichlorophenolindophenol (DCPIP atau DPIP) adalah senyawa kimia yang digunakan sebagai pewarna redoks. Ketika tereduksi, DCPIP biru dengan penyerapan maksimal pada 600 nm akan mengalami pengurangan, maka DCPIP tidak berwarna.

Indikator merupakan suatu bahan kimia yang ditambahkan dalam suatu penelitian yang memberikan perubahan warna, bentuk ataupun kekeruhan saat titik akhir tercapai. Indikator dalam penelitian ini yaitu asam oksalat sebagai pengekstraksi dan membuat larutan sampel dalam kondisi asam sehingga reaksi antara larutan sampel vitamin C dengan larutan diklorofenol Indofenol dapat berlangsung optimal.

Pengujian menggunakan alat spektrofotometer, panjang gelombang maksimal ( $\lambda$  maks) untuk vitamin C yaitu 615 nm dan juga menggunakan aquadest sebagai blanko. Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode satu analisis yang digunakan untuk menentukan unsur bahan dengan bentuk absorbansi menggunakan alat spektrofotometer GENESYS 10S UV-Vis

## **C. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain spektrofotometer GENESYS 10S UV-Vis, kertas label, blender, kertas saring, neraca analitik, pipet volume, labu takar, botol coklat, beaker glass, corong dan pipet tetes.

### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berkualitas pro analisis dari E.Merck jika tidak dinyatakan lain yaitu 2,6-diklorofenol indofenol, asam oksalat 0.4 %, natrium bikarbonat, vitamin C baku, aquabides, asam askorbat (Baku Pembanding Farmakope Indonesia), minyak goreng dan daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor L*).

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan pertimbangan bahwa populasi sampel adalah homogen dan sampel yang dianalisis dianggap sebagai sampel yang representative. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor L*) yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar.

### **2. Pembuatan Larutan 2,6-diklorofenol indofenol**

Menimbang seksama 50 mg natrium 2,6-diklorofenolindofenol p.a yang telah disimpan dalam vial, menambah 50 ml larutan  $\text{NaHCO}_3$  0,84% (b/v), mengocok kuat, dan jika sudah terlarut, tambah aquabides ad 200 ml. Menyaring ke dalam botol bersumbat kaca berwarna coklat.

**2.1 Pembuatan larutan asam oksalat 0,4 %.** Melarutkan 0,4 g asam oksalat dalam 100 ml aquabides. Kocok kuat hingga larut. Menyimpan di tempat yang dingin, hanya boleh digunakan dalam jangka waktu 2 hari.

**2.2 Pembuatan larutan  $\text{NaHCO}_3$  0,05 %.** Melarutkan 50 mg  $\text{NaHCO}_3$  dalam 100 ml aquabides.

**2.3 Penyiapan Larutan Sampel.** Membersihkan sampel dan ditimbang sekitar 25 gr untuk masing-masing perlakuan, dipotong kecil-kecil dimasukkan

kedalam blender kemudian ditambah aquabides dalam blender, setelah itu diblender, dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml lalu tutup rapat dan segera dilakukan uji.

**2.4 Penetapan Kadar Vitamin C dalam Larutan Sampel.** Mengambil 1 ml larutan sampel lalu memasukkan ke gelas ukur 10 ml kemudian ditambah larutan 2,6-diklorofenol indofenol sampai tanda batas. Setelah itu masukkan ke alat spektrofotometri UV-Visible untuk diukur serapannya dengan panjang gelombang maksimal 535 nm.

**2.5 Uji Perolehan Kembali (Recovery).** Dilakukan dengan cara replikasi yaitu sebagai berikut: mengerjakan dengan prosedur yang sama seperti penetapan kadar vitamin C dalam sampel dan menghitung kadarnya mulai dari penimbangan sampel sampai didapatkan absorbansinya, dilakukan sebanyak lima kali pengulangan.

### **3. Prosedur Kerja Spektrofotometri UV-Vis**

**3.1 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 1000 ppm.** Menimbang asam askorbat sebanyak 100 mg kemudian memasukkan kedalam labu ukur 100 ml dilarutkan dan ditambahkan asam oksalat 0,4% sampai tanda batas (Wardani, 2012).

**3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Vitamin C.** Dari larutan stok baku diambil 10 ml larutan vitamin C 1000 ppm dan memasukkan kedalam labu ukur 100 ml di ad kan dengan asam oksalat 0,4% sampai tanda batas. Kemudian dipipet sebanyak 25 ml masukkan kedalam labu ukur 50 ml lalu ad kan lagi dengan asam oksalat 0,4% sampai tanda batas, sehingga didapatkan 50 ppm. Setelah itu dipipet 1ml masukkan ke gelas ukur 10 ml lalu ad kan dengan 2,6-diklorofenol indofenol sampai tanda batas. Kocok kuat hingga larut. Lihat lambda maksimum pada panjang gelombang dengan range 400–700 nm dengan menggunakan blanko aquabides.

**3.3 Penentuan Operating time.** Dilakukan dengan cara mengukur absorbansi pada lamda maksimal yaitu pada lamda 535 nm dengan mengukur absorbansi paling stabil dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-31 menit. Lihat

absorbansi yang paling stabil diantara range waktu 0-30 menit dalam interval waktu 5 menit. Setelah dapat hasil tertabil. Catat waktunya.

**3.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi.** Mengambil larutan vitamin C 50 ppm kedalam labu ukur 10 ml masing-masing sebesar 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4ml dan 5 ml. Kemudian ditambah 2,6-diklorofenolnya masing-masing sebanyak 4 ml lalu adkan dengan asam oksalat 0,4% hingga tanda batas lalu dihomogenkan. Didapatkan masing-masing konsentrasi 2,5ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm, 25ppm. Setelah itu mengukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

#### **4. Perlakuan pada penetapan kadar vitamin C pada daun bayam**

**4.1 Daun bayam mentah.** Daun bayam dicuci bersih, dipotong kecil-kecil kemudian rajangan daun bayam ditimbang sebanyak 25 gram. Rajangan sampel diblender dengan penambahan aquabidest, larutannya kemudian disaring dengan kertas saring, filtratnya diambil 5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dipipet dengan pipet volume sebanyak 1 ml, masukkan kedalam gelas ukur 10 ml adkan dengan 2,6-diklorofenol indofenol hingga tanda batas. Kocok hingga homogen. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang didapat.

**4.2 Daun bayam rebus.** Daun bayam dicuci bersih, dipotong kecil-kecil kemudian rajangan daun bayam ditimbang sebanyak 25 gram. Rajangan sampel direbus ± 10 menit lalu diblender dengan penambahan aquabidest, larutannya kemudian disaring dengan kertas saring, filtratnya diambil 5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dipipet dengan pipet volume sebanyak 1 ml, masukkan kedalam gelas ukur 10 ml adkan dengan 2,6-diklorofenol indofenol hingga tanda batas. Kocok hingga homogen. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang didapat.

**4.3 Daun bayam goreng.** Daun bayam dicuci bersih, dipotong kecil-kecil kemudian rajangan daun bayam ditimbang 25 gram. Rajangan sampel digoreng dengan menggunakan teflon ± 10 menit kemudian diblender dengan penambahan aquabidest. larutannya kemudian disaring dengan kertas saring, filtratnya diambil 5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dipipet dengan pipet volume

sebanyak 1 ml, masukkan kedalam gelas ukur 10 ml ad kan dengan 2,6 diklorofenol indofenol hingga tanda batas. Kocok hingga homogen. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang didapat.

## 5. Metode Analisa

### 1. Regresi Linier

$$Y = a + bx$$

Keterangan: Y: Serapan yang diperoleh

x: Konsentrasi

$$2. \quad \% \text{ Kadar} = \frac{C_{reg} \left( \frac{mg}{L} \right) \times \text{Pengenceran} \times \text{Volume pelarut (L)}}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100\%$$

### 3. Penetapan batas deteksi dan kuantitasi

$$Q = \frac{k \times Sb}{Sl}$$

$$LOD = \frac{3 \times Sb}{Slope}$$

$$LOQ = \frac{10 \times Sb}{Slope}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(y - yi)^2}{n - 2}}$$

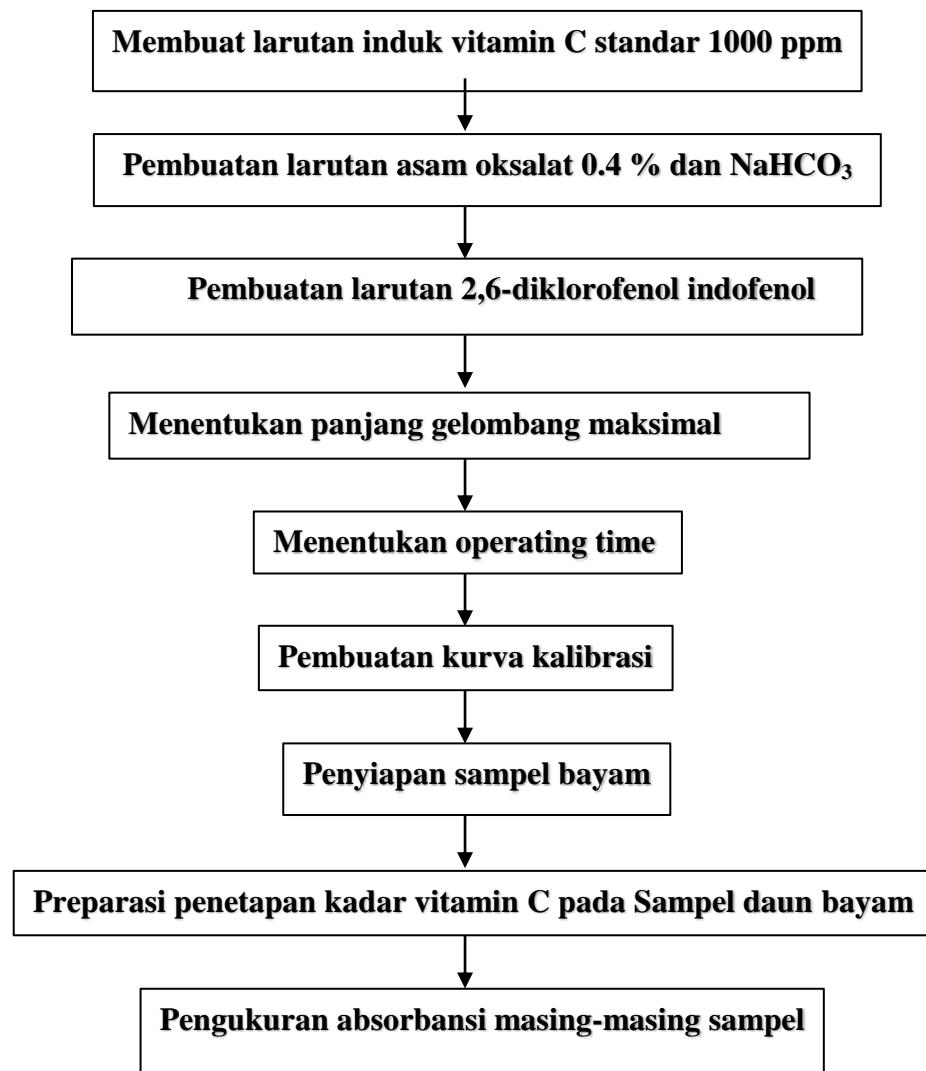
Keterangan: Q: LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K: 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitas

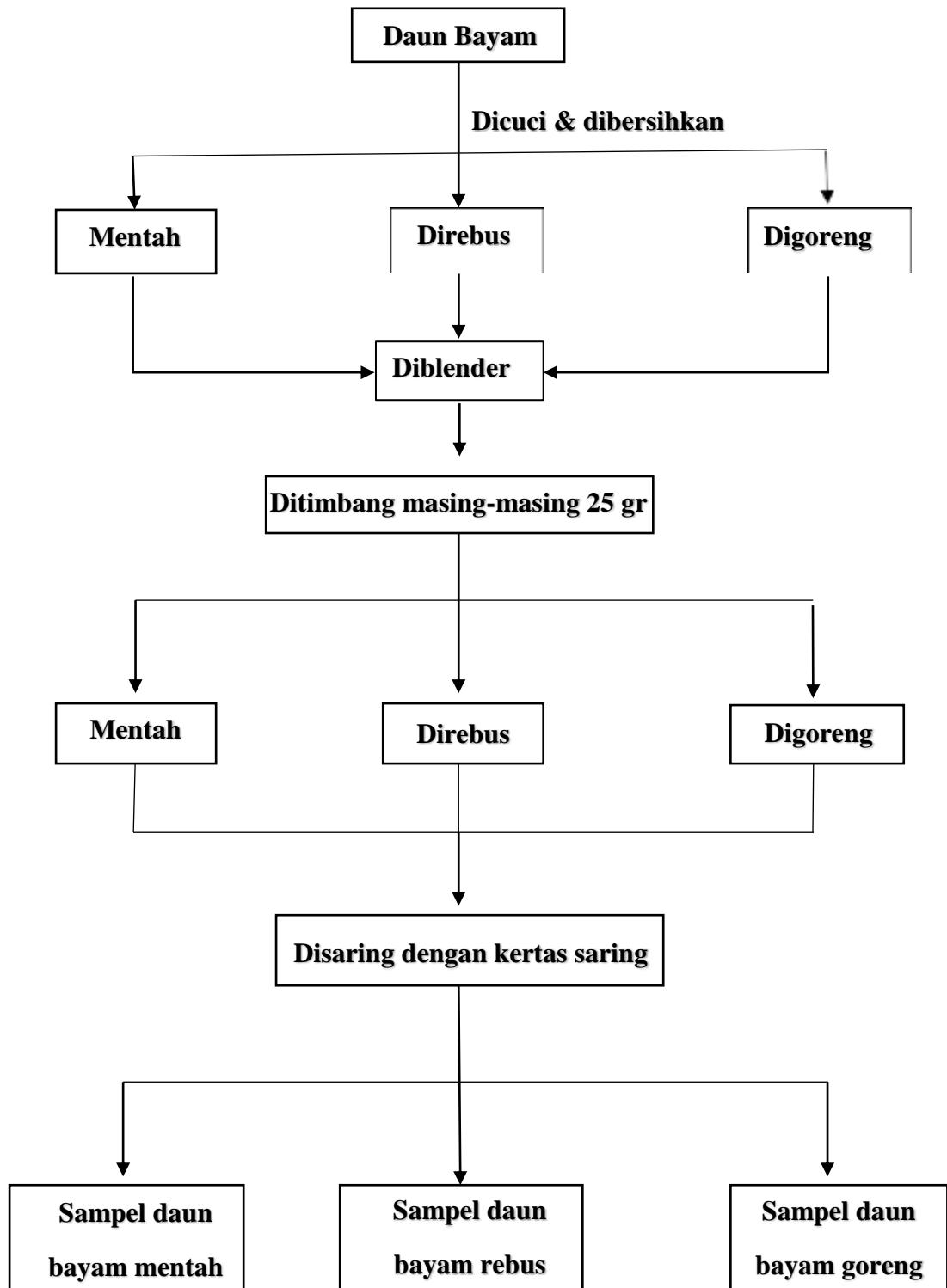
Sb: simpangan baku respon analitik dari blanko

Sl: arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi slope (b pada persamaan garis  $y = a + bx$ )

## 6. Skema Jalannya Penelitian



### 6.1 Preparasi Sampel Daun Bayam



## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Bayam adalah sayuran yang murah, mudah dicari dan memiliki banyak manfaat bagi tubuh karena memiliki kandungan vitamin dan mineral. Vitamin C merupakan senyawa yang bersifat asam dengan nama terkenal yaitu asam askorbat dan nama empirisnya adalah  $C_6H_8O_6$ . Vitamin C adalah vitamin yang tergolong vitamin yang larut dalam air, mudah teroksidasi dan aktivitas biologinya mudah rusak oleh beberapa faktor diantaranya oksigen, pH, logam dan cahaya. Sumber vitamin C sebagian besar didapat dari sayur-sayuran dan buah-buahan.

Dalam penelitian ini digunakan sampel daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor* L) yang akan diuji beda perlakuannya yaitu segar, rebus dan goreng dengan baku banding vitamin C p.a dari Universitas Setia Budi. Hal pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan alat, reagen dan larutan yang akan digunakan dalam penelitian ini.

Mempersiapkan alat spektrofotometer UV-Vis dan alat-alat lain seperti beaker glass, pipet, corong pisah, kertas saring dan gelas ukur. Alat spektrofotometer yang digunakan sudah divalidasi dahulu karena bila alatnya belum divalidasi akan didapatkan hasil yang kurang bagus atau tidak valid. Baku banding vitamin C digunakan untuk membuktikan bahwa alat yang digunakan valid karena apabila baku banding vitamin C hasilnya tidak sama dengan literatur atau tidak mendekati maka dinyatakan alat yang digunakan tidak tervalidasi. Baku banding vitamin C yang mendapatkan hasil yang tidak valid juga bisa terjadi oleh kesalahan praktikan maka, prosedur kerja harus sangat diperhatikan. Prosedur kerja yang baik dilakukan dengan replikasi hal ini, dilakukan supaya itu terjadi kesalahan saat mendapatkan hasil. Hasil yang replikasi yang saling mendekati satu sama lain dan sesuai dengan literatur merupakan hasil yang didapatkan dengan prosedur kerja yang benar.

Alat spektrofotometer UV-Vis yang sudah dipersiapkan harus selalu menyala saat dilakukan penelitian dan harus dilakukan dengan cepat saat

pengerjaannya. Reagen dan sampel harus dibuat dan digunakan dalam sehari agar didapatkan hasil yang akurat karena sampel vitamin C dan reagen yang digunakan sangat mudah teroksidasi apabila didalam larutan. Baku banding vitamin C p.a yang akan dibuat diambil dari laboratorium Universitas Setia Budi. Pembuatan baku banding vitamin C dilakukan setelah pembuatan larutan asam oksalat.

Pembuatan larutan asam oksalat 0,4 % berfungsi untuk mencegah oksidasi dari vitamin C yang berbentuk larutan. Asam oksalat mampu mencegah oksidasi karena merupakan senyawa yang bersifat asam kuat. Vitamin C dalam kondisi asam tidak mudah teroksidasi menjadi asam dehidroaskorbat sehingga pembuatan baku banding vitamin C untuk analisis tidak mengalami perubahan kadarnya atau pengurangan kadarnya diminimalkan.

Pembuatan natrium karbonat dilakukan untuk campuran dalam pembuatan larutan 2,6-diklorofenol indofenol. Natrium karbonat yang digunakan untuk campuran berfungsi untuk melarutkan 2,6-diklorofenol dan tidak mempengaruhi reagen tersebut. Larutan reagen 2,6-diklorofenol indofenol yang sudah jadi dimasukkan ke wadah yang harus tertutup rapat dan gelap karena sangat reaktif terhadap cahaya. Pembuatan larutan baku standar 1000 ppm digunakan untuk penentuan panjang gelombang maksimal, Operating Time.

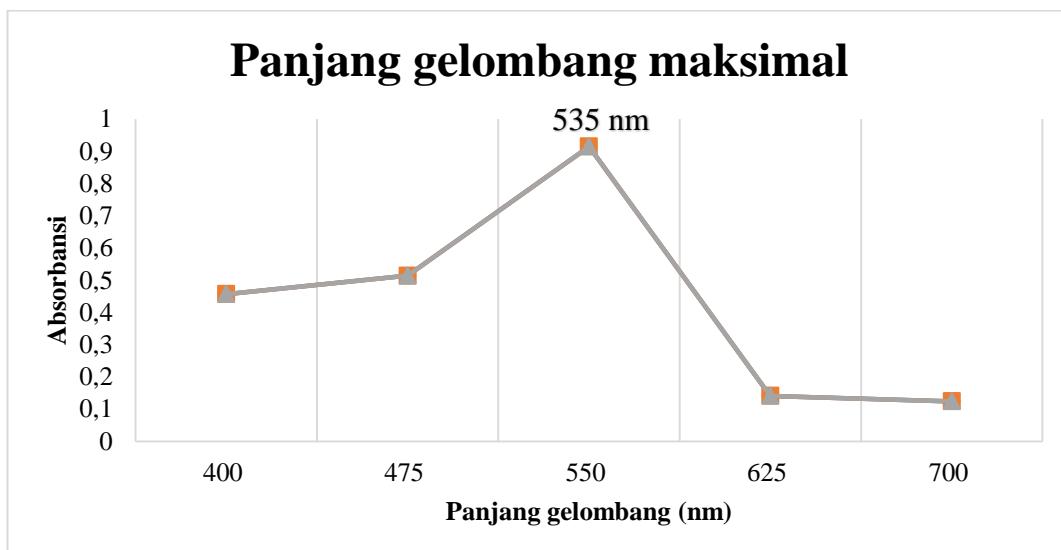
### **1. Penentuan Panjang Gelombang maksimal**

Dilakukan langkah berikut nya setelah pembuatan larutan baku standar 1000 ppm yaitu penentuan panjang gelombang maksimal dengan cara menggunakan larutan baku standar. Larutan baku vitamin C dipipet lalu dimasukkan kedalam kuvet untuk dihitung panjang gelombang maksimalnya. Disiapkan alat spektrofotmeternya dan diseting untuk mengukur panjang gelombang maksimal. Untuk mengukur serapan absorbansinya maka juga disiapkan larutan blanko yang bertujuan untuk larutan pembanding dari vitamin C. Sebagai zat netral blanko sangat berfungsi untuk pembacaan absorbansi pada sampel karena tidak akan mempengaruhi absorbansi pada sampel vitamin C. blanko yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquabides.

Penentuan panjang gelombang maksimal yang dilakukan dalam penelitian didapatkan sebesar 535 nm karena memberikan absorbansi tertinggi yaitu 0,977

dengan menggunakan larutan baku standar vitamin C. Perhitungan pencarian panjang gelombang maksimal ini dilakukan pada range 400 nm sampai 700 nm. Serapan maksimal pada spektrofotometer UV dapat dilihat pada gambar kurva panjang gelombang maksimal pada gambar grafik berikut. Gambar 6.

Pada serapan panjang gelombang 535 nm merupakan serapan vitamin C yang bagus, karena berada diantara range 400 nm sampai 700 nm jadi bisa dilakukan analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena pada prinsipnya zat yang memiliki kromofor atau berwarna harus berada diatas panjang gelombang 400 nm. Penentuan panjang gelombang maksimal untuk hasil yang lebih jelas dapat dilihat dilampiran 3 pada halaman 50.

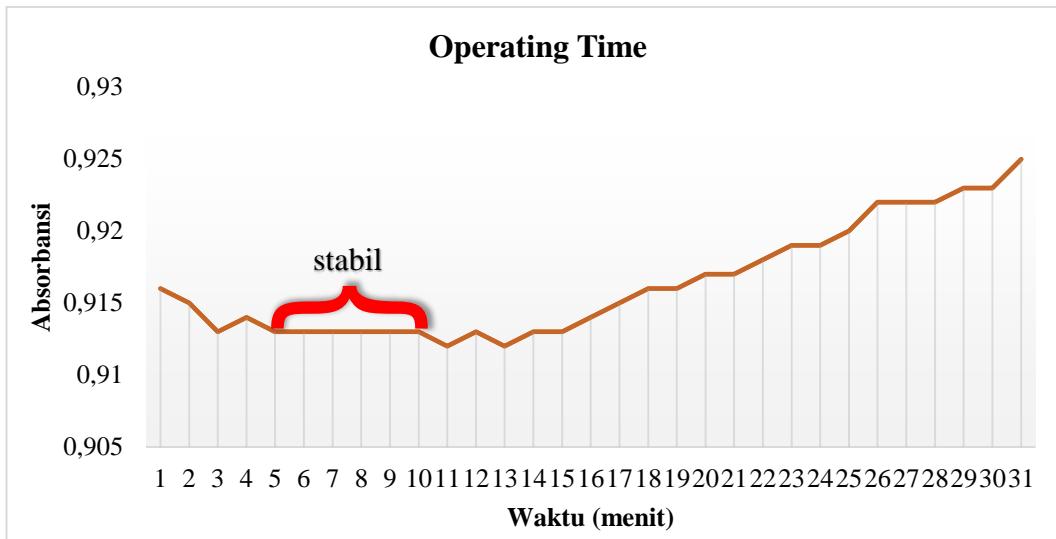


**Gambar 5. Kurva panjang gelombang maksimal baku banding vitamin C.**

## 2. Penentuan *Operating Time* (OT)

Panjang gelombang maksimal yang didapat sebesar 535 nm langsung dilakukan uji untuk *Operating Time*. Digunakannya panjang gelombang maksimal unruk pengukuran agar didapatkan kepekaan yang maksimal juga pada uji OT. Dilakukannya *Operating time* dimaksudkan untuk mengetahui waktu terstabil dari panjang gelombang maksimal yang didapat. jadi, waktu terstabil adalah waktu absorbansi yang tidak mengalami perubahan panjang gelombang selama dilakukannya analisis pada baku maupun sampel. Berikut merupakan gambar grafik OT yang dilakukan saat penelitian. Berdasarkan data dari kurva *operating time* pada untuk penetapan kadar vitamin C secara spektrofotometri UV-Visible

dapat dimulai pada menit ke-5 sampai menit ke-10 karena memberikan absorbansi yang stabil sebesar 0,913 nm (dapat dilihat pada gambar 7).



Gambar 6. Kurva *operating time* baku banding vitamin C

Pada penentuan *Operating time* untuk hasil yang lebih jelas dapat dilihat dilampiran 3 pada halaman 51.

### 3. Penentuan kurva baku

Penentuan kurva baku vitamin C dibuat dengan melakukan seri pengenceran dari larutan induk standar vitamin C murni 50 ppm dengan konsentrasi pada tabel 2. Dilakukannya pembuatan kurva baku bertujuan untuk mencari hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya.

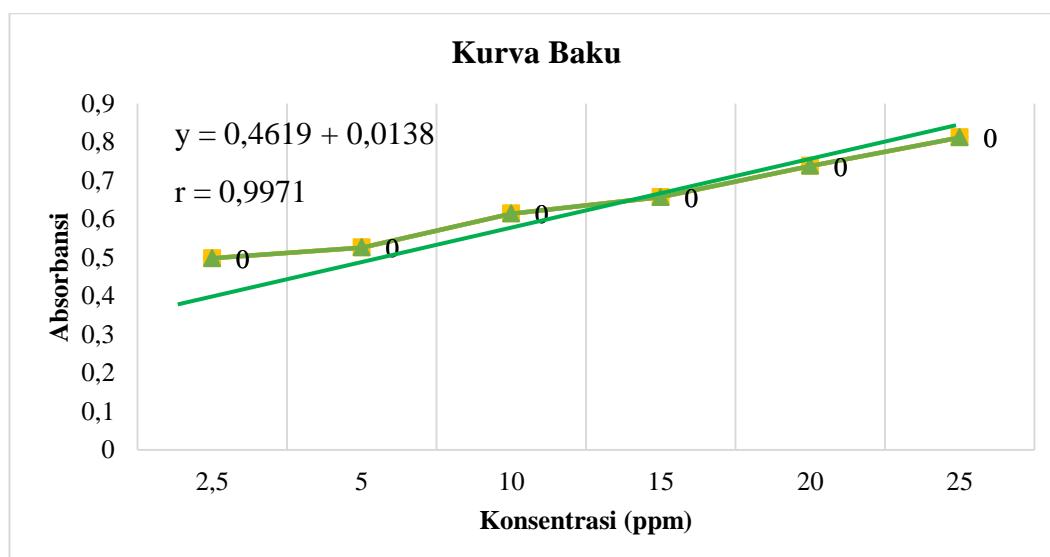
Dilakukannya seri pengenceran pada 50 ppm dimaksudkan supaya tidak terdapat larutan uji yang terlalu pekat yang dapat mengakibatkan nilai absorbansi yang terlalu tinggi melebihi 0,800 ppm. Sesuai dengan pedoman batas nilai absorbansi adalah (0,2-0,8) ppm, apabila hasil kurang dari 0,2 ppm maka perlu dilakukan penambahan pengambilan sampel dan hasil lebih dari 0,8 ppm maka perlu dilakukan pengenceran pada pengambilan sampel karena nilai absorbansi yang terlalu jauh atau tidak sesuai batas absorbansi akan mengakibatkan hasil kurva kalibrasi yang tidak linier. Hasil percobaan yang telah dilakukan dibuat kurva baku hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan absorbansinya. Dilakukan cara perhitungan yang sama untuk setiap pengambilan masing-masing sampel dari baku. Untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada lampiran 2 halaman 49.

**Tabel 2. Kurva baku vitamin C**

No	Jumlah Sampel yg diambil	Konsentrasi	Absorbansi
1	0,5 ml	2,5 ppm	0.498
2	1 ml	5 ppm	0.526
3	2 ml	10 ppm	0.614
4	3 ml	15 ppm	0.657
5	4 ml	20 ppm	0.738
6	5 ml	25 ppm	0.812

Dari hasil tabel 2 kurva baku vitamin C yang didapatkan memenuhi syarat berdasarkan *Limit of Detection* dan *Limit of Quantification*, Hasil yang diperoleh dilakukan perhitungan kurva baku dengan persamaan regresi linier sebagai berikut:

Nilai *r* pada perhitungan persamaan regresi menggunakan data perbandingan konsentrasi dan absorbansi. Perbandingan tersebut menunjukkan hasil yang akurat dan bisa dikatakan linier karena sudah sesuai dengan pedoman nilai standar *r*. Dalam pedoman penggunaan rumus kurva baku nilai *r* yang semakin mendekati angka satu dianggap sebagai nilai yang hampir sempurna atau sama. Syarat nilai *r* terendah adalah 0,97. Untuk membuktikan bahwa kurva baku yang didapat linier maka dibuat grafik untuk menunjukkan kelinieritasnya. Hasil yang didapat bisa dilihat pada gambar 8.

**Gambar 7. Kurva baku vitamin C**

Pada gambar 8 perbandingan antara absorbansi dan konsentrasi berbanding lurus (linier), itu terlihat pada garis hijau yang menunjukkan semakin tinggi konsentrasinya maka absorbansi juga semakin besar. Setelah didapat persamaan garis linier pada tabel 3 dan gambar 8 yang menunjukkan hasil yang linier maka hasil ini akan digunakan sebagai dasar perhitungan nilai LOD dan LOQ untuk mengetahui batas deteksi yang didapat apakah berada dalam bawah deteksi atau melebihi batas deteksi terendahnya.

#### **4. Penetapan Limit of Detection dan Limit of Quantification**

*LOD* dan *LOQ* dalam analisis harus dilakukan karena merupakan faktor penting dalam penelitian. Nilai *LOD* harus berada dibawah nilai konsentrasi terendah pada pembuatan seri konsentrasi pada kurva baku. Apabila salah satu seri konsentrasi berada di bawah nilai *LOD* maka harus dibuang atau tidak dipakai. Sedangkan nilai *LOQ* digunakan untuk mengetahui kuantitas pada perhitungan konsentrasi terbesar pada sampel biasanya berada pada nilai tengah-tengah pada seri konsentrasi kurva baku. Berikut merupakan rumus perhitungannya :

Hasil yang didapat sebagai berikut:

$$SD = 0,00991224$$

$$LOD = 2,15$$

$$LOQ = 7,18$$

Dari perhitungan yang dilakukan menunjukkan nilai *LOD* yang didapatkan adalah 2,15 ppm. Jadi dapat disimpulkan bahwa untuk batas deteksi konsentrasi terendah kurva kalibrasi memenuhi syarat deteksi karena pada konsentrasi terendah kurva kalibrasinya adalah 2,5 ppm dan nilai *LOQ* nya berada pada antara nilai konsetrasi seri terendah dan tertinggi jadi memenuhi syarat. Hasil kadar yang diperoleh memenuhi syarat batas deteksi (*LOD*) dan kuantitas (*LOQ*). Untuk hasil perhitungan yang lebih jelas dan detail dapat dilihat pada lampiran 4 halaman 52.

#### **5. Penetapan kadar vitamin C pada sampel**

Berdasarkan metode spektrofotometri UV-Visible dengan penambahan pereaksi 2,6-Diklorofenol indofenol, kadar penetapan vitamin C pada sampel daun

bayam hijau memiliki hasil yang berbeda-beda disetiap perlakuan pada sampel hal ini dapat dilihat ditabel sebagai berikut:

Persamaan Regresi linier untuk sampel sama dengan yang digunakan pada vitamin C baku, karena baku sebagai dasar dalam perhitungan kadar sampel. Setelah mendapatkan hasil yang akurat dari pembentukan warna 2,6-diklorofenol indofenol dan hasil absorbansi yang akurat dari baku vitamin C serta nilai validasi *LOD* dan *LOQ* yang baik, maka analisis dapat dilakukan ke tahap penetapan kadar sampel. Sampel yang sudah dibersihkan dan disiapkan ditimbang terlebih dahulu sebanyak 25 g. Sampel yang ditimbang dilakukan uji perlakuan yaitu mentah, direbus dan goreng.

Perhitungan konsentrasi untuk variasi dilakukan untuk menghindari pengambilan dua kali pemipatan, sehingga harus menyesuaikan alat yang digunakan di laboratorium. Hasil penetapan kadar vitamin C pada sampel daun bayam dengan tiga perlakuan yang berbeda yaitu sampel daun bayam mentah, daun bayam rebus dan daun bayam goreng dengan replikasi sebanyak lima kali, menunjukkan adanya perbedaan. Kadar sampel daun bayam segar rata-rata sebesar 0,07 % kadar sampel daun bayam rebus rata-rata sebesar 0,0207 % dan kadar sampel bayam goreng rata-rata sebesar 0,0037 %. Pada hasil sampel daun bayam segar yang didapat hasilnya sudah bagus dan memenuhi kebutuhan vitamin C sehari-hari, sedangkan pada sampel daun bayam goreng kadarnya sangat sedikit karena vitamin C mungkin karena kadar vitamin C sudah rusak pada proses pemanasan saat digoreng. Vitamin C mudah rusak atau hilang karena pengaruh suhu yang tinggi saat digoreng, itu disebabkan ikatan-ikatan karbon pada vitamin C dalam sampel daun bayam mudah rusak.

Hasil penetapan kadar sampel daun bayam dengan beda perlakuan yaitu segar, rebus dan goreng dengan variasi konsentrasi masing-masing dan juga replikasi mendapatkan hasil yang berbeda-beda. Kadar sampel daun bayam segar lebih besar dibandingkan dengan sampel daun bayam rebus dan sampel daun bayam goreng. Penelitian ini membuktikan bahwa oksidasi kadar vitamin C sangat berpengaruh pada kenaikan suhu atau proses pemanasan. Dan ada perbedaan juga antara pemanasan dengan digoreng ataupun direbus walaupun dengan suhu dan waktu pemanasan yang sama. Hal ini menunjukan bahwa beda

perlakuan pada setiap variasi sampel daun bayam sangat berpengaruh, ditunjukkan pada hasil kadar yang berbeda-beda.

Untuk memantapkan hasil yang diperoleh maka dilakukan pengujian menggunakan SPSS data statistik. Statistik sendiri memiliki pengertian untuk mengumpulkan, menyusun, menyajikan, atau menganalisis data penyelidikan yang berwujud angka. Teori probabilitas atau bisa disebut kebolehjadian, teori ini memiliki luas penggunaannya dalam analisis data statistik. *One Way anova* atau analisa variansi digunakan untuk menguji kemaknaan perbedaan beberapa sampel (lebih dari 2 sampel). *Anova* dapat digunakan untuk menguji apakah rata-rata dari dua sampel berbeda secara signifikan ataukah tidak dan menguji apakah dua buah sampel mempunyai varians populasi yang sama ataukah tidak. Analisis menggunakan *Anova* dilakukan dengan melihat hasil pengujian sebagai berikut:

1. Hipotesis  $H_0$  = rata-rata populasi adalah identik  
 $H_1$  = rata-rata poplasi adalah tidak identic
2. Nilai Probabilitas, jika probabilitas  $> 0,05$  maka  $H_0$  diterima  
Jika probabilitas  $< 0,05$  maka  $H_1$  ditolak, bila hasil ditolak maka kelima kadar tersebut memang ada berbeda nyata
3. Tukey test pada post-hoc terdapat tanda \* pada angka *Mean Difference* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kadar sampel, bila tidak ada tanda \* pada angka berarti tidak ada perbedaan yang signifikan.
4. *Homogeneous Subsets*: bagian ini untuk mencari grup/subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan.

Ada beberapa pengujian yaitu menggunakan *One way anova* dengan membandingkan antara beda perlakuan dan kadar pada uji *One-Sample Kolmogorov-Sminov*, diperoleh signifikansi sebesar  $0,559 > 0,05$  ( $H_0$  diterima) jadi dapat disimpulkan bahwa kadar sampel mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis variasi (anova).

Dilakukan uji variasi homogenitas untuk melihat ada perbedaan atau tidak pada variasi sampel. Test variasi dari homogenitas didapatkan hasil nilai probabilitas Lavene Statistic nya adalah  $0,052 > 0,05$  maka ( $H_0$  diterima) maka dinyatakan homogen karena ketiga beda perlakuan memiliki variasi yang sama.

Dilakukan uji berikutnya yaitu uji ANOVA terlihat bahwa  $F$  hitung = 1482,228 dengan probabilitas  $0,000 < 0,005$  maka  $H_0$  ditolak, berarti kadar tersebut memang berbeda nyata. Terlihat bahwa  $F$  hitung = 186,423 dengan probabilitas atau nilai signifikan (Sig.)  $0,000 < 0,005$  maka  $H_0$  ditolak, berarti kadar tersebut memang berbeda nyata.

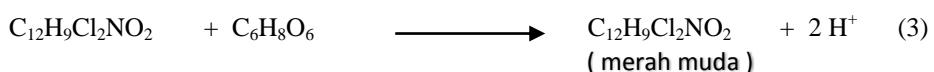
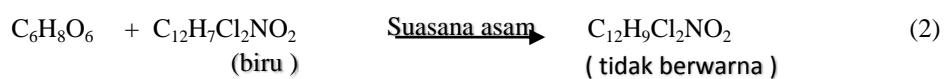
Dilakukan pengujian selanjutnya yaitu post Hoc Test terdapat tanda \* pada angka *Mean Difference* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kadar sampel, bila tidak ada tanda \* pada angka berarti tidak ada perbedaan yang signifikan. Jadi pada sampel kadar didapatkan hasil berbeda-beda semua. Uji linieritas dimaksudkan untuk melihat apakah perbandingan antara konsentrasi dan absorbansi memiliki hubungan yang linier atau tidak. Hasil menunjukkan hubungan konsentrasi dan absorbansi memiliki hubungan yang linier. Uji analisis data statistik ini menunjukkan hasil yang baik dan sesuai. Penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil yang akurat berdasarkan nilai yang ditunjukkan dan keputusan yang ada dalam uji statistik.

Dari penelitian yang dilakukan ada beberapa faktor yang mempengaruuh besar atau kecilnya kandungan vitamin C dalam sampel daun bayam diantaranya: waktu penelitian, waktu pengambilan, warna pada klorofil daun, alat yang digunakan dan sebagainya. Pada penggunaan metode spektrofotometri UV-Visible sering terjadi beberapa kesalahan. Kesalahan ini antara lain adalah human error, kesalahan prosedur, kuvet kurang bersih, blanko terkontaminasi, penetapan panjang gelombang maksimal yang kurang tepat, penetapan *operating time*, ketidaktepatan larutan baku, sampel teroksidasi dahulu dan sebagainya.

Proses oksidasi dapat terjadi dengan berbagai cara ketika sampel berada di labu ukur. Dikarenakan sampel pada saat di labu ukur dapat terkena cahaya secara lansung yang menyebabkan oksidasi. Cara meminimalisirnya dengan cara membungkus labu ukur dengan alumunium foil dan menutup labu ukur sehingga terlindung dari cahaya. Sampel juga bisa teroksidasi karena terlalu lama dalam dilarutan. Cara meminimalkan dengan cara saat proses sampel dimulai dari pengenceran sampai dengan pembacaan absorbansi harus dilakukan dengan cepat ± 15 menit setelah pembuatan agar didapat hasil yang baik dan akurat.

Penetapan kadar vitamin C pada daun bayam ini menggunakan blanko aquabides. Tujuan penggunaan blanko berguna untuk koreksi terhadap serapan yang disebabkan oleh pelarut, pereaksi dan pengatur alat, jadi pada pengukuran blanko serapan harus nol untuk menghindari kesalahan pembacaan serapan. Panjang gelombang maksimal yang digunakan pada percobaan ini adalah 535 nm.

Berdasarkan reaksi yang terjadi dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Visible sebagai berikut:



Pada reaksi (1) terjadi reaksi yang menghilangkan senyawa garam natrium pada 2,6-diklorofenol indofenol dengan senyawa natrium karbonat untuk menjadi larutan 2,6-diklorofenol indofenol dengan dibantu melarutkan dengan aquabides. 2,6-diklorofenol indofenol dalam suasana basa atau netral berwarna biru gelap saat direaksikan dengan asam askorbat maka 2,6-diklorofenol indofenol direduksi oleh asam askorbat menyebabkan larutan tidak berwarna. Dan bila semua asam askorbat telah mereduksi 2,6-diklorofenol indofenol maka kelebihan larutan 2,6-diklorofenol indofenol sedikit saja akan terbentuk warna merah muda.

Namun pada saat penambahan 2,6-diklorofenol indofenol pada sampel warna tidak berubah menjadi merah muda tetapi warna tetap hijau. Warna sampel tetap hijau dimungkinkan karena sampel adalah daun bayam yang memiliki klorofil jadi warna sampel yang sudah ditambah dengan 2,6-diklorofenol indofenol tetap.

Analisis vitamin C pada daun bayam hijau (*Amaranthus tricolor* L) yang sudah ada dengan menggunakan metode Barros. Asam askorbat dibuat seri kurva baku dengan penambahan asam metafosfat dan campurnya dimasukkan kedalam 96 well clear polystyrene microplate yang diukur pada serapan panjang gelombang maksimal 520 nm didapatkan vitamin C dalam daun bayam hijau segar sebesar 0,07222 %, hasil ini lebih besar dari yang didapatkan dari penelitian ini yaitu 0,070025054 % (Naspera, 2010).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan ini adalah :

1. Pada kadar daun bayam segar, rebus dan goreng memiliki kadar yang berbeda karena pengaruh suhu dan perbedaan perlakuan.
2. Hasil penetapan kadar pada sampel daun bayam hijau masak (*Amaranthus tricolor L*) dengan tiga perlakuan yang berbeda yaitu daun bayam mentah, daun bayam rebus dan daun bayam goreng dengan dilakukan replikasi sebanyak 5 kali pada sampel, didapatkan hasil yang berbeda-beda disetiap sampelnya baik dari hasil replikasi maupun dari perlakuan yang diujikan. Kadar sampel rata-rata dari daun bayam segar didapatkan 0,07 %, kadar sampel rata-rata dari daun bayam rebus didapatkan 0,0207 %, dan kadar sampel rata-rata dari daun bayam goreng didapatkan 0,0037 %.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan dengan menggunakan instrument spektrofotometri UV-Vis terbaru, atau alat-alat yang masih baru dan menghasilkan hasil yang lebih akurat dalam mendeteksi hasilnya
2. Perlu diinformasikan kepada masyarakat bahwa di dalam daun bayam terdapat kandungan vitamin C yang banyak saat mentah, dan saran pengolahan untuk daun bayam untuk masak adalah direbus karena kadar vitamin C saat direbus cukup banyak dibandingkan dengan yang digoreng.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhilender. (2003). *Dasar-Dasar Biokimia I*. Erlangga, Jakarta.
- Almatsier, S. (2009). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*.: Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama: hlm. 173-188.
- Andarwulan, N., dan Koswara, S. (1992). *Kimia Vitamin*. Jakarta: Rajawali Press. Hal. 32 – 35
- Andarwulan, N, Kusnandar, F, Herawati, D. 2011. *Analisis Pangan*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia. Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 1083, 1084.
- Fernandes, D. (2006). *Vitamin C*. Stanford: Stanford University. 211-214
- Goodman A. and Gilman L. (2006). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: The McGraw-Hill Company.
- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. (2008). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harmita. (2006). *Petunjuk Pelaksanaan Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol 2:3, 117-135.
- Harmita. (2006). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol II, No 3:117-135.
- Hadisaputra, Denny Indra Praja. (2012). *Super Foods*. Yogyakarta: Flash Books.
- Horwitz. W. (2002). *Official Methods of analysis of Association of Official Analytical Chemist International Edisi XVII*. Maryland USA: AOAC international suite 500. Hal. 16-17
- Khomsan 2010 Khomsan, A. (2003). *Pangan dan Gizi Untuk Kesehatan*. Rajagrafindo Persada. Jakarta.
- Lal, H. (2006). *Biochemistry for Dental Students*. CBS Publishers and Distributor, New Delhi.
- Naspera, R.L. 2010. *Analisis Kandungan Fenolik, Vitamin C, dan Aktivitas Antioksidan dari Bayam Hijau (Amaranthus tri color L) yang ditanam secara organic*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Riau.
- Nuri Andarwulan, Sutrisno. (2005). *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. Edisi pertama. Surabaya: Airlangga University Press.
- Poedjiadi, A. (1994). *Dasar-dasar Biokimia*. UI-Press, Jakarta.

- Rukmana, R. (2005). *Bayam, Bertanam dan Pengolahan Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta, hal.12-14.
- Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 19, 22
- Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Belajar. Halaman 378-379.
- Saparinto, C. (2013). *Gown Your Own Vegetables-Paduan Praktis Menenam Sayuran Konsumsi Populer di Pekaranagan*. Lily Publisher. Yogyakarta.180 hal.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. (2005). *Kimia Dasar*. Yogyakarta: UGM Pres
- Sudarmadji, Slamet. et al. (1996). *Prosedur Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sulistyowati, Y. (2006). *Pengaruh Pemberian Likopen Terhadap Status Antioksidan (Vitamin C, Vitamin E dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (Rattus norvegicus galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik*. Tesis. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Sunita, Almatsier, (2004). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta ,Gramedia Pustaka Utama
- Sweetman SC, (2005). *Martindale: The Complete Drug Reference*, 34 th ed. London, UK : Pharmaceutical Press.
- Sweetman SC, (2005). *Martindale: Vitamin C*, 34 th ed. London, London UK ; Pharmaceutical Press.
- Tjay, T. H & Rahardja, K. (2002). *Obat-obat Penting*. Jakarta: Elex Media Komputindo. hlm. 805-809.
- Tjirosoepomo, Gembong. (2004). *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Wardani,Andria Laras. (2012). *Validasi Metode Analisis dan Penentuan Kadar Vitamin C pada Minuman Buah Kemasan dengan Spektrofotometer UV-Vis* Jakarta : UI Press.
- Kesra,W. (2012). *Menangkap Prospek Budidaya Tanaman Bayam*. Edisi 8.
- Kesra,W. (2012). *Menangkap Prospek Budidaya Bayam Merah*. Edisi 162/1-14.
- Yuniastuti, A. (2008). *Gizi dan Kesehatan*. Graha Ilmu. Yogyakarta.

$$\mathcal{L}$$

$$\mathcal{A}$$

$$\mathcal{M}$$

$$\mathcal{P}$$

$$\mathcal{I}$$

$$\mathcal{R}$$

$$\mathcal{A}$$

$$\mathcal{N}$$

## Lampiran 1. Determinasi tanaman bayam hijau (*Amaranthus tricolor* L)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 84/UN27.9.6.4/Lab/2017  
 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
 Lampiran : -

Nama Pemesan : Andrew Manuhara  
 NIM : 19133883A  
 Alamat : Program Studi SI Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

**Nama Sampel** : *Amaranthus tricolor* L.  
**Familia** : Amaranthaceae

**Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :**  
 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b-  
 804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-  
 825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834a-835a-836a-837c-851a-852b-853a 48. Amaranthaceae  
4. Amaranthus  
1a-2b-3b-5b-6a 1b-3a *Amaranthus tricolor* L.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, tegak, semusim, tinggi 0.5-2.5 m. Akar : tunggang, bercabang, berwarna putih hingga putih kekuningan. Batang : bulat, lunak, tidak berkayu, bercabang, permukaan halus dan gundul, warna batang hijau atau hijau kemerahan hingga hijau keunguan. Daun : tunggal, letak berseling, bentuk bulat telur-lanset hingga belah ketupat, panjang 3.5-11 cm, lebar 1-4.5 cm, pangkal runcing, tepi rata, ujung tumpul atau membulat atau runcing atau meruncing pendek, pertulangan menyirip, gundul, warna daun sangat bervariasi seperti hijau semua atau hijau keunguan atau hijau kemerahan atau merah terang bercampur kuning dan hijau. Bunga : majemuk bulir, di ujung cabang atau di ketiak daun, bunga jantan tersusun pada bunga bulir bagian atas, hijau; daun tenda bunga 3, sangat meruncing dan panjang pada ujungnya, berlepasan, tidak sama besar, bentuk bulat telur-bulat telur memanjang, panjang 3.5-6 mm pada bunga jantan dan 2-5 mm pada bunga betina, cembung, tepi transparan, dengan garis tengah warna ungu atau hijau; benang sari 5, panjang sama dengan ukuran daun tenda bunga; putik 2-3, melengkung. Buah : bentuk bulat telur memanjang, dengan sisa tangkai putik, hijau. Biji : bulat, kecil, diameter ± 1 mm, hitam atau hitam kecokelatan, mengkilat.

Surakarta, 18 April 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
 NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
 Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
 NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
 Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratu Setyaningsih, M.Si.  
 NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. Pembuatan Larutan Baku dengan konsentrasi 1000 ppm

Pembuatan larutan baku standart yang dibuat 1000 ppm dilakukan dengan cara menimbangan sebanyak 100,5 mg serbuk vitamin C standart kemudian dilarutkan dalam gelas ukur 100 ml dengan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Berikut cara penimbangan nya:

- |  |                        |
|--|------------------------|
| • Kertas kosong                                | : 0,2842 gram          |
| • Kertas di netralkan (= 0) + serbuk vitamin C | : <u>0,1005 gram</u> + |
| • Kertas timbang + serbuk vitamin C            | : 0,3847 gram          |
| • Kertas timbang + sisa                        | : <u>0,2847 gram</u>   |
| • Bobot vitamin C standart                     | : 0,1000 gram          |

Diperoleh serbuk vitamin C standar sebesar 100 mg kemudian sebanyak 100 mg serbuk vitamin C dilarutkan dalam 100 ml aquabides dalam beaker glass.

$$\frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 1000 \text{ mg/L} \rightarrow 1000 \text{ ppm}$$

Hasil penimbangan serbuk vitamin C sebanyak 100,0 mg, jadi konsentrasi yang diperoleh untuk larutan kurva baku adalah 1000 ppm. 1000 ppm tersebut digunakan untuk menentukan lamda maksimal dan menentukan *Operating Time*. Berikut perhitungan untuk digunakan dalam menentukan lamda maksimal dan *OT*:

Dari larutan induk 100 ml dipipet sebanyak 10 ml dimasukkan ke beaker glass 100 ml lalu ditambahkan 100 ml dengan asam oksalat sampai tanda batas. Kemudian dipipet lagi sebanyak 25 ml dari larutan standar yang sudah diencerkan tadi dalam labu takar 50 ml dihitung dengan rumus sebagai berikut :

**100 ml → 10 ml ad 100 ml as. oksalat → Dipipet 25 ml  
(pengenceran)**

Jadi :  $C_1.V_1 = C_2.V_2$

$$100 \text{ ppm} . 25 \text{ ml} = C_2 . 50 \text{ ml}$$

$$C_2 = 50 \text{ ppm}$$

### Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan untuk Kurva Kalibrasi

- Pembuatan kurva baku standart 50 ppm dipipet dimasukkan dalam labu ukur 10 ml sebanyak 6 konsentrasi ( 0,5; 1; 2; 3; 4; 5) ml

a. 50 ppm diambil 0,5 ml

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$50 \text{ ppm} \cdot 0,5 \text{ ml} = C_2 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$C_2 = 2,5 \text{ ppm}$$

b. 50 ppm diambil 1 ml

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$50 \text{ ppm} \cdot 1 \text{ ml} = C_2 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$C_2 = 5 \text{ ppm}$$

c. 50 ppm diambil 2 ml

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$50 \text{ ppm} \cdot 2 \text{ ml} = C_2 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$C_2 = 10 \text{ ppm}$$

d. 50 ppm diambil 3 ml

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$50 \text{ ppm} \cdot 3 \text{ ml} = C_2 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$C_2 = 15 \text{ ppm}$$

e. 50 ppm diambil 4 ml

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$50 \text{ ppm} \cdot 4 \text{ ml} = C_2 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$C_2 = 20 \text{ ppm}$$

f. 50 ppm diambil 5 ml

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$50 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml} = C_2 \cdot 10 \text{ ml}$$

$$C_2 = 25 \text{ ppm}$$

**Lampiran 4. Data Panjang Gelombang dan *Operating Time***

**Panjang gelombang**

<b>W.L (nm)</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>W.L (nm)</b>	<b>Absorbansi</b>
700.0	0.124	545.0	0.952
695.0	0.125	540.0	0.974
690.0	0.128	<b>535.0</b>	<b>0.977</b>
685.0	0.134	530.0	0.965
680.0	0.144	525.0	0.941
675.0	0.152	520.0	0.908
670.0	0.153	515.0	0.868
665.0	0.146	510.0	0.823
660.0	0.138	505.0	0.776
655.0	0.133	500.0	0.727
650.0	0.130	495.0	0.677
645.0	0.129	490.0	0.630
640.0	0.128	485.0	0.588
635.0	0.131	480.0	0.549
630.0	0.135	475.0	0.514
625.0	0.141	470.0	0.486
620.0	0.151	465.0	0.467
615.0	0.165	460.0	0.454
610.0	0.184	455.0	0.444
605.0	0.208	450.0	0.439
600.0	0.233	445.0	0.438
595.0	0.277	440.0	0.442
590.0	0.334	435.0	0.449
585.0	0.401	430.0	0.458
580.0	0.477	425.0	0.466
575.0	0.559	420.0	0.472
570.0	0.643	415.0	0.472
565.0	0.722	410.0	0.467
560.0	0.796	405.0	0.461
555.0	0.862	400.0	0.457
550.0	0.915		

*Operating Time*

<b>Waktu</b>	<b>Absorbansi</b>
<b>1</b>	<b>0.916</b>
<b>2</b>	<b>0.915</b>
<b>3</b>	<b>0.913</b>
<b>4</b>	<b>0.914</b>
<b>5</b>	<b>0.913</b>
<b>6</b>	<b>0.913</b>
<b>7</b>	<b>0.913</b>
<b>8</b>	<b>0.913</b>
<b>9</b>	<b>0.913</b>
<b>10</b>	<b>0.913</b>
<b>11</b>	<b>0.912</b>
<b>12</b>	<b>0.913</b>
<b>13</b>	<b>0.912</b>
<b>14</b>	<b>0.913</b>
<b>15</b>	<b>0.913</b>
<b>16</b>	<b>0.914</b>
<b>17</b>	<b>0.915</b>
<b>18</b>	<b>0.916</b>
<b>19</b>	<b>0.916</b>
<b>20</b>	<b>0.917</b>
<b>21</b>	<b>0.917</b>
<b>22</b>	<b>0.918</b>
<b>23</b>	<b>0.919</b>
<b>24</b>	<b>0.919</b>
<b>25</b>	<b>0.920</b>
<b>26</b>	<b>0.922</b>
<b>27</b>	<b>0.922</b>
<b>28</b>	<b>0.922</b>
<b>29</b>	<b>0.923</b>
<b>30</b>	<b>0.923</b>
<b>31</b>	<b>0.925</b>

**Keterangan:** waktu ke-5 sampai waktu ke-10 merupakan waktu paling stabil

### Lampiran 5. Perhitungan LOD dan LOQ

Perhitungan LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan data absorbansi kurva kalibrasi pada (lampiran 2) dengan variasi konsentrasi 2,5 ppm; 5 ppm; 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm dan 25 ppm yang didapat dari pengambilan sampel 0,5ml; 1ml; 2ml; 3ml; 4ml; 5ml sebagai berikut :

No.	Konsentrasi	Absorbansi
1	2,5ppm	0,498
2	5 ppm	0,526
3	10 ppm	0,614
4	15 ppm	0,657
5	20 ppm	0,738
6	25 ppm	0,812

### Perhitungan LOD & LOQ

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (Y)	Y'	Y-Y'	(Y-Y') <sup>2</sup>
1	2,5	0,498	0,4964	0,0016	$2,56 \times 10^{-6}$
2	5	0,526	0,5309	0,0049	$2,40 \times 10^{-5}$
3	10	0,614	0,5999	0,0141	$1,99 \times 10^{-4}$
4	15	0,657	0,6689	0,0119	$1,42 \times 10^{-4}$
5	20	0,738	0,7379	0,0001	$1,00 \times 10^{-8}$
6	25	0,812	0,8069	0,0051	$2,60 \times 10^{-5}$
$\Sigma(Y - Y')^2$					$3,9301 \times 10^{-4}$

Regresi linier yang didapat yaitu :

$$a = 0,4619$$

$$b = 0,0138$$

$$r = 0,9974$$

Berikut merupakan cara menghitung nilai Y' yaitu dengan menggunakan persamaan regresi linier pada kurva kalibrasi  $Y' = a + bX$ .

Jadi  $Y' = 0,498 + 0,0138X \longrightarrow X$  disini digunakan untuk konsentrasi dari absorbansi pada kurva kalibrasi yaitu (2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm).

Kemudian untuk  $Y-Y'$   $\longrightarrow$  Konsentrasi atau X dari kurva kalibrasi.

- S  $= \frac{\sum(Y - Y')}{N - 2}$   
 $S = \frac{0,0003901}{6-2} = 0,0000982525$
- SD  $= \sqrt{S}$   
 $= \sqrt{0,0000982525} = 0,00991224$
- LOD  $= \frac{3 SD}{b (slope)}$   
 $= \frac{3 \times 0,00991224}{0,0138} = 2,154834783$   
 $= \underline{\underline{2,15}}$
- LOQ  $= \frac{10 SD}{b (slope)}$   
 $= \frac{10 \times 0,00991224}{0,0138} = 7,182782609$   
 $= \underline{\underline{7,18}}$

**Lampiran 6. Preparasi sampel bayam (*Amaranthus tri color L*) segar, rebus dan goreng.**

Sebelum dilakukan preparasi pada setiap perlakuan hal pertama yang dilakukan adalah membersihkan sampel terlebih dahulu. Setelah bersih sampel dirajang kecil-kecil lalu ditimbang. Preparasi sampel dilakukan penimbang sebanyak lima kali replikasi untuk setiap perlakuan jadi didapatkan lima belas sampel. Berikut masing-masing penimbangannya:

Perlakuan sampel bayam	Berat (gram)
Bayam segar	25,016
	25,024
	25,002
	25,011
	25,031
Bayam rebus	25,102
	25,003
	25,008
	25,001
	25,031
Bayam goreng	25,028
	25,019
	25,071
	25,065
	25,001

Penimbangan yang dilakukan dibuat paling mendekati 25 gram. Setelah didapatkan penimbangan dilakukan uji pada perlakuan bayam segar, rebus dan goreng.

### **Lampiran 7. Penentuan Konsentrasi (X) Sampel**

Data perhitungan C regresi linier menggunakan persamaan dari nilai kurva baku

$$Y = a + bX \text{ yaitu, } Y = 0,4619 + 0,0138X$$

#### **Penentuan Konsentrasi (X) Sampel Bayam Mentah**

$$1. \quad A = 0,686$$

$$Y = a + bX$$

$$0,686 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 16,23913$$

$$2. \quad A = 0,693$$

$$Y = a + bX$$

$$0,693 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 16,74638$$

$$3. \quad A = 0,703$$

$$Y = a + bX$$

$$0,703 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 17,47101$$

$$4. \quad A = 0,724$$

$$Y = a + bX$$

$$0,724 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 18,99275$$

$$5. \quad A = 0,712$$

$$Y = a + bX$$

$$0,712 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 18,12319$$

#### **Penentuan Konsentrasi (X) Sampel Bayam Rebus**

$$1. \quad A = 0,503$$

$$Y = a + bX$$

$$0,503 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 2,978261$$

$$2. \quad A = 0,528$$

$$Y = a + bX$$

$$0,528 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 4,789855$$

$$3. A = 0,515$$

$$Y = a + bX$$

$$0,515 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 3,630435$$

$$4. A = 0,553$$

$$Y = a + bX$$

$$0,553 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 6,601449$$

$$5. A = 0,571$$

$$Y = a + bX$$

$$0,571 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 7,905797$$

### **Penentuan Konsentrasi (X) Sampel Bayam Goreng**

$$1. A = 0,471$$

$$Y = a + bX$$

$$0,471 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 0,65942$$

$$2. A = 0,463$$

$$Y = a + bX$$

$$0,463 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 0,07971$$

$$3. A = 0,469$$

$$Y = a + bX$$

$$0,469 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 0,514493$$

$$4. A = 0,488$$

$$Y = a + bX$$

$$0,488 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 1,891304$$

$$5. \quad A = 0,483$$

$$Y = a + bX$$

$$0,483 = 0,4619 + 0,0138X$$

$$X = 1,528986$$

Untuk lebih jelasnya, didapatkan hasil perhitungan konsentrasi bayam sebagai berikut:

<b>Bayam Mentah (X)</b>	<b>Bayam Rebus (X)</b>	<b>Bayam Goreng (X)</b>
16,23913	2,978261	0,659420
16,74638	4,789855	0,079710
17,47101	3,630435	0,514493
18,99275	6,6014490	1,891304
18,12319	7,905797	1,528986

### Lampiran 8. Perhitungan (%) Persen Kadar Sampel

Perhitungan kadar sampel dilakukan dengan menggunakan persamaan garis linier dengan sampel daun bayam yang diujikan sebanyak 5 kali replikasi menggunakan metode spektrofotometri UV adalah sebagai berikut rumusnya:

$$\% \text{ Kadar} = \frac{C \text{ reg} (\text{mg}/\text{L}) \times \text{Pengenceran} \times \text{Vol. Pelarut (L)}}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

**Keterangan:** C reg ( $\text{mg}/\text{L}$ ) = Nilai konsentrasi (X) dari daun bayam tiap sampel

Pengenceran = Faktor pengencer untuk pembuatan larutan sampel

Vol. Pelarut = Jumlah pelarut (L) yang digunakan untuk melarutkan sampel

- Perhitungan Kadar Sampel Bayam Mentah %

$$1. \% \text{ kadar} = \frac{16,23913 \times 10 \times 0,1}{25016,11} \times 100 \% \\ = 0,064914974 \%$$

$$2. \% \text{ kadar} = \frac{16,74638 \times 10 \times 0,1}{25001,84} \times 100 \% \\ = 0,06698284\%$$

$$3. \% \text{ kadar} = \frac{17,47101 \times 10 \times 0,1}{25001,72} \times 100 \% \\ = 0,069881244 \%$$

$$4. \% \text{ kadar} = \frac{18,99275 \times 10 \times 0,1}{25010,82} \times 100 \% \\ = 0,075940623 \%$$

$$5. \% \text{ kadar} = \frac{18,123119 \times 10 \times 0,1}{25030,517} \times 100 \% \\ = 0,072405589 \%$$

$$\% \text{ rata-rata kadar} = 0,070025054 \%$$

- Perhitungan Kadar Sampel Bayam Rebus %

$$1. \% \text{ kadar} = \frac{2,978261 \times 10 \times 0,1}{25101,96} \times 100 \% \\ = 0,011865108 \%$$

$$2. \% \text{ kadar} = \frac{4,789855 \times 10 \times 0,1}{25002,75} \times 100 \% \\ = 0,019157887 \%$$

$$3. \% \text{ kadar} = \frac{3,630435 \times 10 \times 0,1}{25008,13} \times 100 \% \\ = 0,014517094 \%$$

$$4. \% \text{ kadar} = \frac{6,601449 \times 10 \times 0,1}{25000,34} \times 100 \% \\ = 0,026405796 \%$$

$$5. \% \text{ kadar} = \frac{7,905797 \times 10 \times 0,1}{25030,39} \times 100 \% \\ = 0,031585285 \%$$

% rata-rata kadar = 0,020706234 %

- Perhitungan Kadar Sampel Bayam Goreng %

$$1. \% \text{ kadar} = \frac{0,65942 \times 10 \times 0,1}{25028,22} \times 100 \% \\ = 0,002634729103 \%$$

$$2. \% \text{ kadar} = \frac{0,07971 \times 10 \times 0,1}{25009,85} \times 100 \% \\ = 0,0003187252589 \%$$

$$3. \% \text{ kadar} = \frac{0,514493 \times 10 \times 0,1}{25070,96} \times 100 \% \\ = 0,002052225768 \%$$

$$4. \% \text{ kadar} = \frac{1,8991304 \times 10 \times 0,1}{25065,01} \times 100 \%$$

$$= 0,007576821863 \%$$

$$5. \% \text{ kadar} = \frac{1,528986 \times 10 \times 0,1}{25000,29} \times 100 \%$$

$$= 0,006115944\%$$

$$\% \text{ rata-rata kadar} = 0,003739689199 \%$$

**Lampiran 9. Penimbangan Baku**

Kertas Kosong



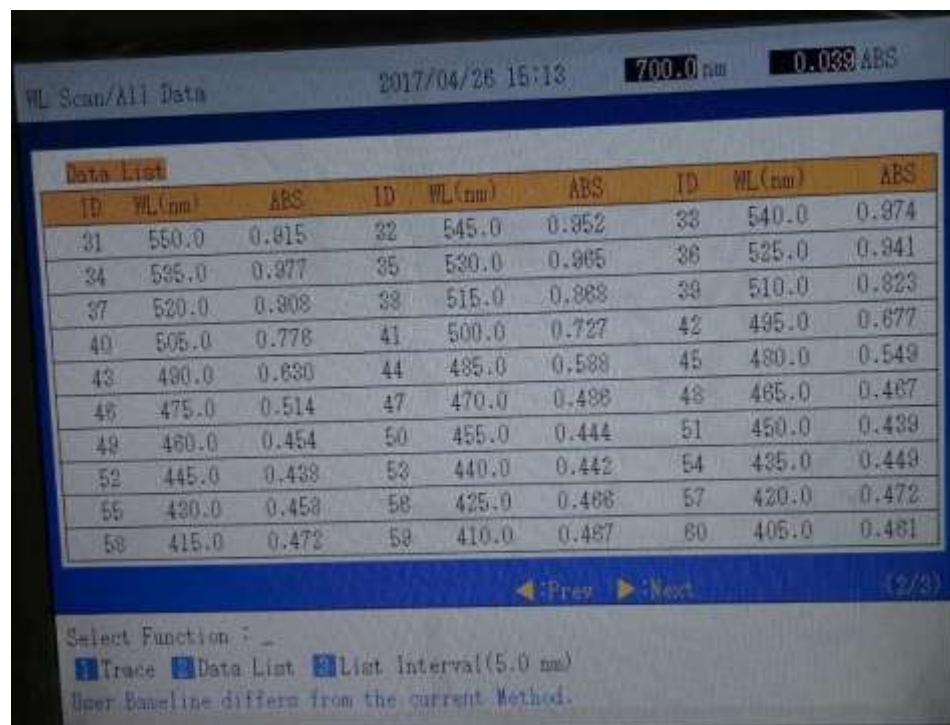
Vitamin C baku

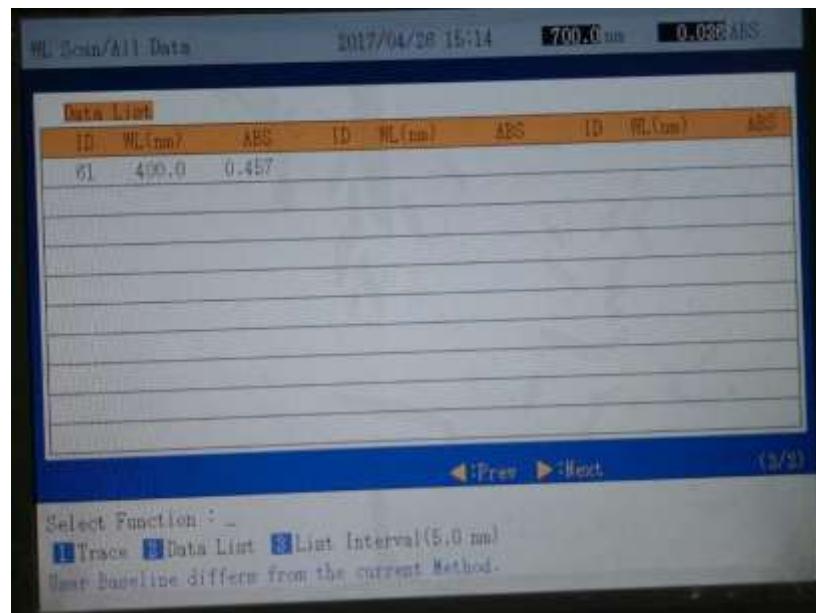


Kertas Timbang + Sisa

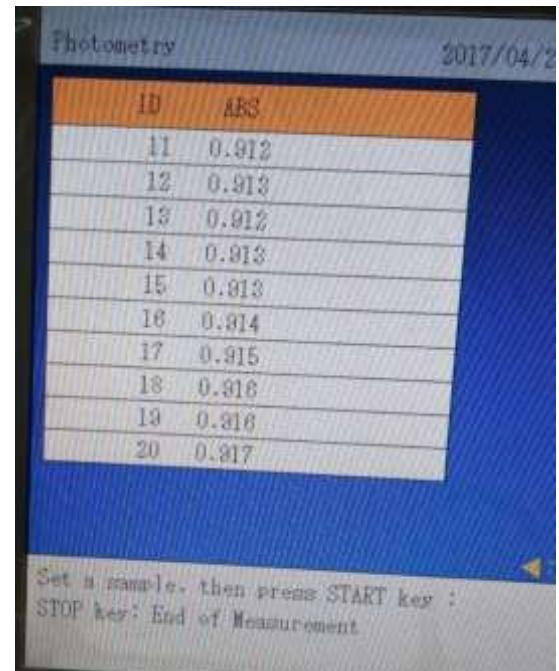
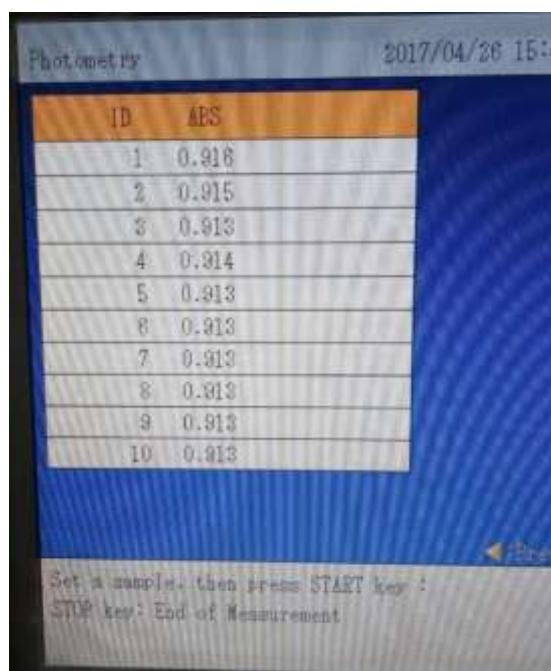
## Lampiran 10. Panjang Gelombang Maks dan OT

### 1. Panjang Gelombang maksimal





2. Mengukur *Operating Time* (lamda max yg di pakai 535 nm)



The image consists of two side-by-side screenshots of a Photometry application. Both screens have a blue header bar with the word 'Photometry' and a date/time stamp.

**Left Screen (2017/04/26 15:06):**

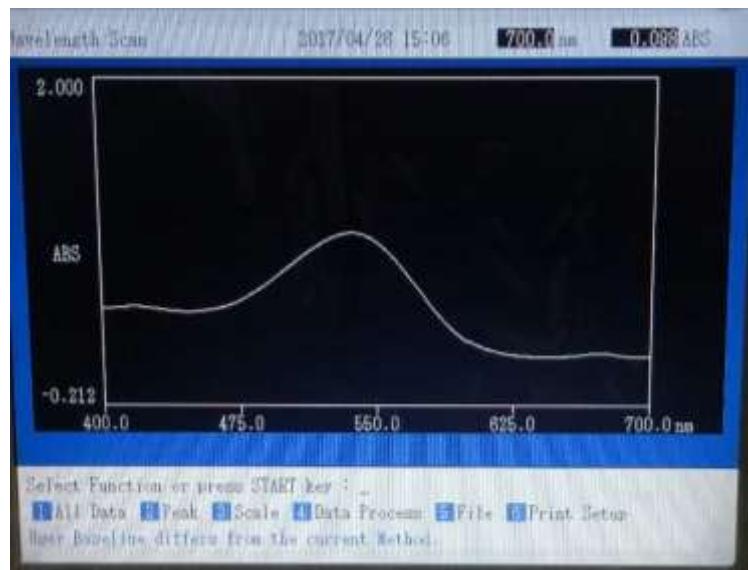
ID	ABS
21	0.917
22	0.918
23	0.919
24	0.919
25	0.920
26	0.922
27	0.922
28	0.922
29	0.923
30	0.923

**Right Screen (2017/04/26 15:14):**

ID	ABS
31	0.925
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	

Both screens include a message at the bottom: "Set a sample, then press START key : STOP key: End of Measurement".

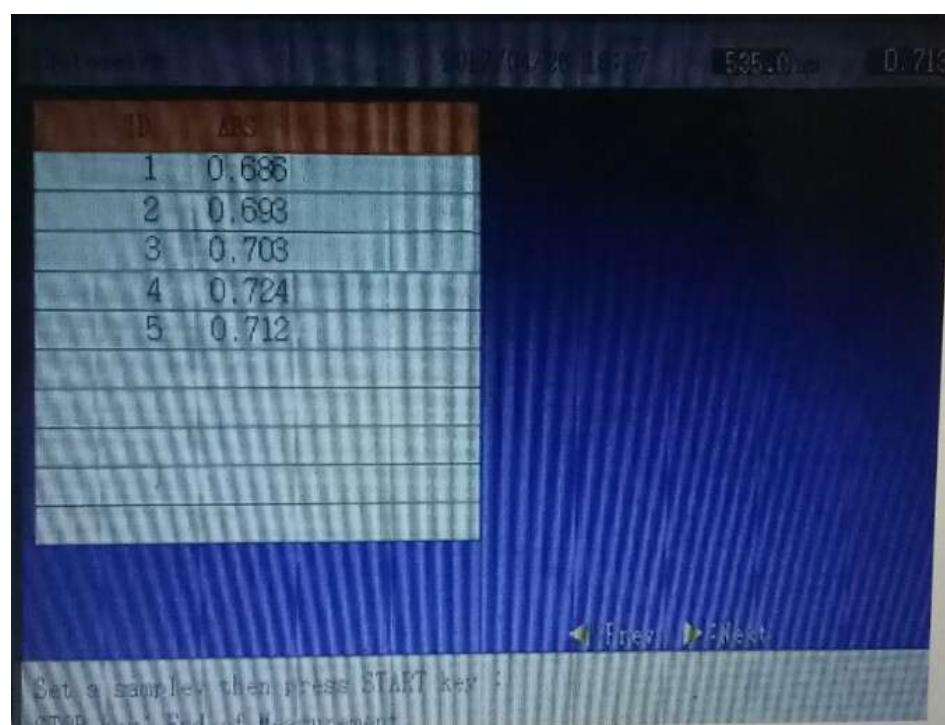
### 3. Grafik Lamda Maksimal



4. Gambar Kurva Kalibrasi 2.5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm



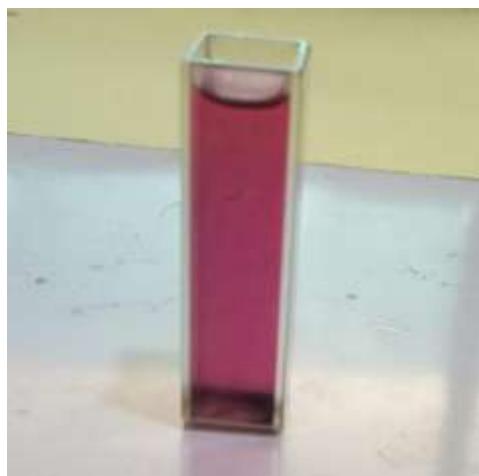
5. Kurva Kalibrasi 2.5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm



6. Sampel Bayam



7. Baku + 2,6-Diklorofenol Indofenol



8. Sampel + 2,6 Diklorofenol Indofenol



Bayam mentah

+ 2,6-D



Bayam Goreng

+ 2,6-D



Bayam Rebus

+ 2,6-D

9. Absorbansi sampel daun bayam
- Bayam Mentah



- Bayam Rebus



c. Bayam Goreng



**Lampiran 11. Bahan dan Alat****a. Alat**

Kuvet



Spektro UV

**b. Bahan**

2,6- Larutan Diklorofenol

NaHCO<sub>3</sub>, As.Oksalat & 2,6-D

**Lampiran 12. Perlakuan Bayam**

a. Bayam Mentah



b. Bayam Rebus



c. Bayam Goreng

