

EVALUASI PENGGUNAAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS KINERJA TINGGI (KLTKT) DENSITOMETRI SILIKA GEL 60 F₂₅₄ PADA PENETAPAN KADAR VITAMIN C YANG TERDAPAT PADA DAGING BUAH NAGA UNGU (*Hylocereus polyrhizus*)

Ridho Asra¹⁾, Zulharmita¹⁾, Muhammad Amrul¹⁾

¹⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang
muhammadamrul6@gmail.com

ABSTRACT

Determination of vitamin C in purple dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) using High Performance Thin Layer LiquidChromatography (HPTLC) Densitometri with silica gel 60 F₂₅₄ plate has been studied. The flash of dragon fruit was extracted using methanol by maseration method and the maseration extract was concentrated by using rotary evaporator. Vitamin C was separated by using HPTLC plate with silica gel 60 F₂₅₄ as stutionary phase and etanol : acetic acid (9.5 : 0.5) as mobile phase and the Rf was 0.64. The spot was maesured by using TLC-densitometry at 254 nm. The vitamin C content in dragon fruit maesured by using linear regression $y = 1726.9 + 17.8008x$, $r = 0.992$. Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) ware 13.32360 ppm and 44.41201 ppm. Respectively the recovery and RSD were calculated which, were 99.24 % and 7.42 % respectively. The study result showed that vitamin C content was 31.21564 ± 2.58116 ppm.

Keywords : Vitamine C, Purple dragon Fruit, HPTLC, Densitometry

ABSTRAK

Telah dilakukan penetapan kadar vitamin C dari buah naga ungu (*Hylocereus polyrhizus*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT) Densitometri dengan penyerap silika gel 60 F₂₅₄. Daging buah naga ungu diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi dan hasil ekstrak dipekatkan dengan menggunakan rotari evaporator. Pemisahan dengan plat KLTKT dilakukan dengan fasa diam penyerap silika gel 60 F₂₅₄ dan fasa gerak campuran etanol : asam asetat (9,5 : 0,5) penampak noda menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm didapat nilai Rf 0,64. Vitamin C yang terkandung dalam buah naga ditentukan kadarnya menggunakan persamaan regresi linier $y = 1726,9 + 17,8008x$ dengan nilai r adalah 0,992. Batas deteksi yaitu 13,32360 ppm dan batas kuantitasi 44,41201 ppm. Akurasi diperoleh rata-rata persen perolehan kembali yaitu 99,24 %. Presisi dari konsentrasi 150 ppm diperoleh rata-rata persen RSD yaitu 7,42 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan vitamin C adalah $31,21564 \pm 2,58116$ ppm.

Kata kunci : Vitamin C, Buah naga ungu, KLTKT, Densitometri

PENDAHULUAN

Buah naga ungu (*Hylocereus polyrhizus*) atau dikenal dengan kaktus madu adalah buah yang sudah terkenal di Indonesia. Buah ini banyak mengandung gizi dan vitamin yang sangat berfungsi bagi tubuh, kandungan gizi secara umum yang ditemukan dalam buah ini adalah berupa potassium, ferum, serat, kalsium dan sodium. Kandungan vitamin pada buah ini juga besar dan beragam, secara umum buah naga mengandung vitamin C, vitamin B1, vitamin B2 dan vitamin B3 (Wahyuni, 2010)

Vitamin C adalah salah satu senyawa yang berperan sebagai antioksidan efektif atau mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan, termasuk melindungi lensa mata dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi (Taylor, 1993). Sumber vitamin C adalah buah-buahan segar, buah yang dikemas serta minuman sari buah. Sifat vitamin C yang mudah teroksidasi dapat menyebabkan penurunan kadar vitamin C selama proses pengolahan, penyimpanan dan penyiapan. Vitamin C menurun secara bertahap selama

penyiapan terutama pada suhu di atas 0 °C (Oyetade *et al*, 2012). Untuk itu perlu dilakukan analisis vitamin C pada buah naga ungu (*Hylocereus polyrhizus*) untuk mengetahui berapa kandungan vitamin C yang terdapat pada buah naga tersebut (Steskova *et al*, 2006).

Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT) merupakan suatu instrumen pengukur densitas bercak hasil pemisahan yang dilengkapi dengan suatu perangkat optik, sumber cahaya dan detektor seperti halnya dengan spektrofotometer (Hayun *et al*, 2007). Metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT) ini dipilih karena memiliki kemampuan *reability*, *reproducibility*, *simplisity*, kecepatannya, sangat ekonomis karena hanya membutuhkan bahan dan pelarut dalam jumlah minim serta waktu analisis yang cukup cepat. Hal ini melatarbelakangi peneliti tertarik untuk menentukan evaluasi penggunaan KLTKT densitometri silika gel 60 F₂₅₄ pada penentuan kadar vitamin C yang terdapat pada daging buah naga ungu.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain: TLC Scanner 4 (Camag), UV Lamp 254 nm (Camag), bejana pengembangan (Camag), timbangan analitik (Precisa), pipet mikro, botol kaca, corong, gelas ukur (Pyrex), pipet ukur (Pyrex), pipet tetes, spatel, labu ukur (Pyrex).

Bahan yang digunakan adalah daging buah naga ungu (*Hylocereus polyrhizus*), dan baku pembanding vitamin C (CSPC Weisheng Pharmaceutical (Shijiazhuang)), metanol (Merck), aquadest (PT Brataco), kertas saring (Whatman), dan plat KLTKT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck).

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah buah naga ungu yang dipetik dari perkebunan daerah Batang Anai (Pariaman).

Deteminasi Tumbuhan

Tumbuhan dideterminasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

Prosedur Ekstraksi

Prosedur ekstraksi vitamin C dari daging buah naga ungu mengikuti modifikasi metode yang telah dilakukan Chakraborty, 2009.

Buah naga diperlakukan dengan cara mengambil bagian dagingnya, setelah itu dihaluskan dengan blender sehingga didapatkan daging buah naga dalam bentuk halus, ditimbang 100 gram kemudian dimaserasi dengan 150 mL metanol selama 48 jam sekali-kali diaduk, dan ekstrak dipisahkan, hasil ekstraksi diekstraksi lagi dengan metanol dilakukan 2x. Kemudian ekstrak dipekatkan menggunakan rotary evaporator vakum untuk mendapatkan 100 mL maserat. Kemudian untuk uji kualitatif diambil 1 mL maserat dilarutkan dalam 5 mL metanol.

Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

Sebanyak 10 mg vitamin C murni yang ditimbang teliti dilarutkan dalam 10 mL metanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

Validasi Metoda

1. Analisis Kualitatif dengan KLTKT

Terlebih dahulu chamber dijenuhkan dengan larutan pengelusi dengan cara masukkan kertas saring dengan tinggi dan lebarnya yang sama dengan bejana kromatografi. Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Larutan pengelusi yang digunakan adalah etanol : asam asetat (9,5 : 0,5). Plat KLTKT yang digunakan plat KLTKT Silika gel 60 F₂₅₄ (Gandjar & Rohman, 2008).

Larutan vitamin C murni dan larutan ekstrak sampel, (1:1) ditotolkan dengan

pipet mikro 2 μL bersama-sama pada lempeng KLTKT dengan jarak 1,5 sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng KLTKT dan jarak rambat, beri tanda pada jarak rambat. Setelah kering lempeng KLTKT dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi cairan pengelusi etanol : asam asetat (9,5 : 0,5). Larutan fase gerak dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totolan jangan sampai terendam. Tutup bejana diletakkan pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Lempeng dikeluarkan dan dikeringkan di udara, dan bercak diamati dengan lampu UV 254 nm. Diukur dan dicatat tiap-tiap bercak dari titik penotolan. Tentukan harga *Retardation factor* (R_f) dan harga *Retardation relative* (R_r) (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

2. Linearitas Kurva Baku

Linearitas dilakukan dengan menganalisis beberapa tingkat konsentrasi dari larutan standar (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan dilakukan penotolan standar tersebut pada plat KLTKT dengan volume masing-masing 2 μL . Lalu dielusi dengan fase gerak etanol : asam asetat (9,5 : 0,5) dalam *chamber*. Kemudian diukur dengan *TLC scanner* sehingga didapatkan luas daerah dari masing-masing konsentrasi. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot luas daerah (AUC) yang didapat dari analisis terhadap konsentrasi standar dengan menggunakan persamaan garis regresi linear ($y = a + bx$). Linearitas ditentukan oleh harga r (koefisien korelasi).

3 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Setelah diperoleh kurva kalibrasi, konsentrasi kecil yang masih dapat batas dideteksi (BD) dan terdeteksi batas kuantifikasi (BK) dihitung secara statistik melalui garis linier dari kurva standar.

4. Akurasi

Akurasi yaitu untuk mengetahui bahwa metode analisis mempunyai derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Pemulihan percobaan dilakukan dengan menambahkan tiga larutan standar vitamin C yang berbeda, 80, 100 dan 120 % diharapkan dapat mewakili kadar terendah dan kadar tertinggi dari kurva baku yang digunakan. Ditotolkan pada plat, masing-masing kadar 3 kali penotolan dengan volume penotolan 2 μL dan dielusi dengan eluen terbaik. Bercak pada plat silica kemudian dianalisis dengan densitometer dan akan diperoleh data berupa nilai luas daerah sampel yang telah ditambahkan standar kemudian dihitung % Perolehan kembali dari masing-masing kadar standar yang ditambahkan dalam sampel dengan menentukan % analit yang ditambahkan yang dapat diukur.

5. Presisi

Presisi dinyatakan dengan persen simpangan baku relatif (RSD) dan persen koefisien variasi. Untuk menghitung RSD dapat dilakukan dengan rumus :

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

Dimana \bar{x} merupakan kadar rata-rata, dan SD merupakan standar deviasi serangkaian data. % RSD dinyatakan memenuhi validasi metode jika % RSD < 16 % (Gandjar & Rohman 2007).

Penetapan Kadar Vitamin C Pada Larutan Sampel

Larutan uji dan larutan pembanding vitamin C ditotolkan pada plat KLT yang sudah di persiapkan. Masukkan plat KLT silica ke dalam *chamber* yang telah dijenuhkan, *Chamber* dibuka, diambil dan dikering anginkan. Kemudian diamati dibawah lampu UV 254 nm. Kemudian bercak discanning dengan alat Camag *TLC Scanner 4* dengan panjang gelombang serapan maksimum yang telah didapatkan

secara spektrofotometri ultraviolet dan didapat data luas area histogram dari larutan senyawa uji. Maka dihitung konsentrasi vitamin C pada larutan uji dengan menggunakan persamaan linieritas dan dihitung kadar vitamin C sebagai kadar senyawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar vitamin C dengan metode KLTKT-densitometri. Pada penentuan kadar vitamin C digunakan metanol sebagai pelarut. Ini menunjukkan dengan menggunakan pelarut metanol sudah memberikan kelarutan yang baik terlarut sempurna dengan pelarut metanol.

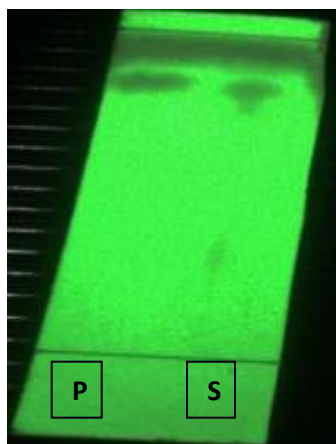
Dari hasil pemisahan menggunakan KLTKT dilihat dibawah sinar UV 254 terlihat bercak gelap yang dikelilingi bagian berfluoresensi dengan *TLC-Scanner* menunjukkan kedua senyawa pada panjang gelombang demikian memberikan hasil puncak densitogram yang berbentuk lonceng secara merata.

Penotolan merupakan bagian yang terpenting dan dapat mempengaruhi hasil baik kualitatif maupun kuantitatif. Penotolan dengan menggunakan alat CAMAG® Nanomat IV dengan pipet kapiler ukuran 2 µL. Dengan alat ini akan mengurangi kesalahan dalam menotol dan dapat mengurangi resiko merusak plat. Keuntungan lainnya keseragaman penotolan akan lebih baik. Penotolan semua sampel menggunakan pipet 2 µL dimaksudkan agar tidak terjadi *over loading* kadar zat yang terjepap pada permukaan plat dan didistribusi setiap cuplikan seragam. Upaya keseragaman akan memberikan hasil analisis yang baik. Pada penelitian ini tidak terjadi *over loading* dianalisis dan didistribusi dari zat juga seragam dapat

dilihat dari luas daerah densitogram yang berbentuk lonceng.

Validasi metode analisis ini dilakukan dengan densitometri, dimana dilakukan pemisahan terlebih dahulu dengan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi dengan fase gerak etanol : asam asetat (9,5 : 0,5) dan fase diam plat silika gel 60 F₂₅₄. Alasan pemilihan plat KLTKT silika gel F₂₅₄ karena senyawa berfluoresensi pada sinar UV terutama pada panjang gelombang 254 nm. Sinar UV yang mengeksitasi zat pada panjang gelombang 254 nm tidak dapat mencapai indikator fluoresensi masing-masing zat sehingga bercak akan tampak gelap yang dikelilingi bagian yang berfluoresensi. Bagian berfluoresensi diakibatkan adanya senyawa sulfida yang ditambahkan pada permukaan silika gel (Watson, 1999). Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga nilai R_f terletak antara 0,2 - 0,8 untuk memaksimalkan pemisahan. Selain itu, fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena kromatografi lapis tipis kinerja tinggi merupakan teknik yang sensitif (Rohman, 2009).

R_f (*Retardation factor*) didefinisikan sebagai laju pergerakan senyawa uji dibagi dengan laju pergerakan fase gerak. Pada kromatografi lapis tipis kinerja tinggi senyawa uji dan fase gerak bergerak dalam jangka waktu yang sama. Jarak yang ditempuh berbanding lurus dengan laju pergerakan (Gritter *et al*, 1991). Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif untuk melihat senyawa vitamin C dalam sampel dengan KLTKT. Menurut Farmakope Indonesia edisi V, identifikasi pendahuluan terhadap suatu sampel harus dilakukan dengan menggunakan zat pembanding kimia. Dalam hal ini dibuat 2 totolan pada satu plat KLTKT, yaitu zat pembanding dan sampel dari zat pembanding kimia dengan sampel.



Gambar 1. Kromatogram vitamin C

Dari Gambar 1 tersebut memperlihatkan hasil dari uji kualitatif tersebut memberikan nilai R_f yang sama antara kedua totolan yaitu 0,64 dan kromatogram campuran memberikan bercak tunggal. Ini berarti vitamin C juga terdapat dalam sampel yang telah kita siapkan dengan nilai R_f yang diberikan sama dengan 1. Nilai R_f dinyatakan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh sampel dengan jarak yang ditempuh pembanding kimia atau standar.

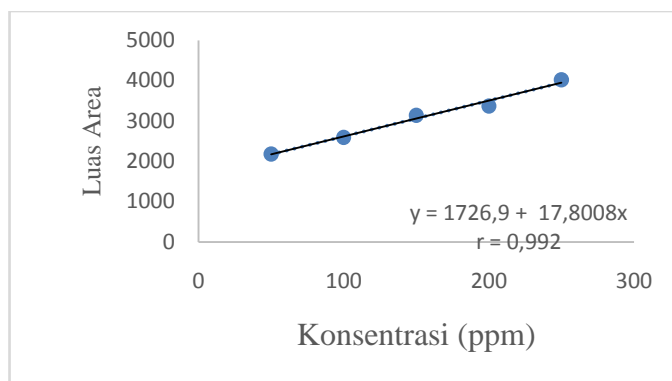
Pembuatan kurva kalibrasi vitamin C pada penelitian bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan yang linear antara konsentrasi analit dengan respon detektor, dengan konsentrasi yang diukur 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm yang menghasilkan luas daerah berturut-turut 2182,4; 2596,7; 3138,7; 3372,5; dan 4019,6 dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Data kurva kalibrasi vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Luas daerah dibawah kurva
50	2182.4
100	2596.7
150	3138.7
200	3372.5
250	4019.6

Dari hasil tersebut dapat kita tentukan persamaan regresi linier dan koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi ini menunjukkan adanya hubungan linear antara konsentrasi analit dengan luas daerah. Dari hasil uji linearitas vitamin C didapat persamaan regresi $y = 1726,9 + 17,8008x$

dan koefisien korelasi (r) = 0,992. Nilai $0,99 \leq r \leq 1$ ini menunjukkan bahwa konsentrasi dan luas daerah mempunyai hubungan yang linear sehingga semakin besar konsentrasi dari larutan maka akan semakin besar pula luas daerah dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva kalibrasi vitamin C

Batas deteksi ditentukan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah yang dapat dianalisis yang dapat memberikan respon signifikan. Sedangkan batas kuantitasi ditentukan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat ditentukan oleh suatu metode pada tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik. Nilai BD dan BK dapat ditentukan dari persamaan regresi dan standar deviasi. BD dan BK vitamin C pada

penelitian ini adalah 13,32360 ppm dan 44,41201 ppm.

Kemudian dilanjutkan dengan penetapan kadar dan uji akurasi. Dari hasil pengujian dengan metode KLTKT-densitometri ini diketahui kadar vitamin C dalam buah naga ungu dengan 3 kali penotolan berturut-turut adalah 31,2156408 ppm dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Kadar buah naga ungu (*Hylocereus polyhizus*)

No	Luas Area	Kadar yang diperoleh (ppm)	Bobot sampel dalam 5 mL (g)	Kadar Tiap 1 g	% Kadar	Kadar (ppm)
1	12145,4	585,28156	0,002926408	0,0000292	0,00292%	29,24658856
2	12507,3	605,61211	0,003028061	0,0000303	0,00303%	30,26250839
3	13887,8	683,16480	0,003415824	0,0000341	0,00341%	34,13782566
Rata-rata					0,00312%	31,21564087
SD						2,5811618

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan ketepatan hasil yang diperoleh dari suatu metode analisis dengan kadar sebenarnya. Sebagai parameter untuk akurasi menggunakan persen perolehan kembali (Harmita, 2004). Dari penelitian yang telah dilakukan, larutan sampel vitamin C dengan konsentrasi 150 ppm dengan 3 kali penotolan memberikan nilai akurasi

berturut-turut 88,21 %, 104,28 %, dan 105,22 % dengan rata-rata 99,24 % dapat dilihat pada Tabel III. Dari hasil uji perolehan kembali vitamin C berada pada rentang yang diperbolehkan yaitu 90 - 107 % (Harmita, 2004). Jadi ini membuktikan bahwa metode ini memberikan hasil yang akurat karena memenuhi syarat dari akurasi.

Tabel III. Data akurasi sampel buah naga ungu

Level akurasi	Kadar awal (ppm)	Kadar yang ditambahkan (mg)	Luas Area	Kadar (ppm)	Kadar rata-rata (mg)	% Perolehan kembali
80%	31,21564	24,97251	2714,100	55,458	53,24480	88,21%
			2660,900	52,470		
			2649,100	51,807		
100%	31,21564	31,21564	2895,100	65,626	63,76680	104,28%
			2849,700	63,076		
			2841,200	62,598		
120%	31,21564	37,45877	2974,300	70,076	70,62791	105,22%
			3003,800	71,733		
			2974,300	70,076		
Rata-rata						99,24%

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil individu, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran homogen. Kriteria keseksamaan diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi $\leq 2\%$. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium.

Pada kadar 1 % atau lebih, standar deviasi relatif antara laboratorium adalah sekita 2,5 % ada pada satu perseribu adalah 5 %. Pada kadar satu per sejuta (ppm) SBR (simpangan baku relatif) nya adalah 16 % dan pada kadar part per bilion (ppb) adalah 32 %. Pada metode yang sangat kritis, secara umum diterima bahwa SBR harus lebih dari 2 % (Harmita, 2004). Penentuan presisi vitamin C dilakukan pada konsentrasi 150 ppm dengan nilai % SBR 7,42 % dapat dilihat pada Tabel IV.

Tabel IV. Data presisi

Kadar (ppm)	Luas daerah	Kadar (x) (ppm)	Kadar rata-rata (ppm)	% Kadar rata-rata	SD	% SBR
150	3184,200	81,86711	85,197	56,80%	6,32110	7,42%
	3197,200	82,59741				
	3110,000	77,69876				
	3224,400	84,12543				
	3317,100	89,33306				
	3428,000	95,56312				

Bercak penotolan harus diusahakan sekecil mungkin dan penotolan harus hati-

hati agar lapisan penjerap tidak rusak. Lapisan penjerap yang rusak akan

menghasilkan bercak yang cacat. Perbedaan konsentrasi juga dapat dilakukan dengan penotolan berulang pada tempat yang sama tapi memungkinkan kerusakan pada lapisan penjerap. Bila sampel telah ditotolkan maka tahap selanjutnya adalah mengembangkan sampel dalam bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhi dengan uap fase gerak. Tepi bagian bawah lempeng tipis yang telah ditotoli sampel dicelupkan kedalam fase gerak kurang lebih 0,5 - 1 cm. Tinggi fase gerak dalam bejana harus dibawah lempeng yang telah berisi totolan tidak larut dalam fase gerak yang digunakan. Bejana kromatografi harus tertutup rapat dan sedapat mungkin volume fase gerak sedikit mungkin akan tetapi harus mampu mengelusi lempeng sampai ketinggian lempeng yang telah ditentukan. Untuk melakukan penjenuhan fase gerak, biasanya bejana dilapisi dengan kertas saring. Jika fase gerak telah mencapai ujung dari kertas saring, maka dapat dikatakan bahwa fase gerak telah jenuh.

Jika dua pelarut yang sifatnya berbeda dicampur untuk memperoleh sistem pelarut, sistem ini dapat memisahkan pada lapisan, membentuk dua garis pelarut. Kedua daerah kromatogram itu akan mempunyai sifat yang berbeda. Oleh sebab itu hanya pelarut yang sifatnya agak serupa saja boleh dicampur. Campuran pelarut dianjurkan hanya satu kali pakai pengembangan sebab suasananya mudah berubah akibat adanya salah satu komponen yang menguap (Bobbitt *et al.*, 1991).

Pembentukan bercak yang tidak simetris disebabkan oleh cuplikan yang terlalu banyak dan hanya dapat dihilangkan dengan mengurangi cuplikan. Selain itu juga disebabkan karena tidak adanya pengendalian pH yang memadai pada lapisan. Asam dan basa berada keseimbangan ion karboksilat atau ion ammonium yang jauh lebih polar. Jadi, asam harus dikromatografi di dalam sistem asam

dan basa di dalam sistem basa. Hal ini dapat dilakukan dengan menambahkan satu tetes asam asetat atau amonium hidroksida ke dalam fase gerak yang dipakai untuk memisahkan asam atau basa (Bobbitt *et al.*, 1991).

Pada analisis kualitatif didapatkan nilai R_f vitamin C 0,64 dengan pelarut etanol dan asam asetat (9,5 : 0,5). Hasil densitometri untuk senyawa terbentuk berupa puncak yang simetris dan merata dibandingkan dengan kepolaran yang lebih tinggi, hasil densitogram akan terganggu dengan batas-batas pengotor. Pengotor disebabkan oleh baik pelarut maupun dari plat. Sedangkan kepolaran pelarut yang terlalu rendah menyebabkan zat tidak terpisah.

KESIMPULAN

1. KLTKT densitometri dapat digunakan untuk penetapan kadar vitamin C yang terdapat pada daging buah naga ungu (*Hylocereus polyrhizus*) diperoleh $31,21564 \pm 2,58116$ ppm.
2. Hasil KLTKT vitamin C dengan fase diam plat silica gel F₂₅₄, fase gerak campuran etanol : asam asetat (9,5 : 0,5), dengan jarak pengembangan 5 cm memberikan nilai R_f vitamin C 0,64.
3. Metode KLTKT Densitometri merupakan metode yang valid untuk analisis vitamin C pada daging buah naga ungu. Akurasi diperoleh rata-rata persen perolehan kembali yaitu 99,24 %, presisi yang didapat dengan nilai simpangan baku relatif (SBR) adalah 7,42 %, koefisien korelasi (r) yaitu 0,992, nilai batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK) adalah 13,32360 ppm dan 44,41201 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Bobbitt, J. M., Gritter, R. J., & Scharwaring, A. E. (1991). *Introduction to chromatography (Pengantar Kromatografi)*. (Edisi kedua). Penerjemah : Kokasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Chakraborty, G.S. (2009). Quantitative estimation of ascorbic acid by HPTLC in different varieties of Amla. *J. Young Pharm.* 1 (1). 82-85.
- Gandjar, I.G., & Rohman, A. (2008). *Kimia farmasi analisis*, Cetakan III. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. J., James, M. B., Arthur, E. S. (1991). Pengantar kromatografi. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu kefarmasian*, 1 (3), 117 - 135.
- Hayun., Nelly, D., Leswara., Camelia, D. P, & Masrijal (2007). Penetapan kadar triprolidina hidroklorida dalam sediaan sirup obat influenza secara kromatografi Lapis Tipis Densitometri. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 4 (2), 59-72.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2014). *Farmakope Indonesia* (Edisi V). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Oyetade, O. A., Oyeleke, G. O., Adegoke, B. M., & Akintunde A. O. (2012). Stability studies on ascorbic acid (Vitamin C) from different sources. *OISR-JAC*, 2, (4), 20-24.
- Rohman, A. (2009). *Kromatografi untuk analisis obat*. (Edisi Pertama), Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Steskova, A ., Morochovicova, M., & Leskova, E. (2006). Vitamin C degradation during storage of fortified food. *Journal of Food and Nutrition Research*, 45, (2), 56-61.
- Taylor A. (1993) Relationships between nutrition and oxidation. *J. Am. Coll. Nutr.* 12, (2), 138-146.
- Wahyuni, R. (2010). Pemanfaatan dan pengolahan kulit buah naga super merah sebagai sumber antioksidan dan pewarna alami pada pembuatan jelly. *Jurnal teknologi pangan*, 2, (1), 68-85.
- Watson, D.G. (1999). *Pharmaceutical Analysis : A textbook for pharmacy student and pharmaceutical chemists*. New York : Harcourt Publishers.