

TEST KIT UNTUK ANALISIS SIANIDA DALAM KETELA POHON BERDASARKAN PEMBENTUKAN HIDRINDANTIN

Hermin Sulistyarti*, Nury Kusumawardhani,
Novy Lailatuz Zulfah, Yulia Dwi Cahyani,
Hilda Emilia Fahriyani, dan Balqis Milda

Jurusan Kimia, Universitas Brawijaya
email: Email: sulistyarti@yahoo.com

Abstract

Cyanide is a highly toxic substance, which causes high number of poisoning by cyanide in a variety of foodstuffs; therefore the availability of test kits as fast and easy tool for analyzing cyanide is extremely demanded. The proposed cyanide test kit is developed based on the reaction of cyanide and ninyhydrine to form a blue hydrindantin under strong basic solution. Cyanide test kit was optimized toward the λ maximum, pH, stability time of complex and concentration of ninyhydrine. Optimization of maximum λ was done by measuring absorbance using visible spectrophotometer at range λ 560-620 nm. Optimization of pH was done by conditioning hydrindantine complex using NaOH solution to obtain pH of 9-14. Optimization of stability time of complex was done by monitoring complex under time range 0-120 minutes. The optimization of ninhydrin concentration was performed by varying the concentration of ninhydrin in range 0.5 to 3.5%. The results showed that the optimum conditions were: λ 590 nm, pH 12, the stability time of complex of 30 minutes, and concentration of ninhydrin of 1%. Test kit can determine cyanide at the range 1-10 ppm. test kit has been validated and applied for measuring cyanide in cassava with reliable results.

Keywords: ninyhydrin, hidrindantin, cyanide, test kit, cassava

1. PENDAHULUAN

Senyawa sianida adalah senyawa kimia yang bersifat toksik dan merupakan jenis racun yang paling cepat aktif dalam tubuh sehingga dapat menyebabkan kematian dalam waktu beberapa menit (akut) [1]. Lebih dari

2.000 spesies tanaman mengandung glikosida sianogen dengan 25 macam sianogennya dan kandungan sianidanya bervariasi [2]. Metode standar untuk mendeteksi kandungan sianida, seperti spektrofotometri UV dan spektrofotometri UV-Vis dapat mendeteksi kandungan sianida dalam jumlah renik [3] memerlukan keahlian khusus, mahal, dan tidak bisa diaplikasikan di lapang. Banyaknya kasus keracunan yang disebabkan oleh kandungan sianida dalam berbagai bahan pangan, maka ketersediaan *test kit* sianida sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya keracunan akibat mengkonsumsi bahan pangan yang mengandung sianida.

Test kit merupakan suatu alat yang dapat digunakan untuk mendeteksi kadar suatu senyawa dengan cukup akurat yang mudah digunakan dan dioperasikan oleh berbagai kalangan. Metode spektrofotometri untuk penentuan sianida telah dilaporkan menggunakan ninhidrin sebagai pereaksi dalam suasana basa menghasilkan suatu kompleks berwarna. Metode ini sangat sensitif, selektif, dan tidak membutuhkan pemanasan atau ekstraksi. Senyawa kompleks ini berwarna merah pada pH 8-12 dan berwarna biru pada pH larutan 11-13 [4]. Metode ini telah berhasil digunakan untuk analisis sampel sianida dalam darah dan lingkungan [5] dan studi reaksi sianida dan ninhidrin pada berbagai sampel analitik telah juga dilaporkan oleh Hlaing, et al (2011) [6]. Karena itu, metode ini digunakan sebagai dasar pembuatan tes kit yang diusulkan.

Prinsip kerja pembuatan *test kit* sianida adalah sampel sianida dilarutkan dalam Na_2CO_3 (pH 9-11) agar sianida berada dalam bentuk stabilnya dan tidak menguap sebagai HCN, karena sianida akan berada dalam bentuk sebagai CN^- pada pH > 10. Larutan sianida kemudian direaksikan dengan pereaksi ninhidrin 1% membentuk kompleks berwarna merah dan berwarna akan berwarna biru pada kondisi sangat basa dengan penambahan larutan NaOH (pH berkisar 12-

14). Pada penelitian ini, kondisi reaksi *test kit* yang dibuat akan dioptimasi terhadap beberapa faktor yang mempengaruhi kinerja metode ini, yaitu terhadap λ maksimum, pengaruh pH, waktu kestabilan kompleks dan konsentrasi ninhidrin. Kondisi optimum yang diperoleh diaplikasikan pada sampel sianida alami dari ketela pohon kemudian dilakukan validasi menggunakan metode spektrofotometri [4].

2. METODE

Penelitian ini dilakukanselama kurang lebih 5 bulan pada Februari- Juli di Laboratorium LSIH-UB (Laboratorium Sentral Ilmu Hayati) Universitas Brawijaya dan Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah KCN, ninhidrin, Na_2CO_3 , NaOH, ketela pohon (*Manihot Utilisima*), dan aquadem. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, kertas indicator pH-universal, oven, bola hisap, tabung reaksi, botol semprot, spektrofotometer sinar tampak (Spectronic-20) dan peralatan gelas.

Preparasi Sampel

Larutan sianida standar dibuat dengan cara melarutkan KCN 0,25 gram dalam larutan Na_2CO_3 yang dikondisikan pada pH 11, larutan Na_2CO_3 dibuat dari pelarutan 2,5 gram Na_2CO_3 dalam 500 ml aquadem. Konsentrasi sianida disesuaikan dengan batas deteksi *test kit*.

Sedangkan sampel alami diambil dari mengekstraksi larutan sianida dari ketela pohon dengan cara menghaluskan kemudian ditambahkan larutan Na_2CO_3 yang dikondisikan pH 11, selanjutnya dilakukan penyaringan, dan dikondisikan sesuai dengan larutan sianida standar.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kompleks Hidrindantin

Kompleks hidrindantin dibuat dengan mereaksikan KCN 2 ppm dengan 1 ml larutan

ninhidrin 1%, selanjutnya dikondisikan pada pH 13 dengan penambahan 13 tetes NaOH 1 M. Kompleks hidrindantin yang terbentuk diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada kisaran panjang gelombang 560-620 nm. Panjang gelombang maksimum didapatkan dari pengukuran pada panjang gelombang tertentu yang menghasilkan absorbansi maksimum.

Optimasi pH Kompleks Hidrindantin

Optimasi pH kompleks hidrindantin dilakukan dengan cara mengkondisikan kompleks hidrindantin menggunakan larutan NaOH sehingga dihasilkan pH 9-14 dengan interval 1 diukur absorbansinya dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum. pH optimum adalah yang memberikan absorbansi yang optimum dan digunakan untuk percobaan berikutnya.

Optimasi Waktu Kestabilan Kompleks Hidrindantin

Optimasi waktu kestabilan kompleks hidrindantin dilakukan dengan membuat larutan seperti percobaan 2.3.1 pada pH optimum (2.3.3) dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (2.3.2) setelah bereaksi selama 0-120 menit dengan interval 30 menit. Waktu kestabilan kompleks optimum adalah larutan yang memberikan absorbansi yang optimum dipilih untuk percobaan berikutnya.

Optimasi Konsentrasi Ninhidrin

Optimasi konsentrasi ninhidrin dilakukan seperti pada 2.3.4 dan konsentrasi ninhidrin divariasikan 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 dan 3,5 %. Konsentrasi ninhidrin yang memberikan absorbansi optimum dipilih sebagai konsentrasi ninhidrin optimum.

Pembuatan Komparator Warna Larutan

Pembuatan komparator warna larutan dilakukan pada kondisi optimum yang diperoleh dari percobaan (2.3.2-2.3.5), kemudian diaplikasikan pada konsentrasi KCN 0-10 ppm dengan interval 1 ppm.

Pembuatan *Test Kit* Sianida

Pembuatan *test kit* sianida merupakan tahap disain pengemasan dan kemudahan penggunaannya. Tahap ini dilakukan dengan membuat komposisi reagen untuk *test kit* dan menyiapkan seluruh peralatan yang dikemas dalam satu set *test kit* sianida. *Test kit* sianida selanjutnya diujicobakan pada sampel sianida alami yaitu pada ketela pohon.

Aplikasi Metode *Test Kit* untuk Analisis Sianida dalam Ketela Pohon

Ketela pohon diambil 5 gram yang dipotong kecil-kecil ditambahkan dengan 5 ml larutan Na_2CO_3 kemudian dikocok. Ekstrak dari ketela pohon diambil kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL ninhidrin 1 % hingga membentuk warna kemerahan. Selanjutnya ditambahkan NaOH 0,1 N hingga pH 12 dan membentuk warna biru. Perubahan warna tersebut dibandingkan dengan komparator warna yang telah dibuat sebelumnya, sehingga menunjukkan konsentrasi kandungan sianida dalam ketela pohon yang terdeteksi oleh *test kit* sianida.

Uji Validasi *Test Kit* Sianida

Validasi metode ini dilakukan dengan membandingkan metode pada penelitian ini dengan metode standar. Metode standar yang digunakan adalah metode spektrofotometri. Sampel sianida alami didistilasi menggunakan serangkaian alat mikrodistilasi menggunakan

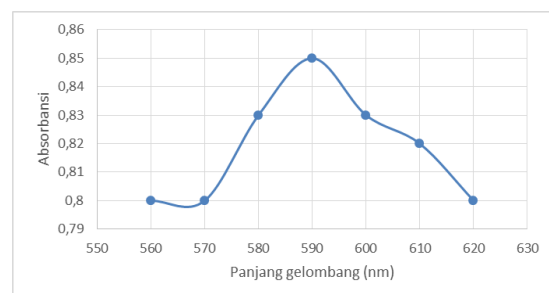
absorber Na_2CO_3 , sehingga didapatkan destilat sianida. Destilat sianida selanjutnya ditambahkan dengan reagen ninhidrin kemudian diukur absorbansinya menggunakan Spectronic-20 pada panjang gelombang 590 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kompleks Hidrindantin

Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks hidrindantin dimaksudkan untuk mendapatkan panjang gelombang yang memberikan sensitivitas pengukuran tertinggi. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan kondisi pH 13, konsentrasi ninhidrin 1 % dan waktu pembentukan kompleks 0 menit menggunakan Spektrofotometer sinar tampak pada kisaran panjang gelombang 560-620 nm.

Hasil pengukuran penentuan panjang gelombang maksimum kompleks sianida ditunjukkan pada Gambar 1, dimana absorbansi maksimum kompleks hidrindantin yang berwarna biru tercapai pada panjang gelombang 590 nm. Panjang gelombang 590 nm adalah panjang gelombang warna komplementer dari larutan yang diukur (biru). Warna komplementer yang diserap oleh kompleks hidrindantin adalah warna oranye yang mempunyai kisaran panjang gelombang 580-650 nm. Panjang gelombang maksimum ini digunakan untuk optimasi selanjutnya.

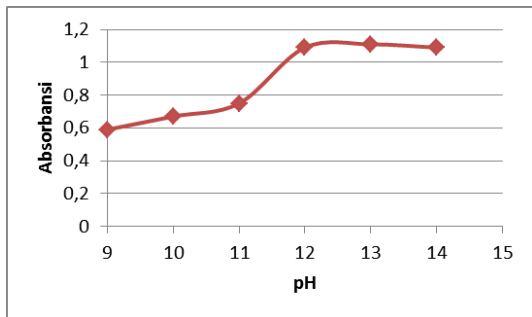


Gambar 1. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kompleks Hidrindantin

Optimasi pH Kompleks Hidrindantin

Derajat keasaman (pH) sangat berpengaruh terhadap warna kompleks hidrindantin, optimasi pH dilakukan untuk mendapatkan intensitas warna hidrindantin yang paling tinggi. Optimasi pH kompleks ninhidrin dilakukan pada kisaran pH 9-14 dengan interval pH 1, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 590 nm.

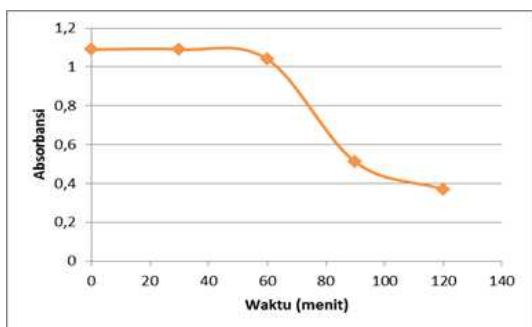
Hasil pengukuran tersebut tercantum pada Gambar 2. Absorbansi dari kompleks hidrindantin yang berwarna biru mencapai titik optimum pada pH 12 dengan penambahan larutan NaOH 0,1N sebanyak 11 tetes. Selain dari absorbansi, kondisi optimum ini ditandai dari intensitas warna yang dihasilkan dari kompleks hidrindantin. Kondisi pH optimum 12 (11 tetes NaOH) digunakan untuk optimasi selanjutnya.



Gambar 2. Grafik Optimasi pH

Optimasi Waktu Kestabilan Kompleks Hidrindantin

Optimasi waktu reaksi dilakukan untuk mengetahui waktu pembentukan kompleks secara sempurna dan mencapai kesetimbangan.



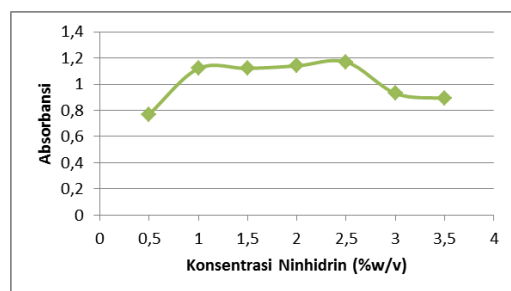
Gambar 3. Grafik Optimasi Waktu Kestabilan Kompleks Hidrindantin

Optimasi waktu kestabilan kompleks hidrindantin dilakukan pada waktu 0-120 menit dengan interval 30 menit yang diukur absorbansinya dengan kondisi optimum sebelumnya (590 nm, pH 12). Hasil pengukuran disajikan pada Gambar 3.

Kompleks hidrindantin langsung terbentuk pada waktu 0 menit dan berwarna biru stabil pada waktu 0-30 menit. Warna biru dari kompleks hidrindantin pudar pada waktu lebih dari 30 menit karena kompleks telah terdekomposisi sehingga, waktu optimum kompleks hidrindantin stabil pada 0-30 menit. Oleh karena itu waktu pengukuran bias dilakukan mulai 0-30 menit, asalkan tidak boleh melebihi 30 menit.

Optimasi Konsentrasi Ninhidrin

Optimasi konsentrasi ninhidrin dilakukan untuk mengetahui kecukupan/stoikiometri reaksi ninhidrin yang dibutuhkan oleh sianida untuk membentuk kompleks hidrindantin secara sempurna. Percobaan ini dilakukan pada kondisi optimum sebelumnya, yaitu panjang gelombang 590 nm, pH 12 dan waktu pengukuran 5 menit dengan konsentrasi ninhidrin 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 dan 3,5% masing-masing sebanyak 20 tetes. Konsentrasi sianida standar yang digunakan dalam optimasi kondisi analisis tetap yaitu 2 ppm. Hasil pengukuran absorbansi tercantum pada Gambar 4.

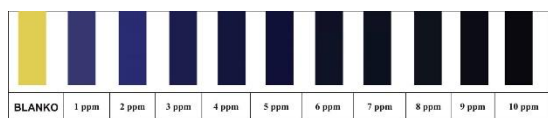


Gambar 4. Grafik Optimasi Konsentrasi Ninhidrin

Berdasarkan Gambar 3 konsentrasi optimum ninhidrin untuk membentuk kompleks hidrindantin adalah 1 %. Terlihat peningkatan konsentrasi ninhidrin 5 % menjadi 1 % menunjukkan peningkatan nilai absorbansi yang cukup signifikan, sedangkan pada konsentrasi ninhidrin 1%, 1,5%, 2% dan 2,5% tidak menunjukkan perbedaan nilai absorbansi yang signifikan. Konsentrasi ninhidrin 1% sudah cukup untuk mereaksikan sianida menjadi hidrindantin dan merupakan konsentrasi optimum ninhidrin untuk membentuk kompleks hidrindantin.

Pembuatan Komparator Warna Larutan dan Pembuatan *Test Kit* Sianida

Kondisi optimum yang telah diperoleh dari percobaan, yaitu panjang gelombang maksimum 590 nm, pH 12 dan konsentrasi ninhidrin 1 % diaplikasikan untuk pembuatan komparator warna sebagai acuan penentuan konsentrasi sianida berbasis *test kit* dengan konsentrasi sianida 0-10 ppm. Komparator warna yang dibuat bekerja sebagai pembanding, dimana intensitas warna proporsional terhadap konsentrasi sianida. Komparator warna hasil penelitian sebagai alat bantu dalam menentukan konsentrasi sianida dalam *test kit* sianida terlihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Komparator Warna Larutan

Pembuatan *Test Kit* Sianida

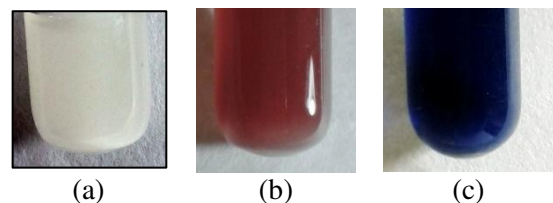
Setelah kondisi optimum metode analisis sianida berbasis *test kit* tercapai, selanjutnya diterapkan untuk pembuatan *test kit* sianida yang dilakukan dengan membuat komposisi reagen dan peralatan untuk dikemas dalam satu set *test kit* sianida yang ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Desain Kemasan *Test Kit* Sianida

Aplikasi Metode *Test Kit* untuk Analisis Sianida dalam Ketela Pohon

Berdasarkan optimasi yang telah dilakukan kemudian diaplikasikan pada sampel alami yang berasal dari ketela pohon. Hasil ekstrak ketela pohon yang telah ditambahkan ninhidrin 1% dan NaOH mengalami perubahan warna yang ditunjukkan oleh Gambar 7. Hal ini menunjukkan adanya kandungan sianida dalam ketela pohon yang terdeteksi oleh *test kit* sianida.



Gambar 5. (a) Sampel alami diekstrak dengan larutan Na_2CO_3 , (b) Setelah penambahan ninhidrin 1%, (c) Setelah penambahan NaOH.

Untuk mengetahui kadar sianida dalam sampel alami dilakukan dengan cara membandingkan warna larutan yang diperoleh dengan komparator warna (Gambar 5). Warna yang sesuai menunjukkan konsentrasi sianida dalam sampel yang diukur.

Validasi *Test Kit* Sianida

Test kit yang telah dibuat perlu dilakukan validasi dengan cara

membandingkan hasil analisis sianida pada sampel singkong secara *test kit* dengan metode standar spektrofotometri. Hasil uji validasi tercantum pada Tabel 1, yang menunjukkan bahwa hasil analisis yang diperoleh dari metode *test kit* yang dibuat dan metode spektrofotometri memberikan nilai yang tidak berbeda nyata, sesuai hasil uji t dengan derajat kepercayaan 95 % dimana harga t hitung < t tabel.

Tabel 1. Hasil validasi: analisis sianida dalam singkong menggunakan *test kit* dan metode spektrofotometri

SAMPEL	Konsentrasi Sianida Metode <i>Test kit</i> (ppm)	Konsentrasi Sianida Metode Standar (ppm)
Sampel Sianida Alami (Singkong)	5,3±0,47*	5,7±0,28*

*Rata-rata dari tiga ulangan ± SD

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, kondisi optimum analisis sianida menggunakan *test kit* adalah: panjang gelombang maksimum 590 nm, pH reaksi 12, waktu kestabilan kompleks hidrindantin 30 menit, dan konsentrasi ninhidrin 1%. *Test kit* yang dibuat dapat digunakan untuk menganalisis kandungan sianida dengan konsentrasi 1-10 ppm dan *teskit* ini telah berhasil diaplikasikan untuk mengukur kandungan sianida pada ketela pohon. *Test kit* telah divalidasi memberikan hasil yang dapat dipercaya dan bisa digunakan sebagai metode alternatif untuk penentuan sianida dalam berbagai sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami tujukan kepada DIKTI, Universitas Brawijaya, Fakultas MIPA, Jurusan Kimia, dosen pembimbing kami Dr. Hermin Sulistyarti serta rekan-rekan yang

telah memberikan dukungan selama penelitian ini berlangsung.

5. REFERENSI

- Drochiou, G., Mihaescu, I., M. 2009. *Cyanide Reaction With Ninhydrin: The Effect of pH Changes and Uv-Vis Radiation Upon The Analytical Results*. *Revue Roumaine de Chimie*. 54(10).
- Hlaing, A., Naing, K., Myint, S.S., Aung, Y.M. (2011), Study on Reaction between Ninhydrine and Cyanide and its Analytical Applications, *University Research Journal*, Vol. 4(3), 283-300.
- Julistiana, E., Ra. 2009. Pengembangan dan Validasi Metode Pengujian Kadar Sianida Dalam Limbah Cair Secara Spektroskopi UV-Vis. *Skripsi*. Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Kwok. 2008. *Cyanide Poisoning and Cassava*, *Centre for Food Safety*. http://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_public/multimedia_pubfsf_19131.html. Diakses tanggal 28 September 2013.
- Nagaraja, P., Kumar, M. S., Yathirajan, H. S. and Prakash, J. S. 2002. Novel Sensitive Spectrophotometric Method for the Trace Determination of Cyanide in Industria Effluent, *The Japan Society for Analytical Chemistry*. Vol. 18, 1027-1030.
- Yuningsih. 2012. Keracunan Sianida pada Hewan dan Upaya Pencegahannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. Hal. 31.