

Catatan Penelitian

Evaluasi Penetapan Kadar Kalsium pada Minuman Yogurt secara Titrasi Kelatometri

Evaluation of Calcium Content Determination in Yogurt Drink by Chelatometric Titration

Moh. Taufik*, Seveline, Maya Adriyanti

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Bioindustri, Universitas Trilogi, Jakarta

*Korespondensi dengan penulis (filik_fik36@yahoo.co.id)

Artikel ini dikirim pada tanggal 4 Januari 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 28 Februari 2018. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.jatp.ift.or.id. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2018

Abstrak

Titrasi kelatometri merupakan salah satu metode analisis kuantitatif yang dapat digunakan untuk menganalisa kadar kalsium. Sampai saat ini, belum ada data validasi analisis kadar kalsium secara titrasi kelatometri pada sampel minuman yogurt. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengevaluasi metode penetapan kadar kalsium secara titrasi kelatometri pada sampel minuman yogurt. Hasil uji *recovery* menunjukkan bahwa metode titrasi kelatometri mempunyai nilai akurasi yang baik, yaitu 100,94% pada konsentrasi *spiking* larutan standar kalsium sebesar 60 mg/100 ml sampel minuman yogurt. Ripitabilitas dan intra-lab reproduibilitas menunjukkan hasil yang dapat diterima dengan nilai *relative standard deviation* (RSD) berturut-turut sebesar 1,61% dan 1,74%. Hasil uji ketanggungan metode menunjukkan bahwa penggunaan sampel awal 5,0-10,0 ml menghasilkan kadar kalsium yang sama. Berdasarkan hasil ini, metode analisis kadar kalsium secara titrasi kelatometri dapat diaplikasikan pada sampel minuman yogurt.

Kata kunci: evaluasi metode, kadar kalsium, minuman yogurt, titrasi kelatometri

Abstract

Chelatometric titration is one of the quantitative analysis methods that can be used to analyze calcium content. This research aims to evaluate the analytical performance of calcium content analysis in the yogurt drink using chelatometric titration. The results showed that this chelatometric titration had a good accuracy, i.e. 100.94% at spiking concentration of 60 mg /100 ml sample. Repeatability and intra-lab reproducibility indicated acceptable results with relative standard deviation (RSD) values of 1.61% and 1.74%, respectively. The ruggedness test also indicated that chelatometric titration was tough to the volume of initial sample used, i.e. 5.0 ml to 10.0 ml. Based on these results, calcium content analysis using chelatometric titration can be applied in yogurt drink sample.

Keywords: analytical evaluation, calcium analysis, yogurt drink, chelatometric titration

Pendahuluan

Menurut BSN (2009), yogurt merupakan produk hasil fermentasi susu dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Salah satu mineral yang banyak terdapat pada yogurt adalah kalsium (Mckinley, 2005). Menurut Gobinathan *et al.* (2009), kalsium termasuk salah satu mineral esensial yang dibutuhkan untuk berbagai fungsi tubuh. Kalsium mempunyai peran penting dalam pembentukan gigi dan tulang (Almatsier, 2002). Kandungan kalsium pada minuman yogurt adalah 100 mg/g (Food Standards Agency, 2002).

Kalsium termasuk salah satu mineral yang dicantumkan konsentrasinya di label minuman yogurt komersial. Beberapa metode telah diaplikasikan untuk menganalisis kalsium pada susu dan turunannya (Krvic *et al.*, 2012), seperti *inductively-coupled plasma mass spectrometry* (Chen dan Jiang, 2002; Vallapragada *et al.*, 2011), *atomic absorption spectrometry* (Noël *et al.*, 2008) dan titrimetri (Mieftawati *et al.*, 2013). Menurut Petrovich *et al.* (2007), dua metode yang banyak digunakan untuk menganalisa kadar kalsium pada susu dan turunannya adalah *atomic absorption spectrometry*

dan titrimetri karena lebih sederhana, mempunyai akurasi dan presisi yang baik.

Metode titrimetri yang dapat digunakan untuk menganalisa kadar kalsium pada minuman yogurt adalah kelatometri. Titrasi kelatometri merupakan salah satu metode analisis kuantitatif berdasarkan reaksi pembentukan kelat antara zat pengkelat dengan logam yang menjadi target. Umumnya, zat pengkelat yang digunakan adalah etilendiamin tetra asetat (EDTA). Menurut Harris (2003), EDTA banyak digunakan sebagai zat pengkelat dan membentuk kelat yang kuat dengan sebagian besar ion logam. Selektivitas titrasi kelatometri dapat diatur dengan pengaturan pH larutan. pH yang direkomendasikan oleh BSN (2014) untuk menentukan kadar kalsium adalah 12-13.

Titrasi kelatometri umumnya digunakan untuk menganalisa kesadahan total (SNI 06-6989.12-2004) dan kandungan kalsium pada air dan air limbah (SNI 06-6989.13-2004). Sampai saat ini, belum ada data evaluasi analisis kadar kalsium secara titrasi kelatometri pada minuman yogurt. Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi metode analisis kadar kalsium pada minuman yogurt secara titrasi kelatometri.

Harapannya, metode titrasi kelatometri ini dapat menjadi salah satu metode alternatif yang lebih murah dibandingkan dengan metode penentuan kadar kalsium saat ini, yaitu *atomic absorption spectrometry*. Menurut Chai *et al.* (2009), penggunaan metode *atomic absorption spectrometry* untuk menentukan kadar logam membutuhkan biaya yang lebih mahal.

Materi dan Metode

Materi

Alat yang digunakan adalah indikator universal MColorpHast™, neraca analitik Kern, termometer, erlenmeyer, statif, buret, pipet mohr, labu ukur dan alat-alat gelas lainnya. Sampel penelitian yang digunakan adalah minuman yogurt *plain* yang dibeli dari minimarket, Jakarta. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquabides yang dibeli dari Polylab Sinar Klaten, Jakarta. Beberapa bahan kimia lain yang digunakan adalah CaCl₂·2H₂O, ZnSO₄·7H₂O, NH₄Cl, Na₂EDTA·2H₂O, NH₄OH, indikator muraksid, indikator eriochrome black T (EBT), NaCl dan NaOH. Semua bahan kimia tersebut dibeli dari Merck, Darmstadt.

Metode

Penelitian berlangsung selama periode Mei sampai Juli 2017. Parameter evaluasi yang dianalisa adalah akurasi, rিপিতাৰিতা, intralab reproduibilitas dan ketangguhan metode. Parameter evaluasi tersebut merupakan parameter yang direkomendasikan AOAC (2012)

Akurasi dan Rিপিতাৰিতা

Akurasi pada penelitian ini ditentukan dengan melakukan uji perolehan kembali (*recovery*) dengan jumlah sampel minuman yogurt 7,5 ml. Konsentrasi kalsium yang di-*spike* pada sampel adalah 60 mg/100 ml minuman yogurt, sedangkan jumlah pengulangan analisis adalah tujuh kali untuk sampel yang di-*spike* dan tiga kali pengulangan untuk sampel yang tidak di-*spike*. Akurasi dapat dilihat dari nilai *recovery*, sedangkan rিপিতাৰিতা dapat dilihat dari nilai RSD (*relative standard deviation*) kadar kalsium hasil analisis sampel yang telah di-*spike* dengan larutan standar kalsium. Nilai *recovery* dapat ditentukan dengan menghitung persentase dari perbandingan antara selisih kadar kalsium pada sampel yang di-*spike* dan tidak di-*spike* dengan kadar kalsium yang di-*spike* pada sampel.

Intra-lab Reproducibilitas

Uji intralab reproduibilitas dilakukan dengan mengukur kadar kalsium pada minuman yogurt dengan operator yang sama, alat yang sama, tetapi pada hari yang berbeda. Uji intralab reproduibilitas ditentukan dalam tiga hari dengan jumlah sampel awal adalah 7,5 ml. Jumlah pengulangan pada uji ini adalah tiga kali. Intra-lab reproduibilitas dapat ditentukan dengan menggunakan nilai RSD kadar kalsium hasil analisis minuman yogurt dalam waktu tiga hari.

Ketangguhan

Ketangguhan metode diukur dengan menggunakan beberapa volume minuman yogurt pada saat analisis, yaitu 5,0 ml, 7,5 ml dan 10,0 ml. Jumlah pengulangan pada tahap ini adalah tiga kali. Ketangguhan metode dapat ditentukan dengan menguji secara statistik (*one way ANOVA*) kadar kalsium dari hasil analisis minuman yogurt dengan variasi jumlah sampel awal yang digunakan.

Prosedur Analisis

Prosedur analisis kadar kalsium mengacu pada BSN (2004) dengan modifikasi yang terdiri dari dua bagian, yaitu standarisasi dan titrasi sampel.

Standarisasi larutan Na₂EDTA

Sebanyak 220 mg ZnSO₄·7H₂O ditimbang dan dilarutkan dalam 25 ml aquabides. Penambahan 5 ml buffer amonium klorida pH 10 dilakukan untuk menstabilkan pH. Indikator yang digunakan adalah 50 mg EBT 1% (b/b). Titrasi dilakukan dengan menggunakan larutan Na₂EDTA. Pada saat titik akhir titrasi, warna larutan akan menjadi warna biru dari warna awal merah keunguan. Jumlah pengulangan yang digunakan adalah tiga kali. Molaritas larutan dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini:

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1}{V_a}$$

Keterangan:

M = Molaritas larutan Na₂EDTA·2H₂O (M)

m = Berat ZnSO₄·7H₂O (mg)

Mr = Massa molekul relatif dari ZnSO₄·7H₂O

V_a = Volume larutan Na₂EDTA yang digunakan untuk titrasi (ml)

Titrasi sampel minuman yogurt

Sampel minuman yogurt dipipet sebanyak 7,5 ml, kemudian dilakukan penambahan 100 ml aquabides. Penambahan NaOH 2 N dilakukan agar pH 12-13. Indikator yang digunakan adalah mureksid 0,2% (b/b) sebanyak 50 mg. Tahap selanjutnya adalah titrasi dengan menggunakan larutan Na₂EDTA yang sudah selesai distandarisasi pada tahap sebelumnya. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna, yaitu menjadi ungu dari warna awal merah muda. Kadar kalsium dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Kadar kalsium (mg/100 ml)} = \frac{M \times V_b \times 40 \times 100}{V_c}$$

Keterangan

M = Molaritas larutan Na₂EDTA·2H₂O (M)

V_b = Volume Na₂EDTA yang digunakan untuk titrasi (ml)

V_c = Volume minuman yogurt yang dipipet (ml)

Analisis Data

Nilai rata-rata, standar deviasi (SD) dan *relative standard deviation* (RSD) dari data kadar kalsium hasil uji akurasi, rিপিতাৰিতা, intra-lab reproduibilitas dan ketangguhan ditentukan dengan menggunakan Microsoft Office Excel 2013. Uji statistik, yaitu *One Way*

Tabel 1. Nilai *recovery* dan rিপিতাৰিতাৰitas dari analisis kadar kalsium pada minuman yogurt secara titrasi kelatometri

Nilai	Kadar kalsium dari sampel yang di- <i>spike</i> (mg/100 ml)	Konsentrasi kalsium (mg/100 ml)		<i>Recovery</i> (%)
		<i>spiking</i>	Teranalisa	
Rata-rata	145,97	60,00	60,60	100,94
SD	2,35	0,00	2,35	3,92
RSD (%)	1,61			

ANOVA, dilakukan terhadap data kadar kalsium hasil uji ketangguhan metode dengan menggunakan IBM SPSS Statistic 22.

Hasil dan Pembahasan

Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan tingkat kedekatan kadar analat hasil dari proses analisis dengan kadar yang sesungguhnya (Harmita, 2004). Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk menentukan nilai akurasi dari suatu metode. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah metode *spiking*. Nilai akurasi dengan metode *spiking* dinyatakan dengan nilai *recovery* (Kazusaki *et al.*, 2012). Konsentrasi *spiking* yang digunakan pada penelitian ini adalah 60 mg/100 ml minuman yogurt. Nilai *recovery* dari penetapan kadar kalsium pada minuman yogurt ditunjukkan pada Tabel 1.

Nilai *recovery* pada penelitian ini berada dalam kisaran nilai yang disyaratkan, yaitu 90-108% (AOAC, 2012). Nilai *recovery* hasil penelitian ini juga menyerupai nilai *recovery* yang diperoleh oleh Baldut *et al.* (2015). Nilai rata-rata *recovery* dari analisis kadar kalsium pada obat (*Rosuvastatin*) secara titrasi kelatometri yang didapat oleh Baldut *et al.* (2015) pada tiga konsentrasi *spiking* berbeda adalah 99,0%.

Tabel 2. Kadar kalsium pada minuman yogurt hasil analisis secara titrasi kelatometri pada tiga hari berbeda

Hari ke-	Kadar kalsium sampel (mg/100 ml)
1	87,11 ± 1,51
2	85,37 ± 3,99
3	83,63 ± 2,61
Rata-rata	85,37
SD	1,74
RSD analisis (%)	2,04

Tabel 3. Kadar kalsium pada minuman yogurt hasil analisis dengan menggunakan tiga volume sampel yang berbeda

Volume sampel	Kadar kalsium sampel (mg/100 ml)
5,0	88,20 ± 2,77
7,5	87,11 ± 1,51
10,0	90,81 ± 2,26

Ripitabilitas

Ripitabilitas menunjukkan konsistensi dari hasil penetapan kadar kalsium jika dilakukan beberapa kali pengulangan dengan analisis yang sama dan waktu yang hampir berdekatan. Nilai ripitabilitas dapat dilihat dari nilai RSD analisis (AOAC, 2012). Nilai RSD hasil analisis kadar kalsium pada sampel yang telah di-*spike* dengan larutan standar kalsium ditunjukkan pada Tabel 1. Nilai RSD analisis yang diperoleh pada penelitian ini lebih

kecil dari nilai RSD yang disyaratkan, yaitu maksimal sebesar 2%. Nilai RSD hasil penelitian ini jauh lebih besar dari RSD analisis yang diperoleh Baldut *et al.* (2015), yaitu 0,4% dan 0,5%. Perbedaan hasil penelitian ini kemungkinan karena perbedaan matriks sampel dan prosedur titrasi.

Intra-lab Reprodusibilitas

Intra-lab reprodusibilitas menunjukkan kedekatan hasil analisis sampel jika dilakukan dengan analisis yang sama tetapi pada waktu analisis yang berbeda-beda. Intra-lab reprodusibilitas ditentukan dengan menganalisa sampel pada tiga hari berbeda. Sampel yang digunakan disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 7,3±0,3°C. Nilai RSD hasil analisis minuman yogurt ditiga hari berbeda ditunjukkan pada Tabel 2. Nilai RSD analisis yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dari RSD reprodusibilitas yang ditentukan oleh AOAC (2012), yaitu maksimal 6%. Hal ini menunjukkan hasil analisis kadar kalsium pada minuman yogurt secara titrasi kelatometri selama tiga hari berbeda menghasilkan kadar kalsium yang tidak berbeda.

Ketangguhan

Ketangguhan metode merupakan salah satu parameter validasi yang menunjukkan kemampuan untuk tidak terpengaruh oleh sedikit perbedaan tahapan dalam proses analisis sampel. Uji ketangguhan metode harus dilakukan apabila suatu metode analisis akan diaplikasikan di laboratorium berbeda (Peters *et al.*, 2007). Uji ketangguhan dapat dilakukan pada parameter instrumen atau pada tahap preparasi sampel (Zhang *et al.*, 2013). Pada penelitian ini, uji ketangguhan dilakukan pada tahap preparasi sampel, yaitu dengan menganalisis sampel dengan volume sampel awal yang berbeda. Volume sampel awal yang digunakan adalah 5,0, 7,5 dan 10,0 ml. Hasil analisis kadar kalsium pada minuman yogurt dengan variasi volume sampel yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Analisis statistik menunjukkan data kadar kalsium pada minuman yogurt hasil analisis dengan menggunakan beberapa volume sampel awal tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Hal ini menandakan penetapan kadar kalsium pada minuman yogurt secara titrasi kelatometri bersifat *rugged* terhadap adanya perbedaan volume sampel awal pada kisaran 5,0-10,0 ml.

Kesimpulan

Hasil evaluasi metode analisis kadar kalsium pada minuman yogurt secara titrasi kelatometri menunjukkan nilai akurasi yang dapat diterima, yaitu sebesar 100,94%. Presisi dari metode ini, baik ripitabilitas

maupun intra-lab reproduibilitas, dapat diterima dengan nilai RSD berturut-turut sebesar 1,61% dan 1,74%, sedangkan hasil uji ketangguhan metode menandakan bahwa penggunaan sampel awal 5,0-10,0 ml menghasilkan kadar kalsium yang sama.

Saran

Hasil evaluasi penetapan kadar kalsium pada minuman yogurt secara titrasi kelatometri menunjukkan bahwa metode analisis tersebut dapat diaplikasikan pada sampel yogurt.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dukungan dana melalui hibah penelitian tahun anggaran 2017, sehingga penelitian ini dapat berjalan.

Daftar Pustaka

- Amatsier, S. 2002. Prinsip dasar ilmu gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2012. Official methods of analysis of AOAC international (19th ed.). AOAC International Press, Maryland.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2004. SNI 06-6989.13-2004. Air dan air limbah. BSN, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2009. SNI 2981:2009 Yogurt. BSN, Jakarta.
- Baldut, M., Bonafede, S.L., Petrone, L., Simionato, L.D., Segall, A.I. 2015. Development and validation of a complexometric titration method for the determination of rosuvastatin calcium in raw material. *Advances in Research* 5(5): 1-8. DOI: 10.9734/AIR/2015/19843
- Chai, J.B., Wang, S.F., Tang, P.P., Su, Q.D. 2009. Simultaneous Determination of Total Nitrogen and Metal Elements in Tobaccos by High Performance Ion Chromatography. *Journal of the Chinese Chemical Society* 56(4):671-675. DOI: 10.1002/jccs.200900100
- Chen, K.L., Jiang, S.J. 2002. Determination of calcium, iron and zinc in milk powder by reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 470(2): 223-228. DOI: 10.1016/S0003-2670(02)00768-7
- Food Standards Agency. 2002. McCance and Widdowson's the Composition of Foods, 6th Summary Edition. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Gobinathan, P., Murali, P.V., Panneerselvam, R. 2009. Interactive effects of calcium metabolism in pennisetum typhoides. *Advances in Biological Research* 3(5-6): 168-173.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1(3): 117-135.
- Harris, D.C. 2003. Quantitative chemical analysis. W.H. Freeman and Company, New York
- Kazusaki, M., Ueda, S., Takeuchi, N., Ohgami, Y. 2012. Validation of analytical procedures by high-performance liquid chromatography for pharmaceutical analysis. *Chromatography* 33(2): 65-73.
- Kravić, S.Ž., Suturović, Z.J., Đurović, A.D., Brezo, T.Ž., Milanović, S.D., Malbaša, R.V., Vukić, V.R. 2012. Direct determination of calcium, sodium and potassium in fermented milk products. *Acta Periodica Technologica* 43: 43-49.
- Mckinley, M.C. 2005. The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 58(1): 1-12. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2005.00180.x
- Miefthawati, N.P., Gusrina, L., Axela, F. 2013. Penetapan kadar kalsium pada ikan kembung segar dan ikan kembung asin secara kompleksometri. *Jurnal Analisis Kesehatan Klinikal Sains* 1(1): 1-9.
- Noël, L., Carl, M., Vastel, C., Guérin, T. 2008. Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium content in milk products by flame atomic absorption spectrometry (FAAS): A joint ISO/IDF collaborative study. *International Dairy Journal* 18: 899-904. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.01.003
- Peters, F.T., Olaf H.D., Frank, M. 2007. Validation of new method. *Forensic Science International* 165(2-3): 216-224.
- Petrovich, M.B., Filho, V.R.A., Neto, J.A.G. 2007. Direct determination of Calcium in milk by atomic absorption spectrometry using flow-injection analysis. *Eclética Química* 32(3): 25-30.
- Vallapragada, V.V., Inti, G., Ramulu, J.S. 2011. A validated inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) method to estimate free calcium and phosphorus in in vitro phosphate binding study of eliphos tablets. *American Journal of Analytical Chemistry* 2: 718-725.
- Zhang, X.J., Qiu, J.F., Guo, L.P., Wang, Y., Li, P., Yang, F.Q., Su, H., Wan, J.B. 2013. Discrimination of multi-origin chinese herbal medicines using gas chromatography-mass spectrometry-based fatty acid profiling. *Molecules* 18(12): 15329-15343. DOI: 10.3390/molecules181215329