



Calibration of Microplate Uv-Vis Spectrophotometer for Quality Assurance Testing of Vitamin C using Calibration Curve Method

Martin Sulistyani [□], Nuril Huda, Ridho Prasetyo, dan Mohammad Alauhdin

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima : 03-08-2023

Disetujui : 22-08-2023

Dipublikasikan : 31-08-2023

Keywords:

Kalibrasi fotometri, Validasi Metode, Spektrofotometri UV-Vis

Abstrak

Spektrofotometer UV-Vis Fluostar Omega Tipe Mikroplate di laboratorium Kimia FMIPA UNNES telah dipakai untuk praktikum, penelitian dan layanan pengujian sampel. Untuk menjamin hasil pengukuran yang valid, kalibrasi spektrofotometer tersebut perlu dilakukan secara berkala. Pada penelitian ini, kalibrasi dan verifikasi kinerja instrumen spektrofotometer UV- Vis Fluostar Omega Tipe Mikroplate dilakukan untuk penjaminan mutu pengujian kadar sampel. Sampel yang dianalisis adalah vitamin C dengan metode kurva kalibrasi. Kalibrasi yang dilakukan meliputi kalibrasi fotometri, dan kalibrasi panjang gelombang. Selanjutnya, validasi metode dan pengujian kadar vitamin C dalam sampel juga dilakukan. Akurasi fotometri pada daerah *Ultra Violet* dan *visible* serta akurasi panjang gelombang menunjukkan Persentase RSD < 2%. Nilai ini membuktikan bahwa pembacaan absorbansi dan panjang gelombang oleh alat sangat teliti. Uji linieritas standar vitamin C didapatkan persamaan linear $y = 0,0164x + 0,1128$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0.9982. Validasi metode pengujian vitamin C didapatkan rata-rata persen galat, persen recovery, dan persen akurasi masing-masing sebesar 5,6784%, 94,3216%, dan 94,3216%, dengan kategori sangat teliti. Pengujian kadar sampel tablet vitamin C 500 mg didapatkan hasil yang sangat teliti dengan persen galat, persen recovery, dan persen akurasi masing-masing sebesar 8,2565%, 91,7435%, dan 91,7435%.

Kata Kunci: Kalibrasi fotometri, Validasi Metode, Spektrofotometri UV-Vis

Abstract

The UV-Vis Spectrophotometer Fluostar Omega in the Chemistry laboratory of FMIPA UNNES has been used for practicum, research, and public services. To ensure valid measurement results, the spectrophotometer calibration needs to be carried out periodically. In this research, calibration and verification of the performance of the UV-Vis Spectrophotometer Fluostar Omega were carried out to ensure the quality of sample assays. The sample analyzed were vitamin C using the calibration curve method. The calibrations performed include photometric calibration and wavelength calibration. Furthermore, validation methods and testing of vitamin C levels in the samples were also carried out. Photometric accuracy in the ultraviolet and visible regions as well as wavelength accuracy shows the percentage of RSD < 2%. This value proves that the absorbance and wavelength readings by the instrument are very accurate. The standard linearity test for vitamin C obtained a linear equation $y = 0.0164x + 0.1128$ with a correlation coefficient (R^2) of 0.9982. The validation of the vitamin C test method obtained an average percent error, percent recovery, and percent accuracy were 5.6784%, 94.3216%, and 94.3216%, respectively, with a very high precision category. Measurement of the levels of a 500 mg vitamin C tablets obtained very high precision results with a percent error, percent recovery, and percent accuracy were 8.2565%, 91.7435%, and 91.7435%, respectively.

Keywords: Photometric calibration, Method Validation, Spectrophotometry UV-Vis

© 2023 Universitas Negeri Semarang

[□] Alamat korespondensi:
Gedung D8 Lab Kimia FMIPA UNNES
E-mail: martin@mail.unnes.ac.id

Pendahuluan

Laboratorium di perguruan tinggi adalah tempat diselenggarakannya praktikum, penelitian, serta tempat layanan bagi masyarakat. Dalam laboratorium terdapat bahan kimia serta instrumen untuk analisis. Instrumentasi adalah alat-alat dan piranti (*device*) yang dipakai untuk pengukuran dan pengendalian dalam suatu sistem yang lebih besar dan lebih kompleks. Instrumentasi secara umum mempunyai 3 fungsi utama, yaitu sebagai alat pengukuran, alat analisis, dan alat kendali.

Perawatan instrumen laboratorium wajib dilakukan untuk memastikan instrumen berfungsi dengan baik, dan hasil pengukurannya akurat (Plunkett, 2019). Kalibrasi merupakan salah satu cara menilai keakuratan alat dalam mengukur suatu sampel (Fang *et al.*, 2022). Kalibrasi dibedakan menjadi 2 yaitu kalibrasi menggunakan sampel dan kondisi pengukuran yang sama, kalibrasi menggunakan sampel dan kondisi pengukuran yang berbeda. Hal ini biasanya dilakukan apabila ada perubahan metode, komposisi kimia, suhu dan variasi lainnya (Irawan, 2019; Workman, 2018). Pelaksanaan kalibrasi wajib dilakukan secara rutin dan berkala, dengan tujuan agar instrumen dapat berfungsi dengan baik dan hasil pengukurannya akurat (Ma *et al.*, 2021).

Spektrofotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis) merupakan salah satu instrumen analisis kimia yang wajib dikalibrasi (Irawan, 2019; Karoui, 2018; Shard *et al.*, 2019). Prinsip kerja spektrofotometer uv-vis didasarkan pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang dianalisis (Abriyani *et al.*, 2022). Hasil analisis spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk keperluan kualitatif (Shinde *et al.*, 2022) dan kuantitatif (Seema *et al.*, 2023). Analisis kuantitatif pada spektrofotometer UV-Vis dapat dilakukan menggunakan dua metode yaitu metode adisi standar (Altunay *et al.*, 2020) dan metode kurva kalibrasi (Jacks, 2022). Metode kurva kalibrasi biasa digunakan untuk mengetahui kadar suatu sampel dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari pembacaan absorbansi larutan standar.

Salah satu penggunaan spektrofotometer uv-vis dengan metode kurva kalibrasi adalah untuk analisis vitamin C (Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2020). Untuk menjamin hasil analisis yang akurat, spektrofotometer UV-Vis yang digunakan perlu dikalibrasi secara berkala. Kalibrasi ini dilakukan dengan membandingkan perbedaan nilai pembacaan alat dengan nilai standar yang tercantum pada kalibrator (Irawan, 2019). Kalibrator yang digunakan untuk kalibrasi panjang gelombang antara lain *filter Holmium Oxide* (Prihhapso *et al.*, 2021) dan *Filter Didymium* (Gambhir *et al.*, 2021). Sementara itu, akurasi fotometri dapat diukur menggunakan larutan kalium dikromat (Rohyami *et al.*, 2021), kobal klorida (Wardhani & Oman, 2014), dan tembaga sulfat (Prihhapso *et al.*, 2020).

Riset ini bertujuan untuk melakukan kalibrasi dan menganalisis kinerja spektrofotometer uv-vis Fluostar Omega tipe microplate dalam analisis kandungan vitamin C menggunakan metode kurva kalibrasi. Kinerja dinilai melalui kalibrasi fotometrik, panjang gelombang, dan validitas pengukuran sampel vitamin C.

Metode

Peralatan yang digunakan dalam riset ini antara lain: Spektrofotometer UV-VIS (*Fluostar Omega BMG LabTech*), Mikroplate kuarsa (*BMG Labtech 96*), dan peralatan gelas laboratorium. Bahan yang digunakan antara lain: Kalium Dikromat ($K_2Cr_2O_7$) 0,005 mol/L dan 0,010 mol/L, Tembaga Sulfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 20 g/L, Kobal Klorida ($CoCl_2$) 2,2%, Asam Klorida (HCl) 1%, Asam Sulfat (H_2SO_4) 1%, Asam Askorbat *p.a.*, Aquadest dan Sampel Vitamin C 500 mg.

Kalibrasi Fotometri

Kalibrasi fotometri spektrofotometer uv-vis dibagi menjadi 3 tahapan yaitu kalibrasi pada daerah ultra violet, *visible* dan akurasi panjang gelombang. Kalibrasi di daerah ultra violet dilakukan dengan pengukuran 2 - 4 nilai absorbansi larutan kalium dikromat pada panjang gelombang 235, 257, 313 dan 350 nm. Kalibrasi di daerah *visible* dilakukan pengukuran 2 - 4 nilai absorbansi larutan tembaga sulfat pada panjang gelombang 440,0; 465,0; 546,1; 590; dan 635 nm. Akurasi panjang gelombang dilakukan pengukuran 2 - 4 nilai absorbansi larutan kobal klorida pada 500, 505, 510, 515, dan 520 nm.

Validasi Metode

Larutan induk 100 ppm vitamin C dibuat dengan melarutkan 10 mg asam askorbat dalam 100 mL aquadest. Larutan standar dibuat dengan mengencerkan larutan induk menjadi konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 ppm (Jumaini & Astija, 2021; Misfadhila, 2021; Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2020).

Instrumen Spektrofotometer uv-vis tipe *microplate* (*Fluostar Omega BMG LabTech*) dijalankan menggunakan *software Omega*. Scan *microplate* tanpa sampel dilakukan pada panjang gelombang 220-450 nm untuk memastikan *hole* pada *microplate* tidak terkontaminasi. Sebanyak 100 mikroliter larutan standar 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 90, dan 100 ppm serta larutan blanko ditambahkan pada *hole* yang memiliki absorbansi sama atau selisih 0,001 nm. Metode analisis vitamin C disetting pada *software Omega* untuk menentukan letak *hole* blanko dan larutan standar serta menentukan rentang panjang gelombang yang digunakan. larutan standar di-scan pada panjang gelombang 220 – 400 nm lalu panjang gelombang maksimum ditentukan dengan melihat puncak absorbansi tertinggi.

Pembuatan kurva kalibrasi dapat dilakukan menggunakan *software Omega* dengan menambahkan nilai panjang gelombang maksimum pada menu *calculating Wavelength*. Cara lain yang dapat dilakukan adalah dengan mencatat nilai absorbansi blanko dan larutan standar pada panjang gelombang maksimum yang selanjutnya diolah menggunakan *ms. Excel* untuk memperoleh persamaan regresi linear.

Pembuatan larutan uji validitas dilakukan dengan menggunakan larutan asam askorbat pada konsentrasi 20 ppm dan 80 ppm. Pembacaan dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil perhitungan menggunakan instrumen dibandingkan dengan kadar sesungguhnya untuk mengetahui validitas pengukuran.

Pengujian Kandungan vitamin C pada sampel obat

sebanyak 3 tablet vitamin C pada masing-masing sampel di timbang dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sebanyak 5 mg sampel vitamin C dilarutkan menggunakan aquadest hingga volume 10 mL. Sampel yang sudah dilarutkan kemudian disaring hingga diperoleh filtrat. Sebanyak 100 mikroliter filtrat sampel dimasukkan ke dalam *hole microplate*, nilai absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimum. kadar vitamin C sampel dihitung menggunakan kurva kalibrasi yang telah dibuat.

Hasil dan Pembahasan**Kalibrasi Fotometrik**

Kalibrasi fotometrik dilakukan untuk mengetahui stabilitas nilai absorbansi dan panjang gelombang (Prihhapsa *et al.*, 2020). Kalibrasi pada spektrofotometer uv-vis dilakukan pada 3 tahapan, yaitu kalibrasi pada daerah *Ultra Violet*, *visble* dan akurasi panjang gelombang. Pengukuran akurasi fotometri daerah *Ultra Violet* menggunakan larutan kalium dikromat dengan konsentrasi 0,005 mol/L dan 0,010 mol/L masing-masing sebanyak 100 mikroliter. Hasil pengukuran ditunjukkan pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**. Pengukuran akurasi fotometri daerah *visble* menggunakan larutan tembaga sulfat 20 g/L dalam 1% H₂SO₄ sebanyak 100 mikroliter yang hasilnya ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 1 Hasil Pengukuran Larutan Kalium Dikromat 0,005 mol/L

Panjang Gelombang	Rata-rata absorbansi 10x pengukuran	SD	%RSD	Ketelitian
235	0,3921	0,00099	0,2536%	Sangat Teliti
257	0,3926	0,00084	0,2148%	Sangat Teliti
313	0,1696	0,00107	0,6338%	Sangat Teliti
350	0,2798	0,00103	0,3691%	Sangat Teliti

Tabel 2 Hasil Pengukuran Larutan Kalium Dikromat 0,010 mol/L

Panjang Gelombang	Rata-rata absorbansi 10x pengukuran	SD	%RSD	Ketelitian
235	0,6866	0,0045	0,6557%	Sangat Teliti
257	0,7294	0,0029	0,3942%	Sangat Teliti
313	0,2889	0,0017	0,5757%	Sangat Teliti
350	0,5286	0,0018	0,3477%	Sangat Teliti

Tabel 3 Hasil Pengukuran Larutan Tembaga Sulfat

Panjang Gelombang	Rata-rata absorbansi 10x pengukuran	SD	%RSD	Ketelitian
600	0,055	0,0007	1,2120%	Teliti
650	0,0934	0,0008	0,9029%	Sangat Teliti
700	0,1673	0,0005	0,2887%	Sangat Teliti
750	0,2462	0,0004	0,1713%	Sangat Teliti

Nilai absorbansi pada kalium dikromat 0,005 mol/L dan 0,01 mol/L masuk dalam jangkauan absorbansi 0,2 – 0,7 dan 0,4 – 1,4. Hasil serupa juga didapatkan pada larutan tembaga sulfat 20 g/L dalam 1% H₂SO₄, nilai absorbansinya masuk dalam range 0,05 – 0,9 seperti yang dipersyaratkan dalam standar nasional satuan ukuran instrumen spektrofotometer uv-vis (SNSU PK.F-01:2020) tentang panduan kalibrasi spektrofotometer uv-vis. Hasil ini membuktikan bahwa spektrofotometer uv-vis yang digunakan masih dalam keadaan baik untuk analisis sampel di daerah *Ultra Violet* maupun *visble*. Tingkat ketelitian pembacaan absorbansi ditunjukkan dengan persen RSD < 1%, kecuali pada panjang gelombang 600 nm didapatkan %RSD >1% yang masih dalam kategori teliti. Hasil ini membuktikan bahwa secara umum kinerja dari spektrofotometer uv-vis pada daerah *Ultra Violet* dan *visble* sangat teliti.

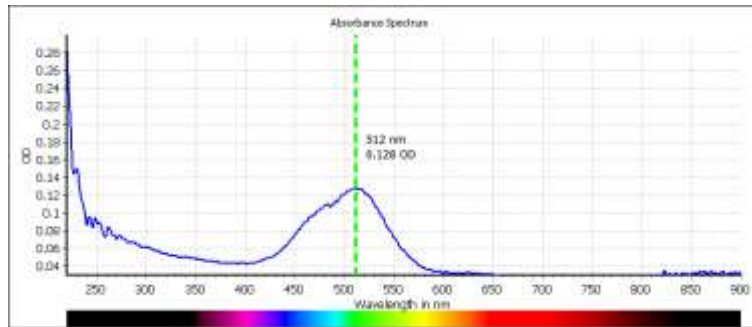
Kalibrasi panjang gelombang bertujuan untuk memastikan apakah terdapat pergeseran panjang gelombang yang diperoleh menggunakan larutan kobal klorida. Hasil Pengukuran akurasi panjang gelombang menggunakan larutan kobal klorida ditunjukkan pada **Tabel 4**.

Tabel 4 Hasil Pengukuran Larutan Kobalt Klorida

Panjang Gelombang	Rata-rata absorbansi 10x pengukuran	SD	%RSD	Ketelitian
500	0,2212	0,0004	0,1906%	Sangat Teliti
505	0,2291	0,0003	0,1380%	Sangat Teliti
510	0,2329	0,0006	0,2437%	Sangat Teliti
515	0,2319	0,0006	0,2448%	Sangat Teliti
520	0,2255	0,0005	0,2337%	Sangat Teliti

Tingkat ketelitian pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 500, 505, 510, 515 dan 520 nm didapatkan persentase RSD < 1%. Hasil ini membuktikan bahwa kinerja dari spektrofotometer uv-vis

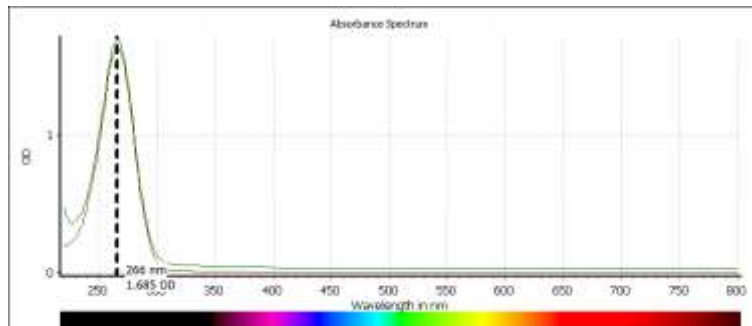
masih optimal dalam penentuan panjang gelombang. Panjang gelombang maksimum larutan kobal klorida berada pada 512 nm, seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Optimasi Panjang Gelombang Kobal Klorida

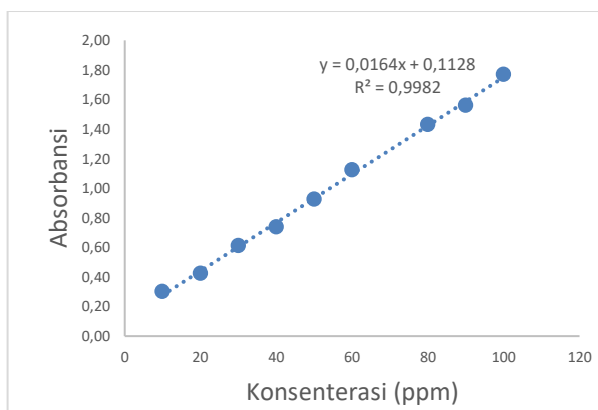
Validasi metode

Hasil kalibrasi fotometrik menunjukkan bahwa spektrofotometer fluostar Omega masih memiliki kinerja yang baik. Selanjutnya, optimasi Panjang gelombang untuk analisis vitamin C dilakukan pada panjang gelombang 220 – 800 nm. Pengukuran didasarkan pada panjang gelombang maksimum asam askorbat yang berada pada 264-267 nm (Jurwita *et al.*, 2020; Ngibad *et al.*, 2019; Trisna *et al.*, 2017). Hasil pengukuran menunjukkan absorbansi maksimum asam askorbat berada pada panjang gelombang 266 nm (Gambar 2). Selanjutnya, deret larutan standar diukur absorbansinya pada Panjang gelombang maksimum yang sudah diperoleh untuk membuat kurva kalibrasi (Gambar 3).



Gambar 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Askorbat 100 ppm

Kurva kalibrasi memberikan persamaan linear $y = 0,0164x + 0,1128$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9982. Nilai ini menunjukkan bahwa kurva kalibrasi larutan standar memenuhi persyaratan linearitas karena berada pada rentang 0,9 – 1 (Ngibad *et al.*, 2019). Rentang pengukuran yang optimal pada sampel vitamin C berada pada konsentrasi 10-100 mg/mL, artinya penentuan kandungan vitamin C pada sampel dapat dilakukan pada rentang konsentrasi 10 – 100 ppm.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Asam Askorbat

Kinerja metode kurva kalibrasi dalam penentuan kandungan vitamin C dianalisis dengan menghitung tingkat akurasi, persentase galat, persen recovery, dan ketelitian dari metode tersebut. Hasil pengukuran dan perhitungan disajikan dalam Tabel 6.

Tabel 6 hasil Perhitungan Galat, persen recovery, ketelitian, dan Akurasi

Konsentrasi Sampel (ppm)	Replikasi	Konsentrasi Terbaca	% Galat	%Recovery	% Akurasi	%RSD	Ketelitian
20	1	18,122	9,390%	90,610%	90,610%	0,478%	Sangat Teliti
	2	18,000	10,00%	90,000%	90,000%		
80	1	78,549	1,814%	98,186%	98,186%	0,219%	Sangat Teliti
	2	78,793	1,509%	98,491%	98,491%		
Rata-rata			5,679%	94,322%	94,322%		

Pembacaan yang dilakukan pada validasi metode pengujian dilakukan pada pH netral dan dibaca secara bersamaan. Tingkat akurasi pengujian kandungan vitamin C pada konsentrasi 20 mg/mL sebesar 90,305 % dengan galat sebesar 9,695%. Sedangkan pada konsentrasi 80 mg/mL tingkat akurasi dan galat sebesar 98,338% dan 1,662%. Perhitungan nilai persentase recovery pada konsentrasi 20 mg/mL dan 80 mg/mL sebesar 90,3049% dan 98,3384% dengan persentase RSD < 1%. Nilai membuktikan bahwa ketelitian pengukuran kandungan vitamin C menggunakan metode kurva kalibrasi sangat teliti.

Pengujian Kandungan Vitamin C dalam Tablet

Pengujian kandungan vitamin C kemasan tablet di pasaran menggunakan 2 sampel yang berbeda dengan masing-masing kadar dalam sampel sebesar 500 mg. Sampel tablet diambil sebanyak 5 mg dan faktor pengenceran yang digunakan dalam preparasi sampel sebesar 10 kali. Hasil perhitungan kadar vitamin C ditunjukkan pada Tabel 9 dan Tabel 10.

Tabel 9 Perhitungan Kadar Vitamin C

Kode	Massa Sampel (mg/10 mL)	Replikasi	Konsentrasi Terbaca (mg/10 mL)	Faktor Pengenceran	Konsentrasi (mg/mL)	kadar vit C (mg) dalam 5 mg	%Vit C 5 mg	Kadar Vitamin C per mg
A	5	1	27,9390	10	279,3902	2,7939	0,5588	0,5588
	5	2	28,2439	10	282,4390	2,8244	0,5649	0,5649
B	5	1	26,8415	10	268,4146	2,6841	0,5368	0,5368
	5	2	27,0244	10	270,2439	2,7024	0,5405	0,5405

Tabel 10 Perhitungan Validitas Pengujian Vitamin C

Kode	Kadar Vitamin C dalam kemasan (mg)	kadar Vitamin C perhitungan (mg)	%Galat	% Recovery	% Akurasi	%RSD	Ketelitian
A	500,00	484,7793	3,0441%	96,9559%	96,9559%	0,0075	0,7674%
	500,00	490,0694	1,9861%	98,0139%	98,0139%		
B	500,00	428,5508	14,2898%	85,7102%	85,7102%	0,0041	0,4803%
	500,00	431,4714	13,7057%	86,2943%	86,2943%		

Rata-rata tingkat akurasi pengujian kandungan vitamin C pada sampel A sebesar 97,4849 % dengan rata-rata galat sebesar 2,5151%, sedangkan pada sampel B rata-rata tingkat akurasi dan galat sebesar 86,0022% dan 13,9978%. Perhitungan nilai persen RSD pada sampel A dan B masing-masing sebesar 0,0075 % dan 0,0041%. Nilai RSD < 1% membuktikan bahwa ketelitian pengukuran kandungan vitamin C menggunakan metode kurva kalibrasi sangat teliti.

Simpulan

Akruasi fotometri pada daerah *Ultra Violet* dan *visble* serta akurasi panjang gelombang menunjukkan Persen RSD < 2%. Nilai ini membuktikan bahwa pembacaan absorbansi dan akurasi Panjang gelombang sangat teliti. Uji lineritas standar vitamin C didapatkan persamaan $y = 0.0164x + 0.1128$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9982. Validasi metode pengujian vitamin C didapatkan rata-rata persen galat, persen recovery, dan persen akurasi masing-masing sebesar 5,6784%, 94,3216% dan 4,3216% dengan kategori sangat teliti. Pengujian kadar sampel tablet vitamin C 500 mg didapatkan hasil yang sangat teliti dengan persen galat, persen recovery, dan persen akurasi masing-masing sebesar 8,2565%, 91,7435% dan 91,7435%.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kami ucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Negeri Semarang (LPPM) atas dana hibah penelitian yang telah diberikan

Daftar Pustaka

- Abriyani, E., Putri, N. S., Rosidah, R. S. N., & Ismanita, S. S. (2022). Analisis Kafein Menggunakan Metode Uv-Vis: Tinjauan Literatur. *Jurnal Pendidikan Dan Konseling*, 4, 12732–12739.
- Altunay, N., Elik, A., & Gürkan, R. (2020). Preparation and application of alcohol based deep eutectic solvents for extraction of curcumin in food samples prior to its spectrophotometric determination. *Food Chemistry*, 310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125933>
- Fang, W., Wang, X., Han, D., & Chen, X. (2022). Review of Material Parameter Calibration Method. In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/agriculture12050706>
- Gambhir, K., Sharma, P., & Mehrotra, R. (2021). Morphology-Directed Nanoscopic Energy Transfers in Plasmonic-Organic Hybrids. *Journal of Applied Spectroscopy*, 88(1), 203–214. <https://doi.org/10.1007/s10812-021-01159-7>
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1–9.
- Jacks, P. (2022). Circulating UV-vis spectrophotometry using curcumin reagent to measure borax in wet noodles. In *International Journal on ObGyn and Health Sciences Journal* (Vol. 1, Issue 1).

- Jumaini, & Astija. (2021). Kandungan Vitamin C Dari Buah Tomat Pada Tingkat Kematangan Yang Berbeda Content of c vitamine in different development of tomato fruits. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(2), 92–98. <https://e-journal.my.id/biogenesis>
- Jurwita, M., Nasir, M., & Haji, A. G. (2020). Analisis Kadar Vitamin C Bawang Putih dan Hitam dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 252–261. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15289>
- Karoui, R. (2018). Spectroscopic Technique: Fluorescence and Ultraviolet-Visible (UV-Vis) Spectroscopies. In *Modern Techniques for Food Authentication* (pp. 219–252). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814264-6.00007-4>
- Ma, Q., Tian, G., Zeng, Y., Li, R., Song, H., Wang, Z., Gao, B., & Zeng, K. (2021). Pipeline in-line inspection method, instrumentation and data management. In *Sensors* (Vol. 21, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/s21113862>
- Misfadhila, S. (2021). Overview of Vitamin C Analysis Method during 2000-2020. In *International Journal of Research Publication and Reviews Vol* (Issue 2). www.ijrpr.com
- Ngibad, K., Herawati, D., Ilmu Kesehatan, F., Maarif Hasyim Latif, U., & Raya, J. (2019). Comparison of Measurement The Vitamin C Level using UV-Vis Spetrophotometry at Uv and Visible Wavelength. In *Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology* (Vol. 1, Issue 2).
- Ordóñez-Santos, L. E., & Martínez-Girón, J. (2020). Thermal degradation kinetics of carotenoids, vitamin C and provitamin A in tree tomato juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 201–210. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14263>
- Plunkett, K. N. (2019). A Simple and Practical Method for Incorporating Augmented Reality into the Classroom and Laboratory. *Journal of Chemical Education*, 96(11), 2628–2631. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00607>
- Prihhapso, Y., Achmadi, A., Suryani, D., Farhania, W., Nelfyenny, & Zaini, H. (2021). Development of holmium oxide glass calibration system measured using mathematical modelling. *Journal of Physics: Conference Series*, 1816(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1816/1/012045>
- Prihhapso, Y., Achmadi, A., Suryani, D., Farhania, W., Zaini, H., Achalik, & Nelfyenny. (2020). *Panduan Kalibrasi : Spektrofotometer UV-VIS* (01 ed., Vol. 01). Badan Standarisasi Nasional(BSN).
- Rohyami, Y., Aprianto, T., & Marjono. (2021). Validation Method on Determination of Chemical Oxygen Demand Using Indirect UV-Vis Spectrometry. *Advanced Materials Research*, 1162, 101–108. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1162.101>
- Seema, Jalwal, P., Kumar, S., & Solanki, N. (2023). Swertiamarin Quantitative Analysis Using UV Spectrophotometry: A Rapid And Cost-Effective Method. *Journal of Pharmaceutical Negative Results* , 14(02), 1300–1310. <https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.02.166>
- Shard, A. G., Schofield, R. C., & Minelli, C. (2019). Ultraviolet-visible spectrophotometry. In *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles* (pp. 185–196). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00012-2>
- Shinde, R., Kumar Shahi, D., Mahapatra, P., Kumar Naik, S., Shekhar Singh, C., Verma, S., & Singh, A. K. (2022). Isolation of lignocelluloses degrading microbes from soil and their screening based on qualitative analysis and enzymatic assays. *Annals of Plants and Soil Research*, 3, 347–354. <https://doi.org/10.47815/aprs.2022.10174>
- Trisna, W., Program, W., S1, S., Sekolah, F., Kesehatan, T. I., Tunas, B., & Tasikmalaya, H. (2017). Analisis Kandungan Asam Askorbat Dalam Minuman Kemasan Yang Mengandung Vitamin C. In *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* (Vol. 17).

Wardhani, D. S., & Oman, M. (2014). Kalibrasi Spektrofotometer UV-VIS Hitachi U-1500. *Buletin Penelitian Pemuliaan Ikan*, 17–18.

Workman, J. J. (2018). A Review of Calibration Transfer Practices and Instrument Differences in Spectroscopy. In *Applied Spectroscopy* (Vol. 72, Issue 3, pp. 340–365). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/0003702817736064>