

CARA IDENTIFIKASI CEPAT UNTUK ASAM BONGKREK
DALAM BAHAN MAKANAN.

P. Soedigdo, Lubna Ali dan
Soekeni Soedigdo *)

R I N G K A S A N

Di sini dikemukakan suatu metoda lapisan tipis yang cepat dan baik untuk mengidentifikasi adanya asam bongkrek di dalam bahan makanan dengan menggunakan Silica gel G, H atau GF dan sistem eluen metanol-etilasetat (1 : 1; v/v). Identifikasi noda-noda dilakukan di bawah sinar UV atau dengan uap iodium. Harga R_f yang diperoleh dibandingkan dengan harga R_f zat standar asam bongkrek.

Ekstraksi asam bongkrek dilakukan sebagai berikut: 10 gram bahan makanan yang dikeringkan diekstraksi dengan 30 ml petroleum eter (t.d. = 40°-60°) pada suhu kamar. Lalu ekstrak petroleum eter ini dikocok dengan 10 ml NH_4OH 2%. Lapisan amonia ini nantinya yang dikromatografi lapisan tipis.

A B S T R A C T

A rapid thin-layer chromatographic procedure was described for the identification of bongkrekic acid in foodstuffs using Silica gel G, H or GF and the system methanol-ethyl acetate (1 : 1; v/v). The toxin was visualised

*) Departemen Kimia, Institut Teknologi Bandung.

under UV. or by exposure to iodine vapour. Then the obtained Rf values were compared with those of the authentic compound.

The extraction of bongkrekie acid was done as follows: 10 grams of the dried and ground foodstuff was extracted with 30 ml of petroleum ether (b.p. = 40°-60°) at room temperature. Then the obtained extract was well shaken with 10 ml of 2% NH_4OH solution and this extract was used for TLC determinations.

PENGANTAR

Telah lama diketahui bahwa tempe bongkrek sering kali menyebabkan keracunan yang menyebabkan kematian berpuluh-puluh penduduk, teristimewa di daerah Banyumas. Di sini yang dimaksud dengan tempe bongkrek adalah semua tempe bungkil, tempe kedele atau lain-lain macam tempe yang dalam pembuatannya ditambahkan ampas kelapa.

Mengenai toksin-toksin yang terdapat dalam tempe bongkrek yang beracun sebenarnya telah lama diketahui oleh van Veen dan Mertens (1). Mereka berhasil mengisolasi dua racun keras yang disebut asam bongkrek yang tidak berwarna dan toxoflavin yang berwarna kuning. Juga mereka berhasil mengisolasi bakteri bongkrek yang terkenal sebagai *Pseudomonas cocovenenans*, yang ternyata yang memproduksi kedua racun tersebut.

Mengingat hingga kini masih belum ada metoda analisa yang praktis, cepat dan yang dapat dipercaya hasilnya, maka dirasa perlu untuk dicari metoda yang ideal tersebut yang dapat dilakukan oleh tiap-tiap laboratorium pengontrolan bahan makanan di daerah-daerah. Dengan adanya cara yang praktis itu maka dapatlah diharapkan bahwa keracunan-keracunan dapat dihindari atau dikurangi, sedangkan untuk korban-korban yang telah terjadi dapatlah ditetapkan dengan pasti akan adanya keracunan tempe bongkrek dengan jalan menganalisa sisa makanannya, untah-untahannya dan sebagainya.

Dalam publikasi ini akan dikemukakan metoda analisa tempe bongkrek yang beracun terhadap adanya asam bongkrek.

Adapun LD_{50} asam bongkrek adalah 1400 μg per kg berat badan apabila diberikan intravenus pada tikus. Racun ini dalam keadaan bebas tidak stabil dan tidak larut dalam air melainkan larut dalam pelarut organik. Garamnya adalah stabil dan mudah larut dalam larutan alkali. Rumus empirisnya adalah $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_7$ dengan berat molekul 486. Struktur yang dikemukakan oleh Lijmbach (2) adalah seperti di bawah ini.

EKSPERIMEN DAN HASIL

Tempe bongkrek atau bahan makanan lainnya yang akan dianalisa hendaknya cukup kering dan apabila dianggap perlu dikeringkan dalam eksikator pada vakum pada suhu kamar. Berbagai percobaan telah dilakukan sebagai berikut:

1. Ekstraksi asam bongkrek

Sebagai langkah pertama dalam analisa tempe bongkrek atau bahan makanan lainnya maka dilakukan ekstraksi asam bongkrek sebagai berikut: 10 gram tempe bongkrek yang cukup kering digerus dalam mortir, kemudian dipindahkan ke dalam gelas pisah dan diekstraksi dengan 30 ml petroleum eter dengan jalan pengocokan selama kurang lebih 10 menit. Jika ada asam bongkrek maka ini akan larut ke dalam pelarut organik tersebut. Petroleum eter dipisahkan dan dimasukkan ke dalam gelas pisah kedua. Lalu ekstrak ini dikocok dengan 10 ml NH_4OH 2%.

Prosedur tersebut kadang-kadang perlu diubah kuantitas bahan-bahannya, hal mana ini bergantung pada keadaan sampel dan kadar racun yang dikandungnya. Juga kadang-kadang perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut seperti berikut: Ekstrak dalam NH_4OH yang diperoleh diasamkan dengan H_2SO_4 9N sampai pH sekitar 4 (kertas pH). Pengasaman diteruskan dengan H_2SO_4 2N sampai pH 3 (kertas pH). Larutan ini harus segera diekstraksi dengan 30 ml eter bebas peroksida. Selanjutnya larutan air dipisahkan dan eter yang tertinggal dicuci dengan 20 ml air. Akhirnya eter ini dikocok dengan larutan NH_4OH 2% dan larutan inilah yang dipisahkan untuk dianalisa.

2. Kromatografi kertas

Untuk ini diperlukan kertas Whatman I dengan ukuran 25 X 8 cm. Ekstrak yang diperoleh seperti di atas dan standar garam amonium asam bongkrek diteteskan berdampingan di atas kertas kromatografi dengan jarak 2 cm. Setelah kering, kertas diletakkan selama 3 jam di dalam lemari kromatografi. Kemudian dielusi dengan larutan yang terdiri dari campuran etanol : amonia : air (20 : 1 : 4; v/v). Di sini dipakai kromatografi turun.

Setelah elusi berjalan 15 jam, kertas dikeringkan dan noda dideteksi di bawah sinar ultra violet. Jika ada asam bongkrek maka akan terlihat noda yang semu gelap. Ini diberikan oleh standarnya dan tempe bongkrek yang beracun.

Cara deteksi lain ialah dengan menaruh kertas di dalam ruangan yang ada uap iodiumnya (4). Noda asam bongkrek akan menjadi coklat dan ini dapat diabadikan lewat penyemprotan dengan larutan kanji (4).

Untuk mendapatkan noda yang cukup jelas maka asam bongkrek yang ditetaskan pada kertas adalah sedikit-dikitnya 3,5 µg.

Adapun R_f yang diperoleh untuk asam bongkrek adalah 0,70.

Dari percobaan ini dapat ditarik kesimpulan bahwa metoda ini dapat dipakai untuk mendeteksi akan adanya asam bongkrek dalam sampel hanya sayangnya diperlukan waktu yang lama.

3. Kromatografi lapisan tipis (KLT)

Juga cara KLT dicoba untuk mendeteksi asam bongkrek. Eluen yang dipakai terdiri dari campuran metanol : etil asetat (1 : 1; v/v). Larutan sampel dan standar garam amonium asam bongkrek ditetaskan berdampingan dengan jarak 2 cm pada lapisan tipis Silica gel yang dibuat menurut cara yang diuraikan dalam Bab Bahan dan Metoda. Setelah kering plat dielusi selama 8 menit, lalu dikeringkan pada suhu kamar. Untuk mendeteksi noda digunakan sinar ultra violet, juga digunakan uap iodium. Ternyata tempe bongkrek yang beracun menghasilkan noda yang sama dengan noda standar dengan R_f yang sama ialah 0,64. Adapun tempe bongkrek yang tidak beracun tidak memberikan noda seperti tersebut di atas.

Dari hasil-hasil tersebut dapatlah ditarik kesimpulan bahwa KLT merupakan metoda untuk menganalisa asam bongkrek dengan cepat dan teliti. Kepekaannya sama dengan kromatografi kertas yang telah diutarakan di atas.

4. Spektrum absorpsi

Untuk meyakinkan bahwa noda-noda yang diperoleh pada kromatografi adalah memang benar-benar asam bongkrek, maka dapat dibuat spektrum absorpsinya. Untuk ini maka noda pada plat dikerik atau noda pada kertas kromatografi digunting, lalu diekstraksi dengan larutan amonia 2% dengan volume yang sedikit-sedikitnya. Ekstrak yang diperoleh ini ditentukan spektrum absorpsinya di daerah ultra violet. Bila ada asam bongkrek maka spektrum akan menunjukkan dua maksima pada 263 nm dan 239 nm, sedangkan minimumnya pada 250 nm.

Jika dikehendaki, maka kadar asam bongkrek yang ada pada noda di kertas atau di lapisan tipis dapat ditetapkan pula setelah dilakukan ekstraksi seperti di atas lalu diukur absorpsinya pada 263 nm atau 239 nm. Pengukuran ini dilakukan di daerah di mana hukum Beer berlaku. Maka kadar (c) asam bongkrek dapat dihitung dari persamaan:

$$A = E.c.d$$

A = absorbansi

d = 1 cm (kuvet)

E = ekstingsi molekular.

Untuk garam amonium asam bongkrek maka E pada 263 nm dan 239 nm adalah sama dengan 40.600 sedangkan berat molekulnya adalah 537.

DISKUSI

Hasil-hasil eksperimen menunjukkan bahwa cara kromatografi lapisan tipis dapat diusulkan sebagai metoda analisa asam bongkrek dalam tempe bongkrek atau bahan makanan lainnya yang paling cepat, cermat dan terpercaya yang hingga kini belum ada. Analisa dapat diselesaikan dalam kira-kira setengah jam mulai dari ekstraksinya. Di samping ini pekerjaan dapat dilakukan oleh laboratorium tiap-tiap universitas dan laboratorium jawatan kesehatan di daerah-daerah yang mempunyai analis. Metoda ini juga baik untuk pemeriksaan-pemeriksaan di lapangan.

Kromatografi kertas juga dapat dipakai dengan hasil yang sama ketelitiannya, akan tetapi memakan waktu sampai sekitar 24 jam.

Perlu diketahui kiranya bahwa ampas kelapa yang dipakai dalam pembuatan tempe bongkrek kadang-kadang sudah beracun, hal mana telah dibuktikan dengan cara analisa yang diutarakan di sini.

Prosedur analisa untuk analisa racun-racun bongkrek masih terus akan disempurnakan, juga akan disesuaikan untuk keperluan pemeriksaan untah-untahan, bahan makan lainnya, urine, darah dan lain sebagainya.

PUSTAKA

1. Van Veen, A.G., dan Mertens, W.K., *Rec. Trav. Chim.*, 53, 398 (1934); juga 54, 373 (1935).
2. Lijmbach, G.W.M., Ph.D. thesis, Techn. Hogeschool, Delft, Holland (1969).
3. Soedigdo, P., dan Liem, T.T., *Research J.*, 2, 19 (1968).
4. Soedigdo, Soekeni, dan Harun, Farida, *Acta Pharm.*, 3, 79 (1972).

(Diterima 13 September 1976)
