

PENENTUAN ASID HIDROSIANIK (ANTI NUTRISI) DI DALAM BUAH NIPAH (*Nypa fruticans*)

(Determination of Hydrocyanic Acid in Nipah Fruit (*Nypa fruticans*))

Mohd Zaidi Mat Satar, Mohd. Wahid Samsudin, Mohamed Rozali Othman*

Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan,
Fakulti Sains dan Teknologi,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
43600 Bangi, Selangor, Malaysia.

*Corresponding author: rozali@ukm.my

Abstrak

Kajian tentang kandungan anti-nutrisi asid hidrosianik telah dijalankan ke atas buah nipah (*Nypa fruticans*). Analisis melibatkan sampel sabut, biji buah dan air nira *Nypa fruticans* yang diambil daripada tiga lokasi berbeza di Semenanjung Malaysia iaitu di Seberang Perak (Perak), Merchang (Terengganu) dan Kuala Sanglang (Perlis). Kaedah penitratan alkali secara kuantitatif telah digunakan bagi menentukan kandungan asid hidrosianik di dalam setiap sampel. Hasil kajian menunjukkan kandungan asid hidrosianik bagi sabut adalah yang tertinggi di antara ketiga-tiga lokasi persampelan diikuti dengan sampel biji buah dan air nira. Kandungan asid hidrosianik di kesemua lokasi berada dalam julat 0.03-0.06, 0.03-0.05 dan 0.02-0.03 mg/100 g masing-masing untuk sabut, biji buah dan air nira. Ujian statistik ANOVA satu hala (pada aras keyakinan 95%) menunjukkan bahawa terdapat perbezaan yang bererti ($p < 0.05$) di antara lokasi persampelan dan kandungan asid hidrosianik bagi sampel sabut sahaja.

Kata kunci: *Nypa fruticans*, asid hidrosianik, sabut, biji buah, air nira

Abstract

A study on hydrocyanic acid (antinutrition) content in nipah (*Nypa fruticans*) plant components have been carried out. Analysis involve a sample of husk, seed and sap of *Nypa fruticans* collected from three different sampling location located at Seberang Perak (Perak), Merchang (Terengganu) and Kuala Sanglang (Perlis). A quantitative alkaline titration method was used to determine the content of hydrocyanic acid in all samples. Study carried out has proved that husk of *Nypa fruticans* fruit has higher content of hydrocyanic acid at all sampling location followed by seed and sap. Hydrocyanic content at all sampling location ranged from 0.03-0.06, 0.03-0.05 and 0.02-0.03 mg/100 g for husk, seed and sap of *Nypa fruticans* respectively. Statistical test carried out using one way ANOVA (at 95% confidential level) signify that the different of sampling location and hydrocyanic acid content is significant ($p < 0.05$) for husk of *Nypa fruticans* only.

Keywords: *Nypa fruticans*, hydrocyanic acid, husk, seed, nira sap

Pendahuluan

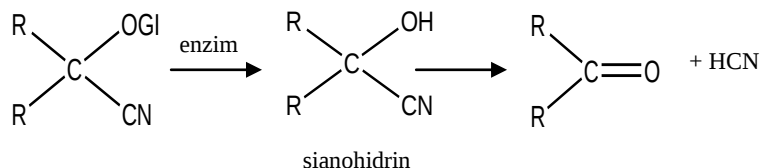
Terdapat beberapa kajian yang membuktikan bahawa buah yang kurang dikenali sebenarnya mempunyai potensi untuk dieksploitasikan bagi tujuan sumber makanan kepada manusia berdasarkan kandungan nutrisinya yang berguna [1]. Contohnya, spesies *Nypa fruticans* yang tumbuh subur di Malaysia. Spesies ini adalah satu-satunya spesies pokok palma yang tergolong dalam genus *nypa*. Air nira daripada batang pokok ini boleh digunakan untuk menghasilkan tuak, cuka dan juga gula [2]. Bagi tujuan perubatan pula, *Nypa fruticans* digunakan sebagai penawar kepada penyakit gigi dan sakit kepala [3], disamping itu juga telah dilaporkan bahawa banyak bahagian pada pokok nipah boleh digunakan bagi tujuan perubatan [4].

Pandangan daripada orang ramai membuktikan bahawa air nira nipah sememangnya mempunyai khasiat yang tersendiri dan digunakan dalam pelbagai tujuan terutamanya bagi tujuan perubatan. Malah, air nira nipah telah

diperakui mempunyai potensi yang tinggi dalam mempertingkatkan tenaga fizikal dan tahap stamina badan. Cuka yang terhasil melalui air nira nipah yang telah diperam selama 40 hari pula dipercayai bukan sahaja dapat digunakan dalam masakan, malah dapat digunakan sebagai ubat bagi penyakit seperti kencing manis, darah tinggi, gout dan batu karang.

Kajian terhadap bahan makanan yang kurang kepentingannya adalah sangat penting untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh pengambilan nutrisi kerana manusia kini sedang berhadapan dengan masalah kekurangan zat makanan disebabkan oleh pembangunan negara dan meningkatnya jumlah penyakit yang berbahaya akibat daripada kekurangan zat makanan [5]. Pendekatan mengenai pengambilan makanan yang seimbang sangat berguna bagi mengatasi masalah kekurangan zat makanan.

Antinutrisi asid hidrosianik yang terdapat di dalam tumbuhan seperti buah-buahan terhasil melalui kehadiran glikosid sianogenik yang terhasil melalui proses sianogenesis. Sianogenesis merupakan suatu proses di mana beberapa bahagian pada tumbuhan menghasilkan asid sianohidrik (HCN), yang juga dikenali sebagai asid prussik [6 - 8]. Di dalam kebanyakan kes, hidrolisis akan diakhiri dengan penghasilan gula dan sianohidrin oleh β -glukosidase (Rajah 1). Ini seterusnya akan menghasilkan asid hidrosianik dan hasil sampingan sama ada keton atau aldehid [9]. Hidupan boleh terdedah kepada sianida sama ada menerusi udara, air minuman dan juga makanan [10].



Rajah 1 Penghasilan HCN melalui tumbuhan sianogenik

Asid hidrosianik merupakan sebatian kimia yang tidak berwarna dan sangat beracun. Hidrogen sianida adalah asid lemah dengan pKa 9.2 dan boleh mengion di dalam larutan air menjadi anion sianida CN^- . Hidrogen sianida di dalam bentuk cecair dipanggil asid hidrosianik manakala garam bagi hidrogen sianida dikenali sebagai sianida. Asid hidrosianik juga boleh dikesan di dalam makanan seharian manusia di mana ia bertindak sebagai antinutrisi yang boleh mengganggu penyerapan nutrisi di dalam tubuh badan. Kebanyakan asid hidrosianik dikesan di dalam buah-buahan yang mempunyai liang seperti ceri, aprikot, epal dan lain-lain. Liang-liang ini mempunyai sianohidrin dalam jumlah yang kecil seperti mandelonitril dan amigladin yang akan merembeskan asid hidrosianik secara perlahan-lahan [10, 11]. Sekitar 100 g biji epal mempunyai kira-kira 10 mg asid hidrosianik.

Asid hidrosianik merupakan bahan toksik bagi kebanyakan organisma hidup disebabkan keupayaannya bergabung dengan logam (Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Cu^{2+}) iaitu kumpulan berfungsi bagi kebanyakan enzim. Keadaan ini akan menghalang kebanyakan proses seperti penurunan oksigen di dalam respirasi rantai cytochrom, pengangkutan elektron semasa fotosintesis dan aktiviti enzim seperti katalase dan oksidase [12, 13].

Walaupun buah nipah atau *Nypa fruticans* tidak begitu dikenali ramai, namun terdapat ramai juga pengguna yang begitu menggemari buah nipah disebabkan air nira yang dihasilkan daripada spesies ini. Ini mungkin disebabkan ia boleh digunakan dalam pelbagai tujuan dan kepentingan terutamanya dari segi kesihatan. Kajian tentang antinutrisi atau toksik di dalam makanan ini perlu dilakukan kerana produk ini sudah mula mendapat perhatian ramai. Antaranya adalah dengan mengkaji kandungan asid hidrosianik yang terdapat pada spesies *Nypa fruticans* ini.

Bahan dan Kaedah

Kesemua sampel diambil di kawasan tanaman pokok nipah (*Nypa fruticans*) di kawasan darat. Persampelan dilakukan ke atas tiga lokasi iaitu di Seberang Perak, Perak, Merchang, Terengganu dan Kuala Sanglang, Perlis.

Kesemua sampel dibawa balik ke makmal untuk dianalisis. Warna, rupabentuk buah, kulit dan isi buah *Nypa fruticans* dicatat. Air nira dipastikan berada di dalam keadaan yang sejuk atau beku. Sabut dan biji buah *Nypa fruticans* kemudiannya akan diasingkan dan dikeringkan di udara selama 24 jam dan seterusnya akan dikisar halus dengan menggunakan pengisar elektrik. Sampel yang dikisar disimpan di dalam balang pengontangan sebelum analisis seterusnya dijalankan. Air nira dimasukkan ke dalam peti sejuk supaya sentiasa beku. Ini bagi memastikan kualiti air nira ini tidak terjejas.

Penentuan asid hidrosianik (toksik)

Asid hidrosianik ditentukan mengikut kaedah penitratan alkali [14]. Kira-kira 14 g sampel direndam bersama 200 ml air di dalam kelalang penyulingan selama dua jam. Sampel air nira diandaikan mempunyai ketumpatan sebanyak 1 g/L. Proses penyulingan kemudiannya dilakukan sehingga kira-kira 150-200 ml hasil sulingan diperolehi dan dikutip dalam 2.5% (w/v) larutan natrium hidroksida. Seterusnya, 8 ml 5% kalium iodida dimasukkan ke dalam 100 ml hasil sulingan dan dititrat dengan 0.02 M larutan argentum nitrat menggunakan mikroburet. Takat akhir ditentukan melalui kekeruhan larutan yang berkekalan.

Keputusan dan Perbincangan

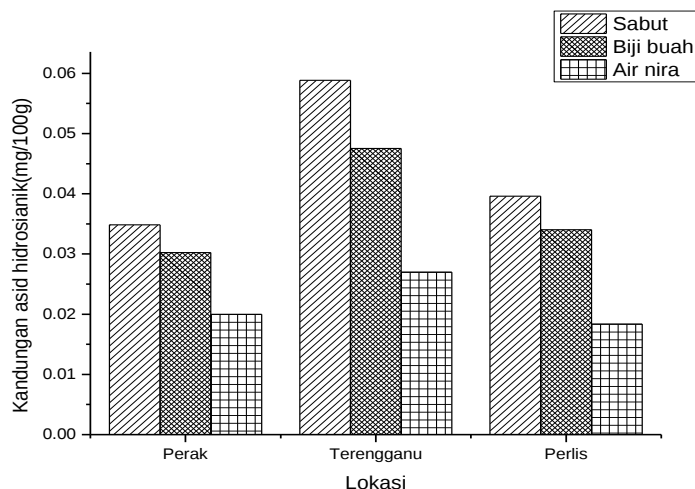
Kandungan asid hidrosianik di semua lokasi

Terdapat perbezaan kandungan asid hidrosianik di antara sampel sabut, biji buah dan air nira *Nypa fruticans*. Secara keseluruhannya, kandungan asid hidrosianik di dalam setiap sampel di setiap lokasi persampelan adalah mengikut urutan sabut>biji buah>air nira. Kandungan asid hidrosianik di dalam setiap sampel berada dalam julat 0.03-0.06 mg/100 g. Tahap asid hidrosianik di dalam setiap sampel sabut dan biji buah adalah masih rendah sekiranya dibandingkan dengan kajian yang dilakukan oleh penyelidik lain sebelum ini [15]. Manakala kandungan asid hidrosianik di dalam biji buah pula berada diparas yang rendah berbanding 36 mg/100 g, iaitu paras asid hidrosianik dianggap berbahaya untuk manusia [15]. Kandungan asid hidrosianik di dalam setiap sampel diringkaskan seperti di dalam Jadual 1 dan Rajah 2.

Jadual 1: Kandungan asid hidrosianik di dalam sampel sabut, biji buah dan air nira *Nypa fruticans*

Sampel	Lokasi	Kandungan HCN (mg/100 g)
Sabut	Perak	0.035 ± 0.010
	Terengganu	0.058 ± 0.019
	Perlis	0.040 ± 0.002
Biji buah	Perak	0.030 ± 0.004
	Terengganu	0.048 ± 0.012
	Perlis	0.034 ± 0.009
Air nira	Perak	0.010 ± 0.007
	Terengganu	0.027 ± 0.007
	Perlis	0.018 ± 0.009

Kandungan asid hidrosianik di dalam sampel sabut adalah tertinggi di Terengganu diikuti dengan Perlis dan Perak iaitu masing-masing sebanyak 0.058 ± 0.019 , 0.040 ± 0.002 dan 0.035 ± 0.010 mg/100g (Jadual 1). Terengganu juga mencatatkan kandungan asid hidrosianik tertinggi bagi sampel biji buah iaitu sebanyak 0.048 ± 0.012 mg/100 g manakala Perak dan Perlis mencatatkan kandungan asid hidrosianik yang hampir sama di dalam sampel biji buah iaitu sebanyak 0.030 ± 0.004 dan 0.034 ± 0.009 mg/100 g. Dengan membuat andaian bahawa ketumpatan air nira adalah 1 g/L, kandungan asid hidrosianik bagi sampel air nira pula adalah mengikut urutan Terengganu > Perak > Perlis.



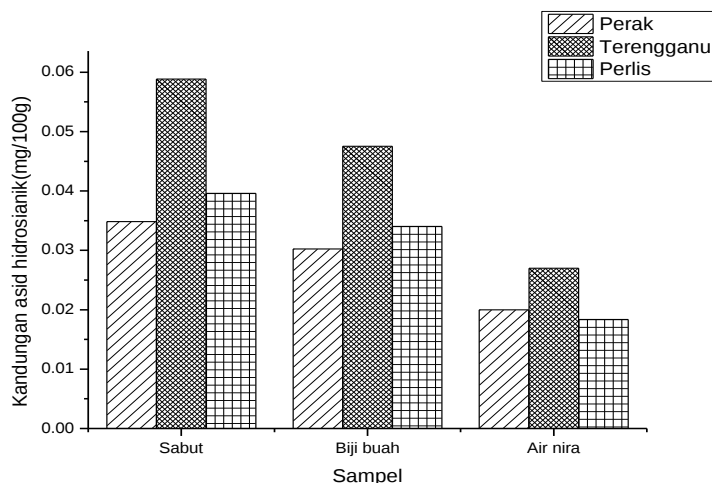
Rajah 2: Kandungan asid hidrosianik di dalam sampel kulit, biji buah dan air nira *Nypa fruticans*

Perbezaan kandungan asid hidrosianik di dalam setiap sampel pada *Nypa fruticans* menunjukkan bahawa sampel daripada *Nypa fruticans* menghasilkan glikosid sianogenik, yang mana apabila ia dihidrolisis dengan enzim tertentu, ia akan menghasilkan asid hidrosianik atau lebih dikenali sebagai asid prussik [6]. Namun begitu, perbezaan kandungan asid hidrosianik adalah mungkin disebabkan kadar penghasilan sianohidrin seperti mandelonitril atau amigladin pada setiap liang-liang permukaan sampel [10, 11]. Kehadiran asid hidrosianik di dalam setiap sampel *Nypa fruticans* ini menunjukkan bahawa sampel *Nypa fruticans* adalah tumbuhan sianopori iaitu tumbuhan yang merembeskan asid hidrosianik apabila tisu-tisu tumbuhan ini hancur atau terganggu [16]. Kandungan asid hidrosianik yang rendah di dalam setiap sampel *Nypa fruticans* membawa maksud bahawa ia tidak memudaratkan pengguna. Selain daripada asid fitik, oksalat dan tannin yang dikategorikan sebagai toksik di dalam makanan, asid hidrosianik juga dianggap sebagai toksik kerana ia mampu menjadi perencat kepada sistem respirasi di dalam tubuh badan. Kandungan asid hidrosianik yang tinggi di dalam nutrisi makanan adalah berbahaya kepada manusia. Kajian lalu [17 - 20], menyatakan bahawa had bagi sianida di dalam nutrisi sama ada dalam bentuk sintetik atau organik boleh menyebabkan perubahan drastik dalam penambahan berat badan, pengambilan nutrien, aktiviti enzim di dalam hati dan kepekatan tiosianat di dalam serum dan urin menerusi kajiannya terhadap tikus dan hamster. Keadaan ini sama sekali juga bakal memberi kesan kepada manusia sekiranya tahap asid hidrosianik di dalam makanan adalah tinggi.

Perbandingan kandungan asid hidrosianik

Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam kulit di setiap lokasi

Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam kulit ditunjukkan seperti dalam Rajah 3. Berdasarkan Rajah 3, sampel kulit di lokasi Terengganu mencatatkan kandungan asid hidrosianik tertinggi iaitu sebanyak 0.058 ± 0.019 mg/100 g diikuti sampel dari Perlis dan Perak masing-masing sebanyak 0.040 ± 0.002 dan 0.035 ± 0.010 mg/100 g. Ujian statistik ANOVA satu hala (pada aras keyakinan 95%) menunjukkan bahawa terdapat perbezaan yang bererti antara lokasi persampelan dan kandungan asid hidrosianik di dalam kulit ($p < 0.05$). Ini menunjukkan bahawa terdapat perbezaan yang bererti antara lokasi dan kandungan asid hidrosianik di dalam kulit.



Rajah 3: Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam sampel sabut, biji buah dan air nira di setiap lokasi persampelan

Perbezaan kandungan asid hidrosianik di dalam sampel *Nypa fruticans* mungkin disebabkan pengaruh jenis tanah pada tanaman *Nypa fruticans*. *Nypa fruticans* merupakan tumbuhan paya bakau yang kebanyakannya hidup di paya bakau. Di dalam kajian ini, persampelan di setiap lokasi dilakukan di kawasan daratan. Maka, perbezaan kandungan asid hidrosianik mungkin disebabkan oleh tahap kelembapan air atau tahap kandungan karbon organik di dalam tanah di lokasi persampelan.

Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam biji buah di setiap lokasi

Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam sampel biji buah ditunjukkan di dalam Rajah 3. Didapati sampel daripada Terengganu mencatatkan kandungan asid hidrosianik tertinggi iaitu sebanyak 0.048 ± 0.012 mg/100 g manakala sampel dari Perlis dan Perak masing-masing sebanyak 0.034 ± 0.009 dan 0.030 ± 0.004 mg/100 g. Ujian statistik ANOVA satu hala (pada aras keyakinan 95%) menunjukkan bahawa tidak terdapat perbezaan yang bererti antara lokasi persampelan dan kandungan asid hidrosianik di dalam biji buah ($p > 0.05$). Ini menunjukkan bahawa tidak terdapat perbezaan yang bererti antara lokasi dan kandungan asid hidrosianik di dalam sampel. Selain daripada faktor kelembapan tanah dan karbon organik di dalam tanah, faktor usia buah juga kemungkinan menyumbang kepada perbezaan kandungan asid hidrosianik di dalam sampel biji buah. Buah nipah mengambil masa kira-kira empat bulan untuk matang. Usia buah yang berlainan menjadi faktor terhadap berbezanya struktur dalaman tisu pada tumbuhan. Asid hidrosianik hanya akan terhasil seandainya tisu tumbuhan terganggu atau hancur [16]. Bagi tumbuhan yang masih sempurna atau tidak berlaku kerosakan terhadap tisu, enzim degradatif akan terpisah dengan glikosid sianogenik. Oleh itu, sedikit asid hidrosianik akan terkumpul di dalam sel seterusnya akan meruap dan terbebas ke udara [16]. Keadaan ini mungkin berlaku semasa kerja makmal dilakukan.

Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam air nira di setiap lokasi

Perbandingan kandungan asid hidrosianik di dalam sampel air nira ditunjukkan di dalam Rajah 3. Kajian mendapati bahawa kandungan asid hidrosianik di dalam air nira adalah yang terendah berbanding sampel buah dan biji *Nypa fruticans*. Kandungan asid hidrosianik tertinggi di dalam sampel air nira adalah di lokasi Terengganu iaitu sebanyak 0.027 ± 0.007 mg/100 g diikuti dengan lokasi Perlis dan Perak masing-masing sebanyak 0.018 ± 0.009 dan 0.010 ± 0.007 mg/100 g. Ujian statistik ANOVA satu hala (pada aras keyakinan 95%) menunjukkan bahawa tidak terdapat perbezaan yang bererti antara lokasi persampelan dan kandungan asid hidrosianik di dalam air nira ($p > 0.05$). Ini menunjukkan bahawa tidak terdapat perbezaan yang bererti antara lokasi dan kandungan asid hidrosianik di dalam air nira. Kandungan asid hidrosianik yang rendah di dalam air nira berbanding sampel lain memberi gambaran

bahawa medium cecair memberi kesan yang kurang baik terhadap penguraian enzim glikosida oleh enzim yang terdapat di dalam air nira. Keadaan ini akan mengurangkan penghasilan asid hidrosianik apabila sel-sel sudah musnah. Faktor yang perlu diambil kira dalam menentukan toksik di dalam sesuatu subjek adalah saiz dan jenis subjek itu, kelajuan menghadam makanan, jenis makanan dan kehadiran enzim penguraian pada tumbuhan dan juga pada sistem penghadaman [16]. Selain daripada itu, kandungan asid hidrosianik yang tidak berbahaya di dalam air nira mencadangkan bahawa air nira tidak mendatangkan bahaya kepada pengguna. Had pengambilan maksimum asid hidrosianik yang telah dicadangkan untuk manusia adalah di antara 0.5-3.5 mg/kg berat badan [21].

Kesimpulan

Asid hidrosianik di dalam setiap sampel berada dalam julat yang rendah dan tidak akan memudaratkan kesihatan pengguna. Asid hidrosianik juga menjadi parameter penting dalam menentukan kandungan toksik di dalam makanan. Lokasi persampelan memberikan perbezaan yang bererti terhadap kandungan asid hidrosianik di dalam sampel sabut sahaja. Kandungan asid hidrosianik di dalam buah nipah ini boleh memberi maklumat penting dalam membabitkan penggunaan berasaskan buah nipah.

Penghargaan

Setinggi-tinggi penghargaan kepada pihak Universiti Kebangsaan Malaysia di atas bantuan melalui geran UKM-ST-06-FRGS0148-2010.

Rujukan

1. Temple, V.J. 1998. *Lesser known plant foods in Nutritional quality of plants food*. Post Harvest Res. Unit, Dept. of Biochem, University of Benin, Benin City. 245-274.
2. Kelvin, K.P., Dennis, H. M. dan Morgany, T. 2001. *A guide to mangroves of Singapore*. Raffles museum of Biodiversity Research. National University of Singapore.
3. Miah, M. D., Ahmed, R. dan Islam, S. J. 2003. *Indigenous management practices of golpata (Nypa fruticans) in local plantations in Southern Bangladesh*. Institute of Forestry and Environmental Sciences, University of Chittagong. 47: 185–190.
4. Bandaranayake, W. M. 1998. Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangroves and Salt Marshes*. 2: 133-148.
5. FAO. 1997. *Preventing micronutrient malnutrition: a guide to food based dietary approaches*. Washington: FAO & ILSI.
6. Harborne, J.B. 1972. *Cyanogenic glucosides and their function*. In: *Phytochemical ecology*. Academic Press, London.
7. Harborne, J.B. 1986. Recent Advances in Chemical Ecology. *Nat. Prod. Rep.* 324-344.
8. Harborne, J.B. 1993. *Plant toxins and their effects on animals*. In: *Introduction to Ecological Biochemistry*. Academic Press, London.
9. Francisco, I. A. dan Pinotti, M. H. P. 2000. Cyanogenic glycosides in plants. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 43: 487-492.
10. Vetter, J. 2000. Plant cyanogenic glycosides. *J. Tox.* 38: 11-36.
11. Jones, D. A. 1998. Why are so many food plants cyanogenic. *Phytochemistry*. 47: 155–162.
12. Cheeke, P.R. 1995. Endogenous toxins and mycotoxin in forage grasses and their effects on livestock. *J. Ani. Sci.* 73, 909-918.
13. McMahon, J.M., White, W.L.B. dan Sayre, R.T. 1995. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J. Exp. Bot.* 46: 731-741.
14. A.O.A.C. 1975. *Official methods of analysis (11th ed)*. Association of analytical chemists. Washington D.C.
15. Osabor, V. N., Egbung, G. E. dan Okafor, P. C. 2008. Chemical Profile of *Nypa fruticans* from Cross River Estuary, South Eastern Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*. 7: 146-150.
16. Conn E. E. 1969. Cyanogenetic glycosides. *Ag.Food Chem.* 17:519.
17. Tewe, O.O., Job, T. A., Loosli, J. K. dan Oyenuga, V. A. 1976. Cassava diets and performance of rats over two reproductive cycles. *Nig. J. Anim. Prod.* 3: 67- 73.
18. Frake, R. A. dan Sharma, E. P. 1986. Comparative metabolism of linamarin and amaygdalin in harvester. *Food Chem. Toxicol.* 24: 417- 420.

19. Aletor, V. A. dan Fetuga, B. L. 1988. Dietary interaction of lima bean (*Phaseolus lunatus*) trypsin inhibitor, haemagglutinin and cyanide: I. Effect on growth performance, nitrogen utilization and physiopathology in growing rats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 60: 113-122.
20. Aletor, V. A. 1993. Cyanide in garri. 1. Distribution of total, free and bound hydrocyanic acid (HCN) in commercial garri, and the effect of fermentation time on its residual cyanide content. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 44: 281-287.
21. Montgomery, R. D. 1969. *Cyanogens. In toxic constituents of plant foodstuffs*, I. E Liener (ed.). Academic Press