

**PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KADAR SIANIDA
DALAM MINUMAN KOPI MENGGUNAKAN
SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Gelar Sarjana Sains (S.Si.) Program Studi Kimia
Pada Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta**



Diajukan oleh:

TENGGU OLIVYASYA DA LINGGA

No Mhs: 19612097

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2023

LEMBAR PENGESAHAN

PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KADAR SIANIDA DALAM
MINUMAN KOPI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

SKRIPSI

yang diajukan oleh:

TENGGU OLIVYASYA DA LINGGA

No Mhs: 19612097

Telah Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Prodi Ilmu Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal 24 Maret 2023

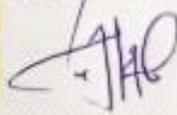
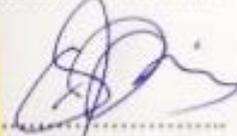
Dosen Penguji

Tanda Tangan

1. Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

2. Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M. Si.

3. Ika Yanti, M.Sc.



Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

NIDN. 006120101/0504057101

Pernyataan Keaslian Tulisan

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tengku Oliviyasya Da Lingga

NIM : 19612097

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan skripsi saya yang berjudul “**PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KADAR SIANIDA DALAM MINUMAN KOPI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**” bersifat asli dan tidak berisi material yang telah diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan di dalam skripsi ini. Apabila terdapat kontribusi penulis lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan di dalam skripsi ini. Apabila kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh rasa tanggung jawab.

Yogyakarta, 6 April 2023

Yang menyatakan,



Tengku Oliviyasya Da Lingga
NIM. 19612097

KATA PENGANTAR



Assalamu 'alaikum Wr Wb

Alhamdulillah rabbilalamin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KADAR SIANIDA DALAM MINUMAN KOPI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS”** dengan lancar. Tujuan penyusunan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana sains (S.Si.) Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

Dalam proses penyusunan skripsi ini, penyusun mendapatkan bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati perkenankanlah penulis menyampaikan rasa hormat dan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW yang selalu memberikan kasih dan sayang serta petunjuk bagi hamba-Nya.
2. Bapak, Bunda, dan Abrar, beserta seluruh keluarga besar yang senantiasa mendoakan, memberikan dorongan, motivasi, dan bantuan baik moril maupun materil dalam penyusunan skripsi ini.
3. Prof. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. Selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
4. Prof. Riyanto, M.Sc., Ph.D. Selaku Dekan FMIPA UII dan dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta senantiasa memberikan arahan, masukan, dan juga solusi selama proses pengerjaan skripsi ini hingga selesai.
5. Bapak Gani Purwiandono, S.Si., M.Sc., Ph.D. Selaku ketua Program Studi Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia

6. Mas Thoriq, Anas, Jihan, Nadhra, Naurah, dan Naura, serta teman–teman seperjuangan yang selalu menemani, memberikan dukungan, dan semangat selama proses penyusunan sampai selesai.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kesempurnaan, masih banyak kekurangan, oleh karena itu diharapkan saran dan kritik yang dapat membangun untuk perbaikan serta kesempurnaan skripsi dan diharapkan dengan adanya skripsi ini dapat bermanfaat oleh pembaca.

Wassalaamu'alaikum Warahmatullaahi Wabarakaatuh

Yogyakarta, 30 Maret 2023

Tengku Olivasya Da Lingga

الجامعة الإسلامية
الاستدراكية

PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KADAR SIANIDA DALAM MINUMAN KOPI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

INTISARI

Tengku Olivyasya Da Lingga

No. Mhs: 19612097

Sianida merupakan salah satu jenis anion dalam bentuk CN^- yang memiliki sifat toksik yang mematikan dan cepat aktif di dalam tubuh hingga dapat menyebabkan kematian. Metode analisis sianida dalam minuman kopi pada penelitian ini dilakukan dengan pemisahan sianida menggunakan destilasi dengan bantuan asam pekat HCl untuk membentuk gas HCN. Hasil destilasi kemudian diukur konsentrasinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan memanfaatkan pembentukan larutan hidrindantin berwarna merah oleh ion CN^- dan pereaksi ninhidrin 1% dengan bantuan suasana alkali oleh larutan Na_2CO_3 . Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh larutan hidrindantin merah memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 487 nm dan saat dilakukan penambahan NaOH 1 M larutan akan berubah menjadi warna biru dengan panjang gelombang maksimum 592 nm. Hasil pengukuran kestabilan warna larutan diperoleh bahwa larutan hidrindantin merah membentuk larutan yang stabil setelah 40 menit. Adapun larutan hidrindantin berwarna biru hanya stabil pada 15 menit pertama dan setelahnya akan mengalami penurunan intensitas warna yang signifikan. Optimasi konsentrasi Na_2CO_3 dan volume ninhidrin 1% diperoleh absorbansi yang optimal pada konsentrasi Na_2CO_3 6000 mg/L dan volume ninhidrin 1% sebanyak 0,5 mL. Hasil penilaian analisis minuman kopi menunjukkan metode ini memiliki nilai %*Recovery* sebesar 98,17% dan 100,44% yang menunjukkan bahwa metode ini akurat.

Kata Kunci : sianida, destilasi, spektrofotometer UV-Vis, kopi, hidrindantin.

DEVELOPMENT OF ANALYSIS METHODS FOR CYANIDE LEVELS IN COFFEE BEVERAGES USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETER

ABSTRACT

Tengku Oliviyasya Da Lingga

No. Mhs: 19612097

Cyanide is a type of anion in the form of CN^- which has toxic properties and is quickly active in the body so that it can cause death. The method of analyzing cyanide in coffee drinks in this study was carried out by separating cyanide using distillation with the help of concentrated acid HCl to form HCN gas. The distillation results were then measured for their concentration using a UV-Vis spectrophotometer by utilizing the formation of a red hydrindantin solution by CN^- ions and 1% ninhidrin reagent with the help of an alkaline condition by Na_2CO_3 solution.

Based on the research that has been done, it is obtained that the red hydrindantin solution has a maximum wavelength of 487 nm and when 1 M NaOH is added the solution will turn blue with a maximum wavelength of 592 nm. The results of the measurement of the color stability of the solution obtained that the red hydrindantin solution formed a stable solution after 40 minutes. The blue hydrindantin solution is only stable in the first 15 minutes and thereafter will experience a significant decrease in color intensity. Optimization of Na_2CO_3 concentration and 1% ninhidrin volume obtained optimal absorbance at a Na_2CO_3 concentration of 6000 mg/L and 1% ninhidrin volume of 0.5 mL. The coffee drink analysis assessment results show that this method has a %Recovery value of 98,17% and 100,44%, which indicates that this method is accurate.

Keywords: cyanide, distillation, UV-Vis spectrophotometer, coffee, hydrindantin

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
INTISARI	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Manfaat penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Analisis Kandungan Sianida Dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis...6	
2.2 Pemisahan Sianida dengan Teknik Destilasi.....	7
BAB III DASAR TEORI	9
3.1 Sianida.....	8
3.2 Kopi.....	14
3.3 Metode Analisis Sianida	16
3.4 Destilasi.....	17
3.5 Spektrofotometer UV-Vis	18
BAB IV METODE PENELITIAN	21
4.1 Alat dan Bahan.....	21
4.1.4 Alat.....	21
4.1.2 Bahan	21
4.2 Cara Kerja	21
4.2.1 Optimasi Analisis Sianida dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	21

4.2.1.1 Preparasi Reagen dan Analit	21
4.2.1.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Sianida	22
4.2.1.3 Pengukuran Stabilitas Warna Larutan Hidridantin	22
4.2.1.4 Optimasi Konsentrasi Na ₂ CO ₃	22
4.2.1.5 Optimasi Volume Ninhidrin.....	23
4.2.1.6 Pengukuran Kurva Kalibrasi Standar Sianida.....	23
4.2.2 Aplikasi Analisis Sianida dalam Minuman Kopi.....	23
4.2.2.1 Preparasi Reagen dan Analit	23
4.2.2.2 Preparasi Sampel	24
4.2.2.3 Analisis Sianida dalam Minuman Kopi	24
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	25
5.1.Optimasi Analisis Sianida dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	25
5.1.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Hidrindantin.....	26
5.1.2. Pengukuran Stabilitas Warna Larutan Hidrindantin	28
5.1.3. Optimasi Konsentrasi Na ₂ CO ₃	31
5.1.4. Optimasi Volume Ninhidrin.....	33
5.1.5. Pengukuran Kurva Kalibrasi Standar Sianida.....	36
5.2.Aplikasi Analisis Sianida dalam Minuman Kopi.....	37
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
6.1.Kesimpulan	42
6.2.Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Sifat Fisik Dan Kimia Pada Beberapa Senyawa Sianida Terpilih	10
Tabel 2	Batas Maksimum Kandungan Asam Sianida Dalam Produk Pangan	13
Tabel 3	Komponen Yang Terkandung di Dalam Kopi.....	15
Tabel 4	Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Na_2CO_3	32
Tabel 5	Data Perolehan Destilasi Kopi dan Sianida.....	38
Tabel 6	Konsentrasi Sianida Hasil Destilasi.....	40
Tabel 7	Data Validasi Metode Analisis Sianida dalam Minuman Kopi.....	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Bentuk Molekul Hidrogen Sianida (HCN)	11
Gambar 2	Reaksi Pembentukan Hidrindantin	17
Gambar 3	Rangkaian Alat Destilasi Sederhana	18
Gambar 4	Ilustrasi Kerja Spektrofotometer UV-Vis	19
Gambar 5	Larutan Hidrindantin Merah dan Hasil Spektra UV-Vis	26
Gambar 6	Larutan Hidrindantin Merah dan Hasil Spektra UV-Vis	27
Gambar 7	Kestabilan Larutan Hidrindantin Merah	28
Gambar 8	Warna Larutan Hidrindantin Merah	29
Gambar 9	Warna Larutan Hidrindantin Biru	30
Gambar 10	Kestabilan Larutan Hidrindantin Biru	30
Gambar 11	Larutan dan Spektra Hidrindantin Variasi Konsentrasi Na_2CO_3	33
Gambar 12	Warna Hidrindantin Variasi Volume Ninhidrin dan Spektra Hasil ..	35
Gambar 13	Larutan Standar dan Kurva Kalibrasi Hidrindantin Merah	37
Gambar 14	Reaksi Pemisahan Sianida dari Minuman Kopi	38
Gambar 15	Reaksi Pembentukan Hidrindantin Merah dari Hasil Destilasi	39
Gambar 16	Hasil Destilasi Kopi dan Hidrindantin Merah yang Terbentuk	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Toksisitas sianida umumnya dianggap sebagai racun yang mematikan yang sekarang cukup banyak dikenal oleh masyarakat luas. Hal ini disebabkan oleh beberapa kasus kriminal yang dilakukan dengan menggunakan sianida untuk menyakiti korban. Sianida umumnya dipergunakan sebagai bahan untuk upaya bunuh diri, senjata perang, hingga pembunuhan massal (Cahyawati, *et al.*, 2017). Sianida merupakan suatu senyawa yang terdapat dalam berbagai fasa yaitu dalam bentuk gas, padat, maupun cair. Sianida tergolong ke dalam senyawa kimia yang paling cepat aktif dalam tubuh sehingga mampu menyebabkan kematian dalam beberapa menit (Yuningsih, 2012). Senyawa sianida ini dapat terbentuk secara alami maupun hasil sintesis dan dapat memiliki sifat racun yang sangat kuat dengan kinerja racun yang cepat (Cahyawati, *et al.*, 2017).

Secara spesifik, sianida dapat dikatakan sebagai anion CN^- yang biasanya dapat ditemukan dalam bentuk senyawa asam, senyawa kompleks, dan garam. Asam sianida atau hidrogen sianida (HCN) merupakan salah satu senyawa yang kerap digunakan sebagai racun. Senyawa ini dapat ditemukan dalam bentuk gas dan cairan yang memiliki warna biru pucat pada suhu ruangan. Sifat senyawa HCN ini adalah *volatile*, mudah terbakar, dan mudah berdifusi dengan udara sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi di udara dan menyebabkan keracunan pada makhluk hidup karena paparan melalui saluran pernafasan. Selain itu asam sianida juga memiliki sifat mudah larut di dalam air yang menyebabkan senyawa ini sering digunakan sebagai racun dengan mencampurkannya ke dalam minuman (Suudah, *et al.*, 2015).

Bentuk lain dari sianida adalah garam sianida seperti natrium sianida dan kalium sianida. Ciri kedua jenis garam ini adalah berbentuk serbuk putih dan memiliki aroma khas almond. Kedua garam ini juga memiliki kelarutan yang sangat baik di dalam air sehingga penggunaannya sebagai racun yang dicampurkan kedalam minuman dan makanan tak jarang ditemui (Cahyawati, *et al.*, 2017).

Karena sifatnya yang mudah larut di dalam air, sianida biasa dicampurkan ke dalam panganan. Senyawa sianida memiliki tingkat toksisitas yang tinggi dan paling cepat aktif di dalam tubuh sehingga jika dikonsumsi secara sengaja maupun tidak dalam dosis yang melebihi batas aman akan menyebabkan kematian hanya dalam waktu beberapa menit (Yuningsih, 2012). Salah satu jenis pangan yang bisa dijadikan campuran bagi racun ini adalah berbagai jenis minuman berwarna seperti kopi. Kopi merupakan minuman yang digemari oleh berbagai kalangan. Efek candu yang diberikan dengan mengkonsumsi kopi disebabkan oleh kandungan kafein yang dimilikinya. Hal ini menjadikan kopi sebagai minuman dengan perkembangan yang cepat dan dapat terlihat dari semakin banyaknya inovasi baru minuman kopi yang dijual di pasaran. Kopi memiliki berbagai kelebihan sehingga bisa dijadikan sebagai medium “racun” sianida. Kopi memiliki aroma yang kuat dan khas, aroma kopi ini mampu menutupi dan berbaur dengan aroma almond yang dihasilkan dari senyawa sianida terutama dalam bentuk garam sianida. Selain itu minuman kopi dalam jenis apapun umumnya memiliki kecenderungan berwarna gelap, sehingga dapat menutupi warna kebiruan yang dimiliki oleh senyawa asam sianida.

Kedua faktor di atas menyebabkan sulitnya analisis kandungan sianida pada minuman kopi. Sehingga diperlukan metode yang mudah, cepat, dan akurat mengingat sifat sianida yang mudah menguap yang tentunya akan berpengaruh pada hasil jika tidak segera dianalisis. Beberapa metode standar yang biasa digunakan dalam analisis sianida, diantaranya adalah metode pengukuran CN^- total dengan destilasi, metode pengukuran *Amenable* CN^- , metode pengukuran CN^- WAD dengan destilasi, metode penentuan CN^- WAD dengan asam pikrat, metode penentuan CN^- *free* dengan perak nitrat, metode penentuan CN^- *free* dengan elektroda ion selektif, metode kromatografi ion, dan metode penentuan sianida reaktif dengan USEPA *test* (Pitoy, 2014).

Melalui penelitian ini akan dilakukan analisis kadar sianida dengan menggunakan metode pemisahan dengan destilasi dan pengukuran kadar dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prinsip kerja metode ini adalah dengan melakukan pemisahan senyawa sianida dari minuman kopi melalui teknik destilasi sederhana. Kemudian destilat yang dihasilkan akan direaksikan dengan Na_2CO_3

untuk mengikat gas HCN membentuk garam NaCN yang selanjutnya akan direaksikan dengan ninhidrin membentuk larutan hidridantin berwarna merah pada pH 11. Penelitian juga membandingkan kestabilan larutan hidridantin merah dengan variasi pembentukan warna larutan dengan penambahan NaOH hingga membentuk larutan hidridantin berwarna biru. Senyawa hidridantin yang terbentuk dan memiliki kestabilan yang baik kemudian digunakan untuk mengukur kadar sianida yang terdapat di dalam minuman kopi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Analisis kandungan sianida dapat dilakukan dengan metode konvensional seperti menggunakan analisis kualitatif asam pikrat dan titrasi argentometri. Metode analisis sianida dengan argentometri memiliki kelebihan yaitu perubahan warna yang terjadi dapat terlihat jelas dan cepat saat seluruh ion CN^- telah habis bereaksi dengan titran berupa AgNO_3 . Namun metode argenometri ini memiliki banyak kekurangan seperti pengaruh ion sejenis yang dapat mempengaruhi kelarutan, pengaruh ion pengganggu seperti Br^- , ion tiosulfat dan ion-ion lain yang bisa menyebabkan terganggunya hasil analisis CN^- (Sari, *et al.*, 2014). Pengembangan metode analisis sianida menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan karena metode ini memiliki banyak keunggulan. Keunggulan metode ini diantaranya adalah dalam metode ini tidak hanya dapat memisahkan sianida dari campurannya melalui destilasi, namun juga dapat diketahui kadar sianida yang terkandung dengan limit deteksi mencapai 0,025 mg/L. Sensitifitas dan selektifitas spektrofotometer UV-Vis dapat memberikan hasil analisis kadar sianida yang lebih akurat. Selain itu dibandingkan dengan metode lain, metode ini lebih unggul dikarenakan analisis yang dilakukan dapat secara kualitatif dan kuantitatif pada campuran yang berwarna. Analisis kualitatif kandungan sianida dalam metode ini dapat terlihat saat penambahan natrium karbonat dan ninhidrin yang akan membentuk warna merah jika pada destilat positif mengandung sianida. Pembentukan warna ini kemudian dapat dimanfaatkan untuk analisis kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis untuk dapat diketahui kadar sianidanya.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kesesuaian penggunaan spektrofotometer UV-Vis untuk analisis sianida dalam minuman kopi melalui nilai *recovery* yang diperoleh. Penelitian ini diharapkan dapat membantu perkembangan metode yang lebih sederhana dalam analisis kadar sianida pada minuman kopi baik di bidang analitik maupun toksikologi forensik.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil analisis kadar sianida dalam minuman kopi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis?
2. Apakah konsentrasi basa Na_2CO_3 dan volume ninhidrin yang digunakan berpengaruh terhadap pembentukan warna larutan hidrindantin?
3. Apakah penggunaan spektrofotometer UV-Vis baik digunakan untuk analisis kandungan sianida dalam minuman kopi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil analisis kadar sianida dalam kopi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi basa Na_2CO_3 dan volume ninhidrin yang digunakan terhadap pembentukan warna larutan hidrindantin.
3. Melakukan penilaian terhadap hasil analisis untuk mengetahui kecocokan penggunaan spektrofotometer UV-Vis dalam analisis kadar sianida dalam minuman kopi.

1.4 Hipotesis

Metode destilasi dapat memisahkan campuran sianida di dalam minuman kopi melalui pembentukan gas HCN dengan bantuan asam kuat. Sehingga dapat dibentuk larutan hidrindantin untuk dilakukan analisis lanjutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk analisis kadar sianida di dalam minuman kopi tersebut. Terdapat pengaruh konsentrasi basa Na_2CO_3 dan volume ninhidrin yang digunakan terhadap pembentukan warna hidrindantin dan hasil pengukuran kadar sianida dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat dikembangkannya metode yang lebih sederhana dan akurat untuk analisis kandungan sianida di dalam minuman kopi baik di bidang analitik maupun toksikologi forensik.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Analisis Kandungan Sianida Dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis

Kandungan sianida dapat dianalisis dengan beberapa metode baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Contoh analisis yang dilakukan secara kualitatif adalah dengan menggunakan kertas pikrat dimana untuk mengetahui ada tidaknya kandungan sianida dilihat dari perubahan warna yang terjadi pada kertas pikrat tersebut. Adapun contoh analisis secara kuantitatif adalah dengan metode konvensional titrasi argentometri, kromatografi ion, elektroda ion selektif, spektrofotometri dan lain sebagainya.

Analisis sianida dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan spektrofotometer UV-Vis Prinsip metode ini memanfaatkan serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan visible tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Serapan ultraviolet dan visible dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi diantara tingkatan tingkatan tenaga elektronik (Sastrohamidjojo, 1995).

Metode spektrofotometri ini memiliki keunggulan dalam penerapannya untuk analisis sianida. Terdapat berbagai metode yang biasa digunakan dalam analisis sianida menggunakan spektrofotometer UV-Vis, diantaranya adalah metode piridin-pirazolon, piridin-asam barbiturate, piridin-benzidin, piridin-p-fenilenediamin. Namun metode-metode tersebut memiliki kekurangan tertentu, diantaranya adalah ketidakstabilan reagen piridin-p-pirazolon, reagen piridin-asam barbiturate yang cepat memudar, efek karsinogenik dari benzidin pada reagen piridin-benzindin, dan lambatnya pembentukan warna dari metode piridin-p-fenildiamin. Sehingga dibutuhkan reagen lain yang memiliki kestabilan yang lebih baik dengan resiko yang lebih rendah untuk pengembangan metode spektrofotometri ini (Nagaraja, *et al.*, 2002).

Salah satu jenis reagen yang bisa digunakan sebagai pengompleks dalam analisis sianida menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis adalah ninhidrin. Ninhidrin merupakan reagen yang sangat selektif dan sensitif dalam larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) terhadap sianida dengan limit deteksi 0,025 mg/L. Selain itu

perubahan warna yang terbentuk juga sangat jelas dan mudah diamati (APHA, 2011).

Ninhidrin jika direaksikan dengan sianida dalam medium netral akan membentuk hidrindantin tidak berwarna. Namun jika direaksikan di dalam medium natrium karbonat (Na_2CO_3) akan membentuk larutan berwarna merah. Larutan berwarna merah ini dapat terbentuk pada rentang pH 8-12. Larutan tersebut bisa mengalami perubahan warna menjadi biru dengan perlakuan penambahan natrium hidroksida (NaOH). Adapun perubahan warna ini dapat terjadi pada rentang pH 12-12,8. Warna merah dan biru yang terbentuk dari reaksi ini terbentuk dari bentuk anionik 2-hydroxy-1, 3-indanedione, dimana senyawa berwarna merah akan menjadi ion monovalent dan yang berwarna biru merupakan ion divalent (Nagaraja, *et al.*, 2002).

2.2 Pemisahan Sianida dengan Teknik Destilasi

Analisis sianida terbagi atas beberapa jenis salah satunya yaitu analisis total sianida dan analisis *Weak Acid Dissociable* (WAD). Pemisahan pada analisis sianida total dapat dilakukan dengan menggunakan metode destilasi refluks dengan asam kuat seperti asam sulfat (H_2SO_4) dan asam klorida (HCl). Penggunaan jenis asam kuat ini adalah untuk mengangkat atau membentuk gas hidrogen sianida (HCN) pada saat proses destilasi.

Metode pemisahan sianida dengan menggunakan asam kuat ini dilakukan pada pH 2,0-4,0 yang dimaksudkan untuk memecah jenis senyawa sianida baik dalam bentuk kompleks logam-sianida yang paling kuat hingga senyawa sianida dalam bentuk ion bebas dan sebagainya untuk berikatan membentuk senyawa HCN yang dapat menguap. Senyawa HCN yang menguap kemudian akan diisolasi atau diikat dengan jenis basa biasanya NaOH yang lemah untuk dikumpulkan. Metode referensi yang biasa digunakan pada Teknik ini adalah US EPA 335.4, ASTM D2036, dan APHA 4500-CN (PBM, 2017).

Pemisahan sianida dengan menggunakan metode destilasi ini memiliki beberapa kekurangan salah satunya tidak memungkinkan untuk digunakan dalam penentuan konsentrasi sianida. Sehingga biasanya digabungkan dengan metode analisis kuantitatif lain seperti metode deteksi spektrofotometri, fluorometric,

titimetri, elektrokimia, dan lain-lain (Elif, *et al.*, 2014). Selain itu kekurangan dari metode pemisahan ini adalah dibutuhkan waktu yang lama yaitu sekitar 1-2 jam, memerlukan energi yang cukup besar karena membutuhkan pemanasan, membutuhkan reagen yang cukup banyak, dan diperlukan beberapa control seperti kontrol suhu pemanasan, pH larutan, massa atau volume sampel, waktu pemisahan, dan spesifisitas perlakuan yang dilakukan (Hassane, *et al.*, 2015).



BAB III DASAR TEORI

3.1 Sianida

Sianida berasal dari Bahasa Yunani yang memiliki arti “biru” yang mengacu pada hidrogen sianida yang disebut juga dengan “*Blausäure (blue acid)*”. Sianida merupakan senyawa yang tersusun atas atom karbon (C) yang terikat dalam bentuk ikatan rangkap 3 dengan atom nitrogen (N). Hal ini menjadikan sianida sebagai senyawa kimia dari golongan siano ($C\equiv N$) (Nasta'in, *et al.*, 2019). Secara spesifik, sianida merupakan bentuk anion CN^- dan biasanya dapat ditemukan dalam berbagai fase senyawa seperti dalam fasa gas, padat, atau cair. Senyawa-senyawa sianida tersusun dari beberapa unsur lain seperti garam, molecular, ionic, dan banyak juga yang mengandung polimerik. Golongan senyawa sianida yang memiliki kemampuan melepas ion sianida (CN^-) dapat bersifat sangat beracun (Eka, 2013). Secara alami, sianida terkandung pada bakteri, ganggang, jamur, dan berbagai jenis tanaman seperti kol, kentang, almond, apricot, persik, dan lain sebagainya (Sundermann, *et al.*, 2020).

Senyawa sianida di alam dapat diklasifikasikan sebagai sianida sederhana, sianida bebas, dan turunan sianida (Smith, *et al.*, 1991). Penggolongan sianida bebas adalah sebagai bentuk molekul sianida berupa molekul (HCN) dan ion (CN^-) dari sianida yang dibebaskan melalui suatu proses disosiasi dan pelarutan senyawa sianida. Sianida bebas ini merupakan penentu dari tingkat ketoksikan senyawa sianida (Smith, *et al.*, 1991). Spesies HCN dan CN^- ini berada dalam kesetimbangan yang bergantung terhadap pH, sehingga dapat dikatakan konsterasi spesies HCN dan CN^- bergantung pada nilai pH. Jika nilai pH <7 maka keseluruhan senyawa sianida yang terbentuk adalah HCN, sedangkan jika pH yang digunakan $>10,5$ maka keseluruhan senyawa yang terbentuk adalah CN^- (Kyle, 1988). Golongan sianida sederhana merupakan garam-garam anorganik hasil dari persenyawaan sianida dengan natrium, kalium, magnesium, dan kalsium (Kjeldsen 1999, Kyle 1988).

Sifat fisik dan kimia pada beberapa jenis senyawa sianida disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisik dan kimia pada beberapa senyawa sianida terpilih (ACGIH, 2001; ECETOC, 2004).

Spesi	CAS No.	Rumus Molekul	Massa molekul relatif	Titik Didih (°C)	Kelarutan
Hidrogen sianida	74-90-8	HCN	27,03	25,6	Bercampur dengan air, larut dalam alkohol
Natrium sianida	143-33-9	NaCN	49,02	1.497	Larut dalam air, agak larut dalam alkohol
Kalium sianida	151-50-8	KCN	65,11	1.625	Larut dalam air, agak larut dalam alkohol
Kalsium sianida	592-01-8	Ca(CN) ₂	92,12	1.150	Larut dalam air, agak larut dalam alkohol
Perak sianida	506-64-9	AgCN	133,90	-	Tidak larut dalam air, tidak larut dalam alkohol, larut dalam amonia
Tembaga (I) sianida	544-92-3	CuCN	89,56	-	Tidak larut dalam air
Sianogen	460-19-5	NCCN	52,04	21,17	Larut dalam air, alkohol dan eter
Sianogen klorida	506-77-4	CNCl	61,47	14	Larut dalam air dan alkohol
Natrium ferosianida	13601-19-9	Na ₄ Fe(CN) ₆	303,91	-	Larut dalam air

Sianida sederhana dapat pula didefinisikan sebagai garam dari HCN terlarut dalam larutan dan menghasilkan kation alkali dan anion sianida (Smith, *et al.*, 1991). Kompleks sianida merupakan penggolongan bagi senyawa sianida yang

berikatan dengan logam cadmium, nikel, perak, tembaga dan seng. Kompleks sianida yang terlarut hanya menghasilkan senyawa HCN dalam jumlah yang sedikit bahkan tidak sama sekali (Kyle, 1988). Sedikit atau banyaknya jumlah HCN yang dihasilkan bergantung pada stabilitas yang dimiliki kompleks tersebut yang tergantung pada logam pusat. Adapun kelompok senyawa turunan sianida adalah tiosianat (SCN^-), CNO^- , dan NH_3 (ammonia) yang biasanya dihasilkan dari reaksi sianidasi, degradasi alami dan pengolahan limbah sianida (Smith, *et al.*, 1991).

Sianida dalam bentuk senyawa hidrogen sianida (HCN) yang biasa disebut sebagai asam biru karena dalam jumlah tinggi memiliki warna yang kebiru-biruan. Hidrogen sianida disebut juga dengan formonitrile yang dalam wujud cair dikenal sebagai asam prussit dan asam hidrosianik. HCN memiliki sifat volatile, mudah mendidih, berbau menyengat seperti jenis asam pada umumnya, memiliki rasa yang pahit, dan mudah terbakar. Asam sianida memiliki titik didih yang sedikit di atas suhu kamar yaitu kisaran suhu 26°C . Selain itu HCN memiliki kelarutan yang tinggi dalam air yang menjadikan sianida sebagai salah satu racun yang sering digunakan. Di dalam air HCN akan mudah terurai menjadi ammonium formiat dan zat-zat amorf lainnya (Lumbantobing, *et al.*, 2019).



Gambar 1. Bentuk Molekul Hidrogen Sianida (HCN) (Husna, *et al.*, 2019)

Asam sianida memiliki aroma yang khas seperti almond yang menyengat keras dan mematikan. HCN memiliki reaksi yang cepat pada tubuh jika dihirup dalam konsentrasi tertentu yang beresiko menyebabkan kematian. HCN memiliki sifat dapat diserap tubuh secara cepat dan dapat terbawa hingga ke dalam plasma. Selain itu, paparan HCN dalam waktu yang lama dalam konsentrasi yang tinggi dapat menstimulasi saraf pusat yang kemudian diikuti dengan kejang-kejang, depresi, lumpuh, hingga kematian (ATSDR, 2006). Asam Sianida jika dikonsumsi dalam jumlah yang besar dapat berakibat pada mual, kepala pusing, rasa perih di perut, badan gemetar, hingga kehilangan kesadaran. Jika kadar racun yang dikonsumsi cukup banyak, selain gejala tersebut di atas, keracunan sianida dapat

ditandai dengan beberapa gejala lain seperti mata melotot, mulut berbusa, kejang-kejang, hingga sesak nafas (Kurnia, *et al.*, 2013). Paparan sianida juga dapat mengakibatkan terhambatnya suplai oksigen ke jantung dan otak. Seseorang yang meminum minuman yang mengandung sianida diluar batas yang diperbolehkan dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan enzim pernafasan *Cytochrome oxidase* oleh karena terjadinya diabsorpsi oleh sianida. Kontaminasi sianida dalam pernafasan dapat menyebabkan hipoksia intraseluler melalui ikatan ireversibel *cytochrome oxidase a3* yang memiliki peran dalam reduksi oksigen menjadi air. Ikatan sianida yang terjadi dengan ion ferri pada enzim *cytochrome oxidase a3* menyebabkan terjadinya hambatan enzim dalam proses transfer elektron dan proses oksidasi forforilasi. Proses fosforilasi oksidatif merupakan proses pembentukan energi ATP (*Adenosine Triphosphate*) dari oksigen. Terhambatnya proses ini akan memberikan dampak yang fatal dikarenakan proses ini penting dalam produksi ATP dan keberlangsungan proses respirasi seluler. Kurangnya suplai ATP akan menyebabkan mitokondria kehilangan kemampuan mengekstraksi oksigen dan menggunakannya. Dampak ini berkelanjutan dengan terjadinya pergeseran sistem metabolisme dalam sel dari aerob menjadi anerob (Cahyawati, *et al.*, 2017). Akhirnya akibat kontaminasi sianida melalui pernafasan dalam tubuh dapat beresiko menyebabkan anoxia atau gangguan metabolisme oksigen pada sel-sel di tubuh (Tsani, *et al.*, 2018).

Dampak yang ditimbulkan akibat keracunan sianida memiliki perbedaan tergantung pada dosis dan pemaparannya. Sianida dengan dosis 0,12-0,15 mg/L dapat mengakibatkan kematian dalam waktu 1 jam. Pada dosis 2 mg/L dapat menyebabkan kematian dalam waktu 10 menit. Sedangkan pada dosis mencapai 3 mg/L dapat menyebabkan kematian seketika. Dosis ini dihitung dalam bentuk paparan oleh senyawa hidrogen sianida (HCN) baik terserap kulit, terhirup, maupun tertelan. Dosis minimal yang mampu mengakibatkan kematian pada manusia adalah sebesar 0,54 mg/kg berat badan atau jika dihitung sebagai hidrogen sianida diperkirakan rata-rata sebesar 1,4 mg/kg berat badan (WHO, 2004).

Adapun sianida dalam bentuk garam dan larutan memiliki tingkat ketoksikan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan HCN karena hanya dapat masuk ke

dalam tubuh melalui mulut. Namun karena kemampuannya yang mudah menghasilkan HCN, ketoksikan garam sianida bisa dianggap sebanding dengan HCN dalam bentuk gas (Pitoy, 2014). Pembentukan HCN dari garam sianida terjadi melalui reaksi hidrolisis dari KCN dan NaCN sebagai berikut :



(Cahyawati, *et al.*, 2017).

Beberapa jenis garam sianida yang banyak ditemukan adalah sodium sianida (NaCN) dan potassium sianida (KCN). Sodium sianida (NaCN) merupakan salah satu contoh garam sianida yang memiliki tingkat kelarutan yang tinggi dalam air dan bersifat kurang larut di dalam etanol (alkohol). Oleh karena kelarutannya di dalam air yang sangat baik, jenis garam sianida NaCN banyak digunakan baik sebagai bahan dalam proses industri maupun digunakan sebagai racun (Muyasaroh, *et al.*, 2017).

Sifat racun pada sianida dapat membunuh manusia hanya dengan waktu sekitar 10-6 menit jika konsentrasi gas hidrogen yang lebih dari 0,3 mg/L di udara. Konsentrasi hidrogen sianida dalam bentuk garam atau larutan yang melebihi 3500 mg/L (3,5 g/L) dapat membunuh seorang manusia hanya dalam waktu 1 menit atau lebih. Berdasarkan SNI 01-7152-2006, batas maksimum kandungan asam sianida dalam produk pangan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Batas Maksimum Kandungan Asam Sianida dalam Produk Pangan.

Produk Pangan	Batas Maksimum
Makanan	1 mg/kg
Minuman	1 mg/kg
Produk Pengecualian :	
- Kembang gula	25 g/kg
- Sari buah berbiji tunggal	5 mg/kg
- Minuman berakohol	1% per volume
- Produk yang mengandung aneka jenis kacang dan umbi	50 mg/kg

3.2 Kopi

Kopi (*Coffe* sp) merupakan salah satu komoditas perkebunan di Indonesia yang memiliki nilai jual yang cukup tinggi. Kopi telah banyak diolah menjadi berbagai macam produk, salah satunya adalah minuman. Minuman kopi terkenal sebagai minuman yang mengandung kafein dan dikenal luas oleh berbagai kalangan. Karena rasa dan aroma kopi yang khas, kini menjadikan kopi sebagai minuman yang perkembangannya sangat cepat yang terlihat dengan banyaknya variasi produk kopi yang dijual saat ini. Selain tu, kopi juga merupakan salah satu produk yang paling banyak diteliti oleh peneliti dunia dalam beberapa decade belakangan (Yashin, *et al.*, 2017).

Kandungan kafein pada kopi merupakan salah satu penyebab banyaknya konsumen penikmat minuman kopi. Hal ini dikarenakan efek yang diberikan setelah konsumsi kafein di dalam kopi yang dapat memberikan efek yaitu menstimulasi susunan syaraf pusat, dan otot jantung (Aprilia, *et al*, 2018). Hal ini menyebabkan meningkatnya kewaspadaan, menghilangkan kantuk, membantu kinerja fisik dengan peningkatan daya tahan tubuh, meningkatkan suasana hat, dan meningkatkan kontraksi otot (Ennis, 2014). Namun konsumsi kopi yang berlebihan yang menyebabkan konsumsi kafein yang berlebih dapat memberkan dampak buruk seperti meningkatnya tekanan darah, naiknya kadar kolesterol dan meningkatkan gastritis. Kafein mampu mempercepat pembentukan asam lambung dalam tubuh sehingga mengakibatkan produksi gas yang berlebih yan berdampak pada perut kembung (Ilham, 2019). Selain dampak tersebut, terdapat beberapa dampak buruk yang lain seperti perubahan warna gigi, bau mulut, peningkatan stress, insomnia, serangan jantung, stroke, gangguan pencernaan, penuaan dini, bahkan kemandulan pada pria (Farida, *et al.*, 2013).

Selain mengandung kafein, mengandung beberapa komponen lain seperti kaffeol, trigonelin, asam alifatik, lemak, asam chlorogenate, karbohidrat, dan komponen penyusun lain yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komponen Yang Terkandung di Dalam Kopi (Yashin, *et al.*, 2017).

No	Senyawa	Konsentrasi	Keterangan
1	Asam klorogenat	0,6-26,4%	Lebih dari 10 jenis asam
2	Kafein, theobromine, teofilin	3-350 µg/mL	
3	Karbohidrat	3,41-9,43%	Sakarosa, glukosa, fruktosa, arabinosa, galaktosa
4	Asam amino	4,4-1075 mg/100 g bubuk kopi	16 asam amino
5	Vitamin	kurang dari 3 mg	Vitamin B ₁ , riboflavin (B ₂), asam nikotinat (PP), piridoksin (B ₆), tokoferol (E), vitamin B ₁₂
6	γ-aminobutirat	30-1860 mg/kg	
7	Serotonin	sekitar 10 mg/g berat kering	'hormon kebahagiaan '
8	Asam organik	sekitar 1%	Asam sitrat, malat, oksalat, asetat, dll.
9	Anion	fosfat 0,2%, sulfat 0,1%	Fluorida, klorida, nitrat, sulfat, fosfat Ferulic, n-coumaric,
10	Asam oksiaromaik	3-6%	3,4-dimethoxycinnamic, 3,4,5- trimethoxycinnamic, asam sinapic
11	Tanin	3,6-7,7%	
12	Polisakarida	lebih dari 12%	Selulosa, zat pektik, serat
13	Melanoidin	5-60 g/ 100g	Zat pewarna alami coklat tua
14	Zat mineral	3-4,5%	Kalium, magnesium, kalsium, natrium, besi, mangan, seng, tembaga

3.3 Metode Analisis Sianida

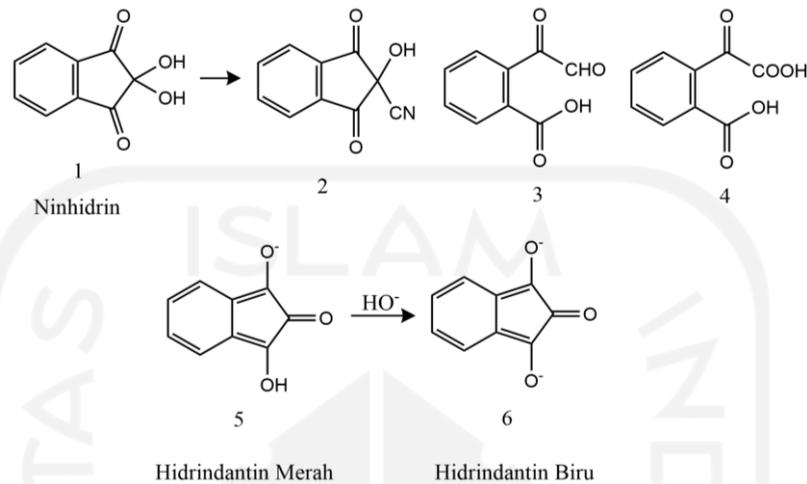
Sianida dapat dianalisis dengan berbagai metode baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Analisis kualitatif sianida dapat dilakukan dengan menggunakan metode kertas pikrat. Metode ini digunakan untuk menentukan ada atau tidaknya kandungan sianida bahan yang akan diuji. Kertas pikrat ini merupakan kertas indikator yang dibuat dengan kertas saring yang sebelumnya telah dicelupkan ke dalam larutan asam pikrat yang jenuh. Indikasi terdapatnya sianida pada bahan uji adalah terjadinya perubahan warna kertas pikrat dari kuning menjadi merah bata. Perubahan warna ini dapat terjadi apabila terkena uap dari sianida (Kurnia, 2013).

Adapun analisis sianida secara kuantitatif dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti metode titrasi argentometri yang merupakan metode paling konvensional. Pada metode ini analisis dilakukan dengan melakukan titrasi sianida dalam suasana basa menggunakan larutan perak nitrat (AgNO_3) dan membentuk senyawa kompleks $[\text{Ag}(\text{CN})_2]$. Titik akhir titrasi pada metode ini akan ditandai dengan perubahan warna larutan dari kuning menjadi merah akibat reaksi antara sisa ion Ag^+ dengan indikator p-dimetilaminobenzalrhodanin (*rhodamine*) yang ditambahkan (Clesceri, *et al.*, 1989).

Metode analisis sianida yang sekarang umum digunakan adalah dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini banyak digunakan karena dianggap lebih unggul dibanding metode analisis sianida lainnya. Salah satu analisis spektrofotometer UV-Vis yang bisa digunakan adalah dengan memanfaatkan pembentukan senyawa berwarna seperti hidridantin. Senyawa hidridantin yang terbentuk merupakan hasil reaksi antara sianida dengan ninhidrin dalam medium natrium karbonat. Reaksi antara sianida dengan ninhidrin dalam medium natrium karbonat ini akan membentuk senyawa hidridantin berwarna merah yang tidak stabil terutama apabila terkena oksigen (APHA, 2011).

Pembentukan senyawa hidridantin ini sangat bergantung pada pH larutan dimana pada pH medium netral reaksi sianida dengan ninhidrin akan membentuk hidridantin tidak berwarna. Pembentukan senyawa hidridantin berwarna dapat terjadi pada pH 8-12 yang membentuk hidridantin merah, sedangkan pada pH 12-

12,8 akan membentuk senyawa berwarna biru. Adapun reaksi pembentukan senyawa hidridantin merah dan biru ini ditunjukkan pada Gambar 2.



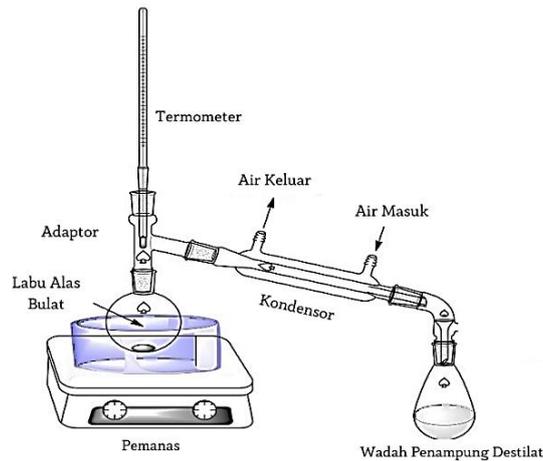
Gambar 2. Reaksi Pembentukan Hidridantin (Drochioiu G, *et al.*, 2002)

3.4 Destilasi

Destilasi merupakan suatu proses pemisahan komponen dalam campuran yang memanfaatkan titik didih dan *relative volatility* suatu senyawa. Komponen yang memiliki *relative volatility* yang tinggi akan naik dan menguap keatas dan mengalami proses kondensasi untuk membentuk distilat. Sedangkan komponen yang *relative volatility*-nya lebih rendah akan gagal menguap dan akan menjadi residu (Suharto, *et al.*, 2020). Pada prosesnya pemisahan dengan metode destilasi ini melalui tiga tahapan. Pertama merupakan tahap pemanasan dimana campuran akan dipanaskan hingga tmencapai titik didihnya. Selanjutnya saat telah mencapai titik didihnya, akan terbentuk uap yang merupakan uap komponen yang menguap pada titik didih tersebut. Kemudian uap ini akan mengalir ke kolom kondensor dan mengalami kondensasi atau pendinginan sehingga uap tersebut akan mengembun sebagai hasil dari pemisahan dalam metode ini (Elfa, *et al.*, 2021).

Terdapat berbagai jenis metode destilasi yaitu destilasi sederhana, destilasi vakum, destilasi fraksinasi, destilasi uap, destilasi azetrop, destilasi uap, destilasi betingkat dan lain sebagainya (Rasiska, *et al.*, 2021). Pada metode destilasi sederhana, pemanasan dilakukan dengan memanfaatkan mantel pemanas, hal ini akan meminimalisir resiko bahan hangus. Destilasi sederhana memiliki prinsip

pemisahan komponen dengan memanfaatkan titik didih antar komponen yang berbeda jauh untuk bisa mendapatkan senyawa yang murni (Walangare, *et al.*, 2013). Metode destilasi sederhana ini merupakan metode yang tergolong praktis dikarenakan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah digunakan (Guenther, 1987). Gambar rangkaian alat destilasi sederhana ditunjukkan pada Gambar 3.



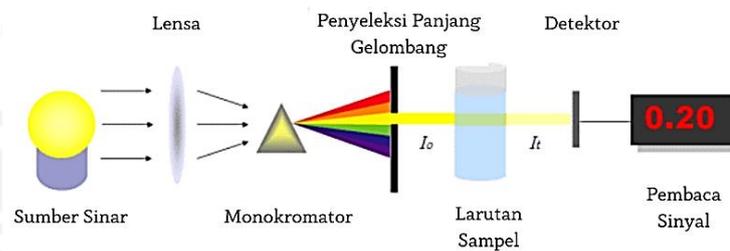
Gambar 3. Rangkaian Alat Destilasi Sederhana (<http://www.chem.rochester.edu/>)

3.5 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan metode analisis dengan menggunakan instrumental dengan berdasarkan interaksi antara energi dan materi. Metode spektrofotometri biasanya digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu senyawa atau komponen dalam bentuk larutan melalui intensitas serapan pada Panjang gelombang tertentu. Dalam analisis dengan menggunakan metode spektrofotometri Panjang gelombang yang digunakan adalah Panjang gelombang maksimum dengan nilai serapan atau absorbansi yang maksimum. Salah satu instrument yang menggunakan prinsip spektrofotometri adalah spektrofotometer UV-Vis. Instrument ini bekerja dengan didasarkan pada serapan atau absorbansi foton di daerah ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 200-400 nm dan sinar tampak (*visible*) dengan Panjang gelombang 400-750 nm. Cara yang dilakukan agar dalam analisis dengan spektrofotometer UV-Vis sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-Vis (rentang gelombang 200-700 nm) adalah dengan melakukan derivatisasi yaitu dengan cara penambahan reagen dalam pembentukan garam

kompleks dan sebagainya. Adanya pembentukan kompleks akan membantu dalam identifikasi unsur (Irawan, 2019).

Metode analisis dengan spektrofotometer UV-Vis mempunyai prinsip kerja yaitu berdasarkan interaksi antara berkas sinar yang dilewatkan pada sampel yang diwadahi dengan kuvet. Materi atau senyawa dalam sampel akan menyerap Sebagian sinar dan Sebagian lagi akan diteruskan ke detector (Gulo, 2016). Skema kerja spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Ilustrasi Kerja Spektrofotometer UV-Vis (<https://farmasiindustri.com>)

Spektrofotometer UV-Vis bekerja dengan berdasarkan hukum Lambert-Beer yaitu “Jika sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diabsorpsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan” (Sembiring, *et al.*, 2019). Hukum Lambert-Beer ini dinyatakan dalam persamaan (1).

$$A = e \times b \times c \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

- A = Absorbansi
- e = absorptivitas molar
- b = tebal kuvet (cm)
- c = konsentrasi

Terdapat beberapa syarat sampel yang digunakan dalam analisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diantaranya adalah sampel yang digunakan harus larut sempurna atau terbebas dari partikel koloid maupun pengotor lainnya, pelarut yang digunakan dalam analisis merupakan pelarut yang tidak berwarna dan tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur pelarutnya, selanjutnya adalah senyawa yang dianalisis memiliki tingkat kemurnian yang tinggi

dan tidak terdapat interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis (Suhartati, 2017).

Beberapa factor yang mempengaruhi hasil pengukuran dalam penggunaan spektrofotometer UV-Vis yaitu konsentrasi analit, stabilitas sampel, sidik jari yang nemepel pada dinding kuvet, gelembung yang terdapat dalam sampel, partikel pengotor atau yang tidak larut dalam sampel, dan stabilitas sampel. Namun kesalahan ini dapat diatasi dengan cara melakukan control terhadap konsentrasi analit agar memperoleh nilai absorbansi 0,2-0,8. Hal ini dikarenakan persentase kesalahan analisis yang kemungkinan muncul jika pembacaan absorbansi berada dalam rentang 0,2-0,8 adalah 0,5-1% (Gulo, 2016).

Beberapa kelebihan metode analisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah waktu yang dibutuhkan relatif lebih singkat dengan biaya yang lebih murah (Julianto, 2019).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, gelas beker 50, 100, dan 250 mL, gelas arloji, neraca analitik, pengaduk gelas, spatula, labu ukur 100, 50, dan 500 mL, pipet tetes, pipet ukur 0,5; 1; 5; 10; dan 25 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi pro pipet, Erlenmeyer 250 mL, corong gelas, botol semprot, kuvet, pH meter, gelas ukur 100 mL, botol vial, kompor listrik, dan Spektrofotometer UV-Vis *Double Beam* HITACHI UH5300.

4.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel kopi sachet, asam klorida (HCl) (Merck), natrium hidroksida (NaOH) p.a (Merck), natrium karbonat (Na_2CO_3) (Merck), Kalium Sianida (KCN) p.a (Merck), pereaksi ninhidrin ($\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$) p.a (Merck), pH universal, dan akuades.

4.2 Cara Kerja

4.2.1 Optimasi Analisis Sianida dengan Spektrofotometer UV-Vis

4.2.1.1 Preparasi Reagen dan Analit

a. Pembuatan Larutan Induk Na_2CO_3 6000 mg/L

Pembuatan larutan Na_2CO_3 6000 mg/L dilakukan ditimbang 3 g Na_2CO_3 kemudian dilarutkan ke dalam akuades sebanyak volume 500 mL, digojog hingga homogen. Larutan Na_2CO_3 6000 mg/L kemudian diencerkan secara bertingkat menjadi konsentrasi 5000, 4000, 3000, 2000, dan 1000 mg/L.

b. Pembuatan Larutan Standar NaOH 1 M

Pembuatan larutan standar NaOH 1 M dilakukan dengan ditimbang 4 g padatan NaOH, dilarutkan dengan 100 mL akuades, digojog hingga homogen.

c. Pembuatan larutan ninhidrin 1%

Pembuatan larutan ninhidrin 1% dilakukan dengan melarutkan 1 g ninhidrin ke dalam 100 mL akuades, kemudian digojog hingga homogen.

d. Pembuatan Larutan Standar Sianida 1000 mg/L

Pembuatan larutan induk sianida 1000 mg/L dilakukan ditimbang 0,25 g KCN kemudian dilarutkan ke dalam larutan Na_2CO_3 5000 mg/L sebanyak volume 100 mL, digojog hingga homogen. Dilakukan pengukuran pH larutan dan dikondisikan agar memiliki pH 11. Larutan ini kemudian diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; dan 0,05 mg/L dengan pH 11.

4.2.1.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Sianida

a. Pengukuran Panjang Gelombang Larutan Hidridantin Merah

Diambil sebanyak 5 mL larutan KCN 0,05 mg/L pH 11, kemudian ditambahkan dengan 1 mL ninhidrin 1% hingga terbentuk larutan hidridantin berwarna merah. Dilakukan pengukuran Panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang Panjang gelombang 350-750 nm.

b. Pengukuran Panjang Gelombang Larutan Hidridantin Biru

Diambil sebanyak 5 mL larutan KCN 0,05 mg/L pH 11, kemudian ditambahkan dengan 1 mL ninhidrin 1% hingga terbentuk larutan hidridantin berwarna merah dan ditambahkan NaOH 1 M sebanyak 1 mL hingga terjadi perubahan warna larutan menjadi biru. Selanjutnya dilakukan pengukuran Panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang Panjang gelombang 350-750 nm.

4.2.1.3 Pengukuran Stabilitas Warna Larutan Hidridantin

Pengukuran waktu kestabilan sianida dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang sudah di peroleh pada pengukuran sebelumnya. Pengukuran dilakukan selama 3600 detik (1 jam), kemudian dilihat pada waktu beberapa warna larutan mulai turun atau tidak stabil. Pengukuran ini dilakukan pada larutan hidridantin merah dan biru dengan menggunakan blanko berupa 5 mL Na_2CO_3 5000 mg/L yang ditambahkan 1 mL ninhidrin 1% hingga membentuk larutan berwarna kuning.

4.2.1.4 Optimasi Konsentrasi Na_2CO_3

Dilakukan pembuatan larutan KCN 0,05 mg/L dengan variasi konsentrasi pelarut Na_2CO_3 0; 1000; 2000; 3000; 4000; 5000; dan 6000 mg/L. Kemudian

ditambahkan dengan 1 mL ninhidrin 1% dan didiamkan selama 40 menit hingga terbentuk larutan hidridantin berwarna merah. Selanjutnya dilakukan pengukuran nilai panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4.2.1.5 Optimasi Volume Ninhidrin 1%

Dilakukan pembuatan larutan KCN 0,05 mg/L dengan menggunakan pelarut Na₂CO₃ 6000 mg/L. Kemudian ditambahkan dengan variasi volume 0; 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL ninhidrin 1% dan didiamkan selama 40 menit hingga terbentuk larutan hidridantin berwarna merah. Selanjutnya dilakukan pengukuran nilai panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4.2.1.6 Pengukuran Kurva Kalibrasi Sianida

Dibuat variasi konsentrasi sianida 0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; dan 0,05 mg/L dengan menggunakan pelarut Na₂CO₃ 6000 mg/L diambil masing-masing 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL ninhidrin 1% dan didiamkan selama 40 menit hingga terbentuk warna larutan menjadi merah. Dilakukan pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4.2.2 Aplikasi Analisis Sianida dalam Minuman Kopi

4.2.2.1 Preparasi Reagen

a. Pembuatan Larutan Induk Na₂CO₃ 6000 mg/L pH 11

Pembuatan larutan Na₂CO₃ 6000 mg/L dilakukan ditimbang 3 g Na₂CO₃ kemudian dilarutkan ke dalam akuades sebanyak volume 500 mL, dikondisikan pada pH 11, dan digojog hingga homogen.

b. Pembuatan Larutan Uji Sianida 1000 mg/L

Pembuatan larutan induk sianida 1000 mg/L dilakukan ditimbang 0,25 g KCN kemudian dilarutkan ke dalam akuades sebanyak volume 100 mL, digojog hingga homogen. Larutan ini kemudian diencerkan hingga konsentrasi 0,84 mg/L.

4.2.2.2 Preparasi Sampel

a. Sampel Kopi Bubuk Instan

Disiapkan sampel kopi bubuk Instan dengan gula sebanyak 25 g Kemudian diseduh dengan menggunakan 200 mL air panas dan diaduk hingga homogen. Sampel kopi kemudian didinginkan hingga suhu ruang.

4.2.2.3 Analisis Sianida dalam Minuman Kopi

a. Pembuatan Larutan Hidridantin Menggunakan Sianida dan Ninhidrin

Sebanyak 10 mL larutan KCN 0,82 mg/L dan 5 mL HCl 37% dihomogenkan dengan sampel kopi di dalam labu leher tiga yang terpasang pada rangkaian alat destilasi. Kemudian 5 mL larutan Na₂CO₃ 6000 mg/L pH 11 dimasukkan ke dalam wadah penampung destilat untuk mengikat HCN. Destilasi dilakukan selama ± 1,5 jam dengan suhu destilasi dijaga pada rentang 85-90 °C. Destilat yang diperoleh kemudian digojog pelan dan diambil 5 mL ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 0,5 mL ninhidrin 1% sampai terbentuk warna merah dan didiamkan selama 40 menit hingga warna merah yang terbentuk stabil. Langkah terakhir pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini memiliki tujuan untuk melakukan pengembangan metode analisis sianida dalam minuman khususnya kopi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Analisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis ini dilakukan dengan bantuan metode destilasi untuk pemisahan antara senyawa sianida dengan minuman kopi. Destilasi merupakan metode yang digunakan untuk pemisahan komponen dalam campuran yang memanfaatkan titik didih dan *relative volatility* suatu senyawa (Suharto *et al.*, 2020). Pada penelitian ini dilakukan pemisahan senyawa sianida yang telah ditambahkan ke dalam minuman kopi dengan menggunakan metode destilasi sederhana. Hasil pemisahan dari destilasi ini kemudian akan direaksikan dengan Natrium Karbonat dan ninhidrin untuk membentuk larutan senyawa hidrindantin berwarna merah. Larutan ini kemudian dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 487 nm.

Menurut penelitian yang dilakukan Nagaraja, *et al.*, (2002), hidrindantin dapat terbentuk saat ninhidrin bereaksi dengan sianida pada medium berair. Pada pH netral, reaksi antara sianida dan ninhidrin ini akan membentuk hidrindantin tidak berwarna. Oleh karena itu dilakukan penambahan basa seperti natrium karbonat yang akan membantu dalam pembentukan hidrindantin berwarna merah yang stabil. Jika dilakukan penambahan basa kuat seperti NaOH atau KOH hingga pH larutan hidrindantin mencapai 12-12,8 maka hidrindantin merah akan membentuk larutan hidrindantin berwarna biru yang memiliki panjang gelombang maksimum 590 nm.

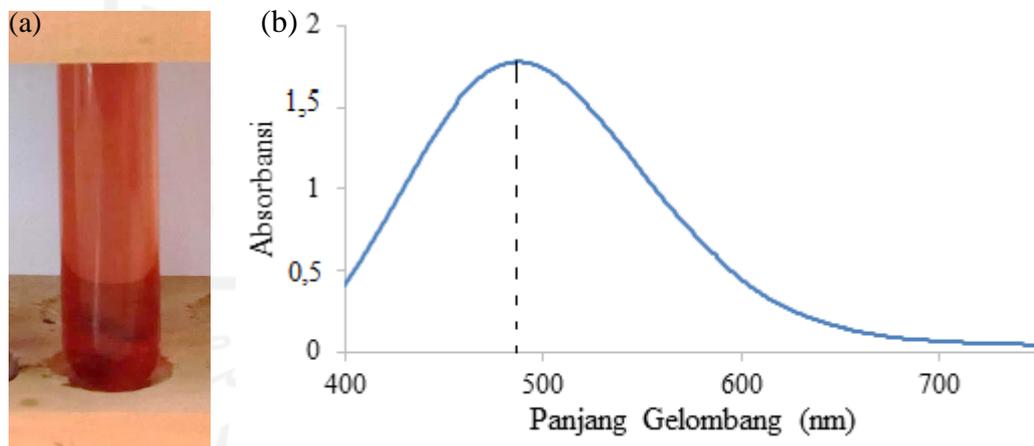
5.1. Optimasi Analisis Sianida dengan Spektrofotometer UV-Vis

Optimasi analisis sianida dilakukan dengan beberapa tahap yang dimulai dengan pembuatan reagen dan analit, penentuan panjang gelombang maksimum hidrindantin, pengukuran stabilitas warna larutan hidrindantin, optimasi konsentrasi Na_2CO_3 , optimasi volume ninhidrin, dan pengukuran kurva kalibrasi hidrindantin.

Fungsi dilakukan optimasi ini adalah untuk menentukan keadaan optimum yang baik digunakan dalam analisis kandungan sianida melalui Pembentukan larutan berwarna hidrindantin. Sehingga dengan tahap optimasi ini diharapkan dapat memberikan hasil yang ideal dalam analisis kadar sianida menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis.

5.1.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Hidrindantin

Tahap penentuan panjang gelombang maksimum hidrindantin dilakukan dengan membuat larutan hidrindantin merah dan biru. Hidrindantin merah dibuat dengan melarutkan padatan KCN menggunakan pelarut natrium karbonat konsentrasi 5000 mg/L dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi KCN 0,05 mg/L dengan pH 11. Larutan KCN ini kemudian diambil 5 mL dan direaksikan dengan reagen ninhidrin 1% sebanyak 1 mL hingga terbentuk larutan hidrindantin berwarna merah. Larutan hidrindantin merah yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 5(a). Selanjutnya larutan ini diukur panjang gelombang maksimumnya dengan rentang pengukuran pada rentang sinar tampak yaitu 350-750 nm.

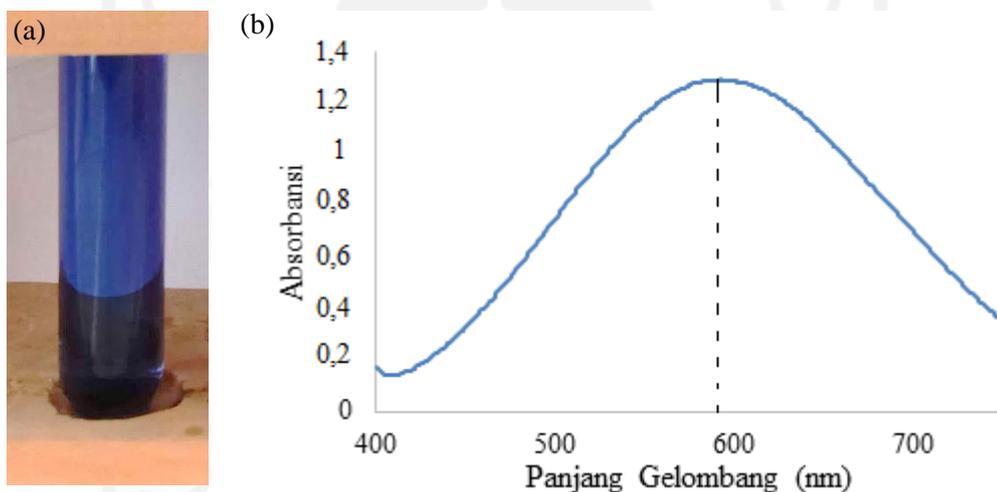


Gambar 5. Larutan Hidrindantin Merah (a) dan Spectra UV-Vis Larutan Hidrindantin Merah (b)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nagaraja, *et al* (2002), panjang gelombang maksimum dari larutan hidrindantin merah adalah 490 nm. Pada penelitian ini, spektra hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ditunjukkan pada Gambar 5(b) dan diperoleh nilai panjang gelombang larutan

hidrindantin merah adalah 487 nm. Perolehan panjang gelombang maksimum dengan nilai 487 nm ini disebabkan oleh warna tampak yang terbentuk pada larutan hidrindantin merah. Warna merah yang teramati memberikan warna serapan hijau pada spektrofotometer UV-Vis dan memiliki panjang gelombang kisaran 500 nm.

Pengukuran panjang gelombang maksimum larutan hidrindantin biru. Larutan hidrindantin biru ini dibuat dengan menambahkan 1 mL NaOH 1 M ke dalam larutan hidrindantin berwarna merah sehingga pH larutan akan mengalami kenaikan menjadi pH 12 dan akan mengalami perubahan warna menjadi biru. Larutan hidrindantin biru yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 6(a). Larutan ini kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis dengan rentang pengukuran 350-750 nm.



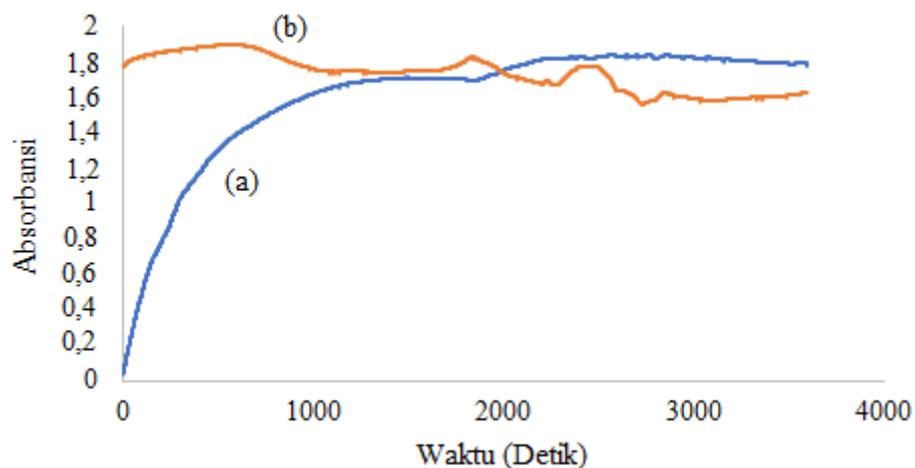
Gambar 6. Larutan Hidrindantin Biru (a) dan Spectra UV-Vis Larutan Hidrindantin Biru (b)

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nagaraja (2002), diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum hidrindantin biru adalah sebesar 590 nm. Sedangkan pada Gambar 6(b) menunjukkan spektra hasil pengukuran panjang gelombang hidrindantin biru dan diperoleh nilai panjang gelombang maksimum larutan hidrindantin biru yaitu 592 nm. Perolehan nilai panjang gelombang ini sesuai dengan warna yang tampak pada larutan hidrindantin biru. Warna biru yang terlihat memberikan warna serapan oranye pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum pada 600 nm.

5.1.2. Pengukuran Stabilitas Warna Larutan Hidrindantin

Pengukuran stabilitas warna larutan hidrindantin dilakukan untuk mengetahui perubahan kestabilan warna larutan terhadap perubahan waktu. Hal ini perlu dilakukan dikarenakan melalui pengukuran stabilitas warna dapat diketahui waktu yang dibutuhkan oleh KCN dan ninhidrin untuk membentuk larutan hidrindantin dan waktu yang tepat untuk dilakukannya pengukuran absorbansi larutan hidrindantin dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pengukuran stabilitas larutan hidrindantin ini dilakukan dengan menggunakan larutan hidrindantin yang dibuat dengan melarutkan padatan KCN menggunakan pelarut natrium karbonat konsentrasi 5000 mg/L dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi KCN 0,05 mg/L. Larutan KCN ini kemudian diambil 5 mL dan direaksikan dengan reagen ninhidrin 1% sebanyak 1 mL hingga terbentuk larutan hidrindantin berwarna merah. Sesaat setelah penambahan larutan ninhidrin, dilakukan pengukuran kestabilan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan Panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh yaitu 487 nm dan dilakukan selama 3600 detik. Hasil pengukuran kestabilan ini terlihat pada Gambar 7.



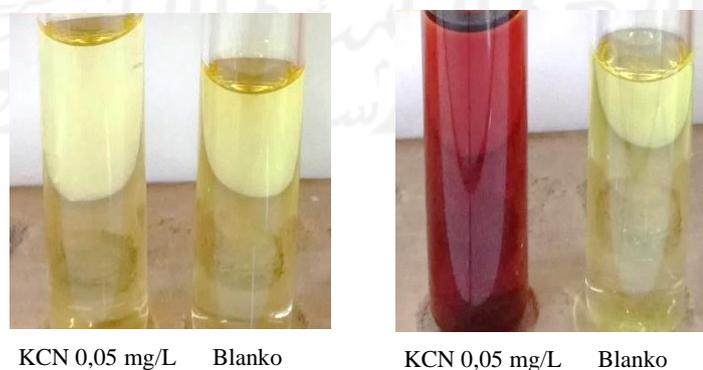
Gambar 7. Kestabilan Larutan Hidrindantin Merah dengan Pengukuran Langsung Setelah Penambahan Ninhidrin (a) dan Kestabilan Larutan Hidrindantin Merah yang Didiamkan Selama 40 Menit Setelah Penambahan Ninhidrin (b)

Penelitian yang dilakukan oleh Nagaraja, *et al.*, (2002), melaporkan bahwa kestabilan warna hidrindantin merah akan konstan setelah 30 menit penambahan

reagen dan akan tetap stabil selama 2 jam. Hal ini berbeda dengan larutan warna hidrindantin biru yang mana setelah penambahan NaOH 1 M akan secara langsung membentuk warna biru dan warna ini akan stabil hanya selama 30 menit hingga kemudian akan mengalami pemudaran warna secara bertahap.

Gambar 7(a) menunjukkan proses pembentukan warna pada larutan hidrindantin berlangsung dari detik ke-0 hingga detik ke-1800. Hal ini terlihat dari bentuk grafik yang terus mengalami kenaikan nilai absorbansi. Kenaikan ini menunjukkan terjadinya reaksi antara KCN dengan ninhidrin dan membentuk warna merah. Semakin naik grafik menunjukkan semakin tinggi nilai absorbansi yang disebabkan oleh semakin banyaknya KCN yang bereaksi dengan ninhidrin. Kenaikan nilai absorbansi ini kembali terlihat pada detik ke-1900 hingga detik ke-2300 yang menunjukkan proses pembentukan hidrindantin masih berlanjut. Hingga pada detik ke-2400 grafik terlihat mulai stabil dan tidak terjadi reaksi lanjut antara KCN dengan ninhidrin. Maka dapat disimpulkan bahwa kestabilan hidrindantin merah terjadi pada detik ke-2400 atau setelah 40 menit.

Gambar 7(b) menunjukkan pengukuran kestabilan warna larutan hidrindantin merah setelah didiamkan selama 40 menit. Pada gambar tersebut masih terlihat kenaikan dan penurunan nilai absorbansi walaupun tidak terlalu signifikan. Hal ini menunjukkan, setelah didiamkan selama 40 menit, hidrindantin merah cenderung lebih stabil dan baik untuk dilakukan analisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Perubahan warna larutan hidrindantin merah dapat dilihat pada Gambar 8.



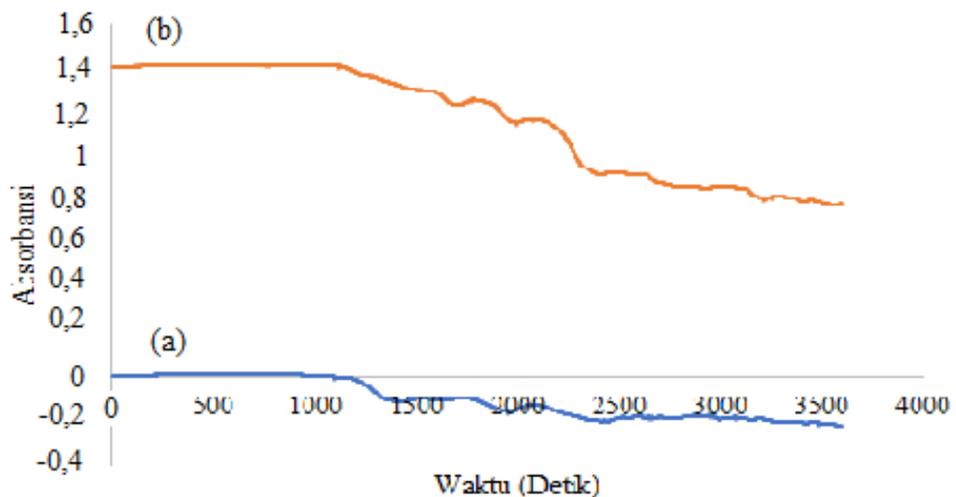
Gambar 8. Hidrindantin Merah Sebelum 40 Menit (a) dan Hidrindantin Merah Setelah 40 Menit (b)

Pengukuran stabilitas juga dilakukan pada hidrindantin biru yang dibuat dari hidrindantin merah yang ditambahkan NaOH 1 M sebanyak 1 mL. Warna biru yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Warna Hidrindantin Biru dengan Penambahan NaOH Setelah Penambahan Ninhidrin (a) dan Warna Hidrindantin Biru dengan Penambahan NaOH Setelah Penambahan Ninhidrin dan Didiamkan Selama 40 Menit (b)

Larutan hidrindandin biru yang terbentuk kemudian diukur dengan menggunakan panjang gelombang maksimum 592 nm. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan blanko berupa larutan Na_2CO_3 dan ninhidrin yang ditambahkan dengan NaOH 1 M. Hasil pengukuran stabilitas hidrindantin biru dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Kestabilan Larutan Hidrindantin Biru (a) dan Kestabilan Larutan Hidrindantin Biru dengan Penambahan NaOH 1 M Setelah 40 Menit (b)

Berdasarkan Gambar 10(a) terlihat bahwa larutan hidrindantin biru memiliki kestabilan hanya pada 1000 detik pertama atau sekitar 15 menit pertama hingga

kemudian mengalami penurunan kestabilan yang signifikan. Setelah 15 menit pertama, hidrindantin biru mengalami penurunan kualitas warna hingga kelamaan larutan hidrindantin biru menjadi tidak berwarna. Hal ini yang menyebabkan semakin turunnya nilai absorbansi larutan hidrindantin biru tersebut. Nilai absorbansi negatif pada spektra dikarenakan intensitas warna yang menurun menjadi tidak berwarna. Penyebab dari penurunan intensitas warna ini adalah dikarenakan reaksi setelah penambahan NaOH yang menjadikan warna kuning pada blanko dan warna biru pada hidrindantin biru memudar seiring dengan waktu.

Gambar 10(b) merupakan hasil pengukuran kestabilan hidrindantin biru yang diukur dengan perlakuan penambahan NaOH 1 M yang dilakukan pada larutan hidrindantin merah setelah didiamkan selama 40 menit. Tidak terlihat perbedaan yang signifikan dari perbedaan perlakuan ini. Terlihat bahwa larutan hidrindantin biru pada Gambar (b) juga memiliki kestabilan yang baik pada 1000 detik pertama atau sekitar 15 menit pertama dan setelah itu mengalami penurunan kestabilan yang diakibatkan oleh warna larutan yang mulai memudar.

Berdasarkan hasil pengukuran kestabilan larutan hidrindantin merah dan biru tersebut, maka larutan yang ideal untuk dilakukan pengukuran dan analisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah larutan hidrindantin merah dengan perlakuan didiamkan selama 40 menit setelah penambahan larutan ninhidrin.

5.1.3. Optimasi Konsentrasi Larutan Na_2CO_3

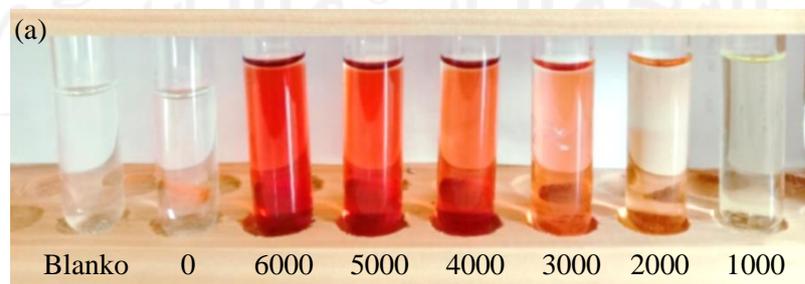
Optimasi konsentrasi larutan Na_2CO_3 dilakukan untuk mengetahui konsentrasi Na_2CO_3 yang paling baik digunakan ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang maksimal. Penggunaan Na_2CO_3 pada penelitian ini adalah sebagai larutan yang mengikat ion CN^- sekaligus medium yang akan membantu dalam menjaga pH larutan agar tetap berada pada rentang pH 8-12. Hal ini disebabkan oleh spesies HCN dan CN^- akan berada dalam kesetimbangan bergantung terhadap pH, sehingga dapat dikatakan konsterasi spesies HCN dan CN^- bergantung pada nilai pH. Jika nilai pH <7 maka keseluruhan senyawa sianida yang terbentuk adalah HCN, sedangkan jika pH yang digunakan >10,5 maka keseluruhan senyawa yang terbentuk adalah CN^- (Kyle, 1988).

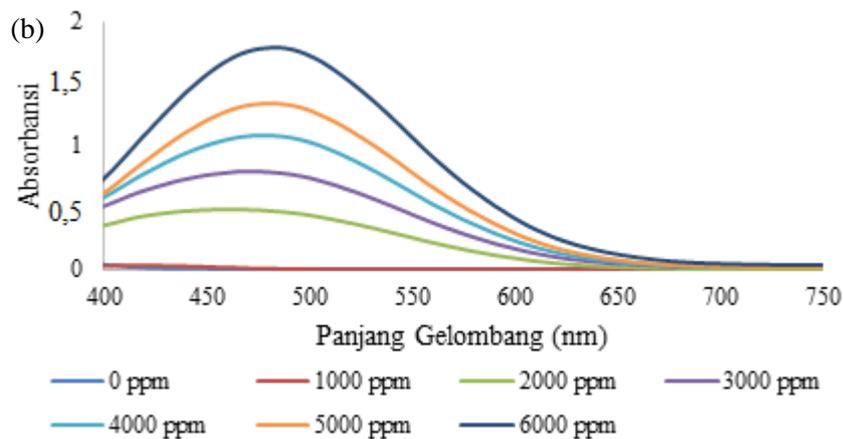
Penelitian ini dilakukan dengan 7 variasi konsentrasi Na_2CO_3 , yaitu 0; 1000; 2000; 3000; 4000; 5000; dan 6000 mg/L. Pembuatan variasi konsentrasi Na_2CO_3 ini dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan larutan induk 6000 mg/L. Setiap variasi ini kemudian diukur pH-nya menggunakan pH universal. Hasil pengukuran pH ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Variasi Konsentrasi Na_2CO_3

Konsentrasi Na_2CO_3	pH
0 mg/L	8
1000 mg/L	10
2000 mg/L	10
3000 mg/L	11
4000 mg/L	11
5000 mg/L	11
6000 mg/L	11

Masing-masing larutan Na_2CO_3 tersebut kemudian digunakan untuk melarutkan KCN hingga diperoleh KCN dengan konsentrasi 0.05 mg/L. Larutan KCN tersebut kemudian diambil 5 mL dan ditambahkan dengan ninhidrin 1% sebanyak 1 mL hingga terbentuk larutan hidrindantin berwarna merah. Larutan hidrindantin yang diperoleh kemudian didiamkan selama 40 menit hingga larutan menjadi stabil. Hasil larutan hidrindantin merah dengan variasi konsentrasi Na_2CO_3 dapat dilihat pada Gambar 11.





Gambar 11. Warna Hidrindantin Merah yang Terbentuk Dengan Variasi Konsentrasi Na_2CO_3 (dalam mg/L) (a) dan Spektra Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Variasi Konsentrasi Na_2CO_3 (b)

Optimasi konsentrasi Na_2CO_3 dilakukan dengan pengukuran Panjang gelombang maksimum masing-masing variasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan menggunakan rentang panjang gelombang sinar tampak (*visible*) yaitu 400-750 yang dimulai dari konsentrasi terendah yaitu 0 mg/L hingga ke konsentrasi tertinggi 6000 mg/L. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ini ditampilkan pada Gambar 12.

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum menunjukkan absorbansi mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi Na_2CO_3 . Terlihat spektra dengan variasi 0 mg/L menunjukkan tidak terdapatnya serapan dikarenakan untuk membentuk larutan hidrindantin warna, diperlukan pH larutan berada dalam rentang 8-11, sehingga pada pH netral hidrindantin akan berupa larutan tidak berwarna.

Berdasarkan variasi konsentrasi yang digunakan, absorbansi tertinggi terlihat pada variasi konsentrasi Na_2CO_3 6000 mg/L. Maka dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini, kondisi optimum pembentukan hidrindantin merah terjadi dengan konsentrasi Na_2CO_3 6000 mg/L.

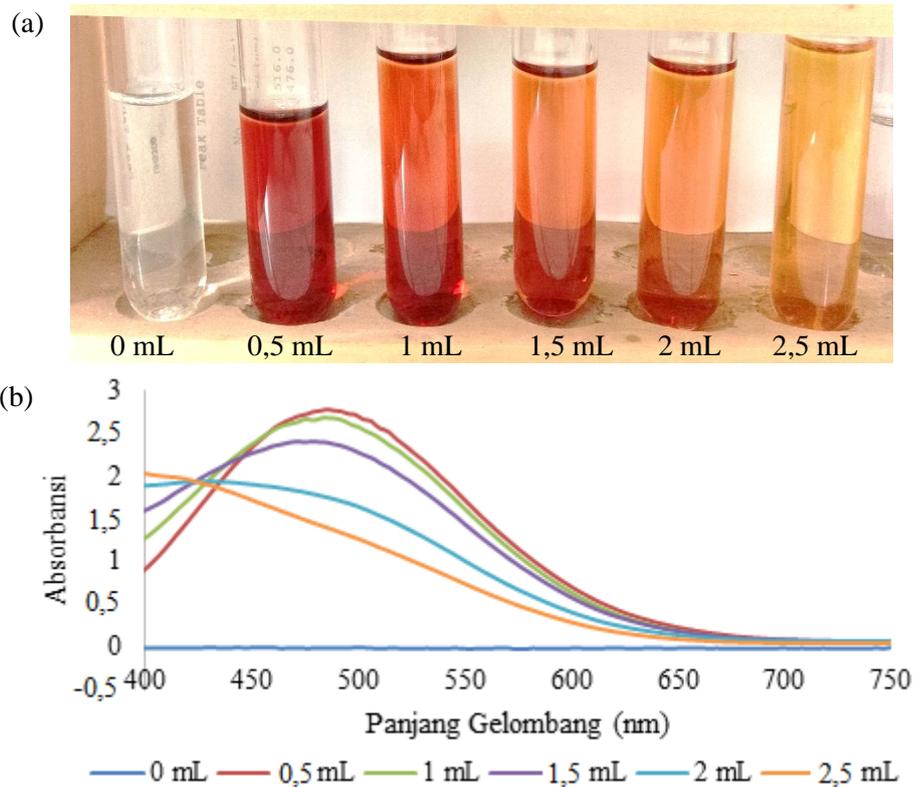
5.1.4. Optimasi Volume Larutan Ninhidrin

Optimasi volume ninhidrin dilakukan untuk mengetahui volume yang baik digunakan untuk ditambahkan ke dalam larutan KCN yang telah dilarutkan dengan

medium Na_2CO_3 . Ninhidrin berfungsi dalam pembentukan warna hidrindantin melalui reaksi antara ninhidrin dan ion CN^- . Namun pembentukan hidrindantin sangat bergantung terhadap pH medium yang digunakan. Ninhidrin jika direaksikan dengan sianida dalam medium netral akan membentuk hidrindantin tidak berwarna, membentuk hidrindantin merah pada rentang pH 8-12, dan akan mengalami perubahan warna menjadi biru dengan penambahan NaOH. Perubahan warna ini dapat terjadi pada rentang pH 12-12,8 (Nagaraja *et al.*, 2002).

Ninhidrin yang digunakan pada penelitian ini memiliki konsentrasi 1%. Penggunaan konsentrasi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Nagaraja, *et al.*, (2002). Selain itu, telah dilakukan optimasi konsentrasi ninhidrin oleh Sulistyarti, *et al.*, (2014). Penelitian yang dilakukan oleh (Sulistyarti, *et al.*, 2014) menunjukkan dari variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5%, diperoleh konsentrasi optimum pembentukan warna pada hidrindantin merah adalah 1%. Meskipun pada konsentrasi 1; 1,5; 2; 2,5; 3; dan 3,5% terdapat perbedaan nilai absorbansi, namun perbedaan tersebut tidak signifikan sehingga dengan penggunaan ninhidrin 1% sudah bisa memberikan serapan yang maksimal.

Optimasi volume ninhidrin ini dilakukan dengan menggunakan larutan hidrindantin yang dibuat dengan melarutkan padatan KCN menggunakan pelarut natrium karbonat konsentrasi 6000 mg/L dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi KCN 0.05 mg/L. Larutan KCN ini kemudian dipipet sebanyak 5 mL kemudian direaksikan dengan reagen ninhidrin 1% sebanyak 0; 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL hingga terbentuk larutan hidrindantin berwarna merah. Larutan yang terbentuk kemudian didiamkan selama 40 menit dan kemudian dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum masing-masing variasi dengan rentang panjang gelombang 350-750 nm. Spektra hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ini dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Warna Hidrindatin Merah yang Terbentuk Setelah Penambahan Variasi Volume Ninhidrin (a) dan Spektra Panjang Gelombang Maksimum Variasi Volume Ninhidrin (b)

Spektra 12(b) menunjukkan penurunan panjang gelombang dan absorbansi seiring dengan meningkatnya volume ninhidrin yang ditambahkan pada larutan KCN 0,05 mg/L. Terlihat pula KCN yang tidak ditambahkan ninhidrin tidak memberikan serapan warna yang disebabkan oleh tidak terbentuknya larutan hidrindantin akibat tidak terdapatnya ninhidrin yang bisa mengikat ion CN^- .

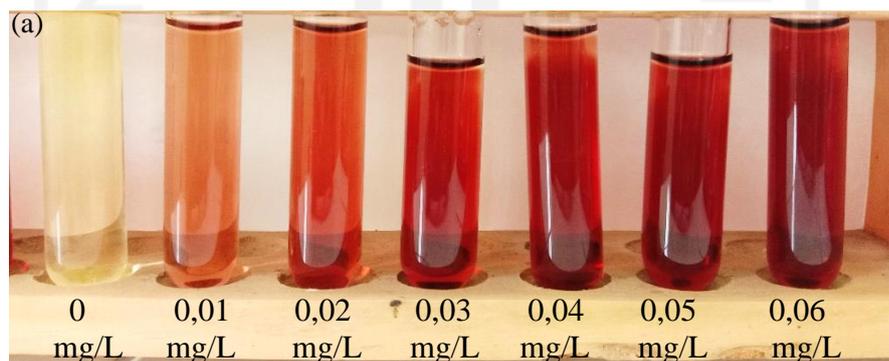
Kenaikan nilai absorbansi dari variasi ini dapat terlihat dari warna yang terbentuk pada Gambar 12(a). Larutan hidrindantin yang terbentuk dengan penambahan ninhidrin sebanyak 0,5 mL memiliki warna merah yang lebih pekat dibandingkan yang lain. Berdasarkan hasil spektrum pengukuran menunjukkan penambahan ninhidrin sebanyak 0,5 mL memberikan nilai absorbansi tertinggi, yang artinya pada penggunaan volume 0,5 mL ini hidrindantin merah terbentuk maksimal. Sedangkan pada variasi konsentrasi 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL intensitas warna merah yang terbentuk cenderung berkurang seiring dengan meningkatnya volume ninhidrin yang ditambahkan. Ninhidrin yang berlebih dalam larutan akan

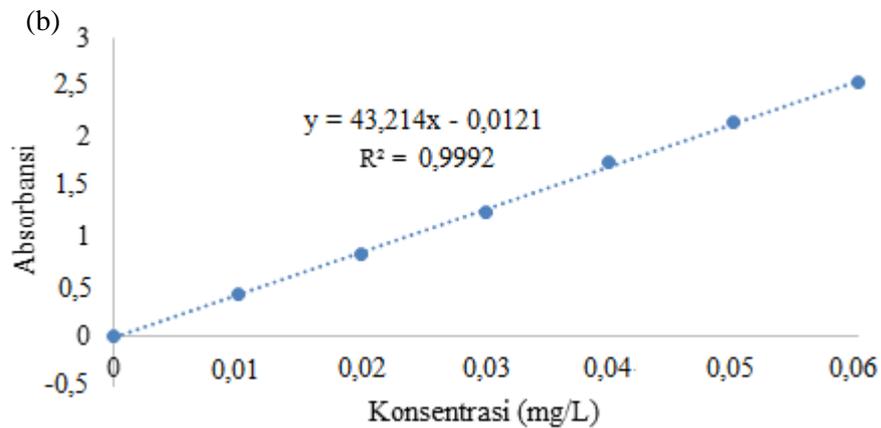
bereaksi dengan Na_2CO_3 dan membentuk warna kuning. Warna kuning yang terbentuk ini lah yang menyebabkan berkurangnya intensitas warna merah hasil reaksi antara ninhidrin dan ion CN^- .

Maka dapat disimpulkan dari hasil optimasi volume ninhidrin yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa volume optimum yang baik digunakan untuk membentuk hidrindantin merah adalah 0,5 mL.

5.1.5. Pengukuran Kurva Kalibrasi Standar Hidrindantin

Menurut Haque and Bradbury (2002) kurva standar dibuat untuk kalibrasi pengukuran kadar sianida yang akan dianalisa. Kurva kalibrasi standar ini dibuat dengan menggunakan larutan hidrindantin yang dibuat dengan melarutkan padatan KCN menggunakan pelarut natrium karbonat konsentrasi 6000 mg/L dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi KCN 0,00; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; dan 0,06 mg/L. Larutan KCN ini kemudian masing-masing dipipet sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 mL ninhidrin 1% pada tiap tabung. Larutan ini kemudian didiamkan selama 40 menit hingga terbentuk larutan hidrindantin merah yang stabil dan diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 487 nm. Hasil pengukuran kurva kalibrasi standar dapat dilihat pada Gambar 13(b).





Gambar 13. Larutan Standar Hidrindantin Merah (a) dan Kurva Kalibrasi Standar Hidrindantin Merah (b)

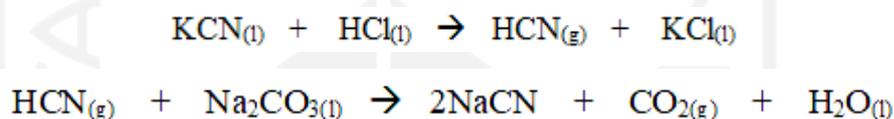
Gambar 13(a) menunjukkan semakin tingginya konsentrasi KCN dalam larutan hidrindantin merah terlihat dengan semakin pekatnya intensitas warna merah yang dihasilkan. Adanya peningkatan intensitas warna larutan hidrindantin merah ini menyebabkan pada kurva kalibrasi standar yang diperoleh pada Gambar 13(b) menunjukkan kenaikan nilai absorbansi seiring dengan semakin tingginya konsentrasi KCN pada larutan hidrindantin merah. Hal ini sesuai dengan hukum Lambert-Beer yaitu konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi (Warono, 2013). Berdasarkan kurva kalibrasi standar tersebut diperoleh persamaan garis $y = 43,214x - 0,0121$ dengan nilai $R^2 = 0,9992$.

5.2. Aplikasi Analisis Sianida dalam Minuman Kopi

Aplikasi analisis sianida dalam minuman kopi yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode destilasi untuk pemisahan dan Spektrofotometer UV-Vis untuk pengukuran kadar sianida. Penggunaan metode destilasi adalah untuk memisahkan senyawa sianida dari minuman kopi dengan bantuan penambahan asam kuat yang dalam penelitian ini digunakan asam klorida (HCl) 37%.

Mekanisme metode pemisahan ini adalah analit berupa kalium sianida (KCN) dengan konsentrasi 0,04 mg/L sebanyak 10 mL yang ditambahkan ke dalam minuman kopi akan membentuk gas HCN dengan bantuan HCl 37% yang ditambahkan sebanyak 5 mL ke dalam 200 mL minuman kopi yang telah

dinginkan. Sifat senyawa HCN yang memiliki titik didih yang rendah yaitu 26 °C akan membantu terjadinya pemisahan antara senyawa sianida dengan kopi. Setelah terjadinya pemisahan tersebut, gas HCN yang terbentuk akan mengalir ke kondensor dan masuk ke dalam Erlenmeyer yang telah diberikan Na₂CO₃ 6000 mg/L sebanyak 5 mL yang berfungsi untuk mengikat gas HCN yang terbentuk. Destilasi dilakukan dalam keadaan tertutup yaitu tidak ada udara yang masuk maupun keluar dari system selama proses destilasi. Pada rangkaian ini, didalam Erlenmeyer penampung destilat tidak diberikan selang tambahan. Reaksi senyawa sianida yang terjadi selama proses destilasi ini dapat terlihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Reaksi Pemisahan Sianida dari Minuman Kopi

Proses destilasi ini dilakukan selama 1,5 jam pada suhu yang dijaga pada rentang 85-90 °C. Destilat yang diperoleh kemudian digojog pelan agar senyawa sianida hasil destilasi dan Na₂CO₃ menjadi homogen dan kemudian diukur volumenya. Hasil destilasi ini ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Perolehan Destilasi Kopi dan Sianida

Nama	KCN (mL)	HCl (mL)	Na ₂ CO ₃ (mL)	Suhu (°C)	Tetes Pertama (menit)	Volume Destilat (mL)
Blanko	0	5	5	85-90	25	7
Destilasi 1	10	5	5	85-90	25	7
Destilasi 2	10	5	5	85-90	24	7

Destilat yang telah diukur volumenya dimasukkan ke dalam botol vial dan ditutup rapat seperti pada Gambar 15(a) untuk mencegah terjadinya penguapan gas HCN yang kemungkinan masih belum bereaksi sempurna dengan Na₂CO₃. Setelah seluruh proses destilasi selesai, masing-masing destilat dipipet sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan ninhidrin 1% sebanyak 0,5 mL untuk membantu pembentukan larutan hidrindantin berwarna merah. Setelah penambahan

tersebut, konsentrasi sianida yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Konsentrasi Sianida Dalam Sampel Kopi

Nama Sampel	Volume Destilat (mL)	Volume Analisis (mL)	Absorbansi	Konsentrasi Terukur (mg/L)
Sampel Kopi	7	5	0,292	0,007
Sampel Kopi + CN ⁻ 0,04 mg/L	7	5	1,200	0,028
Sampel Kopi + CN ⁻ 0,04 mg/L	7	5	1,228	0,029

Tabel 6 menunjukkan nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran hasil destilasi sampel kopi. Sampel kopi tanpa penambahan CN⁻ atau blanko terlihat memberikan nilai absorbansi. Hal dikarenakan larutan blanko tersebut memiliki warna kuning yang terbentuk akibat reaksi antara Na₂CO₃ dan ninhidrin, warna yang terbentuk inilah yang menyebabkan adanya serapan saat dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis. Warna kuning yang terbentuk tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapatnya senyawa sianida di dalam hasil destilasi blanko. Perbedaan warna yang terbentuk dapat terlihat jelas pada Gambar 15(b).

Tabel 7. Data Validasi Metode Analisis Sianida dalam Minuman Kopi

Nama Sampel	Persamaan Garis	R ²	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	%Recovery	%RPD
Destilat 1	$y = 43,214x - 0,0121$	0,9992	0,0021	0,0069	98,17	2,284
Destilat 2					100,44	

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil validasi metode analisis sianida dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis memiliki nilai *Limit Of Detection* (LOD) hingga 0,0021 mg/L. Nilai LOD ini menunjukkan nilai minimal konsentrasi analit yang bisa dianalisis oleh instrumen spektrofotometer UV-Vis. Adapun hasil perhitungan *Limit Of Quantitation* (LOQ) diperoleh sebesar 0,0069 mg/L. Nilai LOQ ini menunjukkan konsentrasi minimal atau terkecil yang bisa

diukur oleh instrument dengan presisi dan akurat.

Hasil pengukuran kadar sianida dalam minuman kopi dengan Spektrofotometer UV-Vis memiliki nilai akurasi (%*Recovery*) sebesar 98,17% dan 100,44%. Nilai perolehan kembali atau %*Recovery* digunakan untuk menentukan akurasi dari sebuah metode. Melalui nilai %*Recovery* ini akan diperoleh derajat kedekatan atau ketepatan hasil analisis dengan jumlah analit yang sebenarnya. Keberterimaan hasil pengujian akurasi sebuah metode adalah jika metode tersebut memiliki nilai perolehan kembali atau %*Recovery* sebesar 98-102% (Saqila, *et al.*, 2021). Sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil dari analisis sianida dalam minuman kopi menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan hasil yang akurat karena memiliki nilai %*Recovery* yang masih dalam batas keberterimaan.

Selanjutnya adalah dilakukan penentuan tingkat presisi dari metode ini. Penentuan nilai presisi ini adalah untuk melihat kedekatan hasil analisis satu sama lain dalam rangkaian pengujian yang dilakukan berulang (Saqila, *et al.*, 2021). Tingkat presisi metode ini dihitung dengan menggunakan nilai %RPD dan diperoleh sebesar 2,284% dan nilai %RSD Horwitz sebesar 27,351%. Perolehan nilai %RPD hasil pengukuran kemudian dibandingkan dengan nilai $0,5 \times \%RSD$ Horwitz, dan diperoleh nilai %RPD lebih kecil dari $0,5 \times \%RSD$ Horwitz ($\%RSD < 0,5 \times \%RSD$ Horwitz), sehingga metode ini memiliki hasil pengujian yang presisi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan analisis kadar sianida dalam minuman kopi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pemisahan menggunakan destilasi memiliki hasil yang presisi dan tingkat akurasi yang baik.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil kadar sianida yang diperoleh dari analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah sebesar 0,028 mg/L dan 0,029 mg/L
2. Terdapat pengaruh konsentrasi Na_2CO_3 dan volume ninhidrin yang digunakan terhadap intensitas warna hasil pembentukan larutan hidrindantin. Hasil optimasi konsentrasi Na_2CO_3 dan volume ninhidrin menunjukkan serapan warna yang optimal terjadi pada penggunaan konsentrasi Na_2CO_3 6000 mg/L dengan volume ninhidrin 1% sebanyak 0,5 mL.
3. Hasil penilaian terhadap nilai terhadap penggunaan spektrofotometer UV-Vis dalam analisis minuman kopi menunjukkan metode ini memiliki nilai %*Recovery* sebesar 98,17% dan 100,44% yang menunjukkan bahwa metode ini memiliki nilai akurasi dan presisi yang baik.

6.2. Saran

Setelah menyelesaikan penelitian ini, penulis mengharapkan;

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pemisahan sianida dari minuman kopi maupun minuman berwarna lainnya menggunakan metode destilasi.
2. Dilakukan pengembangan metode lain untuk analisis maupun untuk menghilangkan kadar sianida pada makanan maupun minuman.

DAFTAR PUSTAKA

- ACGIH, 2001, *Hidrogen Cyanide And Cyanide Salts. In: Documentation Of The Threshold Values And Biological Exposure Indices*, 8th ed, Cincinnati, OH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1–6.
- ECETOC, 2004, *Hidrogen Cyanide, Sodium And Potassium Cyanides And Acetone Cyanohydrin*. Brussels, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, in press (ECETOC Joint Assessment of Commodity Chemicals).
- ATSDR, 2006, *Toxicological Profile for Cyanide. Registry*, A.f.T.S.a.D. (ed).
- APHA, AWWA, WPCF., 2011, *Standard Method for The Examination of Water and Wastewater 18th Edition*, American Public Health Association, Washington DC.
- Aprilia, F. A., Ayuliansari, Y., Putri, T., Azis, Y. M., Camelina, D. W., and Putra, R. M., 2018, Analisis Kandungan Kafein dalam Kopi Tradisional Gayo dan Kopi Lombok Menggunakan HPLC dan Spektrofotometri UV-VIS, *Biotika*, 16 (2), 38-39.
- Cahyawati, Putu Nita., Izal Zahran, M. Ikhsan Jufri, dan Noviana., 2017, Keracunan Akut Sianida, *Wicaksana, Jurnal Lingkungan & Pembangunan*, 1 (1), 80-87.
- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. and Trussel, R.R., 1989, Standart Methods for The Examination of Water and Waste Water, 17th ed., *American Public Health Association*, Washington, 420-427, 442 444.
- Drochioiu, G., dkk, 2002, Ninhydrin-Based Forensic Investigations: II. Cyanide Analytical Toxicology, *International Journal of Criminal Investigation*, Vol. 1(4): 213-226.
- Eka, Reysa., 2013, *Rahasia Mengetahui Makanan Berbahaya*, Guepedia.
- Elfa, Noor., dan Rasyidah., 2021, Pengujian Efektivitas Alat Destilasi Fraksinasi Dalam Produksi Alkohol Dari Air Tape Lokal Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Hand Sanitizer, *QUANTUM: Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*, 12 (1), 91-105.
- Elif K, Ahlatci F, Celep O, Yazici EY, Deveci H., 2014, Metal interference with the determination of free cyanide, *Proceedings of the 14th International Symposium on Mineral Processing – Kuşadası*, Turkey, 1027-1033.
- Ennis, D., 2014, The Effect of Caffeine on Health: The Benefits Outweigh the Risk, *Academic Journal Perspectives*, 6 (2), 1-5.
- Farida, A., Evi, R. R., dan Kumoro, A. C., 2013, Penurunan Kadar Kafein dan Asam Total pada Biji Kopi Robusta Menggunakan Teknologi Fermentasi Anaerob Fakultatif dengan Mikroba Nopkor MZ-15, *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2 (2), 70–75.
- Guenther, E., 1987, *Minyak Atsiri Jilid 1*, Terjemahan oleh Kataren, S., Jakarta, Universitas Indonesia Press.
- Gulo, Erfan Sriman Famarani., 2016, *Aplikasi Spektrofotometri UV dan Kalibrasi Multivariat untuk Analisis Parasetamol, Guaifenesin dan Klorfeniramin Maleat dalam Sirup*, Skripsi, Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma

Yogyakarta.



- Haque, Rezaul M., J. Howard Bradbury., 2002, Total Cyanide Determination Of Plants And Foods Using The Picrate And Acid Hydrolysis Methods, *Food Chemistry*, 77, 107-114.
- Hassane AH, Adamou R, Ahmed MM, Abdoulaye A., 2015, Optimizing The Spectrophotometric Determination Of Aqueous Cyanide: Application To Groundwater At The Samira Gold Mine (Niger), *Asian Journal Of Chemical Research*, 8 (7), 481-492.
- Husna, Aulia D., and Rahadian Zainul., 2019, Analisis Molekular Dan Karakteristik Hidrogen Sianida (HCN), *INA-Rxiv*, doi:10.31227/osf.io/7xej9.
- Ilham, M. I., 2019, Hubungan Pola Konsumsi Kopi Terhadap Kejadian Gastritis Pada Mahasiswa Muhammadiyah Parepare, *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*, 2 (3), 433-446.
- Irawan, Anom., 2019, Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian, *Indonesian Journal Of Laboratory*, 1 (2), 1-9.
- Julianto, Tatang Shabur., 2019, *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*, Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Kjeldsen, P., 1999, *Behaviour of cyanides in soil and groundwater: A review*, Water, air and soil pollution., 115 (1-4), 279-307.
- Kurnia, Nova dan Fatmi Marwatoen., 2013, Penentuan Kadar Sianida Daun Singkong Dengan Variasi Umur Daun Dan Waktu Pemetikan, *Jurnal Ilmiah Pendidikan Kimia "Hidrogen"*, 1 (2), 117-121.
- Kyle, J., 1988, *The Extraction And Recovery Of Gold*, WASM Metallurgy Department.
- Lumbantobing, Ria., Mery Napitupulu, dan Minarni Rama Jura., 2019, Analysis of Cyanide Acid Content in Cassava (*Manihot esculenta*) Based on Storage Time, *J. Akademika. Kim*, 8 (3), 180-183.
- Morper, M.R., 1999, *Combination Therapy Tackles Wastewater Toxins Chemical Engineering*, 106 (8), 66-70.
- Muyasaroh, Siti., dan Indah Rahmatiah Siti Salami., 2017, The Toxicity Test of Sodium Cyanide (NaCN) to Some Species of Freshwater Fish: A Review, *J. Manusia & Lingkungan*, 25 (1), 1-6.
- Nagaraja, P., Kumar, M. S. H., Yathirajan., Dan H. S. Prakash., 2002, Novel Sensitive Spectrophotometric Method For the Trace Determination of Cyanide in Industrial Effluent, *The Japan Society for Analytical Chemistry*, 18 (1), 1027-1030.
- Nasta'in, Laisa dan Antuni Wiyarsi., 2019, Analysis Of Levels And Long Sustainability Of Sodium Solutions Chloride (NaCl) In Sianida Acid (HCN) Detoxification On Umbi Gadung (*Dioscorea Hispida Dennst*), *Jurnal Science Tech*, 5 (1), 6-14.
- Pitoy, M. M., 2014, Sianida: Klasifikasi, Toksisitas, Degradasi, Analisis (Studi Pustaka), *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 4 (1), 1-4.
- Rasiska, Siska., Jemia Afdhila Darmawan, dan Endah Yulia., 2021, Pengujian Air Sulingan Kulit Buah Kopi dengan Metode Destilasi Air dan Efeknya sebagai Atraktan Penggerek Buah Kopi (*Hypothenemus hampei Ferr.*) (*Curculionidae:Scolytiidae*), *Jurnal Agrikultura* 2021, 32 (1), 49-56.

- Sastrohamidjojo, 1995, *Spektroskopi*, Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Saqila, A R., Ida Musfiroh., 2021, Review Artikel : Verifikasi Metode Analisis Obat, *Farmaka*, 19 (3), 87-92.
- Sembiring Timbangan, Dayana Indri, Rianna Martha., 2019, *Alat Penguji Material*, Bogor, Guepedia.
- Smith, A. and Mudder, T., 1991, *The Chemistry and Treatment of Cyanidation Waste*, Mining Journal Books Ltd., London.
- SNI 01-7152-2006 Bahan Tambahan Pangan - Persyaratan Perisa Dan Penggunaan Dalam Produk Pangan.
- Suharto, Muhammad., Agung Ari Wibowo, dan Profiyanti Hermien Suharti., 2020, Optimasi Pemurnian Etanol Dengan Destilasi Ekstraktif Menggunakan Chemcad, *Jurnal Teknologi Separasi Distilat*, 6 (1), 1-7.
- Sulistiyarti, Hermin., Nury Kusumawardhani, Novy Lailatuz Zulfah, Yulia Dwi Cahyani, Hilda Emilia Fahriyani, dan Balqis Milda., 2014, Test Kit Untuk Analisis Sianida Dalam Ketela Pohon Berdasarkan Pembentukan Hidrindantin, *Conference paper*, Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional.
- Sundermann, Tom R., Georg Schmitt, and Marc Bartel., 2020, Modified Congener Analysis: Quantification Of Cyanide In Whole Blood, Other Body Fluids, And Diverse Beverages, *Drug Test Anal*, Vol. 13 (1), 412–418.
- Suudah, Evi Noor., Chinthia Sari Yusriana, dan Trisna Dewi. N., 2015, Uji Efektivitas Ketepatan Waktu Pemberian Kombinasi Natrium Tiosulfat Dan Natrium Nitrit Sebagai Antidotum Ketoksikan Akut Kalium Sianida Pada Mencit (*Mus musculus*), *Jurnal Permata Indonesia*, 6 (1), 2086 – 9185.
- Tsani, Iinaas Adzkiya., Sulistiyani, Budiyo., 2018, Analisis Risiko Pajanan Sianida Pada Masyarakat Desa Ngemplak Kidul Kecamatan Margoyoso Kabupaten Pati, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6 (6), 159-166.
- Walangare, K. B. A., A. S. M. Lumenta, J. O. Wuwung, dan B. A. Sugiarto., 2013, Rancang Bangun Alat Konversi Air Laut Menjadi Air Minum Dengan Proses Destilasi Sederhana Menggunakan Pemanas Elektrik, *e-Jurnal Teknik Elektro dan Komputer*, 2 (2), 1-11.
- Warono, Dwi., Syamsudin., 2013, Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen, *Konversi*, 2 (2), 57-65.
- World Health Organization, 2004, *Hydrogen Cyanide and Cyanides: Human Health Aspects*.
- Yashin, Alexander., Yakov Yashin, Xiaoyan Xia and Boris Nemzer., 2017, Chromatographic Methods for Coffee Analysis: A Review, *Journal of Food Research*, 6 (4), 60-82.
- Yuningsih, 2012, Keracunan Sianida Pada Hewan Dan Upaya Pencegahannya, *Jurnal Litbang Pertanian*, Ed 31, 21-25.
- Yuningsih, 2012, *Perlakuan Penurunan Kandungan Sianida Ubi Kayu untuk Pakan Ternak*, Balai Besar Penelitian Veteriner.

LAMPIRAN

Lampiran 1 : Perhitungan dan Pembuatan Larutan

1. Pembuatan Larutan Induk Sianida 1000 mg/L

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$
$$1000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{massa CN}^-}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa CN}^- = 100 \text{ mg}$$

Massa KCN yang dibutuhkan:

$$\begin{aligned} \text{Massa KCN} &= \frac{\text{Mr KCN}}{\text{Ar CN}^-} \times \text{massa CN}^- \\ &= \frac{65,12 \text{ g/mol}}{26,02 \text{ g/mol}} \times 0,1 \text{ g} \\ &= 0,25 \text{ g} \end{aligned}$$

2. Pengenceran Larutan Standar Sianida

Pengenceran Larutan Sianida 10 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 10 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Pengenceran Larutan Sianida 1 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 10 \text{ ppm} \times V_1 &= 1 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Pengenceran Larutan Sianida 1 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1 \text{ ppm} \times V_1 &= 0,05 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \\ V_1 &= 2,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Pembuatan Deret Standar Kurva Kalibrasi

V ₁ (mL)	C ₁ (mg/L)	V ₂ (mL)	C ₂ (mg/L)
0,5	1	50	0,01
1			0,02
1,5			0,03
2			0,04
2,5			0,05
3			0,06

3. Pembuatan Larutan Ninhidrin 1%

$$\% \text{larutan} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{Volume (mL)}} \times 100\%$$

$$1\% = \frac{\text{massa (g)}}{100 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$\text{Massa} = 1 \text{ g}$$

4. Pembuatan Larutan Natrium Karbonat 6000 mg/L

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$6000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{massa (mg)}}{0,5 \text{ L}}$$

$$\text{Massa} = 3000 \text{ mg}$$

5. Pembuatan Larutan NaOH 1 M

$$M = \frac{\text{Massa (g)}}{\text{Mr} \left(\frac{\text{g}}{\text{Mol}}\right)} \times \frac{1000}{\text{Volume (mL)}}$$

$$1 \text{ mol/L} = \frac{\text{Massa (g)}}{40 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 4 \text{ g}$$

Lampiran 2 : Analisis Data

1. Konsentrasi Sianida yang Ditambahkan dalam 200 mL Kopi

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\M_1 \times 10 \text{ mL} &= 0,04 \text{ ppm} \times 205 \text{ mL} \\M_1 &= 0,82 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2. Pengenceran Larutan Sianida 0,82 ppm

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\10 \text{ ppm} \times V_1 &= 0,82 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \\V_1 &= 4,1 \text{ mL}\end{aligned}$$

3. Akurasi

Destilat 1

$$\begin{aligned}\% \text{Recovery} &= \frac{\text{Kons. Destilat} \times \left(\frac{\text{Vol. Destilat}}{\text{Vol. Analisis}}\right)}{\text{Kons. yang Ditambahkan}} \times 100\% \\&= \frac{0,028 \text{ mg/L} \left(\frac{7 \text{ mL}}{5 \text{ mL}}\right)}{0,04 \text{ mg/L}} \times 100\% \\&= 98,17\%\end{aligned}$$

Destilat 2

$$\begin{aligned}\% \text{Recovery} &= \frac{\text{Kons. Destilat} \times \left(\frac{\text{Vol. Destilat}}{\text{Vol. Analisis}}\right)}{\text{Kons. yang Ditambahkan}} \times 100\% \\&= \frac{0,029 \text{ mg/L} \left(\frac{7 \text{ mL}}{5 \text{ mL}}\right)}{0,04 \text{ mg/L}} \times 100\% \\&= 100,44\%\end{aligned}$$

4. %RPD

Nama	Konsentrasi Destilat (mg/L)
Destilat 1	0.028
Destilat 2	0.029
Rata-Rata	0.028

%RPD

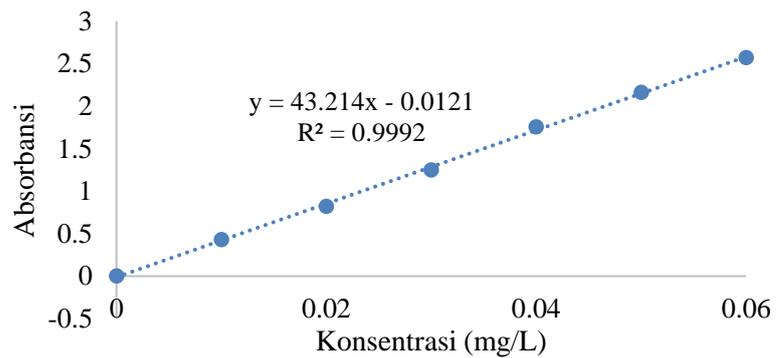
$$\begin{aligned}\%RPD &= \frac{|x_1 - x_2|}{\frac{(x_1 + x_2)}{2}} \times 100\% \\ &= \frac{|0,028 - 0,029|}{0,028} \times 100\% \\ &= 2,284\%\end{aligned}$$

$0.5 \times \%RSD \text{ Horwitz}$

$$\begin{aligned}0.5 \times \%RSD \text{ Horwitz} &= 0.5 \times 2^{(1-0.5 \log C)} \\ &= 0.5 \times 2^{(1-0.5 \log 0.0000000284)} \\ &= 0.5 \times 27,352 \\ &= 13,676\end{aligned}$$

%RPD < 0.5 x %CVHorwitz, maka hasil pengujian presisi

5. LOD dan LOQ



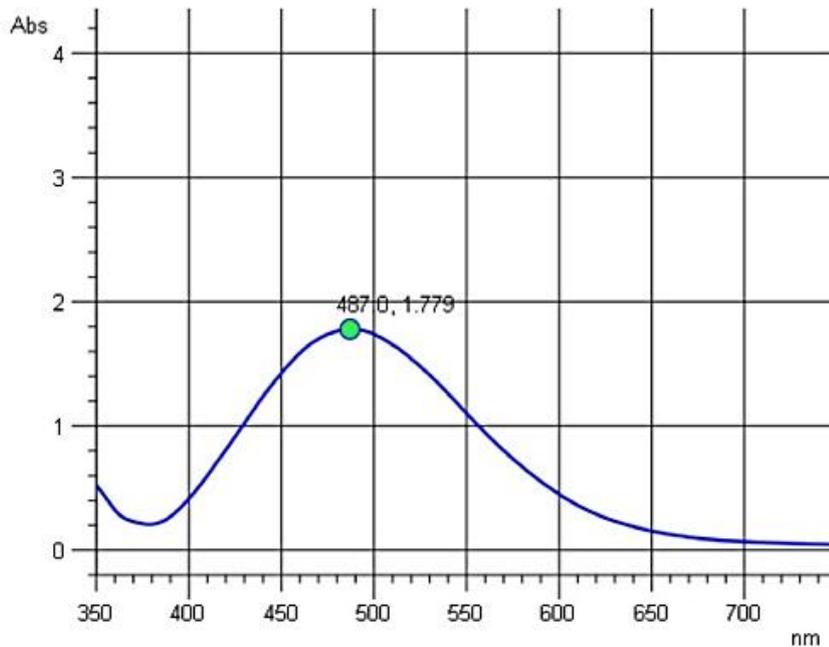
Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi (Y)	Yi	Y-Yi	(Y-Yi) ²
0	0.003	-0.0121	0.0151	0.00022801
0.01	0.429	0.42004	0.00896	8.02816E-05
0.02	0.822	0.85218	-0.03018	0.000910832
0.03	1.248	1.28432	-0.03632	0.001319142
0.04	1.756	1.71646	0.03954	0.001563412
0.05	2.163	2.1486	0.0144	0.00020736
0.06	2.569	2.58074	-0.01174	0.000137828
Jumlah				0.004446866

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{\sum(y - y_i)^2}{n - 2}} \\
 &= \sqrt{\frac{0.004446866}{7 - 2}} \\
 &= 0.029822359 \\
 \text{LOD} &= \frac{3 \times S_y}{\text{Slope}} \\
 &= \frac{3 \times 0.029822359}{43.214} \\
 &= 0.0021 \text{ mg/L} \\
 \text{LOQ} &= \frac{10 \times S_y}{\text{Slope}} \\
 &= \frac{10 \times 0.029822359}{43.214} \\
 &= 0.0069 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

Lampiran 3 : Hasil Pembacaan Spektrofotometer UV-Vis *Double Beam*
Panjang Gelombang Maksimum Hidrindantin Merah

UH5300

Report : 2023/02/10 10:46



Sample Name : WL Merah
 File Name : WL Merah
 Run Date : 2023/02/06 10:13
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	WL Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
Start WL (nm) :	350.0	G Cell Mode :	Auto
End WL (nm) :	750.0	Baseline Correction :	Cell A
Scan Speed (nm/min) :	200	Number of Sample :	1
Data Interval (nm) :	1.0		
Initial Delay (s) :	5		

Peak Threshold : 0.010
 Sensitivity : 1

UH5300

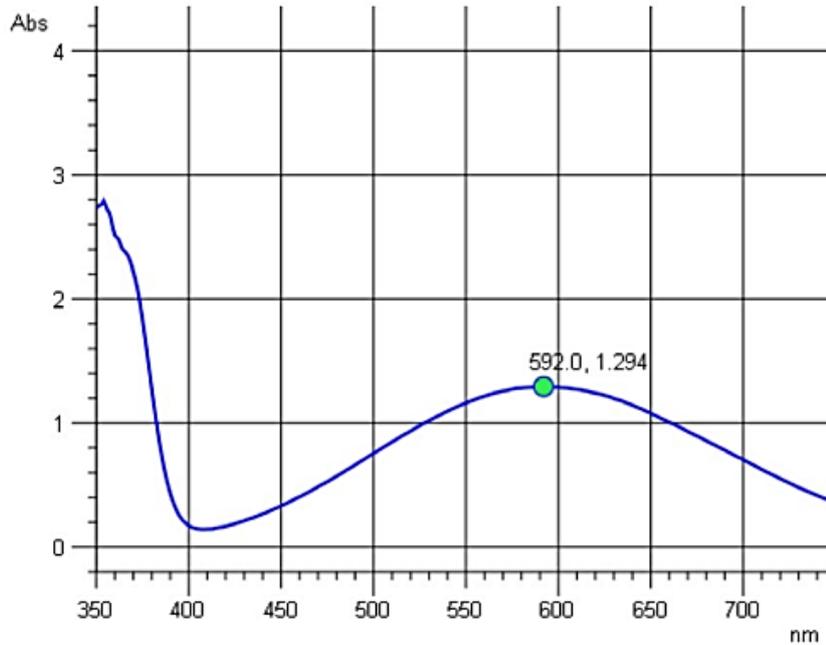
Peak Table

No.	WL (nm)	Peak	WL (nm)	Valley
1	487.0	1.779		

Panjang Gelombang Maksimum Hidrindantin Biru

UH5300

Report : 2023/02/10 10:43



Sample Name : WL Biru
 File Name : WL Biru
 Run Date : 2023/02/06 11:29
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	WL Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
Start WL (nm) :	750.0	6 Cell Mode :	Auto
End WL (nm) :	350.0	Baseline Correction :	Cell A
Scan Speed (nm/min) :	200	Number of Sample :	1
Data Interval (nm) :	1.0		
Initial Delay (s) :	5		

Peak Threshold : 0.010
 Sensitivity : 1

<http://uh5300-2734-017/TP.html>

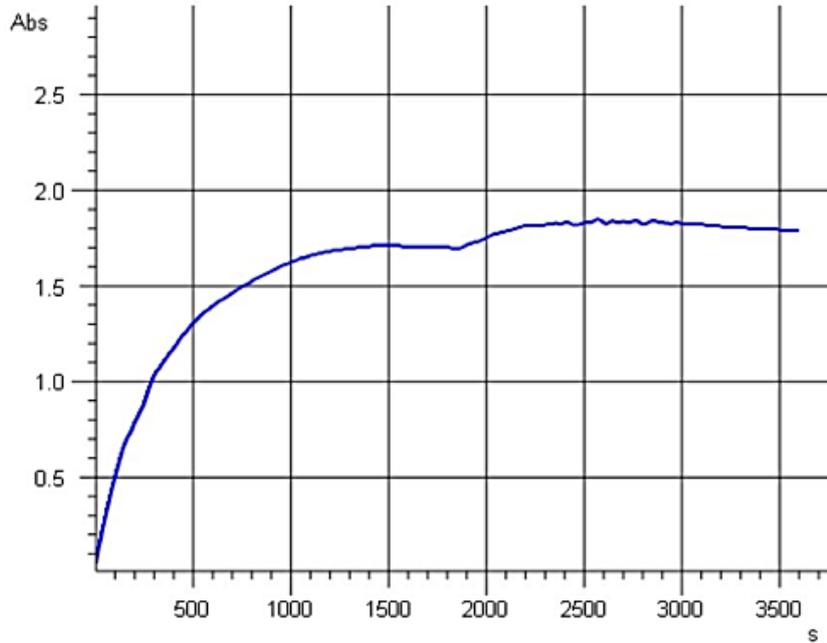
UH5300

Peak Table

No.	WL (nm)	Peak	WL (nm)	Valley
1	592.0	1.294		

Kestabilan Hidrindantin Merah

Report : 2023/02/10 10:50



Sample Name : Kestabilan (Merah)
File Name : Kestabilan (Merah)
Run Date : 2023/01/26 15:59
Operator :

Spectrophotometer
Model : UH5300 Spectrophotometer
SERIAL No. : 2734-017
(CPU1)Program No. : 3J15300-04
(CPU2)Program No. : 3J15310-08
Option : 6 Cell

Instrument Parameter

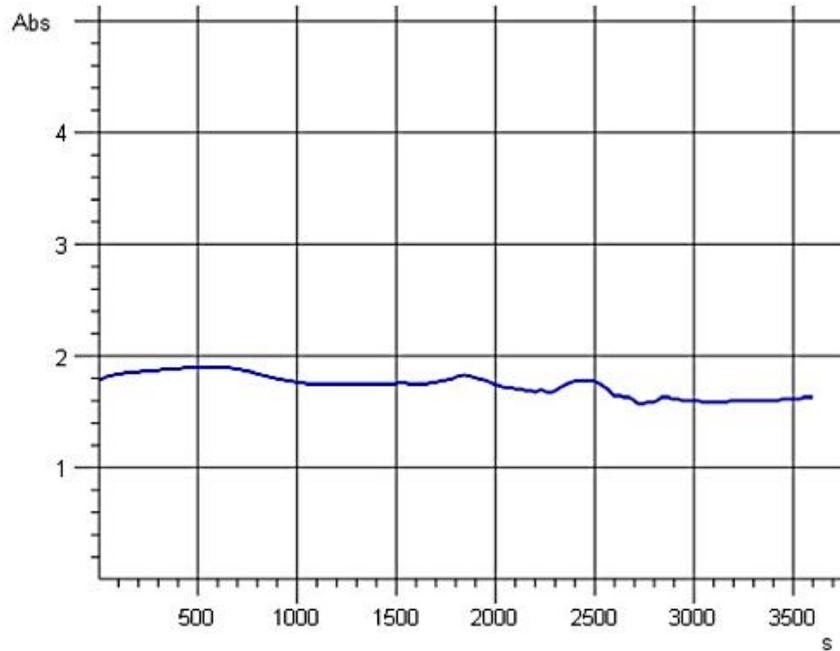
Measurement Mode :	Time Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
WL (nm) :	488.0	Lamp Economy Mode :	ON
Scan Time (s) :	3600		
Data Interval (s) :	1.0		
Initial Delay (s) :	0		

<http://uh5300-2734-017/TP.html>

Kestabilan Hidrindantin Merah (40 menit)

UH5300

Report : 2023/02/10 10:47



Sample Name : Hidrindantin Merah
File Name : Hidrindantin Merah ts
Run Date : 2023/02/06 11:17
Operator :

Spectrophotometer
Model : UH5300 Spectrophotometer
SERIAL No. : 2734-017
(CPU1)Program No. : 3J15300-04
(CPU2)Program No. : 3J15310-08
Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	Time Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
WL (nm) :	487.0	Lamp Economy Mode :	ON
Scan Time (s) :	3600		
Data Interval (s) :	1.0		
Initial Delay (s) :	5		

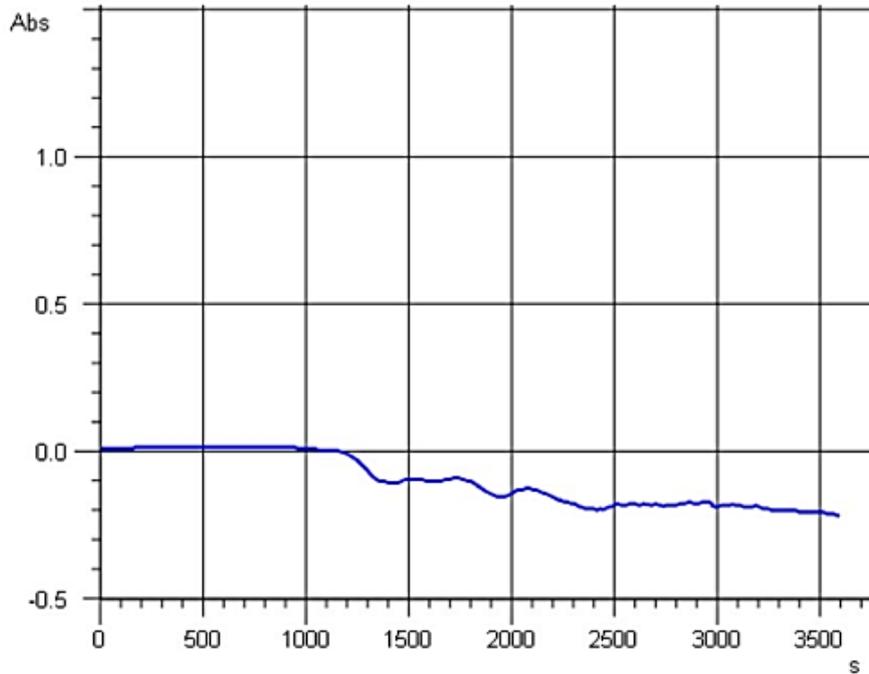
<http://uh5300-2734-017/TP.html>

Kestabilan Hidrindantin Biru

UH5300

Report :

2023/02/10 10:51



Sample Name : Kestabilan (Biru)
File Name : Kestabilan (Biru)
Run Date : 2023/01/27 15:25
Operator :

Spectrophotometer
Model : UH5300 Spectrophotometer
SERIAL No. : 2734-017
(CPU1)Program No. : 3J15300-04
(CPU2)Program No. : 3J15310-08
Option : 6 Cell

Instrument Parameter

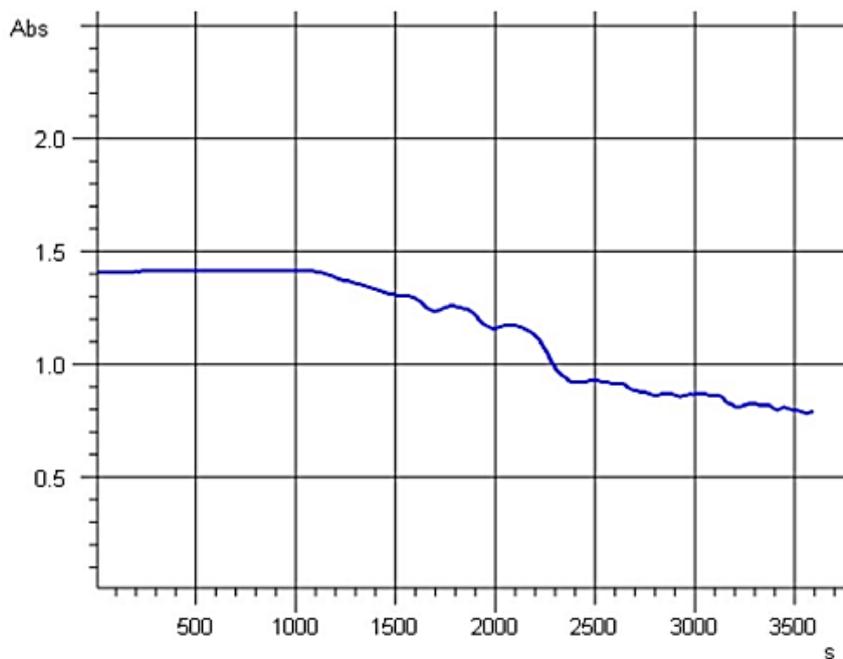
Measurement Mode :	Time Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
WL (nm) :	592.0	Lamp Economy Mode :	ON
Scan Time (s) :	3600		
Data Interval (s) :	1.0		
Initial Delay (s) :	0		

<http://uh5300-2734-017/TP.html>

Kestabilan Hidrindantin Biru (40 Menit)

UH5300

Report : 2023/02/10 10:48



Sample Name : Time Scan (Blue)
File Name : Time Scan (Blue)
Run Date : 2023/02/01 12:09
Operator :

Spectrophotometer
Model : UH5300 Spectrophotometer
SERIAL No. : 2734-017
(CPU1)Program No. : 3J15300-04
(CPU2)Program No. : 3J15310-08
Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	Time Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
WL (nm) :	592.0	Lamp Economy Mode :	ON
Scan Time (s) :	3600		
Data Interval (s) :	1.0		
Initial Delay (s) :	0		

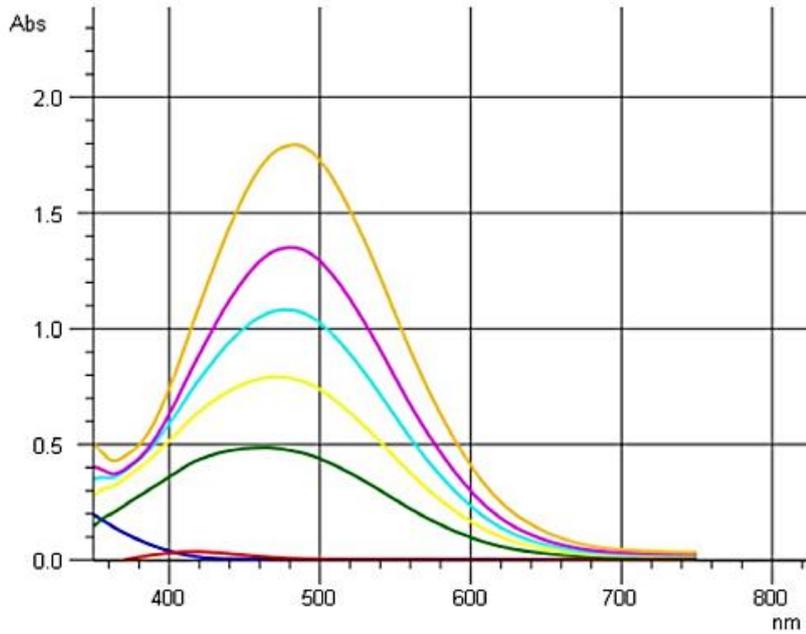
<http://uh5300-2734-017/TS.html>

Optimasi Konsentrasi Na₂CO₃

UH5300

Report :

2023/02/24 14:27



Line Type

- █ :0 ppm
- █ :2000 ppm
- █ :4000 ppm
- █ :6000 ppm
- █ :1000 ppm
- █ :3000 ppm
- █ :5000 ppm

Sample Name : 0 ppm
 File Name : 0 ppm
 Run Date : 2023/02/24 14:15
 Operator :

Spectrophotometer

Model : UH5300 Spectrophotometer

SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-04
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter	WL Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Measurement Mode :	Abs	Response :	Medium
Data Mode :	750.0	6 Cell Mode :	Auto
Start WL (nm) :	350.0	Baseline Correction :	Cell A
End WL (nm) :	400	Number of Sample :	5
Scan Speed (nm/min) :	2.0		
Data Interval (nm) :	3		
Initial Delay (s) :			

<http://uh5300-2734-017/TE.html>

UH5300

Peak

Threshold : 0.001
 Sensitivity : 1

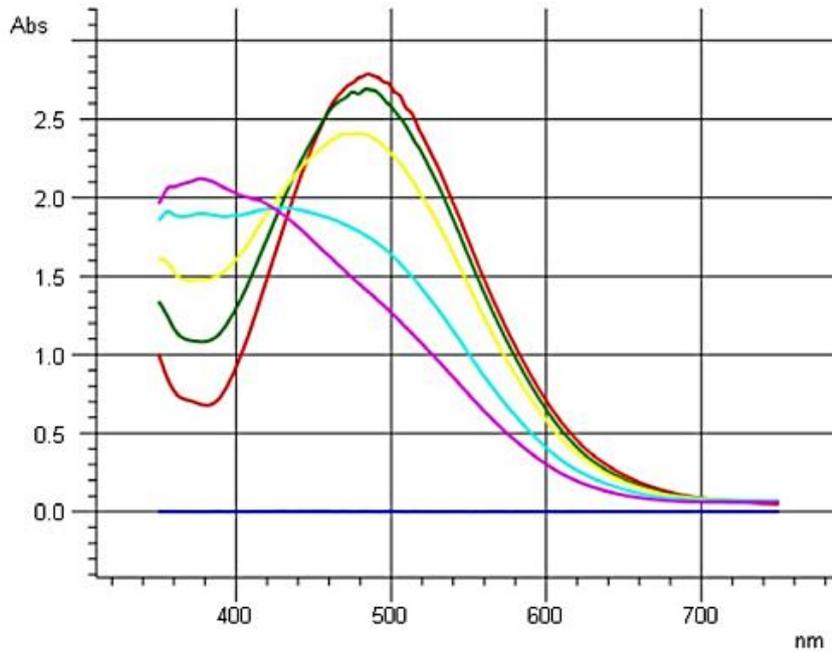
Peak Table

No.	WL (nm)	Peak	WL (nm)	Valley
1	564.0	0.004		

Optimasi Volume Ninhidrin 1%

UH5300

Report : 2023/02/16 15:32



Line Type

- █ :0 ml
- █ :1 ml
- █ :2 ml
- █ :0.5 ml
- █ :1.5 ml
- █ :2.5 ml

Sample Name : 0 ml
 File Name : 0 ml
 Run Date : 2023/02/16 15:23
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1)Program No. : 3J15300-04
 (CPU2)Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter		WL Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Measurement Mode :	Abs	Response :	Medium	
Data Mode :	750.0	6 Cell Mode :	Auto	
Start WL (nm) :	350.0	Baseline Correction :	Cell A	
End WL (nm) :	400	Number of Sample :	1	
Scan Speed (nm/min) :	2.0			
Data Interval (nm) :	5			
Initial Delay (s) :				

Peak
 Threshold : 0.001
 Sensitivity : 1

Peak Table

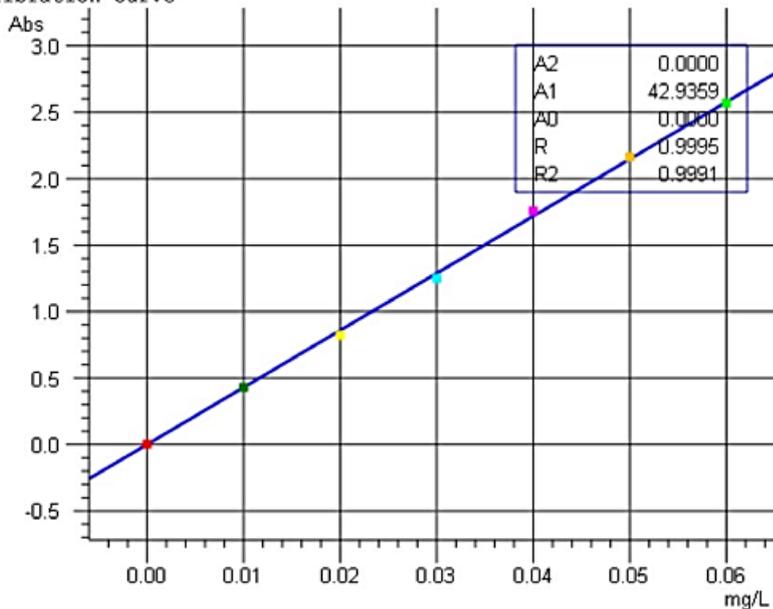
No.	WL (nm)	Peak	WL (nm)	Valley
1	660.0	0.001		
2	568.0	0.001		
3	516.0	0.001		
4	500.0	0.002		
5	458.0	0.002		
6	430.0	0.002		

Kurva Kalibrasi Larutan Standar Sianida

UH5300

Report : 2023/03/08 11:16

Calibration Curve



Sample Name : Destilat Sianida
 File Name : Destilat Sianida 1
 Run Date : 2023/03/08 10:25
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter	Concentration	Bandpass (nm) :	1.0
Measurement Mode :	Abs	Replicate Measurement :	OFF
Data Mode :	1	Statistics :	OFF
Number of WL :	487.0	6 Cell Mode :	Auto
WL1 (nm) :	3	Autorezero :	Cell A
Initial Delay(s) :		STD Autorezero :	BLK
		Sample Autorezero :	ON
		Autorezero Interval :	5
		Number of Sample :	5

UH5300

STD

STD No.	Abs	CONC (mg/L)	DIFF	RD	T
STD1	0.003	0.000	0.000	0.00000	0.00000
STD2	0.429	0.010	0.000	0.00000	0.00000
STD3	0.822	0.020	-0.001	-0.06704	-1.31132
STD4	1.248	0.030	-0.001	-0.07231	-1.41442
STD5	1.756	0.040	0.001	0.07006	1.37035
STD6	2.163	0.050	0.000	0.02970	0.58091
STD7	2.569	0.060	0.000	-0.01299	-0.25403

Curve Information

Calibration Curve Type : 1st Order
 Calibration Curve Formula : Abs=f(CONC)
 Through Zero : ON
 CONC Min : 0.000
 CONC Max : 500.000
 Calibration Curve Factor : A0 : 0.0000 A1 : 42.9359
 Factor : Correlation Coefficient: R =0.9995
 Determination Coefficient: R2 =0.9991