

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam Askorbat

2.1.1 Sejarah dan Struktur Asam Askorbat

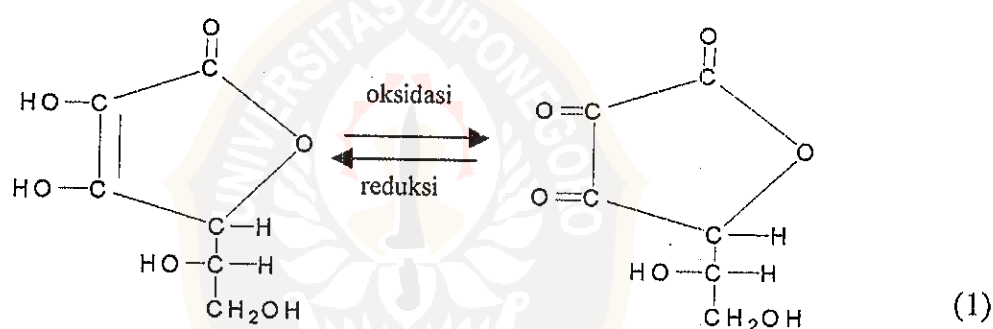
Asam askorbat digolongkan sebagai vitamin yang larut dalam air^[2]. Susunan kimia asam askorbat ditemukan pada tahun 1933 oleh ilmuwan Inggris dan Swiss. Isolasi asam askorbat mula-mula ditemukan oleh King dari USA dan Szent-Gyorgy dari Hungaria. Asam askorbat mempunyai dua bentuk, yaitu bentuk oksidasi dan bentuk reduksi. Kedua bentuk ini mempunyai aktivitas biologi. Dalam makanan bentuk reduksi yang terbanyak. Bentuk oksidasi dapat terus teroksidasi menjadi diketogulonic acid yang inaktif. Keadaan asam askorbat inaktif ini sering terjadi pada proses pemanasan. Asam askorbat lebih stabil dalam suasana asam daripada dalam suasana basa.

Struktur asam askorbat mirip dengan glukosa, oleh karena itu para ahli kadang-kadang memasukkan sebagai derivat karbohidrat. Dengan demikian asam askorbat dapat mereduksi pereaksi Fehling menghasilkan endapan Cu_2O .

2.1.2 Sifat Asam Askorbat

Asam askorbat mempunyai rumus empiris $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ dengan berat molekul 178, dalam bentuk murni merupakan kristal putih, tidak berwarna, tidak berbau dan mencair pada suhu $190\text{-}192^\circ\text{C}$ ^[2,3,8]. Senyawa ini bersifat reduktor dan mempunyai rasa asam dengan $\text{pH} = 3$. Asam askorbat sangat mudah larut dalam air (1 gram

dapat larut sempurna dalam 3 mL air), sedikit larut dalam alkohol (1 gram larut dalam 50 mL alkohol absolut atau 100 mL gliserin) dan tidak larut dalam benzena, eter, khloroform, minyak dan sejenisnya. Walaupun asam askorbat stabil dalam bentuk kristal, tetapi mudah rusak atau terdegradasi jika berada dalam bentuk larutan, terutama jika ada udara, logam-logam seperti Cu dan Fe dan cahaya. Sifat asam askorbat yang paling utama adalah kemampuan mereduksi logam transisi yang kuat dan mudah teroksidasi yang dikatalisis oleh beberapa logam, terutama Cu dan Ag. Reaksi oksidasi asam askorbat menjadi asam dehidroaskorbat dan reaksi reduksi asam dehidroaskorbat menjadi asam askorbat dapat digambarkan seperti persamaan reaksi 1.



Senyawa ini juga menyerap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 244-299 nm dengan panjang gelombang maksimum pada 265 nm.

2.1.3 Deteksi Defisiensi dan Keperluan Asam Askorbat

Deteksi asam askorbat ditunjukkan dengan *load test* atau *saturation test* yaitu pengukuran asam askorbat dalam urin pasien setelah diberi asam askorbat secara *injeksi peroral*^[5]. Bila diberikan kurang lebih 100 mg asam askorbat, maka setelah 3

jam dalam keadaan normal dalam urine akan mengandung 40 mg asam askorbat. Jika terjadi defisiensi, maka asam askorbat dalam urine relatif sangat rendah. Defisiensi asam askorbat menyebabkan zat perekat, kolagen antarsel dan ikatan-ikatan dalam kolagen menghilang sehingga akan menimbulkan penyakit skorbut^[1].

Asam askorbat banyak dipakai sebagai antiinfeksi, antistress, mencegah demam reumatik. Asam askorbat kadang-kadang juga ditambahkan ke dalam berbagai jenis makanan dan minuman sebagai antioksidan^[2,3].

Kadar asam askorbat yang tinggi terutama terdapat dalam buah-buahan seperti jeruk maupun sayur-sayuran^[3]. Dengan mengkonsumsi makanan yang disebutkan di atas, maka penyakit yang diakibatkan karena defisiensi asam askorbat dapat dihindarkan. Selain itu asam askorbat dapat pula dikonsumsi dalam bentuk tablet.

Jumlah kebutuhan asam askorbat yang dianjurkan menurut Widya Karya Nasional Pangan dan Gizi tahun 1978 untuk dikonsumsi per hari bagi anak-anak dan orang dewasa Indonesia antara 20 – 30 mg, sedangkan untuk ibu mengandung dan menyusui perlu ditambah 20 mg^[1]. Apabila kekurangan atau kelebihan pada konsumsi asam askorbat dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan salah gizi, dimana terjadi keadaan tidak sehat. Dengan demikian penentuan konsentrasi asam askorbat penting dilakukan untuk mengetahui konsentrasi asam askorbat yang terkandung dalam bahan pangan dan obat-obatan, sehingga dapat diperkirakan banyaknya bahan pangan dan obat-obatan yang harus dikonsumsi.

2.1.4 Stabilitas Asam Askorbat

Asam askorbat bersifat sangat sensitif terhadap pengaruh-pengaruh luar yang menyebabkan kerusakan, seperti temperatur, pH, oksigen, enzim, katalisator logam, konsentrasi awal baik dalam larutan maupun sistem model, dan rasio antara asam askorbat dan dehidro asam askorbat^[2].

Kecepatan reaksi perubahan merupakan fungsi konsentrasi logam dalam sistem. Adanya ion tembaga dapat mengkatalisis reaksi ini dan pengaruhnya akan bertambah dengan adanya ion besi. Apabila logam yang berpengaruh adalah Cu(II) dan Fe(II) dalam konsentrasi yang sangat rendah pun sudah dapat menyebabkan kerusakan asam askorbat yang cukup berarti dalam bahan pangan.

2.1.5 Analisis Vitamin C

Penentuan konsentrasi asam askorbat baik dalam larutan murni maupun dalam sampel bahan pangan yang dikenal saat ini adalah dengan cara fisika, kimia, biokimia dan biologi^[2]. Penentuan dengan cara fisika adalah dengan metode spektroskopi, yang didasarkan pada kemampuan asam askorbat yang terlarut dalam air untuk menyerap sinar ultraviolet pada panjang gelombang maksimum 256 nm. Kendala yang dihadapi pada penentuan dengan metode ini adalah mudah rusaknya asam askorbat dalam larutan karena oksidasi oleh oksigen udara.

Penentuan konsentrasi asam askorbat dengan cara kimia ada beberapa macam, diantaranya adalah:

a. Titrasi dengan iodine

Konsentrasi asam askorbat dalam larutan murni dapat ditentukan secara iodometri dengan terbentuknya kompleks berwarna biru Iodin-asam askorbat. Metode Iodometri tidak efektif untuk menentukan konsentrasi asam askorbat dalam bahan pangan, karena adanya senyawa lain selain asam askorbat yang juga akan membentuk kompleks dengan iodine, senyawa tersebut mempunyai warna titik akhir titrasi yang sama dengan warna titik akhir titrasi asam askorbat dengan iodine.

b. Titrasi dengan 2,6 – diklorofenol indofenol

Dasar penentuan ini adalah sifat asam askorbat sebagai reduktor yang dapat bereaksi dengan zat warna 2,6 – diklorofenol indofenol yang bersifat pengoksidasi. Zat warna pengoksidasi ini berwarna merah dalam suasana asam dan berwarna biru dalam suasana alkalis. Penambahan asam askorbat yang setara membuat warna tersebut hilang. Kelemahan metode ini adalah harus dilakukan perlakuan pendahuluan, karena asam askorbat dalam larutan juga berada dalam bentuk dehidro asam askorbat yang tidak dapat dititrasi oleh indofenol, sehingga harus diubah menjadi asam askorbat.

c. Pengukuran kuantitatif dengan pereaksi folin

Asam askorbat dapat dioksidasi secara spesifik oleh pereaksi folin, oksidannya menghasilkan warna biru yang dapat diukur dengan kolorimeter. Reaksi ini bersifat tidak spesifik karena dapat terjadi juga antara senyawa folin dengan senyawa-senyawa lain dan fenol.

Konsentrasi asam askorbat juga dapat ditentukan secara biokimia berdasarkan kemampuan enzim asam askorbat oksidase untuk mengoksidasi asam askorbat. Reaksi oksidasi ini tidak bersifat spesifik untuk mendapatkan hasil yang memuaskan, karena enzim tersebut juga dapat mengoksidasi komponen-komponen organik yang terdapat dalam bahan pangan.

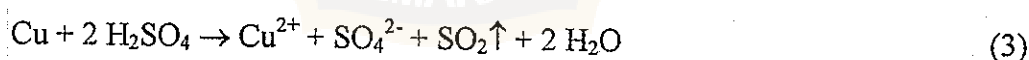
Penentuan konsentrasi asam askorbat dengan cara biologi menggunakan hewan percobaan. Hewan diberi ransum tanpa asam askorbat, maka dalam waktu 2-3 minggu akan menderita *scurvy*, metode ini tidak efektif, karena memerlukan waktu yang lama dan konsentrasi asam askorbat tidak dapat ditentukan secara pasti.

2.2 Tembaga

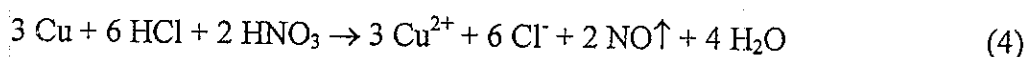
Tembaga adalah logam merah muda, lunak, dapat ditempa dan liat^[9]. Ia melebur pada 1038°C. Potensial elektroda standarnya positif (+0,34 V untuk pasangan Cu/Cu²⁺). Mudah larut dalam asam nitrat yang sedang pekatnya (8 M) dengan reaksi seperti persamaan 2



Tembaga juga larut dalam asam sulfat pekat panas seperti persamaan reaksi 3



Tembaga mudah pula larut dalam air raja seperti persamaan reaksi 4



Senyawa-senyawa tembaga(I) diturunkan dari tembaga(I) oksida Cu₂O yang merah dan mengandung ion tembaga(I), Cu⁺. Senyawa-senyawa ini tidak berwarna, kebanyakan garam tembaga(I) tidak larut dalam air. Mereka mudah dioksidasi

menjadi senyawa tembaga(II), yang dapat diturunkan dari tembaga(II) oksida, CuO yang berwarna hitam. Garam-garam tembaga(II) umumnya berwarna biru, baik dalam bentuk hidrat, padat maupun dalam larutan air. Garam garam tembaga(II) anhidrat, seperti tembaga(II) sulfat anhidrat CuSO_4 , berwarna putih atau sedikit kuning.

Senyawa protein yang mengandung Cu disebut enzim^[10]. Enzim tembaga yang paling banyak adalah oksidase, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi oksidasi. Contohnya adalah asam askorbat oksidase, ia mengkatalisis reaksi oksidasi asam askorbat menjadi asam dehidroaskorbat.

2.3 Spektrometri Serapan Atom Nyala

Prinsip dasar metode ini adalah interaksi energi radiasi elektromagnetik dengan spesies atom yang dapat menyerap energi radiasi, interaksi ini dapat menurunkan energi radiasi^[11,12]. Logam Cu dengan adanya asam askorbat akan tereduksi dari Cu(II) menjadi Cu(I). Larutan sampel logam Cu(II) tersebut kemudian disemprotkan ke dalam nyala api dengan alat pengkabut (*nebulizer*). Pengkabutan ini mengubah larutan sampel menjadi percikan halus atau aerosol. Setelah itu masuk ke unit pembakar (*burner*) yang merupakan tempat di mana kabut sampel (aerosol) dihilangkan pelarutnya dan selanjutnya diatomisasi. Uap atom yang berisi atom bebas Cu(II) dalam keadaan dasar apabila dikenai radiasi elektromagnetik yang sesuai maka akan menyerap foton dan kemudian tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Pengurangan intensitas radiasi yang diberikan sebanding dengan jumlah atom pada tingkat dasar yang menyerap energi radiasi tersebut. Dengan pengukuran

intensitas radiasi yang diteruskan ataupun mengukur radiasi yang diserap, konsentrasi logam transisi dalam cuplikan atau sampel dapat ditentukan, yaitu dengan menggunakan kurva kalibrasi.

Pada penentuan konsentrasi asam askorbat secara Spektrofotometri Serapan Atom Nyala tidak langsung ini panjang gelombang yang digunakan adalah 324,7 nm.

2.3.1 Suhu Nyala

Suatu zat yang berbeda akan memerlukan jumlah energi yang berbeda untuk diubah menjadi atom-atom^[13]. Apabila sejumlah kecil energi saja digunakan, maka zat tersebut tidak dapat diubah menjadi atom-atom. Sebaliknya, bila banyak sekali energi yang diberikan justru zat tersebut cenderung akan berubah menjadi ion-ion. Ionisasi dapat terjadi bilamana energi yang berasal dari nyala melebihi energi ionisasi atom. Hubungan suhu dengan energi adalah bahwa jumlah energi yang disuplai oleh nyala berbanding lurus terhadap suhu nyala. Semakin tinggi suhu nyala maka akan semakin tinggi pula energi yang dihasilkan. Perubahan suhu nyala dapat dilakukan dengan memvariasi perbandingan gas oksidan terhadap gas pembakar. Suatu nyala dengan oksidan yang cukup untuk digunakan bereaksi secara efisien dengan seluruh gas pembakar disebut *lean flame*. Sedangkan nyala dengan jumlah gas pembakar berlebih disebut *fuel-rich flame*. *Lean flame* memiliki suhu lebih tinggi daripada *fuel-rich flame*.

Tabel 1 berikut ini menampilkan kombinasi gas pembakar dan gas oksidan yang biasa digunakan dalam Spektrometri Serapan Atom Nyala dan kisaran suhu yang dapat diamati^[12].

Tabel 1 Kisaran suhu pada kombinasi gas pembakar dan oksidan.

Gas Pembakar	Gas Oksidan	Suhu (°C)
Natural gas	Udara	1700-1900
Natural gas	Oksigen	2700-1800
Hidrogen	Udara	2000-2100
Hidrogen	Oksigen	2550-2700
Asetilen	Udara	2100-2400
Asetilen	Oksigen	3050-3150
Asetilen	Nitrous oksida	2600-2800

Pada penentuan konsentrasi asam askorbat menggunakan metode tidak langsung dengan mereduksi Cu secara Spektrometri Serapan Atom Nyala ini digunakan gas pembakar Asetilen dan gas oksidan Udara, suhu yang dihasilkan pada kombinasi ini adalah 2100-2400°C.

2.3.2. Pengaruh Suhu Terhadap Serapan

Intensitas serapan sangat dipengaruhi oleh suhu nyala, karena suhu nyala ini mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap rasio antara atom-atom tereksitasi dan tidak tereksitasi^[12]. Persamaan Boltzmann dapat digunakan untuk menghitung fraksi tersebut.

$$\frac{N_j}{N_o} = \frac{P_j}{P_o} \exp\left(-\frac{E_j}{kT}\right) \quad (i)$$

Dengan N_o jumlah atom *ground state*, N_j adalah atom yang tereksitasi, T suhu dalam Kelvin, E_j menunjukkan perbandingan energi dalam erg antara keadaan tereksitasi

dengan *ground state*, dan k merupakan konstanta Boltzmann ($1,3806 \times 10^{-16}$ erg K^{-1}). Besaran P_j dan P_0 yaitu jumlah keadaan kuantum dengan energi yang sama pada keadaan tereksitasi dan *ground state*. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa peningkatan suhu mengakibatkan peningkatan jumlah atom tereksitasi. Peningkatan suhu juga akan menaikkan efisiensi atomisasi.

