

Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin pada Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) Secara Spektrofotometri

Dewi Nofita, Rahmat Dewangga

Akademi Farmasi Dwi Farma Bukittinggi

*Penulis korespondensi: dewinofita85@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36768>

Abstrak: Matoa (*Pometia pinnata* J.R&G.Forst) merupakan tanaman yang secara tradisional digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit seperti diare dan disentri. Dari skrining fitokimia yang dilakukan, daun matoa mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu tanin. Berdasarkan kelarutannya, tanin tergolong senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti air dan etanol. Polaritas akan meningkat jika menggunakan campuran pelarut dengan perbandingan tertentu. Senyawa tanin pada daun matoa diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan pelarut etanol air (1:0), (1:1) dan (1:2). Penentuan kadar tanin dilakukan menggunakan reagen pengompleks Folin Ciocalteu dengan larutan pembanding asam tanat yang diukur pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan kurva kalibrasi, diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0476 + 0,0045x$ dengan koefisien determinasi (R^2) 0,9988 dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9994. Pelarut etanol air dengan perbandingan 1:2 memberikan kandungan tanin paling optimal dengan kadar sebesar 11,03% b/b.

Kata kunci: *Pometia pinnata* J.R&G.Forst, tanin, pelarut etanol

Abstract: Matoa (*Pometia pinnata* J.R&G.Forst) has been used traditionally to treat diseases such as diarrhea and dysentery. Phytochemical screening results show that matoa leaves contain secondary metabolites such as tannins. Based on their solubility, tannins are classified as polar compounds that are soluble in polar solvents such as water and ethanol. Polarity will increase when mixture of solvents with certain ratio was used. Tannin compounds in matoa leaves were extracted using the maceration method with a solvent ratio of ethanol to water (1:0), (1:1) and (1:2). Determination of tannin compounds was carried out using Folin Ciocalteu reagent as a complexing compound and tannic acid as a standard at a wavelength of 765 nm. Based on the calibration curve, the linear regression equation is $y = 0.0476 + 0.0045x$ with correlation coefficient of determination (R^2) is 0.9988 and correlation coefficient (r) is 0.9994. Water ethanol solvent with a ratio of 1:2 gives the most optimal tannin content of 11.03% w/w.

Keywords: *Pometia pinnata* J.R & G. Forst, tannin, ethanol solvent

PENDAHULUAN

Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks, dibangun unsur C, H, dan O serta sering membentuk molekul besar dengan berat molekul lebih besar. Struktur kimianya dapat digolongkan menjadi dua macam yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Pambayun dkk. 2007). Ekstrak tanin tidak dapat murni 100% karena selain terdiri dari tanin ada juga zat non tanin seperti glukosa dan hidrokoloid yang memiliki berat molekul yang tinggi (Nurhasanah 2001).

Sifat utama tanin tergantung pada gugus fenolik yang terkandung dalam tanin, dan sifat tersebut secara garis besar yaitu sifat kimia dan sifat fisik. Sifat kimia tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid, karena itu di dalam air bersifat koloid dan asam lemah. Semua

jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Sifat fisik tanin umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh. tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut. Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (Browning 1966).

Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik dan fungistatik. Tanin dapat diekstrak dengan menggunakan campuran pelarut campuran

(bertingkat) atau pelarut tunggal. Tanin dapat dijumpai pada hampir semua jenis tumbuhan hijau di seluruh dunia baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tingkat rendah dengan kadar dan kualitas yang berbeda-beda serta dapat diekstrak dengan menggunakan campuran pelarut (bertingkat) atau pelarut tunggal. Menurut Pandey & Tripathi (2014) tanin dapat larut dalam air, etanol dan metanol. Untuk memperoleh ekstrak dengan kualitas dan kuantitas yang tinggi, maka umumnya digunakan campuran pelarut air etanol atau metanol dengan perbandingan volume air yang sesuai (Irianty & Yenti 2014).

Air dan etanol digunakan sebagai pelarut karena kepolarannya sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diekstrak (Nofita & Nurlan 2020). Beberapa penelitian terdahulu menjelaskan bahwa perbandingan pelarut etanol air mempengaruhi kadar zat aktif pada tanaman. Pelarut etanol air 1:4 memberikan kadar tanin paling tinggi dibandingkan 1:1 dan 1:2 pada daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) (Irianty & Yenti 2014). Kadar tanin yang tertinggi pada belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) diperoleh pada rasio pelarut etanol air 1:20 yaitu 36,03 % (Afriзал dkk. 2019).

Matoa merupakan salah satu tanaman dari family sapindaceae yang tersebar di daerah tropis, termasuk Indonesia. Tanaman ini telah dimanfaatkan oleh bangsa Asia (Malaysia dan Indonesia) sebagai salah satu obat-obatan tradisional (Dalimartha 2005). Berdasarkan skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun matoa mengindikasikan adanya senyawa tanin, alkaloid, kumarin dan flavonoid (Martiningsih dkk. 2016; Kuspradini dkk. 2016). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa matoa juga mengandung senyawa fenolik diantaranya tanin dan flavonoid (Nofita dkk. 2020). Sampai sekarang berapa perbandingan campuran pelarut yang optimal dalam menentukan kadar tanin pada daun matoa belum ada dilaporkan. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan optimasi perbandingan pelarut etanol air terhadap kadar tanin menggunakan reagen pengompleks Folin Ciocalteu.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Asam Tanat p.a., asam sulfat, reagen Folin Ciocalteu, natrium karbonat, ferri klorida, air suling, Etanol p.a.

Alat

Satu set alat spektrofotometer UV-Vis (1240 mini shimadzu) satu set alat soxhletasi, timbangan analitik, timbangan digital, labu ukur, pipet volume, pipet mikro, pipet tetes, tabung reaksi, spatel, botol gelap, corong, gelas piala, timer, cawan penguap.

Pengolahan Sampel

Daun matoa dicuci bersih dan dikering anginkan, dikeringkan diluar pengaruh cahaya matahari, daun

yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk daun matoa. Serbuk ditimbang masing-masing sebanyak 10 gram kemudian dibungkus dengan kertas saring. Disokletasi dengan 200 mL campuran etanol air dengan perbandingan (1:0), (1:1) dan (1:2) selama 8 jam.

Uji Kualitatif Tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak daun matoa dilarutkan dengan etanol 96 %, ditambahkan FeCl_3 . Apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau-biru kehitaman menandakan sampel positif mengandung senyawa tanin (Irianty & Yenti 2014).

Pembuatan Reagen

Larutan standar asam tanat

Sebanyak 100 mg asam tanat p.a dilarutkan dengan air hingga volumenya 100 mL (larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$). Larutan induk diencerkan dengan cara memipet masing-masing 3, 4, 5, 6 dan 7 mL ke dalam labu ukur 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 60, 80, 100, 120, 140 $\mu\text{g/mL}$.

Larutan Na_2CO_3 20%

Ditimbang sebanyak 20 gram Na_2CO_3 kemudian dilarutkan dengan air hingga volumenya 100 mL.

Penentuan Kadar Tanin

Penentuan kadar tanin yang dilakukan menggunakan metode analisis umum fenolik yaitu metode Folin-Ciocalteu (Chaovanalikit & Wrolstad 2004).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 0,5 mL larutan asam tanat 100 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan 7,5 mL air dan 0,5 mL Reagen Folin Ciocalteu, didiamkan selama 5 menit. Ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% hingga 10 mL, didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Absorban diukur pada panjang gelombang dengan range 600-800 nm.

Penentuan operating time

Sebanyak 0,5 mL larutan asam tanat ditambahkan 7,5 mL air dan 0,5 mL reagen Folin Ciocalteu didiamkan selama 5 menit. Ditambahkan Na_2CO_3 20% hingga 10 mL, didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Absorban diukur dari 0-75 menit pada panjang gelombang 765 nm.

Pembuatan kurva baku asam tanat

Sebanyak 0,5 mL larutan standar asam tanat dengan konsentrasi 60, 80, 100, 120, 140 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan 7,5 mL air dan 0,5 mL reagen Folin Ciocalteu, didiamkan selama 5 menit. Ditambahkan 1,5 mL larutan Na_2CO_3 20%, didiamkan selama 65 menit di tempat gelap. Semua larutan diukur absorbannya pada panjang gelombang 765 nm, dilakukan 3 kali pengulangan. Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam tanat dengan absorban.

Penentuan kadar tanin ekstrak daun matoa

Sebanyak 100 mg ekstrak daun matoa dilarutkan dengan 100 mL etanol, ditambahkan air suling hingga 250 mL. Dipipet 0,5 mL ditambahkan 7,5 mL air dan 0,5 mL reagen Folin Ciocalteu, dibiarkan selama 5 menit. Ditambahkan 1,5 mL larutan Na_2CO_3 20% dibiarkan di tempat yang gelap selama 65 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm, dilakukan 3 kali pengulangan.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah persamaan regresi linear dan korelasi untuk membuat kurva kalibrasi dari asam tanat. Rumus persamaan regresi linear ditunjukkan pada persamaan (1) (Sugiyono 2002).

$$y = a + bx \dots (1)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Matoa

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst). Sebelum dilakukan pengujian, daun matoa terlebih dahulu dicuci bersih tujuannya untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Dikering anginkan tujuannya untuk menghilangkan sisa air pencucian. Daun yang sudah kering dihaluskan untuk memperkecil ukuran partikel, karena semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas permukaannya sehingga zat aktif akan tersari sempurna. Tanin merupakan senyawa kimia yang bersifat polar dan larut dalam pelarut polar seperti air dan etanol. Untuk memperoleh ekstrak dengan kadar yang lebih tinggi, umumnya digunakan campuran etanol atau methanol dengan air yang perbandingannya sesuai (Browning, 1966).



Gambar 1. (a) Daun matoa (b) Serbuk daun matoa

Campuran pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu campuran etanol:air dengan perbandingan (1:0), (1:1) dan (1:2). Cara ekstraksi yang digunakan yaitu metode sokletasi yang dilakukan selama 8 jam. Pemilihan metode sokletasi dilakukan karena metode ini memiliki keuntungan yaitu penggunaan pelarut sedikit, waktu singkat dan menyari lebih sempurna (Verawati dkk. 2017). Untuk memisahkan pelarut etanol dengan bahan aktif dilakukan proses destilasi. Sisa pelarut air diuapkan diatas waterbath sehingga diperoleh ekstrak kental. Berdasarkan Tabel 1, disimpulkan bahwa ekstrak tertinggi diperoleh

dengan menggunakan campuran pelarut etanol air 1:1 sebesar 23%.

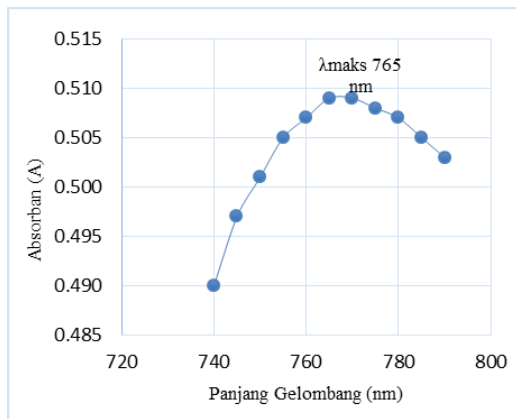
Tabel 1. Ekstraksi sampel daun matoa

Pelarut etanol:air (v/v)	Berat ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
1:0	2,070	20,7%
1:1	2,300	23,0%
1:2	2,210	22,1%

Penentuan Kadar Tanin

Berdasarkan skrining fitokimia menggunakan pereaksi FeCl_3 menunjukkan bahwa daun matoa mengandung senyawa tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Penentuan kadar tanin dilakukan menggunakan metode Folin Ciocalteu, metode ini dipilih karena cara pengerjaannya sederhana. Prinsip metode ini adalah reaksi oksidasi senyawa fenol termasuk tanin dalam suasana basa oleh pereaksi Folin Ciocalteu menghasilkan kompleks berwarna biru dan memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 765 nm (Blainski *et al.* 2013). Larutan baku pembanding yang digunakan yaitu asam tanat, karena asam tanat merupakan golongan tanin terhidrolisis sehingga dapat digunakan sebagai pembanding dalam pengukuran kadar tanin total (Hartati & Noer, 2020).

Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) adalah panjang gelombang pada saat serapannya maksimum dengan cara membaca serapan larutan standar asam tanat dan kemudian diubah-ubah panjang gelombangnya. Pemilihan panjang gelombang yang tepat akan meningkatkan kualitas hasil analisis, sepanjang tidak dipengaruhi oleh komponen pengganggu atau variasi yang mungkin terjadi selama proses analisis (Afrianto 2008). Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam tanat untuk mencapai serapan maksimum. Pemilihan panjang gelombang serapan maksimum ini karena akan diperoleh sensitivitas maksimum, yaitu pada panjang gelombang perbedaan kadar yang kecil saja telah mampu memberikan serapan yang cukup besar, panjang gelombang maksimum tersebut memberikan kesalahan serapan yang minimal atau memungkinkan adanya pengaruh interferensi dari zat lain yang terlarut adalah paling kecil (Mulja & Suharman 1995). Panjang gelombang yang dapat menghasilkan serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimumnya. Pada penelitian ini, panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 765 nm (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva panjang gelombang maksimum asam tanat

Penentuan operating time berguna mengetahui berapa lama waktu yang dibutuhkan analit untuk bereaksinya dengan reagen sehingga dapat menghasilkan absorban yang maksimum serta stabil saat melakukan pengukuran (Nofita dkk. 2020). Operating time yang diperoleh yaitu pada menit ke 65 (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa pada menit tersebut senyawa kompleks yang terbentuk stabil yang ditandai dengan stabilnya nilai absorbannya.

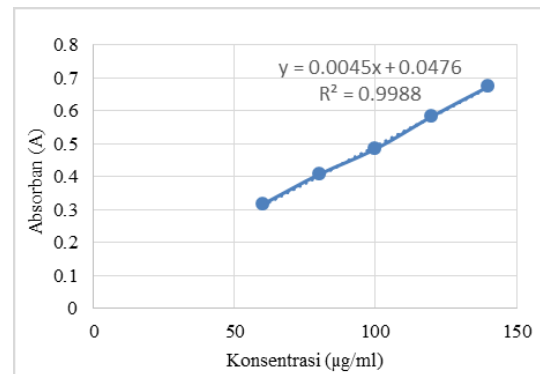
Tabel 2. Pengukuran operating time asam tanat

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,454
5	0,479
10	0,496
15	0,506
20	0,515
25	0,521
30	0,525
35	0,529
40	0,532
45	0,534
50	0,535
55	0,536
60	0,537
65	0,538
70	0,538
75	0,538

Dalam menentukan kadar tanin pada ekstrak daun matoa, dibutuhkan pengukuran nilai absorban larutan pembanding asam tanat dengan konsentrasi yang bervariasi.

Berdasarkan kurva kalibrasi (Gambar 3), diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0476 + 0,0045x$ dengan koefisien determinasi (R^2) rata – rata 0,9988 dan koefisien korelasi (r) rata – rata sebesar

0,9994 ($n=3$). Nilai r 0,9994 berarti sebesar 99,94% dari absorban dipengaruhi oleh konsentrasi, sedangkan 0,006% dipengaruhi oleh faktor lain seperti suhu, cahaya, zat-zat kimia dan lainnya. Dari data diatas menunjukkan adanya hubungan korelasi antara konsentrasi dengan absorban. Nilai r mendekati 1 yang membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut adalah mendekati linear (Gandjar & Rohman 2012).



Gambar 3. Kurva kalibrasi asam tanat ($n=3$, RSD=1,38)

Setelah persamaan regresi didapat maka kadar tanin pada masing-masing ekstrak bisa dihitung. Kadar tanin yang diperoleh pada daun matoa menggunakan pelarut etanol air (1:0) 7,82% b/b, (1:1) 9,84% b/b, (1:2) 11,03% b/b, yang dihitung sebagai asam tanat. Kadar tanin tertinggi diperoleh pada ekstrak dengan perbandingan etanol air 1:2, hasil ini menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah pelarut air yang digunakan untuk proses ekstraksi maka semakin tinggi kadar tanin yang diperoleh. Hal yang sama telah dilakukan oleh Niawanti & Putri (2020), bahwa jenis pelarut mempengaruhi ekstraksi tanin karena kelarutan senyawa tanin menjadi lebih cepat ketika ditambahkan air sebagai pelarut. Penelitian lain juga membuktikan bahwa semakin tinggi jumlah air yang digunakan sebagai campuran pelarut memberikan kadar tanin yang lebih besar (Tabel 4). Hal ini sesuai dengan sifat kimia tanin yaitu kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas (Risnasari 2002).

Tabel 3. Hasil pengukuran absorban ekstrak daun matoa ($n=3$)

Etanol:air	Absorban			Rata-rata absorban	Rata-rata kadar tanin
	1	2	3		
1:0	0,467	0,467	0,467	0,467	7,82
1:1	0,523	0,523	0,523	0,523	9,84
1:2	0,603	0,603	0,603	0,603	11,03

Tabel 4. Kadar tanin berbagai tanaman dengan perbandingan etanol air yang berbeda

Sampel	Perbandingan etanol:air (v/v)	Rendemen ekstrak (%)	Kadar tanin (%)	Literatur
Daun matoa	1:2	22,1	11,03	Penelitian ini
Daun gambir	1:4	48	$94,75 \times 10^{-4}$	Irianty & Yenti 2014
Daun belimbing wuluh	1:20	-	36,03	Afrizal dkk. 2019

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari campuran pelarut etanol : air dengan perbandingan 1:2 memberikan kadar tanin yang paling optimal yaitu sebesar 11,03% b/b dengan rendemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 22,1%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. (2008). *Pengawasan Mutu Bahan/Produk Pangan Jilid 2*. Untuk Sekolah Menengah Kejuruan. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan. Jakarta.
- Chaovanalikit, A. & Wrolstad, R.E. (2004). Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science*. **69(1)**: FCT67-FCT72.
- Dalimartha, S. (2005). *Atlas Tumbuhan Obat Jilid 1*. Trubus Agriwidya. Jakarta
- Mulja, M., & Suharman, S. (1995). *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Gandjar, I.G & Rohman, A. (2012). *Analisis Obat secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Afrizal, M., Gunawan, V.S., Fitriyani, M.N., Atmaja, J.A.J., & Niawanti, H. (2019). Pengaruh Perbandingan Rasio Pelarut Etanol Air terhadap Kadar Tannin (*Averrhoa bilimbi*) dengan Metode Ekstraksi Maserasi. In Prosiding Seminar Nasional Teknologi, Inovasi dan Aplikasi di Lingkungan Tropis. pp. 136-141.
- Blainski, A., Lopes, G.C., & De Mello, J.C.P. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*. **18(6)**: 6852-6865.
- Irianty, R.S. & Yenti, S.R. (2014). Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap kadar tanin pada sokletasi daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Jurnal Sagu*. **13(1)**: 1-7.
- Kuspradini, H., Pasedan, W.F., & Kusuma, I.W. (2016). Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun *Pometia pinnata*. *Jurnal Jamu Indonesia*. **1(1)**: 26-34.
- Nurhasanah, S. (2001). Efek Mematikan Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret.
- Niawanti, H. & Putri, N.P. (2020). Pemilihan jenis pelarut pada ekstraksi tanin dari daun *Averrhoa bilimbi* dengan metode soxhletasi. *Jurnal Integrasi Proses*. **9(2)**: 15-20.
- Nofita, D., Sari, S.N. & Mardiah, H. (2020). Penentuan fenolik total dan flavonoid ekstrak etanol kulit batang matoa (*Pometia pinnata* JR & G. Forst) secara spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*. **8(1)**: 36-41.
- Nofita, D. & Nurlan, D.S. (2020). Perbandingan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% dengan ekstrak air daun surian (*Toona sureni* Merr.). *Sainstek: Jurnal Sains dan Teknologi*. **12(2)**: 79-84.
- Martiningsih, N.W., Widana, G.A.B. & Kristiyanti, P.L.P. (2016). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Matoa (*Pometia pinnata*) dengan metode DPPH. In Prosiding Seminar Nasional MIPA. Universitas Pendidikan Ganesha. pp. 332-338.
- Browning, B.L. (1966). *Phenolic Substances, Methods of Wood Chemistry*. Interscience Publishers. New York.
- Pandey, A. & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **2(5)**: 115-119
- Risnasari, I. (2002). *Tanin*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Verawati, V., Nofiandi, D. & Petmawati, P. (2017). Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Katalisator*. **2(2)**: 53-60.
- Hartati, M. & Noer, S. (2020). Penetapan kadar senyawa tanin ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). *Prosiding Seminar Nasional Sains 2020*. **1(1)**: 165-168.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S. & Kuswanto, K.R. (2007). Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Majalah Farmasi Indonesia*. **18(3)**: 141-146.