
**KANDUNGAN ASAM SIANIDA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA
KLWAK (*Pangium edule Reinw.*) SETELAH PROSES PEREBUSAN****Putri Maharani Nahat M.T, Tuty Putri Sri Muljati, Nurcholis**Jurusan Analis Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Surabaya**ABSTRAK**

Kluwak merupakan rempah-rempah yang sering digunakan untuk masakan nusantara. Banyak yang tidak tahu bahwa kluwak ternyata mengandung antioksidan sebagai senyawa penangkap radikal bebas dalam tubuh. Disisi lain kluwak juga mengandung asam sianida yang bersifat racun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan asam sianida dan aktivitas antioksidan pada kluwak setelah proses perebusan.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Toksikologi Jurusan Analis Kesehatan dan Laboratorium Kimia Terpadu Poltekkes Kemenkes Surabaya pada bulan Desember 2016 sampai Juni 2017. Penentuan kadar asam sianida (HCN) dilakukan dengan metode titrimetri (argentometri) dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 517 nm.

Hasil penelitian kluwak segar dan yang direbus selama 5, 10 dan 15 menit didapatkan kadar asam sianida berturut-turut sebesar 239,01 ppm, 228,96 ppm, 204,41 ppm dan 153,44 ppm yang menunjukkan bahwa kadar asam sianida (HCN) semakin menurun seiring dengan lamanya waktu perebusan. Sedangkan untuk

PENDAHULUAN

Salah satu masakan Indonesia yang terkenal akan rempah - rempah adalah rawon. Rawon merupakan masakan khas Jawa Timur berupa sup daging berkuah hitam (Udi, 2009). Warna hitam ini dihasilkan dari *Pangium edule Reinw* atau yang biasa disebut masyarakat dengan nama kluwak, pucung atau kepayang. Kluwak merupakan rempah yang digunakan dalam berbagai masakan diantaranya rawon, sayur brongkos dan sup konro (Sibuea, 2015). Kluwak mengandung berbagai macam zat diantaranya senyawa antioksidan dan golongan flavonoid, senyawa antioksidan yang berfungsi anti kanker antara lain vitamin C, ion besi dan betakaroten. Antibakteri yaitu asam garlat, tanin dan asam sianida (Udarno, 2013). Antioksidan sangat dibutuhkan oleh tubuh, selain untuk menjaga kesehatan juga dapat

mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Antioksidan mempunyai sifat penangkap radikal bebas, menurunkan pembentukan tumor, kerusakan DNA dan kerusakan sel (Idris, 2005). Estiasih dkk (2009) mengatakan bahwa aktivitas antioksidan pada kluwak berkisar antara 50,96 - 76,67%. Selain mengandung antioksidan, kluwak juga memiliki kandungan asam sianida (HCN). Asam sianida merupakan salah satu jenis racun yang paling toksik, bereaksi cepat dalam tubuh hewan maupun manusia, dapat menyebabkan kematian akut dalam beberapa menit setelah mengonsumsinya dengan dosis yang cukup kecil yaitu 0,5 - 3,5 mg/kg (Kencana, 2013). Menurut Food Agricultural dalam Wahjuningsih (2013) batas maksimal kadar asam sianida yang diperbolehkan adalah <10 ppm. Racun ini dengan mudah dapat dihilangkan karena sifatnya yang

mudah larut dalam air dan menguap pada suhu 26°C sehingga kluwak aman untuk dikonsumsi (Hangesti, 2006).

Salah satu caranya adalah mengolah biji pucung segar menjadi kluwak yang beredar di masyarakat dengan proses pemeraman. Sebenarnya tahap pemeraman pun masih mengandung senyawa sianida, oleh karena itu sebelum dikonsumsi harus diperiksa terlebih dahulu dengan sedikit mencicipinya, apakah terasa pahit atau tidak serta diolah dengan benar (Hernani dkk., 2006). Rasa pahit disebabkan oleh senyawa asam sianida itu yang kadarnya tinggi dan tidak berkurang saat proses pemeraman

Beberapa cara yang bisa dilakukan untuk menghilangkan kadar asam sianida yaitu dengan merebus, mengukus dan merendam (Kencana, 2009). Proses pemanasan dapat menonaktifkan enzim dalam kluwak sehingga asam sianida tidak terbentuk dan dapat menguapkan asam sianida yang terbentuk. Nurfaida (2012) dalam penelitiannya bahwa kadar asam sianida pada kluwak segar adalah berkisar 3,3010 mg/g dan mengalami penurunan setelah dilakukan pemeraman selama 10, 20, 30, 40 dan 50 hari berturut-turut sebanyak 83,78%; 90,53%; 96,72%; 98,64% dan 99,03%. Oleh karena itu pengolahan untuk menghilangkan kadar asam sianida dalam kluwak menjadi sangat penting. Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa kluwak positif mengandung asam sianida. Pada proses perebusan, kandungan antioksidan pada kluwak akan menurun karena antioksidan mudah teroksidasi. Panas yang dihasilkan pada proses perebusan mempengaruhi kestabilan senyawa antioksidan sehingga komponen gizi lain dalam kluwak ikut mengalami penurunan (Estiasih dan sofia, 2009).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Estiasih dan Sofia (2009) aktivitas antioksidan bubuk kluwak segar berkisar 68,52%, setelah perebusan 30 menit mencapai 53,01%, dan setelah perebusan selama 60 menit sebesar 44,46%.

Masyarakat sering memasak dengan kluwak tetapi banyak yang tidak tahu bahwa kluwak mengandung antioksidan dan asam sianida. Selain itu banyak masyarakat yang belum memahami waktu pengolahan kluwak yang tepat. Sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan asam sianida dan antioksidan pada kluwak setelah proses perebusan agar diperoleh gambaran proses pengolahan yang baik agar tidak menyebabkan keracunan dalam pemakaiannya dan juga tidak menurunkan kadar antioksidan yang ada pada kluwak.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen dengan teknik analisa secara kuantitatif menggunakan metode titrimetri untuk mengetahui kandungan asam sianida dan metode DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kluwak yang didapatkan dari pasar Keputran Surabaya secara acak. Kriteria kluwak dengan berat yang hampir sama.

Perlakuan Sampel

1. Kluwak segar (Sebagai kontrol)

Menimbang 20 g yang akan dianalisis kadar asam sianida dan 50 g yang akan dianalisis aktivitas antioksidan.

2. Kelompok kluwak yang telah direbus selama 5 menit

Merebus kluwak selama 5 menit dalam air mendidih kemudian

meniriskan dan menimbang 20 g yang akan dianalisis kadar asam sianida dan 50 g yang akan dianalisis aktivitas antioksidan.

3. Kelompok kluwak yang telah direbus selama 10 menit

Merebus kluwak selama 10 menit dalam air mendidih kemudian meniriskan dan menimbang 20 g yang akan dianalisis kadar asam sianida dan 50 g yang akan dianalisis aktivitas antioksidan.

4. Kelompok kluwak yang telah direbus selama 15 menit

Merebus kluwak selama 15 menit dalam air mendidih kemudian meniriskan dan menimbang 20 g yang akan dianalisis kadar asam sianida dan 50 g yang akan dianalisis aktivitas antioksidan.

Analisis Kadar Asam Sianida

Menimbang kluwak sebanyak 20 g lalu masukkan sampel ke labu destilasi. Menambahkan 100 mL aquades dan maserasikan sampel selama 2-4 jam. Kemudian menambahkan 100 mL aquades kedalam sampel yang telah dimaserasikan. Setelah itu menambahkan AgNO_3 0,02 N sebanyak 20 mL kedalam labu destilat. Memberikan suasana asam dengan penambahan 1 mL HNO_3 pada labu destilat. Merangkai alat destilasi dan melakukan destilasi uap hingga didapat destilat sebanyak 150 mL. Menyaring endapan AgCN dan memisahkannya dengan AgNO_3 sisa pada filtrat. Filtrat ditambahkan indikator FAS. Menitrasi filtrat dengan larutan sekunder KCNS hingga terdapat endapan merah bata.

Analisis Aktivitas Antioksidan

Kluwak yang sudah direbus kemudian blender / hancurkan dan ditimbang sebanyak 50 g. Selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi (direndam) selama 3x24 jam dengan

menggunakan pelarut metanol sebanyak 150 mL. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, sehingga filtrat dan residu dapat terpisah. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak metanol kental.

Pembuatan larutan DPPH 0,004%

Menimbang 4,0 mg serbuk DPPH, melarutkan dengan metanol, kemudian memasukkan ke dalam labu ukur. Menambahkan metanol sampai 100,0 mL. Mengukur absorban larutan DPPH pada panjang gelombang 517 nm, absorban yang terukur harus 0,80 - 0,82. Bila absorban lebih dari 0,80 - 0,82 maka diencerkan dengan metanol dalam skala kuvet.

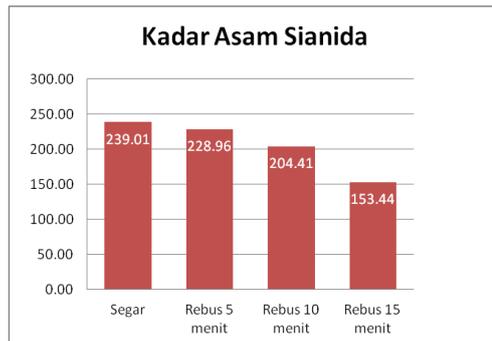
Pembuatan larutan Vit C 200 ppm

Menimbang 10,0 mg vitamin C secara langsung menggunakan cawan timbang. Melarutkan dengan sedikit metanol. Memasukkan kedalam labu ukur 50,0 mL. Membilas cawan timbang beberapa kali dengan metanol, menambahkan metanol sampai 50,0 mL. Mengencerkan sampel dengan konsentrasi 50 ppm, 40 ppm, 30 ppm, 20 ppm, 10 ppm.

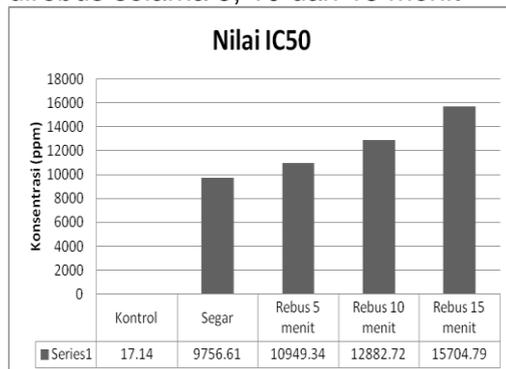
Pembacaan dengan spektrofotometri UV-VIS Mengukur hasil absorban DPPH hasil pengenceran. Menentukan % perendaman DPPH untuk sampel. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 300,0 μL . ditambahkan 2700,0 μL larutan DPPH sehingga kadarnya menjadi 1/10. Perhitungan kapasitas anti radikal bebas ekstrak diukur dari perendaman warna ungu merah DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC_{50} didapatkan dengan menggunakan regresi linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis dengan % perendaman sebagai ordinatnya.

HASIL

Pengukuran kandungan asam sianida dan aktivitas antioksidan pada kluwak segar dan kluwak yang direbus selama 5, 10 dan 15 menit dapat diperoleh hasil sebagai berikut:



Gambar 4.1 rata-rata kadar asam sianida pada kluwak segar dan yang direbus selama 5, 10 dan 15 menit



Gambar 4.2 rata-rata nilai IC₅₀ pada kluwak segar dan yang telah direbus selama 5, 10 dan 15 menit

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan tentang asam sianida pada kluwak dengan perbedaan waktu perebusan 5, 10 dan 15 menit didapatkan hasil adanya penurunan kadar asam sianida. Kluwak segar sebagai kontrol sebesar 239,01 mg/kg kemudian mengalami penurunan setelah dilakukan perebusan selama 5, 10 dan 15 menit masing-masing

menjadi 228,96 mg/kg, 204,41mg/kg dan 153,44mg/kg.

Kluwak segar memiliki kadar asam sianida tertinggi disebabkan karena dilakukan penentuan kadar asam sianida secara langsung tanpa adanya perlakuan tertentu. Adanya pengaruh kadar asam sianida pada kluwak setelah proses perebusan selama 5, 10 dan 15 menit, hal ini sesuai dengan pernyataan Marlina (2013) yaitu sifat asam sianida yang mudah menguap akibat pengaruh suhu, ditambah lagi asam sianida dapat larut dalam air sehingga kadar asam sianida dapat terjadi penurunan.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi tingkat kesalahan dalam penelitian kadar asam sianida ini adalah titik akhir titrasi menggunakan titrasi argentometri yang ditandai dengan adanya endapan merah bata.

Selain itu, untuk pemeriksaan aktivitas antioksidan pada kluwak dengan perbedaan waktu perebusan didapatkan hasil berupa nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel dengan simbol X terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas dengan simbol Y.

Semakin kecil nilai IC₅₀ maka senyawa tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik (Purwaningsih, 2012). Pada pemeriksaan ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding.

Dari hasil penelitian aktivitas antioksidan didapatkan nilai IC₅₀ tertinggi adalah pada sampel kluwak setelah dilakukan perebusan selama 15 menit. Dan yang memiliki nilai IC₅₀ terendah adalah pada kluwak segar. Kluwak segar cenderung lebih rendah dibanding yang telah

melalui poses perebusan. Hal ini dikarenakan kluwak segar dilakukan pengukuran langsung tanpa pemanasan, sehingga kandungan antioksidan yang terdapat pada kluwak belum dipengaruhi oleh adanya panas api pada saat proses perebusan. Waktu perebusan dapat berpengaruh pada aktivitas antioksidan, dapat ditunjukkan dengan nilai IC_{50} pada kluwak yang direbus selama 5 menit mengalami kenaikan yang berarti semakin rendah aktivitas antioksidan, hal ini juga terjadi pada kluwak yang direbus selama 10 menit dan 15 menit. Kluwak yang diberi perlakuan perebusan terjadi penurunan aktivitas antioksidan disebabkan oleh sifat antioksidan yang mudah larut dalam air dan tidak tahan terhadap panas seperti halnya vitamin C. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Estiasih dan Sofia (2012) yang menunjukkan panas yang dihasilkan saat perebusan mempengaruhi kestabilan senyawa antioksidan pada bubuk kluwak.

Banyak faktor yang menyebabkan kesalahan pada proses pemeriksaan aktivitas antioksidan pada kluwak metode DPPH. Misalnya senyawa DPPH yang sangat sensitif dengan cahaya sehingga jika terkena cahaya maka senyawa DPPH akan mudah rusak. Senyawa DPPH juga sensitif terhadap suhu. Suhu yang cocok untuk menyimpan adalah suhu dingin selama proses penyimpanan. Sehingga dengan penyimpanan yang salah ini menyebabkan DPPH rusak karena suhu yang panas. Kemudian untuk cara mengerjakan sampel harus berada pada tempat gelap dan melapisi alat gelas dengan aluminium foil untuk mencegah kontak dengan cahaya.

Faktor lain yang sangat mempengaruhi hasil penelitian aktivitas antioksidan ini yaitu penimbangan ekstrak yang kecil

dapat mempengaruhi keakuratan pada hasil karena faktor kesalahan yang lebih besar saat melakukan penimbangan dalam jumlah kecil. Kemudian pembuatan ekstrak kental juga perlu diperhatikan, ekstrak tidak boleh terlalu cair dikhawatirkan jika terlalu cair maka yang ditimbang bukan ekstrak murni melainkan metanolnya sehingga mempengaruhi hasil yang didapat pada sampel tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tentang kandungan asam sianida dan aktivitas antioksidan pada kluwak (*Pangium edule Reinw.*) setelah proses perebusan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kadar asam sianida pada kluwak segar (kontrol) adalah sebesar 239,01 mg/kg
2. Kadar asam sianida pada kluwak dengan proses perebusan selama 5 menit adalah sebesar 228,96 mg/kg
3. Kadar asam sianida pada kluwak dengan proses perebusan selama 10 menit adalah sebesar 204,41 mg/kg
4. Kadar asam sianida pada kluwak dengan proses perebusan selama 15 menit adalah sebesar 153,44mg/kg
5. Nilai IC_{50} pada kluwak segar (kontrol) adalah sebesar 9756,61 ppm.
6. Nilai IC_{50} pada kluwak dengan proses perebusan selama 5 menit adalah sebesar 10949,34 ppm.
7. Nilai IC_{50} pada kluwak dengan proses perebusan selama 10 menit adalah sebesar 12882,72 ppm.
8. Nilai IC_{50} pada kluwak dengan proses perebusan selama 15 menit adalah sebesar 15704,79 ppm.

9. Waktu perebusan optimal untuk menurunkan kadar asam sianida adalah 15 menit sedangkan untuk menjaga aktivitas antioksidan adalah 5 menit.

SARAN

1. Kepada masyarakat untuk lebih memperhatikan cara pengolahan kluwak agar dapat dijadikan olahan makanan yang aman.
2. Bagi peneliti selanjutnya melakukan penelitian terhadap kandungan asam sianida pada air rebusan kluwak setelah proses perebusan dalam rentang waktu tertentu agar dapat diketahui kadar sianida dalam air rebusan dan waktu yang efektif dalam menurunkan kadar asam sianida pada kluwak

DAFTAR PUSTAKA

- Estiasih, T. Sofia, E., 2009. *Stabilitas Antioksidan Bubuk Keluwak (Pangium edule Reinw.) Selama Pengeringan dan Pemanasan*. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang
- Fitriana dkk. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (Moringa oleifera)*. Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015. Bandung
- Hangesti. 2006. *Pengaruh Pengawetan menggunakan Biji Picung (Pangium edule Reinw.) terhadap Kesegaran dan Keamanan Ikan Kembung Segar (Rastrelliger brachysoma)*. Tesis. Program Studi Teknologi Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Hernani. Raharjo, M., 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Idris, A. 2005. *Tokotrienol Penting Untuk Kesehatan*.
- Marlina, Nina. 2012. *Analisis Sianida Dalam Singkong dengan Metode Lian dan Hami yang Dimodifikasi*. Balai Penelitian Ternak. Bogor
- Purwaningsih, Sri., 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimis Keong Merah (Cerithidea obtusa)*. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Sibuea, F.S.Y., 2015. *Ekstraksi Tanin dari Kluwak (Pangium edule Reinw). Menggunakan Pelarut Etanol dan Qquades dan Aplikasinya sebagai Pewarna makanan*. Karya Tulis Ilmiah. Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang. Semarang
- Udarno, Laba., 2008. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri Vol 14 no. 3*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor.