

ARTIKEL TINJAUAN: TEKNIK ANALISIS INSTRUMENTASI SENYAWA TANIN

Nazilla Reshka Fathurrahman, Ida Musfiroh

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang km 21 Jatinangor 45363
nazilla15001@unpad.ac.id

ABSTRAK

Obat herbal dan sintetis dari berbagai sumber senyawa kian dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan manusia akan kesehatan. Untuk melakukan pengembangan obat diperlukan Teknik Isolasi dan Identifikasi senyawa. Berbagai teknik yang digunakan untuk identifikasi diantaranya adalah penggunaan berbagai instrumen seperti Spektrofotometri UV-Vis, FTIR, HPLC dan NIR. Salah satu senyawa yang dapat dianalisis dengan menggunakan instrumen tersebut adalah Tanin. Tanin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder golongan polifenol yang dihasilkan oleh tanaman. Tujuan dari *review* artikel ini adalah untuk membahas metode instrumentasi yang dapat digunakan untuk identifikasi tanin pada sampel tanaman. Metode yang digunakan dalam *review* ini berdasarkan studi literatur dari beberapa publikasi ilmiah baik pada jurnal nasional maupun internasional

Kata kunci: UV-VIS, FTIR, NIR, Tanin.

ABSTRACT

Herbal and synthetic medicines from various sources of compounds are increasingly being developed to fulfill human health needs. To carry out the development of the drug, Isolation and Identification Techniques of compounds are required. Various techniques used for identification include the use of various instruments such as Uv-Vis spectrophotometer, FTIR, HPLC and NIR. The example compounds that can be analyzed using the instrument is Tanin. Tanin is one of the active compounds of secondary metabolites from polyphenols group produced by plants. The purpose of this article review is to discuss the method of instrumentation that can be used for the identification of tannins in plant samples. The method used in this review is based on literature studies from several scientific publications in both local and international journals

Keywords: UV-VIS, FTIR, NIR, Tannin

Diserahkan: 5 Juli 2018, Diterima 5 Agustus 2018

Pendahuluan

Salah satu sumber bahan baku obat adalah dari alam yang dikenal sebagai obat herbal. Obat herbal didefinisikan sebagai rempah-rempah, material herbal, preparasi herbal dan produk jadi yang mengandung bagian tumbuhan atau komponen tumbuhan sebagai senyawa aktif yang memberikan khasiat. [1]

Pada tumbuhan terdapat berbagai metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, tanin, golongan polifenol dan turunannya yang kemudian menjadi acuan pengembangan obat herbal. Kandungan senyawa metabolit sekunder

telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker, antibakteri dan antioksidan. Metabolit sekunder ini biasanya dihasilkan oleh tumbuhan tingkat tinggi sebagai hasil mekanisme pertahanan diri organisme dari ancaman-ancaman yang dapat terjadi seperti hama, pemangsa maupun iklim. [2]

Tanin secara umum terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Kedua jenis tanin ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi [3]

Untuk memperoleh senyawa yang diinginkan pada suatu tanaman maka perlu dilakukan rangkaian proses yaitu ekstraksi yang merupakan proses penarikan senyawa metabolit pada tanaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan produk akhir berupa ekstrak [4], fraksinasi yakni pemisahan senyawa target berdasarkan sifat kepolarannya [5] dan kemudian kemudian Isolasi. Teknik isolasi sendiri merupakan sebuah tahap purifikasi senyawa/ kandungan kimia tertentu yang terdapat dalam tanaman hingga didapatkan isolat [6]. Selanjutnya dapat dilanjutkan dengan proses identifikasi menggunakan instrument [7]. Tanin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat seperti sebagai astringen, anti diare, antibakteri dan antioksidan [8]. Tanin terdapat pada bagian tumbuhan seperti Buah Bungur Muda [9], Buah naga [10], Kulit Buah Durian [11], Daun Belimbing wuluh [2], Biji Jinten Hitam [12], Sirih Merah [13]. Pinus [14] dan *Helicretes Isora* [15] Keberadaan tanin dapat diidentifikasi dengan berbagai instrumen.

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Berbagai Teknik Ekstraksi Tanaman yang Mengandung Tanin

No.	Tanaman	Teknik ekstraksi	Pelarut
1	<i>Helicretes Isora</i>	Soxletasi	Metanol
2	Daun Trembesi	Maserasi	Etanol 96%
3	Daun Belimbing Wuluh	Maserasi	Aseton : air (7:3)
4	Kulit Kayu Pinus	-	-

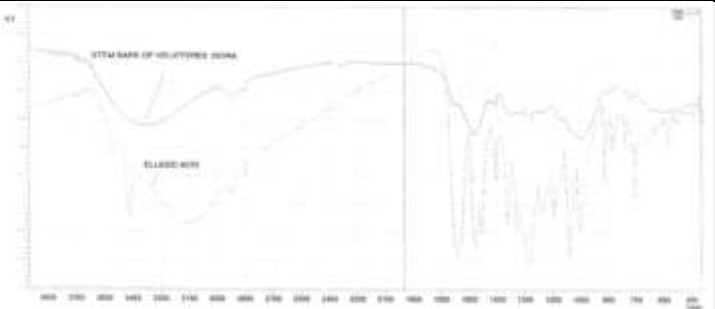
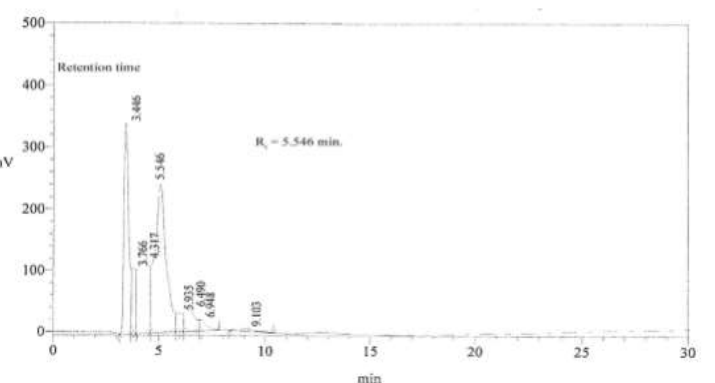
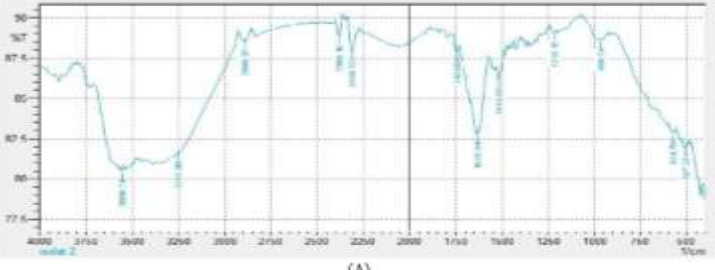
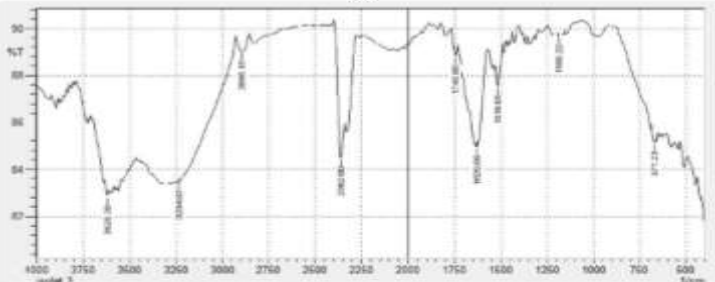
Contoh instrumen yang dapat digunakan adalah spektrofotometer uvis, FTIR dan NIR.

Review ini bertujuan untuk membandingkan instrumen apa saja saja dapat digunakan untuk identifikasi tanin dan bagaimana hasil analisis yang didapat.

Bahan dan Metode

Pada review Ini, data yang didapatkan merupakan data primer yang dikumpulkan dengan menggunakan pencarian secara online dari berbagai jurnal internasional maupun nasional. Jurnal yang digunakan sekitar berjumlah 20, didapat dari sumber seperti Elsevier journal, NCBI, Journal of experimental sciences, Jurnal Farmaka, dan pada Google Scholar yang tahun publikasi antara 2003 sampai 2018. Adapun contoh kata kunci yang digunakan yakni Teknik isolasi dan identifikasi senyawa beta, beta karoten, metode analisis beta karoten. Jurnal dengan topik berlainan dengan kata kunci tersebut dieksklusi. Ketentuan literatur berlandaskan pada pedoman Farmaka.

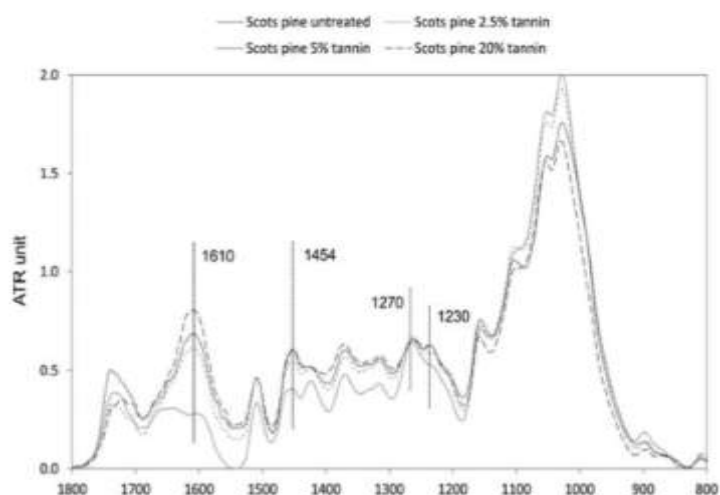
Tabel 2. Hasil Analisis Senyawa Tanin Menggunakan Berbagai Instrumen

No.	Tanaman	Instrumen	Hasil instrumen
1.	Kulit Batang <i>Helicretes Isora</i>	Spektrofotometer IR, HPLC	 Superimposed IR spectra of standard Ellagic acid and isolated Ellagic acid  HPLC chromatogram of Ellagic acid isolated from stem bark
2	Daun Trembesi	UV-Vis dan FTIR	 (A)  (B) Spektrum inframerah hasil identifikasi (A) isolat 2 dan (B) isolat 3

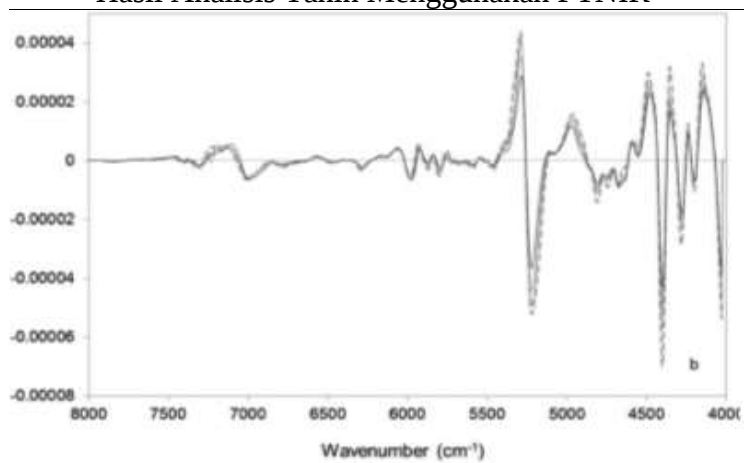
No.	Tanaman	Instrumen	Hasil instrumen										
3	Daun Belimbing Wuluh	UV-Vis dan FTIR	Pereaksi	Panjang gelombang			Pergeseran panjang gelombang			Dugaan distribusi			
				Isolat			Isolat			Isolat			
				1	2	3	1	2	3	1	2	3	
			—	331,0	331,0	-	-	-	-	-	-	-	-
			NaOH	341,5	333,5	-	+10,5	+2,5	-	4'-OH	4'-OH	-	
			NaOH 5 menit	341,5	333,0	-	+10,5	+2,0	-	4'-OH	4'-OH	-	
			AlCl ₃ 5 %	328,0	331,0	-	-3,0	tetap	-	Mungkin o-di OH pada cincin A	Mungkin o-diOH pada cincin A	-	
			AlCl ₃ 5 % + HCl	331,0	333,0	-	tetap	+2,0	-	Mungkin o-diOH pada cincin A	Mungkin o-di OH pada cincin A	-	
			NaOAc	329,0	329,0	-	-2,0	-2,0	-	Gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH	Gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH	-	
NaOAc + H ₃ BO ₃	330,0	331,5	-	-1,0	+0,5	-	o-diOH pada cincin A (6,7) atau (7,8)	o-diOH pada cincin A (6,7) atau (7,8)	-				

4 Kulit Batang Pinus
FTIR, FTNIR

Hasil Analisis Tanin Menggunakan FTIR



Hasil Analisis Tanin Menggunakan FTNIR



Sebelum dilakukan analisis kandungan tanin, sampel tanaman dipreparasi terlebih dahulu. Dilakukan proses ekstraksi dari 5 tanaman sampel untuk didapatkan ekstrak sebelum dilakukan fraksinasi/ identifikasi menggunakan instrumen.

Ekstraksi adalah proses penarikan senyawa metabolit pada tanaman menggunakan pelarut yang sesuai. Penggunaan pelarut untuk ekstraksi tentunya disesuaikan dengan sifat dari kandungan senyawa tanaman tersebut, umumnya pelarut organik digunakan untuk tanaman dengan kandungan senyawa yang bersifat lipofil. [18] sebagaimana yang terdapat pada sampel Daun *Helicretes Isora*, Kulit Buah Durian, Daun Belimbing Wuluh dan Biji Jinten Hitam. Sebelum dilakukan analisis menggunakan instrumen sebenarnya dapat dilakukan tahapan-tahapan lain seperti saponifikasi dapat menghilangkan pengotor seperti lipid maupun klorofil dan juga dapat membantu penyederhanaan pemisahan menggunakan kromatografi.

metode instrumentasi

Pada Daun Belimbing wuluh dan Trembesi menggunakan UV-Vis dan FTIR didasarkan atas prinsip penyerapan tingkat energi tertentu. Frekuensi yang dihasilkan akan berbeda karena atom-atom yang berada pada senyawa tersebut berbeda dan memiliki kekuatan ikatan yang beragam antar atom atau antar molekulnya [19].

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh dan daun trembesi dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum dari 2 puncak yang diperoleh yang diduga terdapat senyawa tanin sebesar 331 nm. Hal ini didukung dengan hasil identifikasi senyawa tanin dari tanaman mimosa yang sebagai standar dari tanin karena memiliki kadar tanin yang besar sementara apabila dengan FTIR didapatkan hasil pemisahan KLTP menunjukkan gugus fungsi seperti rentangan asimetri O-H pada bilangan gelombang 3372,4 cm⁻¹, sebagai akibat dari vibrasi ikatan hidrogen intramolekul. Dugaan senyawa tanin diperkuat dengan adanya cincin aromatik yang tersubstitusi pada posisi orto yang ditunjukkan dengan puncak serapan pada bilangan gelombang 782,5. Pada hasil identifikasi ditemukan puncak -O-H, C-H alifatik, C=O ester, C=C aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter yang mana puncak-puncak tersebut merupakan puncak spesifik dari senyawa tanin khususnya tanin terhidrolisis.

Sedangkan pada *Helicretes Isora*, menggunakan instrumen spektro IR dan HPLC. Isolat dari sampel diidentifikasi menggunakan spektrofotometri infra merah (Perkin-Elmer 337 Grating, spektrofotometer infra merah menggunakan pelet nujol atau KBr. HPLC (High Performance Liquid Chromatography) fase terbalik yang mana pada teknik ini sampel

yang memiliki tingkat kepolaran lebih tinggi akan terelusi lebih awal [20]. Hasil kromatogram dibandingkan dengan standar tanin dengan variasi konsentrasi. Sehingga konsentrasi senyawa tanin dapat langsung ditentukan dengan menghitung luas area yang telah diplotkan. Jaringan *in vivo* (kulit batang) dari *Helicretes isora* telah menunjukkan tipe kromatogram yang hampir sama yaitu didapat kromatogram dengan puncak pada 5,546 sementara asam ellagic standar (Tanin) memiliki puncak pada 5,549

Analisis tanin pada Kulit Batang Pinus menggunakan FTIR dan FTNIR. Pada FTIR didapat Hasil deteksi puncak yaitu pada 1454, 1270, dan 1230 cm^{-1} , meskipun peningkatan yang paling besar adalah untuk puncak pada 1610 cm^{-1} yang juga merupakan puncak yang signifikan untuk tanin mimosa ($\text{C} = \text{C}$ cincin aromatik). Secara umum, intensitas pita yang meningkat seperti ini biasanya adalah sinyal aromatik kayu keras seperti sampel pinus, dan ini dapat diketahui menggunakan instrumen FTIR [21]. Sampel kayu pinus juga diidentifikasi dengan instrumen NIR, dimana polimer tanin teridentifikasi pada

Daftar Pustaka

- [1] Mahomoodally M. F. Traditional medicines in Africa: an appraisal of ten potent African medicinal plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:14. doi: 10.1155/2013/617459.617459

panjang gelombang 4690 cm^{-1} , gelombang ini mengisyaratkan kombinasi dari stretching C-H dan C=O dari gugus asetil. NIR yakni berdasarkan hukum Hooke yang menghitung vibrasi diatomic molekul secara fundamental [22]

Namun, perlu beberapa tahap sebelum disimpulkan senyawa yang dikandung oleh sampel menggunakan NIR, yaitu: normalisasi spektrum sampel, normalisasi spektrum sampel dengan pelarut ekstraksi (aseton) dan marker, dan normalisasi spektrum sampel dengan marker [23].

Simpulan

Analisis senyawa tanin dapat dilakukan dengan beberapa teknik analisis menggunakan instrumen seperti Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer IR, FTIR, FTNIR dan HPLC untuk mengidentifikasi keberadaannya di dalam sampel tumbuhan yang diduga mengandung senyawa tanin. Tidak hanya itu, instrumen seperti HPLC juga dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi yang ada dalam sampel tersebut.

- [2] Elok Kamilah Hayati, A. Ghanaim Fasyah, dan Lailis Sa'adah. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Jurnal Kimia 4 (2), JULI 2010 : 193-200

- [3] Kraus T. E. C., Dahlgren R. A., Zasoski R. J. (2003a). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. *Plant Soil* 256, 41–66. 10.1023/A:1026206511084
- [4] Fahim TK, Zaidul IS, Bakar MA, Salim UM, Awang MB, Sahena F, Jalal KC, Sharif KM, Sohrab MH. Particle formation and micronization using non-conventional techniques review. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2014 Dec 31;86:47-52.
- [5] Mika Adi Santosa IN, Raka Astiti Asih IA, Mayun Laksmiwati AA. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Toksik Pada Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops Versteegii*). *Journal of Chemistry*. 2013 Jan 7;7(2).
- [6] Susanah Rita W. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Journal of Chemistry*. 2010;4(1).
- [7] He XG, Lin LZ, Lian LZ, Lindenmaier M. 1998. Liquid chromatography–electrospray mass spectrometric analysis of curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa*). *Journal of Chromatography A*. 1998 Aug 28;818(1):127-32.
- [8] Desmiaty Y, Ratih H, Dewi MA. 2008. Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda dan Daun Sambang Darah Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia, *Artocapus*, Vol 9, 106-109
- [9] Fitriani Rizky. 2015. Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda Secara Spektrofotometri dan Permanganometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* Vol 4 No 2 (2015)
- [10] Muhammad Ilham Noor, Evi Yufita*, Zulfalina. 2016. Identifikasi Kandungan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Fitokimia. *Journal of Aceh Physics Society (JAcPS)*, Vol. 5, No. 1 pp.14-16, 2016 e-ISSN: 2355-8229
- [11] Widiastuti A. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian Varietas Petruk. *Seminar nasional kimia dan pendidikan kimia VI*. ISBN: 979393174-0
- [12] Mukhriani, Faridha Yenny Nonci, Mumang. 2014. Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) secara Spektrofotometri Uv-Vis.. *JF FIK UINAM* Vol.2 No.4 2014
- [13] Tikasari Agustina, Sunyoto, Anita Agustina. 2013. Penetapan Kadar Tanin Pada Daun Sirih Merah [(*Piper crocatum* Ruiz dan Pav)] Secara

- Spektrofotometri UV-Vis .CERATA
Journal Of Pharmacy Science
- [14] Thomas Schnabel, Maurizio Musso, Gianluca Tondia. 2014. Univariate and Multivariate Analysis of Tannin-Impregnated Wood Species Using Vibrational Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. Volume 68, Number 4, 2014
- [15] Ramraj Meena, Ridhi Joshi, Rishikesh Meena, Vidya Patni. 2016. Isolation, Identification and quantitative analysis of Ellagic acid: a tannin compound from *Helicteres isora*. *Indian J. Pharm. Biol. Res.* 2016; 4(3):1-4. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR)* Journal homepage: www.ijpbr.in
- [16] Lidyawati, et al., 2006, Karakterisasi Simplisia dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>, 2 Juni 2009
- [17] Yuliani, 2008, Kadar Tanin Dan Querestin Tiga Tipe daun Jambu Biji (*Psidium Guajava*), Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat, <http://www.balitra.go.id>, 27 Maret 2009
- [18] Khachik, F.; Chang, A.N. 2009. Total synthesis of (3R,30R,60R)-lutein and its stereoisomers. *J. Org. Chem.* 74: 3875–3885.
- [19] Suseno, J., E., dan Firdausi, K., S., 2008, Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi, *Berkala Fisika*, 11(1):23-28.
- [20] Savira Silma Aulia, Iyan Sopyan, Muchtaridi. 2017. Penetapan Kadar Simvastatin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT): Review. *Farmaka* Volume 14 Nomor 4 70
- [21] M. Schwanninger, J.C. Rodrigues, H. Pereira, B. Hinterstoisser. “Effects of Short-Time Vibratory Ball Milling on the Shape of FT-IR Spectra of Wood and Cellulose”. *Vib. Spectrosc.* 2004. 36(1): 23-4
- [22] Suhandy, D., 2009, Pendugaan Kandungan Padatan Terlarut Buah Sawo Menggunakan NIR *Spectroscopy, Jurnal Bionatura*, 11(1), 11- 20.
- [23] Aenugu R.P.H., Kumar S.D., Srisudharson. 2011. Near Infra Red Spectroscopy – An Overview. *International Journal of Chemtech Research* Vol.3