



"*Tidakkah kamu perhatikan bagaimana Allah telah membuat perumpamaan kalimat yang baik seperti pohon yang baik, akarnya teguh dan cabangnya (menjulang) ke langit, pohon itu memberikan buahnya pada setiap musim dengan seizin Rabb-nya, Allah membuat perumpamaan-perumpamaan itu untuk manusia supaya mereka selalu ingat.*" (Qs 14 : 24-25)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. (QS 94 : 6)

*Kupersembahkan untuk :
Ibu, Bapak, Didik dan Agus,
yang kucinta*

**PENGARUH PELARUT SUHU DAN WAKTU INKUBASI TERHADAP
JUMLAH ASAM SIANIDA YANG DIBEBAHKAN, YANG DIUKUR
DENGAN TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI**

Oleh :

Kartini Nurani

G 25.0320

Karya Ilmiah

Sebagai Salah satu Syarat Untuk Meraih

Gelar SARJANA KIMIA

pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

di

Institut Pertanian Bogor

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

1992

Ringkasan

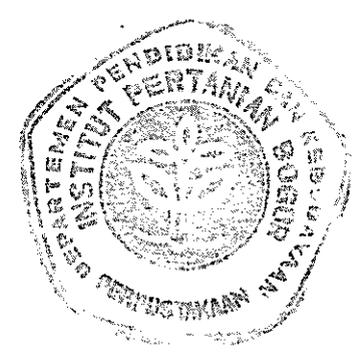
Asam sianida adalah gas yang beracun. Gas ini dapat langsung dapat menyerang sistem syaraf. HCN masuk ke dalam tubuh melalui mulut, saluran pernafasan dan dapat juga diabsorpsi oleh kulit dan usus.

Asam sianida dapat dibebaskan oleh tumbuhan tingkat tinggi dari glikosida sianogenat dan dari sedikit HCN bebas yang terakumulasi di dalam sel. Dengan demikian asam sianida bisa terdapat pada bahan pangan yang berasal dari tumbuhan yang mengandung glikosida sianogenat.

Kandungan asam sianida dapat ditentukan dengan beberapa cara. Pada penelitian ini, digunakan cara spektrofotometri, setelah HCN dibebaskan bahan karena diberi pelarut tertentu.

Dengan menggunakan dua jenis pelarut, lima waktu inkubasi dan dua nilai suhu, dicari kondisi optimum yang dapat digunakan untuk menentukan kadar asam sianida yang ada dalam singkong. Pengukuran HCN dilakukan dengan membiarkan asam sianida yang dibebaskan, bereaksi dengan pikrat alkalin. Intensitas warnanya ditentukan dengan spektrofotometer dan dibandingkan dengan standar.

Dari penelitian ini ternyata bahwa pengukuran HCN dalam contoh, cukup baik bila digunakan pelarut toluena, pada suhu inkubasi 40°C dan waktu inkubasi 2 jam.





Judul Penelitian : PENGARUH PELARUT, SUHU DAN WAKTU INKUBASI TERHADAP JUMLAH ASAM SIANIDA YANG DIBEBAHKAN, YANG DIUKUR DENGAN TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI

Nama Mahasiswa : Kartini Nurani
Nrp : G 25.0320

Disetujui Oleh:

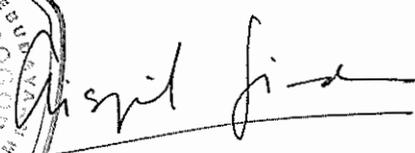
1. Pembimbing :


Dra. Hastatiningsih, MS
Pembimbing II


Ir. Elly Suradikusumah, MS
Pembimbing I

Mengetahui :

2. Ketua Jurusan



Prof. Dr. Aisjah Girindra

Tanggal Lulus : 10 SEP 1992



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 19 Pebruari 1970 di Probolinggo-Jawa Timur, sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, dari keluarga Kartono dan Soekamti.

Jenjang pendidikan penulis dimulai dari Sekolah Dasar Mater Dei I di Probolinggo, lulus pada tahun 1982. Menyelesaikan Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 di Probolinggo pada tahun 1985, dan Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Probolinggo pada tahun 1988. Pada tahun yang sama penulis diterima sebagai mahasiswa Institut Pertanian Bogor melalui jalur PMDK dan setahun kemudian diterima di jurusan Kimia dengan minat utama Kimia Analitik dan Anorganik.

of IPB University

IPB University

Hari Gita, Jember, 1970. Untuk janda
1. Orang tua yang sudah tua dan sakit-sakitan. Yang harusnya dia harus memercayakan dan mempercayakan untuk
2. Berpendidikan tinggi untuk melanjutkan pendidikan, jadi dia harus melanjutkan ke jenjang yang lebih tinggi untuk melanjutkan pendidikan
3. Berpendidikan tinggi untuk melanjutkan pendidikan, jadi dia harus melanjutkan ke jenjang yang lebih tinggi untuk melanjutkan pendidikan
4. Berpendidikan tinggi untuk melanjutkan pendidikan, jadi dia harus melanjutkan ke jenjang yang lebih tinggi untuk melanjutkan pendidikan

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, atas berkat dan rahmat-Nya penulis telah berhasil menyelesaikan karya ilmiah ini.

Asam sianida adalah suatu gas yang sangat beracun bagi hampir semua makhluk hidup. Pembebasan asam sianida tergantung pada beberapa faktor. Serangkaian percobaan dengan menggunakan pelarut, variasi suhu dan waktu inkubasi dituangkan dalam tulisan ini.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Ibu Ir. Elly Suradikusumah, MS selaku pembimbing pertama, atas bimbingannya selama penulis menempuh pendidikan di Jurusan Kimia-IPB, dan selama menyelesaikan tugas akhir.
2. Ibu Dra. Hastatiningsih, MS selaku pembimbing kedua .
3. Ketua Unit Kimia Anorganik : Bapak Dr.Ir. M. Sri Saeni, MS.
4. Ketua Unit Kimia Organik : Ibu Dr. Ir. Suminar Setyati Achmadi
5. Ketua Jurusan dan Seluruh staf Jurusan Kimia yang telah memberikan bekal keahlian.
6. Ibunda serta ayahanda yang telah memberikan sarana dan dukungan spirituil. .
7. Adik - adikku yang selalu mendoakan.
8. Yayasan SUPERSEMAR, yang telah memberikan bea siswa kepada penulis selama penulis menempuh pendidikan di Jurusan Kimia-IPB.
9. Pegawai-pegawai Laboratorium Kimia Anorganik dan Laboratorium Kimia Organik
10. Mas Joko, Mbak Sri, Mbak Endang, Mas Sariman dan Mbak Tantin, dan Mas Yudhi yang telah memberikan dorongan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan.
11. Teman-teman di Bagunde 43 : Titik, Umi, Vera.
12. Wiwik, Puji dan De'Na yang telah banyak membantu
13. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya ilmiah ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian mudah - mudahan hasil-hasil yang dituangkan dalam tulisan ini bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Bogor, September 1992

penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan Penelitian	1
Hipotesis	1
Manfaat Hasil Penelitian	1
TINJAUAN PUSTAKA	2
Glikosida Sianogenat	2
Distribusi	2
Struktur dan Sifat Glikosida Sianogenat	2
Singkong (<i>Manihot esculenta</i> Cranz)	3
Asam Sianida	4
Sifat dan Daya Racun	4
Detoksifikasi Asam Sianida	4
Teknik Analisis	5
Spektrofotometri	5
BAHAN DAN METODE	6
Tempat dan Waktu Penelitian	6
Bahan dan Alat	6
Metode Penelitian	6
Rancangan Percobaan	6
Peubah yang Diuji	6
Penyiapan Reaksi	6
Pembuatan Kurva Standar	6
Pengukuran HCN pada Contoh	6
Pembuatan Blanko	7
HASIL DAN PEMBAHASAN	7
Pengaruh Pelarut	8
Pengaruh Waktu Inkubasi dan Interaksinya dengan Pelarut	9
Pengaruh Suhu dan Interaksinya dengan Pelarut	9
KASIMPULAN DAN SARAN	11
Kesimpulan	11
Saran	11
DAFTAR PUSTAKA	11
LAMPIRAN	13

DAFTAR TABEL

No Uraian	Teks	Halaman
1.	Beberapa Glikosida Sianogenat	2
2.	Konsentrasi HCN Dalam $\mu\text{g}/\text{Singkong}$ Berdasarkan Berat Basah, Pada Suhu Inkubasi 27 °C.....	9
3.	Konsentrasi HCN Dalam $\mu\text{g}/\text{Singkong}$ Berdasarkan Berat Basah, Pada Suhu Inkubasi 40 °C.....	10
4.	Konsentrasi HCN Dalam $\mu\text{g}/\text{Singkong}$ Berdasarkan Berat Basah, Pada Suhu Inkubasi 27 dan 40 °C.....	10

No Uraian	Lampiran	Halaman
1.	Analisis Keragaman Untuk Suhu 27°C.....	14
2.	Rata-rata W x P pada Suhu 27°C.....	14
3.	Analisis Keragaman untuk Suhu 40°C.....	15
4.	Rata-rata W x P pada Suhu 40°C.....	15
5.	Analisis Keragaman untuk Suhu 27°C dan 40°C	16
6.	Rata-rata W x S x P pada Suhu 27°C dan 40°C	16
7.	Rata-rata S x P pada Suhu 27°C dan 40°C	17

DAFTAR GAMBAR

No	Uraian	Halaman
	<u>Teks</u>	
1.	Struktur Umum Glikosida Sianogenat	3
2.	Hidrolisis Enzimatis pada Linamarin	3
3.	Perubahan Sianida menjadi Tiosianat	4
4.	Komponen Spektrofotometer	6
5.	Reaksi Umum Hidrolisis Glikolisa Sianogenat	8
6.	Spektrum absorbansi natrium isopurpurat	8



PENDAHULUAN

Latar Belakang

Asam sianida, hidrogen sianida, HCN atau sering disebut sebagai asam prusiat adalah gas yang tidak berwarna. Gas ini sangat beracun karena dapat langsung menyerang sistem syaraf. Gas ini masuk ke dalam tubuh melalui mulut, saluran pernafasan, dapat juga diabsorpsi oleh kulit dan usus.

Asam sianida cair yang diketahui sebagai pengasap (fumigan), dan diperdagangkan sebagai gas cair atau sianida cair adalah cairan yang tidak berwarna, sangat volatil pada udara kering dan hangat dengan titik didih 26°C. Asam sianida cair mempunyai berat jenis 0.6999. Pada konsentrasi tinggi di udara menghasilkan campuran yang mudah terbakar.

Asam sianida digunakan secara luas untuk pengasap terutama untuk kapal, pohon jeruk dan bangunan. Pada kapal digunakan untuk membersihkan kapal dan muatannya dari binatang pengerat.

Sianida sebagai garam Natrium dan Kalium banyak digunakan dalam berbagai proses industri seperti dalam ekstraksi logam mulia dan pembuatan bahan kimia organik, pupuk, rodentisida dan dalam industri pelapisan logam.

Tumbuhan tingkat tinggi, jamur dan bakteri tertentu dapat membebaskan asam sianida. Dalam tumbuhan asam sianida (HCN) dibebaskan dari glikosida sianogenatnya.

Berbagai glikosida sianogenat terdapat pada berbagai tumbuhan misalnya amigdalin pada biji almonds, aprikot dan apel; dhurin pada biji sorghum dan linamarin pada kara dan singkong. Nama kimia bagi amigdalin adalah glukosida benzaldehida sianohidrin; dhurin, glukosida p-hidroksi-benzaldehida sianohidrin; linamarin, glukosida aseton sianohidrin.

Pada penelitian ini akan digunakan singkong sebagai contoh untuk penelitian. Keuntungan penggunaan singkong dalam penelitian adalah: (1) kandungan HCN pada singkong cukup tinggi, (2) mudah didapat.

Dua glikosida sianogenat utama yang terdapat dalam singkong adalah: linamarin dan lotaustralin. Usaha untuk mengurangi kandungan asam sianida dapat dilakukan dengan mengo-

lah singkong dengan cara tradisional (Winarno, 1991). Namun demikian hasil olahan tersebut masih mengandung asam sianida (Onwueme, 1978). Bila makanan yang mengandung glikosida sianogenat dicerna, HCN sangat cepat terserap oleh alat pencernaan masuk ke dalam saluran darah. Tergantung jumlahnya hidrogen sianida dapat menyebabkan sakit bahkan mati. Oleh karenanya diperlukan metoda yang cukup efektif untuk menentukan kadar asam sianida, supaya kadar asam tersebut dapat diketahui secara tepat.

Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah asam sianida, baik secara titrimetri ataupun kolorimetri. Pada penelitian ini dicari kondisi optimum yang dapat digunakan untuk menentukan kadar asam sianida dengan teknik spektrofotometri. Pengukuran jumlah asam sianida dilakukan dengan membiarkan asam sianida yang dibebaskan, bereaksi dengan pikrat alkalin sehingga membentuk kompleks sianida yang spesifik. Kemudian absorbansinya diukur dengan spektrofotometer uv-vis dan dibandingkan dengan larutan standar.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut yang digunakan, suhu dan waktu inkubasi terhadap jumlah asam sianida yang dibebaskan dari singkong.

Hipotesis

1. Jumlah asam sianida yang dibebaskan dari singkong meningkat, dengan meningkatnya suhu dan semakin lamanya waktu inkubasi.
2. Pemberian pelarut yang berbeda akan menyebabkan perbedaan jumlah asam sianida yang dibebaskan dari singkong.

Manfaat Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan akan diperoleh metoda pengukuran HCN yang paling efektif dan efisien. Metoda yang didapatkan direncanakan dapat digunakan untuk menguji produk-produk lain yang mungkin mengang-

dung asam sianida, sehingga dapat diketahui apakah kadarnya dalam ambang batas aman atau tidak.

TINJAUAN PUSTAKA

GLIKOSIDA SIANOGENAT

Distribusi

Glikosida sianogenat merupakan senyawa yang terdapat dalam bahan nabati dan secara potensial sangat beracun karena dapat terurai dan mengeluarkan hidrogen sianida (Ayres, et al 1969).

Kemampuan suatu organisme hidup untuk membebaskan HCN dikenal sebagai sianogenesis. Sianogenesis telah terdeteksi pada sekitar 2000 spesies yang mewakili 110 famili dari Gymnospermae dan Angiospermae, diantaranya : Rosaceae, Leguminosae, Gramineae, Aracaceae, Compositae dan Euphorbiceae (Elly Suradikusumah, 1989).

Montgomery (1980) mengemukakan : sianida pada umumnya dibebaskan dari glikosida sianogenat pada tumbuhan, namun glikosida sianogenat bukan merupakan satu-satunya sumber sianida. Sianida dapat dihasilkan oleh jamur dan bakteri, bahkan juga hewan. Secara umum glikosida sianogenat terdapat pada berbagai bagian tumbuhan yaitu : akar, batang, dahan, daun, bunga dan biji (Conn, 1981).

Glikosida yang umum terdapat dalam bahan pangan adalah amigdalin, dhurin, linamarin dan lotaustralin (Montgomery, 1980). Amigdalin merupakan glikosida aromatik yang ditemukan sebagai zat racun dalam Prunus amigdalus, Dhurin pada biji sorghum dan linamarin terdapat pada kara (lima bean). Linamarin dan lotaustralin adalah glikosida sianogenat yang biasa terdapat bersama-sama dalam Linum usitatissum, Trifolium repens, Lotus corniculatus dan Manihot esculenta (Elly Suradikusumah, 1989 dan Swimmer., 1981).

Beberapa glikosida sianogenat, distribusi dan hasil hidrolisisnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Beberapa Glikosida Sianogenat*

Glikosida	Sumber	Hasil hidrolisis
Amigdalin	Rosaceae: apel, aprikot almonds	gentibiosa+ HCN + benzaldehida
Prunasin	Rosaceae: <u>Eucaliptus cladocalyx</u> ; <u>Linaria striata</u> DC	D-glukosa + HCN + benzaldehida
Sambunigrin	<u>Sambucus nigra</u> L, <u>Acasia</u> sp	D-glukosa+ HCN + benzaldehida
Visianin	<u>Vicia</u> sp	Visianosa + HCN + benzaldehida
Dhurin	<u>Sorghum</u> sp	D-glukosa + HCN + p-hidroksi-benzaldehida
Taxiphillin	<u>Taxus</u> sp	D-glukosa + HCN + p-hidroksiben-zaldehida
Linamarin	<u>Paseolus lunatus</u> L, <u>Linum usita-tissimum</u> L; <u>Manihot</u> sp; <u>Trifolium repens</u> L; <u>Lotus</u> sp; <u>Dimorphoteca</u> sp	D-glukosa+HCN + aseton
Lotaustralin	terdapat bersama-sama dengan linamarin	D-glukosa+ HCN + 2-butanon
Acacipetalin	<u>Acacia</u> sp	D-glukosa + dimetil ketene sianohidrin
Triglochinin	<u>Triglochin</u> <u>maritimum</u> L	D-glukosa+ HCN + asam triglokinat

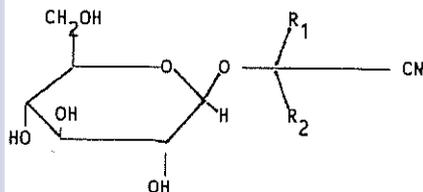
* Sumber : Conn (1971)

Struktur dan Sifat Glikosida

Sianogenat

Glikosida sianogenat terdiri atas gula dan aglikon. R₁ dapat berupa substituen alifatik atau aromatik dan ada pula cincin siklopentana.

Sedangkan R₂ umumnya adalah atom H. Struktur umum glikosida sianogenat dapat dilihat pada gambar 1.

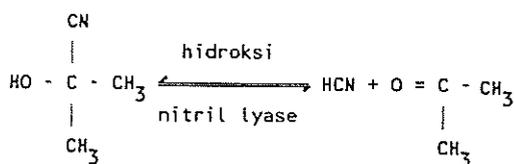


Gambar 1. Struktur Umum Glikosida Sianogenat
 Linamarin: R₁ = CH₃, R₂ = CH₃
 Lotaustralin: R₁ = CH₃, R₂ = C₂H₅
 Sumber: Conn (1981)

Klasifikasi yang baik dari glikosida sianogenat adalah yang berdasarkan asam amino sumber R₁. Sebagai contoh prunasin berasal dari fenilalanin; linamarin dari valin; lotaustralin dari isoleusin; heterorindria dari leusin dan dhurin dari tirosin (Elly Suradikusumah, 1989).

Glikosida sianogenat merupakan senyawa kimia yang relatif stabil pada pH netral.

Pembebasan HCN dari glikosida sianogenat berlangsung dengan dua cara yaitu : dengan hidrolisis enzimatik dan dengan asam. Pada hidrolisis enzimatik untuk linamarin, β-glikosidase merupakan enzim yang memulai reaksi hidrolisis. Reaksi awal dilakukan oleh β-glikosidase terhadap ikatan β-glikosidik antara gula dan aglikon. Selanjutnya lyase akan mengubah sianohidrin menjadi HCN dan keton atau aldehida. Reaksi hidrolisisnya dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hidrolisis Enzimatik pada Linamarin
 Sumber: Conn (1973)

SINGKONG (Manihot esculenta Crantz)

Singkong (Manihot esculenta Crantz) adalah bagian dari famili Euphorbiceae. Singkong merupakan sumber kalori yang penting untuk masyarakat daerah tropik. Komposisi umbi singkong : 62 % air, 35 % karbohidrat, 1-2 % protein, 0,3 % lemak, 1,2 % serat dan 1 % mineral. Mineral utama yang terdapat dalam singkong adalah posfor dan besi. Umbi kayu kaya akan vitamin C dan mengandung sedikit niasin, vitamin A, B₁ dan B₂. Protein dari umbi kayu kaya akan arginin, tetapi sedikit sekali metionin, lisin, triptofan, fenilalanin dan tirosin (Onwueme, 1978 dan Martin, 1984).

Selain kandungan gizi yang telah disebutkan diatas, singkong mengandung sejumlah glikosida sianogenat. Glikosida sianogenat utama adalah : linamarin dan lotaustralin.

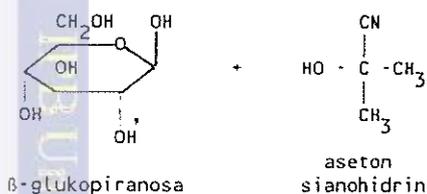
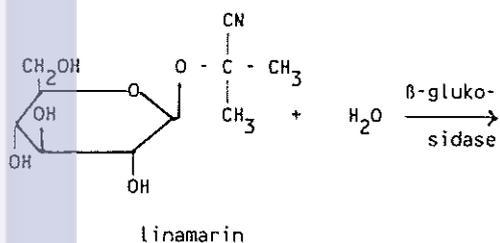
Linamarin disintesis dari asam amino valin sedangkan lotaustralin disintesis dari asam amino isoleusin. Kedua glikosida itu sangat larut dalam air dan cenderung terdekomposisi pada suhu 150°C (Onwueme, 1978).

HCN akan dibebaskan dari glikosida sianogenatnya bila komoditi tersebut dihancurkan, dikunyah, diiris atau rusak (Winarno, 1991)

Kandungan HCN dalam singkong dipengaruhi oleh tempat hidupnya seperti : suhu, ketinggian, keadaan tanah dan curah hujan (Martin, 1984 dan Onwueme, 1978).

Kandungan HCN/asam prusat berbeda, baik pada bagian tanaman seperti daun dan umbi serta tangkai daun. Pada daun kandungan HCN lebih tinggi dibanding umbi, lebih dari 100 kalinya (Onwueme, 1978).

Fukuba dan Evelyn (1984b) mengemukakan : berdasarkan kandungan asam prusat pada umbi, dapat dibedakan tiga jenis singkong yaitu singkong : (1) manis/ tidak beracun.



kandungan HCN kurang dari 50 mg/kg berdasarkan berat basah, (2) sedang, kandungan HCN 50 - 100 mg/kg berat basah, dan (3) pahit/beracun, kandungan HCN lebih dari 100 mg/kg berat basah. Jenis singkong manis biasanya digunakan sebagai bahan pangan (langsung dimakan), sedangkan jenis singkong pahit/racun biasanya digunakan sebagai bahan baku pembuatan tepung tapioka.

Karena kandungan glikosida sianogenat yang ada dalam singkong maka sebelum dimakan kandungan sianida harus dapat dikurangi dengan mengolah singkong. Menurut Winarno (1991) dan Fukuba *et al* (1984) pengolahan tradisional dapat mengurangi bahkan menghilangkan kandungan racun. Misalnya singkong kulitnya dikupas dulu sebelum dimasak, singkongnya dikeringkan, direndam dulu sebelum dimasak dan difermentasi selama beberapa hari. Disamping itu hidrogen sianida akan mudah hilang oleh penggodokkan, bila tidak ditutup rapat.

ASAM SIANIDA (HCN)

Sifat dan Daya Racun Asam

Asam sianida dan garamnya, sangat beracun pada hampir semua makhluk hidup kecuali jamur tertentu (Stewart dan Stolman, 1961). Konsentrasi maksimum yang diperbolehkan untuk HCN adalah 10 ppm. Sedangkan letal dosis untuk asam sianida yang masuk melalui mulut adalah 0.5 - 3.5 mg/kg berat badan. Letal dosis untuk sianida alkalin kira-kira 2 kali letal dosis asam sianida (Elkins, 1959; Stewart dan Stolman, 1961; Montgomery, 1980).

Asam sianida dapat menghentikan oksidasi dari protoplasma dalam jaringan sel. Keracunan pada konsentrasi tinggi menunjukkan gejala-gejala : sakit kepala, kejang dan penghentian saluran pernafasan karena terjadi kelumpuhan pusat pernafasan di otak. Pada konsentrasi rendah, gejala yang nampak adalah : gangguan tenggorokan, berdebar debar, sulit bernafas, mata berair, sakit kepala dan lengan dan kaki menjadi lemas (Jacob, 1949)

Sianida diserap dari saluran pencernaan sebagai HCN atau NaCN. Senyawa ini beracun karena dapat bergabung dengan protein - heme,

seperti sitokrom oksidase dan akan menghambat pernafasan seluler (Conn, 1981).

Conn (1973) mengemukakan bahwa pada dosis letal kematian disebabkan keadaan kekurangan oksigen karena penghambatan enzim sitokrom oksidase. Pada dosis tidak fatal penghambatan pernafasan dapat dicegah selama HCN dapat dihilangkan karena proses pernafasan atau proses detoksifikasi.

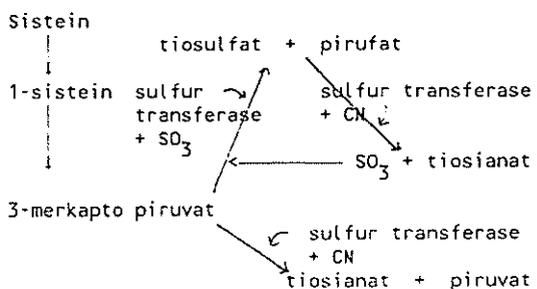
Walaupun adanya sianida diidentikkan dengan adanya racun, namun ada beberapa faktor lain yang menentukan yaitu : ukuran dan jenis subyek, kecepatan penyerapan usus, jenis makanan yang diserap bersama glikosida sianogenat, kehadiran enzim baik dalam tumbuhan ataupun dalam subyek dan kemampuan subyek untuk menetralkan HCN.

Detoksifikasi Asam Sianida

Detoksifikasi HCN dalam hewan dilakukan oleh enzim rhodanese (tiosulfat sulfurtransferase, EC 2.8.1.1). Enzim ini tersebar luas pada jaringan hidup. Konsentrasi terbesar terdapat pada ginjal, hati, kelenjar tiroid, adrenal dan pankreas (Rosental, 1948).

Enzim ini mengkatalisis reaksi :
 $CN^- + S_2O_3^{2-} \longrightarrow SCN^- + SO_3^{2-}$
 tiosianat yang dihasilkan diekskresikan melalui air seni dan air ludah. Walaupun perubahan sianida menjadi tiosianat menunjukkan detoksifikasi dari HCN, tetapi perlu dicatat bahwa tiosianat dalam metabolismenya merupakan penyebab gondok.

Jalur metabolisme lain yang mengubah sianida menjadi tiosianat digambarkan pada gambar 3.



Gambar 3. Perubahan Sianida menjadi Tiosianat
 Sumber : Montgomery (1980).

TEKNIK ANALISIS

Karena HCN sangat volatil, maka analisis harus dilakukan dalam alat yang tertutup. Titrasi dengan menggunakan perak nitrat merupakan metoda standar (AOAC, 1984). Sianida didestilasi kedalam larutan perak nitrat yang diasamkan dengan asam nitrat. Kelebihan perak nitrat dititrasi dengan kalium tiosianat dengan indikator aluminas.

HCN dapat menghasilkan warna bila direaksikan dengan pereaksi tertentu. Ini merupakan dasar baik analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif.

Burns *et al* (1970) menambahkan sianida hasil destilasi kedalam larutan pikrat alkalin dan mendidihkan campuran sehingga menghasilkan warna jingga. Mereka menguji asam sianida dari hijauan.

Metoda kolorimetri asam pikrat didasarkan atas reaksi antara asam sianida dengan pikrat alkalin. Williams (1979) menggunakan pelarut organik untuk membebaskan asam sianida. Sedangkan Gilchrist (1967) membandingkan 2 cara penyiapan standar.

Equivel dan Nelson (1972) mengemukakan suatu metoda cepat untuk uji kualitatif HCN dengan menggunakan benmidin asetat dan menghasilkan warna biru. Reaksi berlangsung selama 3 menit.

Fukuba dan Evelyn (1984b) mengukur jumlah asam sianida pada umbi dan daun singkong. Mereka menggunakan enzim endogenus linamerase untuk membebaskan HCN dan mengukur jumlahnya dengan tiga metoda yaitu : metoda pikrat alkalin, piridin pirazolan dan isotakoelektroforetik. Mereka mendapatkan hasil yang lebih tinggi dengan menggunakan metoda pikrat alkalin.

SPEKTROFOTOMETRI

Spektrofotometri adalah pengukuran berdasarkan interaksi zat dengan radiasi. Berdasarkan signal radiasi elektromagnetik penggunaan spektrofotometri dibagi menjadi empat, yaitu : (a) spektrofotometri absorpsi, (b) spektrofotometri emisi, (c) spektrofotometri scattering, dan (d) spektrofotometri fluoresensi (Anwar Nur dan Hendra Adijuwana, 1989).

Spektrofotometri dapat pula dibagi berdasarkan radiasi yang ada. Spektrofotometri pada daerah ultra violet dan sinar tampak biasanya disebut spektrofotometri uv-vis. Dibandingkan spektrofotometri yang lain, spektrofotometri uv-vis yang paling banyak digunakan dalam analisis biologis. Dari spektrum absorpsi dapat diketahui panjang gelombang yang tepat, yaitu yang memberikan absorbansi maksimum dari suatu unsur atau senyawa. Bila pengukuran tidak dilakukan pada panjang gelombang maksimumnya, maka kesalahan pengukuran akan besar, karena perbedaan konsentrasi yang kecil tidak mengakibatkan perbedaan absorbansi. Pada panjang gelombang maksimum perbedaan konsentrasi yang kecil dari analat memberikan perbedaan absorbansi yang besar.

Konsentrasi suatu unsur atau senyawa dapat dihitung dari absorbansinya. Absorbansi berbanding langsung dengan tebal larutan dan konsentrasi larutan (hukum Lambert-Beer) yaitu:

$$A = a b c$$

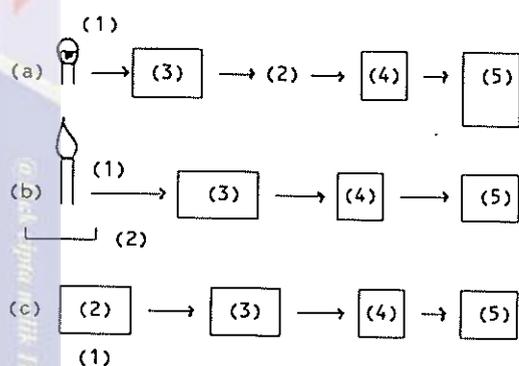
dimana A : absorban
a : konstanta absorptivitas
b : tebal larutan
c : konsentrasi larutan

Jika konsentrasi larutan dinyatakan dalam mol perliter (M) dan tebal larutan dinyatakan dalam sentimeter (cm) maka :

$$A = \epsilon b c$$

dimana ϵ adalah konstanta absorbtivitas molar.

Spektrofotometer umumnya terdiri dari lima komponen pokok, yaitu : (1) sumber radiasi, (2) wadah sampel, (3) monokromator, (4) detektor, (5) rekorder.



Gambar 4. Komponen spektrofotometer : (a) spektrofotometer absorpsi, (b) spektrofotometer emisi, (c) spektrofotometer fluoresensi dan scattering.
Sumber : Anwar Nur dan Hendra Adjuwana (1989)

BAHAN DAN METODA

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Anorganik dan Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor dari bulan April sampai bulan Agustus 1992.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : singkong manis, asam pikrat, kalium sianida, H_2SO_4 1 M, natrium karbonat, kertas saring .

Alat yang digunakan adalah : spektrofotometer uv-vis, inkubator, kuvet serta alat bantu lainnya.

Metoda Penelitian

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan petak terpisah.

Peubah yang Diuji

Pada penelitian ini diuji pengaruh 3 peubah yaitu : suhu, pelarut dan waktu inkubasi, yang masing-masing berturut-turut terdiri dari 2, 2, 5 tingkat. Karena keterbatasan alat, maka dilakukan penelitian dalam 2 tahap yaitu :

1. pengujian pengaruh waktu inkubasi (2, 6, 12, 24, 48 jam), pelarut (asam sulfat dan toluena) pada suhu tertentu ($27^{\circ}C$ atau $40^{\circ}C$).
2. pengujian pengaruh perlakuan waktu inkubasi, pelarut dan suhu setelah dilakukan pengujian waktu pada tahap pertama

Penyiapan Pereaksi

- a. Larutan pikrat alkalin
Dibuat dengan cara melarutkan 12.5 g natrium karbonat dan 2.5 g asam pikrat dalam 500 ml air destilata. Larutan ini mempunyai $pH = 10.8$
- b. Larutan stok sianida
Dilarutkan 0.241 g kalium sianida dalam 1 liter air destilata (ekivalen dengan 0.1 mg HCN per ml larutan).

Pembuatan Kurva Standar

Disiapkan larutan standar dengan konsentrasi : 5.0; 12.5; 25.0; 40.0; 50.0 ppm HCN. Masing-masing dimasukkan kedalam tabung kecil berdiameter 15 mm. Ditambahkan 0.12 ml H_2SO_4 untuk 1 ml KCN. Kertas saring dengan ukuran 3 x 1 cm dicelupkan dalam larutan pikrat alkalin, kemudian dimasukkan dalam dalam tabung yang berisi larutan standar. Pengukuran absorbansi dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 27 C atau 40 C dengan waktu inkubasi : 2 ; 6 ; 12 ; 24 dan 48 jam . Pengukuran dilakukan dengan cara melarutkan kertas saring dalam 10 ml air destilata, dan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer.

Pengukuran HCN pada Contoh

Singkong yang telah dikupas kulitnya, didinginkan sampai suhu $4^{\circ}C$, kemudian diparut. Ditimbang 0.5 g contoh, dimasukkan dalam

tabung kecil dengan diameter 15 mm. Ditambahkan pereaksi untuk membebaskan HCN (H_2SO_4 atau Toluena). Kertas saring dengan ukuran 3 x 1 cm dicelupkan dalam larutan pikrat alkalin, kemudian dimasukkan dalam tabung yang berisi contoh dan diperlakukan sama seperti standar.

Pembuatan Blanko

Untuk blanko digunakan air destilata dan diperlakukan sama seperti standar dan contoh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Asam sianida selain dapat dibebaskan dari glikosida sianogenatnya, terdapat pula walaupun sedikit dalam keadaan bebas yang terakumulasi dalam sel. HCN ini sangat volatil sehingga mudah dilepaskan (Conn, 1973). Oleh karenanya asam sianida yang terukur dalam percobaan ini adalah asam sianida total, baik yang dibebaskan dari glikosida sianogenatnya ataupun dari asam sianida bebas.

Pengukuran HCN yang dilakukan pada percobaan ini dikerjakan setelah diberi perlakuan pelarut dan diinkubasi pada suhu $27^\circ C$ atau $40^\circ C$. Kedua nilai suhu tersebut dipilih untuk mengetahui perbedaan jumlah asam sianida yang dibebaskan pada suhu kamar dan di atas suhu kamar. Titik didih asam sianida adalah $26^\circ C$. Setiap zat menguap secara maksimum pada suhu didihnya, maka diharapkan dengan menggunakan suhu inkubasi di atas titik didih asam sianida, semua asam sianida yang dibebaskan dari singkong dapat dideteksi.

Contoh singkong yang digunakan dalam penelitian ini adalah singkong manis. Singkong ini digunakan masyarakat sebagai bahan pangan.

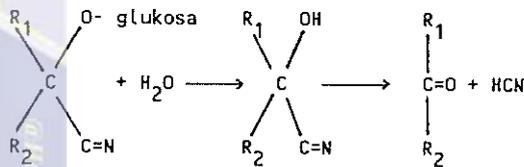
Asam sianida dapat dibebaskan secara spontan dari tumbuhan tingkat tinggi bila terdapat enzim glikosidase khusus dan air. Enzim ini merupakan enzim ekstraseluler, maka hidrolisis akan terjadi setelah ada kerusakan sel. Peneliti-peneliti terdahulu juga telah membuktikan bahwa kecepatan pembebasan HCN sangat tergantung keadaan fisik bahan yang dianalisis. Pamarutan singkong yang dilakukan dalam percobaan ini

akan mempercepat pembebasan asam sianida karena terjadi kerusakan sel secara fisik, sehingga enzim yang ada dalam singkong lebih mudah bertemu dengan glikosida sianogenat yang ada. Pamarutan singkong juga mengakibatkan kontak antara singkong dengan pelarut semakin besar karena permukaannya semakin luas. Dengan demikian diharapkan reaksi pembebasan asam sianida terjadi dengan sempurna.

Hasil yang didapatkan dari pengukuran dengan teknik spektrofotometri ini menunjukkan kandungan asam sianida yang lebih tinggi dari 50 ppm. Menurut Fukuba dan Evelyn (1984b) kandungan asam sianida dalam singkong manis kurang dari 50 ppm. Ada beberapa faktor yang menentukan kadar asam sianida yang terkandung dalam umbi singkong. Tanaman yang tumbuh pada daerah dengan kandungan kalium rendah dan kandungan nitrogen tinggi maka kandungan asam sianidanya tinggi. Demikian pula untuk singkong yang tumbuh di daerah yang basah kandungan asam sianidanya lebih tinggi dibandingkan dengan singkong yang tumbuh di daerah kering (Onwueme, 1978). Faktor umur juga merupakan faktor lain yang menentukan kandungan asam sianida. Dengan semakin meningkatnya lama penanaman kandungan asam sianida meningkat sampai titik tertentu dan kemudian menurun (Sinha dan Nair, 1968 dalam Onwueme, 1978).

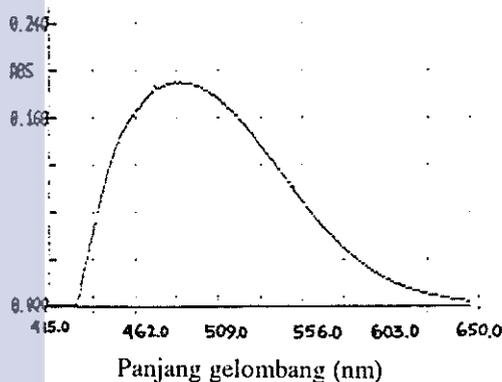
Dalam penelitian ini digunakan pelarut asam sulfat dan toluena yang masing-masing mewakili golongan pelarut organik dan anorganik. Asam sulfat dipakai karena hidrolisis dapat dilakukan dengan asam. Hasil penelitian Williams (1979) menunjukkan bahwa HCN yang dibebaskan dengan menggunakan toluena hasilnya sedikit lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan pelarut organik lainnya (kloroform dan benzena). Pemilihan toluena didasarkan atas daya racunnya yang rendah, kurang volatil serta harganya lebih murah dibandingkan dengan kedua pelarut di atas. Volume pelarut yang ditambahkan juga mempengaruhi jumlah asam sianida yang terukur. Hal ini disebabkan oleh kelarutan asam sianida dalam pelarut tersebut. Reaksi umum hidrolisis sianogenat terlukis pada Gambar 5.

Asam sianida yang terbentuk dari reaksi, akan bereaksi dengan larutan pikrat alkalin yang ada pada kertas saring membentuk senyawa



Gambar 5. Reaksi umum hidrolisis glikosida sianogenat.

natrium isopurpurat yang berwarna merah tua (Gilchrist, 1967). Konsentrasi larutannya ditentukan dengan cara mengukur absorbansinya pada 472 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan karena dari spektrum absorbansinya terlihat bahwa serapan maksimum senyawa itu terjadi pada panjang gelombang 472 nm (Gambar 6). Pengukuran pada panjang gelombang maksimum dimaksudkan untuk mengurangi kesalahan akibat pengukuran. Pada panjang gelombang maksimum perbedaan konsentrasi yang kecil akan menimbulkan perbedaan absorbansi yang besar.



Gambar 6. Spektrum absorpsi natrium isopurpurat

Dalam hasil pengamatan nilai absorbansi telah dihitung dengan hukum Lambert-Beer untuk mendapatkan nilai kadar asam sianida dalam $\mu\text{g/g}$ atau ppm.

Pengaruh pelarut

Secara umum perlakuan pelarut yang diberikan untuk membebaskan HCN dalam percobaan ini hasilnya berbeda nyata. (Tabel Lampiran 1,3, dan 5). Kedua jenis pelarut yang

digunakan berbeda cara kerja dalam membebaskan HCN.

Pembebasan asam sianida dari glikosida sianogenatnya dapat dilakukan dengan asam atau dengan hidrolisis enzimatik. Sebagai asam, H_2SO_4 akan menghidrolisis glikosida sianogenat secara langsung, sedangkan toluena akan memperbesar kontak antara enzim endogenus linamerase, yaitu enzim yang menghidrolisis glikosida sianogenat dalam singkong, dengan glikosida sianogenat yang ada melalui pemecahan sel (Corsey, 1973 dalam Williams, 1979). Peneliti sebelumnya mengemukakan bahwa penambahan enzim linamerase ke dalam homogenat singkong tidak meningkatkan jumlah asam sianida yang dibebaskan. Jadi aktivitas enzim endogenus linamerase telah cukup untuk menghidrolisis glikosida sianogenat secara sempurna (Brujn, 1971 dalam Williams, 1979).

Hasil yang didapat dari pengujian pada tahap 1, menunjukkan asam sianida yang dibebaskan dari singkong pada masing-masing nilai suhu. Pada suhu inkubasi 27°C penggunaan pelarut toluena memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan asam sulfat. Untuk pelarut asam sulfat, waktu inkubasi 2, 6, 12 dan 48 jam jumlah asam sianida yang dibebaskan tidak berbeda nyata, sedangkan untuk waktu inkubasi 24 jam hasilnya menurun. Hasil yang didapat dengan pelarut toluena tidak berbeda nyata antara lima perlakuan waktu inkubasi.

Pada penggunaan suhu yang lebih tinggi, penggunaan pelarut asam sulfat juga memberikan hasil yang lebih kecil dibandingkan toluena. Jumlah asam sianida yang dibebaskan tidak jauh berbeda untuk waktu inkubasi 2 dan 48 jam. Demikian juga dengan waktu inkubasi 6, 12 dan 24 jam. Bila kedua kelompok waktu tersebut dibandingkan hasil yang lebih kecil didapat pada kelompok waktu inkubasi 6, 12 dan 48 jam.

Glikosida sianogenat yang terdapat dalam singkong adalah linamarin dan lotaustrolin. Menurut Wood (1966 dalam Conn, 1981) perlakuan asam tidak konsisten untuk linamarin, sehingga hasilnya tidak jelas.

Penggunaan pelarut toluena untuk suhu inkubasi 40°C , cenderung meningkatkan jumlah asam sianida yang dibebaskan dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Waktu inkubasi 48 jam memberikan hasil maksimum.

Pengaruh Waktu Inkubasi dan interaksinya dengan Pelarut

Pengukuran waktu inkubasi yang dilakukan pada 2 nilai suhu yang berbeda memberikan hasil sebagai berikut : waktu inkubasi yang paling lama (48 jam) memberikan hasil yang maksimum untuk asam sianida yang dibebaskan dengan toluena. Kecenderungan yang sama terjadi dengan asam sianida yang dibebaskan dengan asam sulfat.

Pada waktu penggunaan pelarut toluena yang terjadi adalah hidrolisis enzimatis. Dengan semakin lamanya waktu inkubasi semakin banyak kesempatan enzim untuk berinteraksi dengan glikosida sianogenat yang ada sehingga hidrolisis terus berlangsung dan asam sianida yang dibebaskan semakin banyak.

Ketidak konsistenan asam dalam menghidrolisis linamarin menyebabkan kecenderungan jumlah asam sianida yang dibebaskan dengan semakin lamanya waktu inkubasi tidak jelas.

Penggunaan pelarut toluena pada suhu inkubasi 27°C memberikan hasil yang berbeda dengan penggunaan pelarut tersebut pada suhu inkubasi 40°C (Tabel 2 dan 3). Waktu inkubasi 48 jam pada suhu inkubasi 27°C memberikan hasil lebih kecil dari pada yang dibebaskan pada waktu inkubasi 24 jam (Tabel 2). Tetapi secara keseluruhan perbedaan waktu inkubasi tidak mengakibatkan perbedaan hasil yang nyata. Hal ini diperkirakan karena semua glikosida sianogenat yang ada sudah dihidrolisis, sehingga walaupun bertambahnya waktu inkubasi mengakibatkan semakin banyak kesempatan enzim untuk bekerja, namun karena glikosida sianogenat sudah tidak ada lagi maka tidak akan menambah jumlah asam sianida yang dihasilkan.

Pengaruh Suhu dan Interaksinya dengan Pelarut

Hasil pemberian perlakuan suhu inkubasi 27°C dan 40°C secara bersama-sama dapat dilihat pada tabel 4. Dari tabel tersebut tampak bahwa untuk penggunaan asam sulfat, relatif tidak ada perbedaan jumlah HCN yang dibebaskan pada suhu 27°C dan 40°C. Pada penggunaan toluena, HCN yang dibebaskan pada suhu 40°C tampak lebih banyak daripada yang dibe-

baskan pada suhu 27°C. Disinipun tampak bahwa toluena membebaskan HCN lebih banyak dari pada H₂SO₄.

Enzim yang menghidrolisis glikosida sianogenat pada singkong akan rusak pada suhu diatas 75°C (Onwueme, 1978). Dengan demikian diharapkan pada suhu 27°C dan 40°C enzim tersebut masih aktif. Bila diperkirakan bahwa enzim tersebut baru rusak pada suhu diatas 75°C, maka dapat diharapkan bahwa aktivitas enzim pada suhu 40°C, lebih tinggi daripada aktivitasnya pada suhu 27°C.

Perbedaan yang nyata hanya terjadi karena perbedaan pelarut. Sebagaimana telah dibahas diatas, penggunaan pelarut toluena akan memberikan hasil yang lebih tinggi.

Tabel 2. Konsentrasi HCN Dalam $\mu\text{g/g}$ Singkong Berdasar Berat Basah, Pada Suhu Inkubasi 27°C

Waktu Inkubasi (jam)	Ulangan	Pelarut	
		H ₂ SO ₄ (1M)	Toluena
2	1	58.53	62.28
	2	61.91	63.99
	3	56.42	78.66
6	1	48.55	66.46
	2	45.18	68.28
	3	59.17	49.11
12	1	50.35	75.63
	2	52.58	59.60
	3	52.30	61.86
24	1	15.77	71.86
	2	12.08	82.31
	3	3.76	74.32
48	1	76.31	71.09
	2	44.68	73.54
	3	70.77	78.75

Tabel 3. Konsentrasi HCN Dalam $\mu\text{g/g}$ Singkong Berdasar Berat Basah, Pada Suhu Inkubasi 40°C

Waktu Inkubasi (jam)	Ulangan	Pelarut	
		H_2SO_4 (1M)	Toluena
2	1	48.54	49.27
	2	54.35	48.47
	3	42.72	51.97
6	1	17.90	59.53
	2	11.90	52.00
	3	14.90	47.31
12	1	12.32	67.71
	2	14.45	72.41
	3	22.55	64.30
24	1	7.63	77.79
	2	22.38	74.60
	3	8.52	62.11
48	1	57.51	90.01
	2	52.78	82.32
	3	43.92	71.68

Tabel 4. Konsentrasi HCN Dalam $\mu\text{g/g}$ Singkong Berdasar Berat Basah, Pada Suhu Inkubasi 27 dan 40°C

Waktu Inkubasi (jam)	Ulangan	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)			
		Pelarut			
		27		40	
		H_2SO_4 1M	Toluena	H_2SO_4 1M	Toluena
2	1	13.75	17.50	9.79	55.21
	2	4.38	20.88	18.39	61.61
	3	9.07	37.02	17.17	37.65
6	1	7.17	31.34	14.56	76.01
	2	28.14	26.25	22.24	80.00
	3	24.02	40.53	16.58	80.18

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Untuk membebaskan asam sianida dalam singkong dapat dilakukan dengan pelarut asam sulfat dan toluena. Toluena lebih baik dalam menghidrolisis glikosida sianogenat yang ada dalam singkong.

Pada suhu inkubasi 27°C dan 40°C, jumlah HCN yang dibebaskan dengan pelarut toluena untuk waktu inkubasi 2 jam dan 48 jam sedikit berbeda. Dengan demikian waktu inkubasi 2 jam bisa mencukupi.

HCN yang dibebaskan dengan toluena pada suhu 40°C baik untuk waktu inkubasi 2 jam dan 6 jam, lebih banyak daripada yang dibebaskan pada suhu 27°C.

Secara keseluruhan dapat diambil kesimpulan bahwa pengukuran HCN akan efisien bila digunakan pelarut toluena, dengan waktu inkubasi 2 jam pada suhu 40°C.

Saran

Penelitian ini dilakukan hanya pada contoh singkong. Singkong mengandung dua glikosida sianogenat utama yaitu : linamarin dan lotaustralin. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk contoh bahan pangan dengan kandungan glikosida sianogenat yang lain.

Nilai suhu yang digunakan dalam penelitian ini hanya dua nilai suhu, sehingga suhu yang optimum belum bisa dipastikan. Oleh karenanya perlu juga dicoba penggunaan nilai suhu yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar Nur, M. dan Hendra Adijuwana. 1989. Teknik Spektroskopi dalam Analisa Biologis. PAU-Ilmu Hayat-IPB. Bogor.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 1984. 15th ed. Washington. DC.
- Ayres, J. C., A. A. Kraft., H. E. Synder and H.W. Walker. 1969. Chemical and Biological Hazard in Food. Hafner Publishing Company. New York. 13-23
- Brookes, Vincent. J. and Morris B. Jacobs. 1958. Poisons. 2nd ed. D. Van Nostrand Company, Inc. New York.
- Burns, J.C., L.H. Smith, W. J. Moline, W. E. Wedin, C. H. Noller and C.L. Rhykerd., 1970. Quantification of Hydrocyanic Acid in Green Forage. In Crop Science : Vol 10. 578-581
- Conn, E. E. 1973. Cyanogenetic Glycosides. In Toxicant Naturally in Food. 2nded. National Academy of Science. Washington, D. C. 299-451
- Conn, E. E. 1981. Unwanted Biological Substance in Food : Cyanogenetic Glycosides. In Impact Toxicology on Food Processing. Ayres, John C and John C. Kirsman (editor). AVI Publishing Company,inc. Westport. 105-121
- Elkins, Hervey B. 1959. The Chemistry of Industrial Toxicology. 2nded. John Willey & Sons, Inc. New York.
- Elly Suradikusumah. 1989. Kimia Tumbuhan. PAU-Ilmu Hayat IPB. Bogor.
- Fukuba, Hiroyasu and Evelyn Mae T. Mendoza. 1984a. Intestinal Absorbtion of Linamarin-The Main Cyanogenetic Glycosides in Cassava. Tropical Root Crops : Postharvest Physiology : 313-317.
- Fukuba, Hiroyasu. and Evelyn Mae T. Mendoza. 1984b. Determination Cyanide in cassava. In Tropical Root Crops : Postharvest Physiology : 171-181.
- Fukuba, Hiroyasu. and Evelyn Mae T. Mendoza. Osamu igarashi and Criselda M. Briones. 1984. Cyanogenetic Glycosides in Cassava and Cassava Product : Determination and Detoxification. In Tropical Root Crops : Postharvest Physiology : 225-234.

- Gilchrist, D.G., W.E. Lueschen and C.N. Hittle. 1967. Revised Method for Preparation of standarts in the Sodium Picrate Assay of HCN. *Crop Science* 7 : 267-268.
- Guttler, G. C. 1978. Principles of Ecotoxicology. John Willey & Sons. Chicester. 155-157
- Jacob, Morris B. 1949. The Analytical Chemistry of Industrial Poissons Hazard and solven. 2nd ed. Interscience Publisher, Inc. Princenton. 445-457
- Lehninger. 1988. Dasar - dasar Biokimia. Di-terjemahkan oleh Maggy Thenawidjaja. Erlangga. Jakarta
- Martin, Franklin W. 1984. Handbook of Tropical Root Crops. CRC Press, Boca Raton.
- Macmillan, H. F.. 1956. Tropical Planting and Gardening. 5thed. Macmillan & Co LTD.New York.
- Montgomery, R.D. 1980. In Toxic Constituen of Plant Foodstuff. Irvin E. Liener (editor). Academic Press. New York. 142-253
- Onwueme, I. C. 1978. The Tropical Tuber Crops. John Willey & Sons. Chicester.
- Schwimmer, Sigmund. 1981. Source Book of food Enzymology. The AVI publishing Company,Inc. Westport. Connicticut. USA.
- Stewart,C.P., and A. Stolman. 1961. Toxicology Mecanism and Analytical Methods. Vol II. Academic Press. New york.
- Williams. Hugh J. 1979. Estimation of Hydrogen Cyanide Released from Cassava by Organic Solven. *Expl Agric* 15: 393-399.
- Winarno. F. G. 1991. kimia Pangan. Gramedia, Jakarta.



LAMPIRAN

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip, salin, atau menyalin dalam bentuk apa pun tanpa izin pencipta dan dipublikasikan kembali.
2. Perizinan lainnya untuk kesetiaan dapat disediakan, persetujuan, penilaian karya ilmiah, pemrosesan laporan, penelitian atau penelitian untuk masalah.
3. Perizinan tidak merupakan persetujuan yang wajar IPB University.
4. Dilarang menggunakan atau menyalin karya ilmiah atau karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 1. Analisis Keragaman Untuk Suhu 27°C

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F
Blok (R)	2	54.83	27.41	< 1
Waktu Inkubasi	4	2252.29	563.07	10.27**
Galat (a)	8	438.67	54.83	
Pelarut (P)	3616.37	3616.37	39.97**	
W X P	4	3593.57	898.39	9.93**
Galat (b)	10	904.67	90.47	
TOTAL	29	10860.40		

** = nyata pada taraf 1 %

ns = tidak nyata

Tabel Lampiran 2. Rata-Rata W x P Pada Suhu 27°C

Waktu Inkubasi	H ₂ SO ₄	Toluena	W-Rata-rata	Perbedaan
2	58.95 a	68.31 a	63.63	-9.36ns
6	50.97 a	61.28 a	56.13	-10.31ns
12	51.74 a	65.70 a	58.72	-13.96ns
24	10.54 b	76.16 a	43.35	-65.62**
48	63.92 a	74.46 a	69.19	-10.54ns
P-Rata-rata	47.22	69.18	58.20	-21.96

Tabel Lampiran 3. Analisis Keragaman Untuk Suhu 40°C

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F
Blok (R)	2	216.62	108.31	2.72ns
Waktu Inkubasi	4	3578.38	894.59	22.45**
Galat (a)	8	318.80	39.85	
Pelarut (P)	1	9687.63	9687.63	367.84**
W X P	4	3000.16	750.04	28.48**
Galat (b)	10	263.36	26.34	
TOTAL	29	17064.94		

** = nyata pada taraf 1 %

ns = tidak nyata

Tabel Lampiran 4. Rata-Rata W x P Pada Suhu 40°C

Waktu Inkubasi	H ₂ SO ₄	Toluena	W-Rata-rata	Perbedaan
2	48.54 a	49.90 c	49.22	-1.36ns
6	14.90 b	52.95 c	33.92	-38.05**
12	16.44 b	68.14 b	42.29	-51.70**
24	12.85 b	71.50ab	42.17	-58.65**
48	51.40 a	81.34a	66.37	-29.94**
P-Rata-rata	28.83	64.77	46.80	-35.94

** = nyata pada taraf 1 %

ns = tidak nyata

Tabel Lampiran 5. Analisis Keragaman Untuk Suhu 27°C dan 40°C

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F
Blok (R)	2	112.40	56.20	-
Waktu Inkubasi (W)	1	871.22	871.22	35.27
Galat (a)	2	49.39	24.70	
Suhu (S)	1	2191.53	2191.53	27.39
W X S	1	50.75	50.75	0.63
Galat (b)	4	319.99	80.00	
Pelarut (P)	1	5982.52	5982.52	91.11**
W X P	1	172.16	172.16	2.62
S X P	1	1750.02	1750.02	26.65**
W X S X P	1	287.73	287.73	4.38
Galat (c)	8	525.33	65.67	
TOTAL	29	17064.94		

** = nyata pada taraf 1 %

Tabel Lampiran 6. Rata-Rata W x S X P Untuk Suhu 27°C dan 40°C

Waktu Inkubasi	H ₂ SO ₄	Toluena	W-Rata-rata	Perbedaan
2				
H ₂ SO ₄	9.07	15.12	12.09	-6.05
Toluena	25.13	51.49	38.31	-26.36
6				
H ₂ SO ₄	19.78	17.79	18.79	1.99
Toluena	32.71	78.73	55.72	-46.02
S-Rata-rata	21.67	40.78	31.23	-19.11

Tabel Lampiran 7. Rata-Rata S X P Untuk Suhu 27°C dan 40°C

Pelarut (P)	27°C	40°C	P-Rata-rata	Perbedaan
H ₂ SO ₄	14.42 b	16.45 b	15.44	-2.04
Toluena	28.92 a	65.11 a	47.01	-36.19
6				
S-Rata-rata	21.67	40.78	31.23	-19.11

a, b, ... = huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata