

## IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR SENYAWA TANIN PADA EKSTRAK DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea*) METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Submitted : 24 September 2019

Edited : 15 Juni 2020

Accepted : 25 Juni 2020

Yuska Noviyanty<sup>1</sup>, Hepiyansori<sup>2</sup>, Yudan Agustian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu

<sup>2</sup>Akademi Analis Kesehatan Harapan Bangsa Bengkulu

Email : yuskanoviyanty@gmail.com

### ABSTRACT

*Calotropis gigantea* (Biduri) are plants that are widely used as herbal medicines by the community. *Calotropis gigantea* (Biduri) is used as a medicine for coughing, hives, medication for toothache, medicine for ear pain, epilepsy, wounds, sprains and diarrhea. The chemical content of *Calotropis gigantea* (Biduri) is in the form of glycosides, saponins, alkaloids, flavonoids, and tannins. The purpose of this study was to determine the presence or absence of tannin compounds and levels of tannin compounds in *Calotropis gigantea* (Biduri). The identification test used  $FeCl_3$  and gelatin reagent. Extraction was carried out by maceration using ethanol 96% solvent. Determination of tannin levels of *Calotropis gigantea* (Biduri) by Uv-vis spectrophotometry method. The results of the identification test showed that *Calotropis gigantea* (Biduri) positively contained tannins with  $FeCl_3$  resulting in a blackish green color and gelatin causing deposits. The results of the average level of tannins in biduri leaf extract *Calotropis gigantea* (Biduri) at a concentration of 100 ppm of 1.16  $\mu g / ml$ , a concentration of 200 ppm of 3.53  $\mu g / ml$  and a concentration of 300 ppm of 7.12  $\mu g / ml$ .

**Keywords :** *Calotropis gigantea* , Tanin, Uv-Vis Spectrophotometry

### PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dengan berbagai macam tumbuhan yang dapat dibudidayakan berupa tanaman obat<sup>(1)</sup>.

Penggunaan obat tradisional atau obat herbal di Indonesia saat ini mengalami peningkatan, baik untuk pemeliharaan kesehatan tubuh maupun untuk pengobatan penyakit-penyakit tertentu. Salah satu tanaman yang banyak digunakan di masyarakat yaitu tanaman biduri (*Calotropis gigantea*).

Berdasarkan hasil penelitian menyatakan adanya manfaat dari tanaman

biduri antara lain sebagai obat batuk, gatal-gatal, obat sakit gigi, obat sakit telinga, epilepsi, luka, keseleo dan juga diare. Kandungan kimia pada daun biduri diantaranya senyawa glikosida, saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin<sup>(2)</sup>.

Tanin merupakan polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Tanin juga dipakai untuk menyamak kulit<sup>(3)</sup>.

Dalam dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, dan mengobati ambeien<sup>(4)</sup>.

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang

berjudul Identifikasi dan Penetapan Kadar Senyawa Tanin pada *Ekstrak Daun Biduri (Calotropis gigantea)* Metode Spektrofotometri *Uv-Vis*. Metode ini diharapkan dapat menunjukkan senyawa golongan fenolik yang diharapkan adanya senyawa tanin dan kadar tanin yang terdapat pada daun biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai alternatif obat dari pengobatan tradisional.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakognosi dan Kimia Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu pada bulan Februari - April 2019.

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, *rotary evaporator*, tabung reaksi, spatel, pipet tetes, batang pengaduk, kertas saring, Spektrofotometer *Uv-Vis*, mikropipet, labu ukur, *krus porselen*, pipet volume, aluminium *foil*, *buret* dan *hotplate*.

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah etanol 96%, aquades, asam galat, *Folin Ciocalteu*, larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  15%, larutan Gelatin 1% .

### Prosedur Kerja

#### Konfirmasi Identitas jenis tanaman Biduri.

Konfirmasi identitas daun biduri dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Bengkulu dengan cara membawa bagian-bagian dari tanaman Biduri mulai dari daun, batang dan akar, kemudian diserahkan kebagian laboratorium. Hasil Identifikasi daun biduri (*Calotropis gigantea*) di laboratorium Biologi Universitas Bengkulu ditetapkan dengan surat

keterangan

No.390/UN30.28.LAB.BIOLOGI/PM/2018.

### Pembuatan Simplisia

Pengambilan daun biduri (*Calotropis gigantea*) dilakukan pada pagi hari. Daun biduri kemudian dicuci dengan air mengalir agar bersih dari kotoran yang melekat lalu dilakukan perajangan untuk memperluas permukaan bahan agar mudah kering, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar 15-30°C hingga kering lalu disimpan dalam wadah tertutup rapat<sup>(5)</sup>.

### Pembuatan Ekstrak

Menggunakan simplisia daun biduri sebanyak 600 gram dalam 6000 ml etanol 96% selama 7 hari dengan metode *maserasi*, lalu disaring dan diupkan menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatan dengan *waterbath*. Ekstrak kental ditimbang beratnya dalam gram<sup>(6)</sup>.

### Evaluasi Ekstrak

#### Organoleptis

Ekstrak daun biduri yang telah dalam bentuk kental dilakukan pemeriksaan dengan cara diamati dari warnanya, bau, dan rasa menggunakan panca indra.

#### Rendemen

Nilai rendemen didapatkan dalam bentuk persentase dengan membandingkan berat ekstrak yang didapat dengan berat simplisia yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen yang didapatkan maka semakin tinggi nilai ekstrak<sup>(7)</sup>.

#### Kelarutan

Dilakukan evaluasi kelarutan dari ekstrak kental daun biduri untuk melihat

kemampuan dari suatu zat kimia terlarut (*solute*) untuk larut dalam suatu pelarut (*solvent*) yang digunakan. Penelitian ini menggunakan pelarut Aquades dan Etanol 96%.

### Susut Pengerinan

Ekstrak kental daun biduri dilaksanakan pengukuran susut pengerinan, untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang selama proses pengerinan. Penetapan susut pengerinan standar yaitu  $\leq 11,0\%$  <sup>(7)</sup>.

### Kadar Abu Total

Pada ekstrak kental daun biduri dilakukan penetapan kadar abu total untuk mengetahui jumlah bahan organik atau mineral yang tersisa setelah pengabuan. Penetapan kadar abu total standar yaitu  $\leq 16,6\%$  <sup>(7)</sup>.

### Identifikasi Adanya Tanin

Dari ekstrak daun biduri yang didapat, dilakukan uji ekstrak daun biduri diambil sebanyak 2 mg ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1% jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka bahan tersebut mengandung tanin, Dengan penambahan larutan gelatin 1 % jika timbul endapan putih berarti mengandung tanin <sup>(8)</sup>.

### Penetapan Kadar Tanin Secara Spektrofotometri *Uv-Vis*

#### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Ditimbang asam galat sebanyak 10 mg, dilarutkan dan ditambahkan aquades sampai volume 100 ml sehingga didapatkan baku induk 100 ppm. Pada hasil percobaan yang telah dilakukan, diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum dari baku asam galat adalah 765 nm <sup>(9)</sup>.

### Penentuan Waktu Stabil

Waktu stabil didapat pada menit ke-90 yang ditunjukkan dengan perubahan absorbansi yang sangat kecil pada menit tersebut <sup>(9)</sup>.

### Pembuatan Kurva Baku Asam Galat dengan Reagen *Folin Ciocalteu*

Larutan baku induk asam galat dipipet sebanyak 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan 1 ml reagen *Folin Ciocalteu*, dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  15%, dikocok homogen dan didiamkan selama 5 menit. Lalu ditambahkan aquades sampai tepat volume 10 ml, dikocok homogen dan didiamkan selama 90 menit. Lalu amati absorbansi pada panjang gelombang 765 nm. Dilakukan pengambilan larutan baku induk asam galat sebanyak tujuh kali sehingga didapatkan tujuh konsentrasi dan dibuat kurva baku standar asam galat <sup>(9)</sup>.

### Penetapan Kadar Tanin

Sebanyak 50 mg ekstrak daun biduri dilarutkan dengan aquades sampai volume 50 ml. Larutan ekstrak yang diperoleh kemudian dipipet sebanyak 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm dan ditambah 1 ml reagen *Folin Ciocalteu*, kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  15%, dikocok homogen dan didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan aquades sampai volume 10 ml, diamkan pada range waktu stabil yang diperoleh. Absorbansi larutan ekstrak diamati pada panjang gelombang 765 nm. Konsentrasi yang didapatkan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali <sup>(9)</sup>.

**HASIL DAN PEMBAHASAN****Hasil Pembuatan Ekstrak daun biduri.**

Proses pembuatan *ekstrak* daun biduri (*Calotropis gigantea*) menggunakan metode maserasi, dengan pelarut etanol 96% selama 7 hari. Hasil yang didapat adalah 102,57 gram ekstrak kental ekstrak daun biduri, seperti tertera pada tabel 1.

**Hasil Evaluasi Ekstrak Daun Biduri.**

Evaluasi *ekstrak* daun biduri meliputi Pemeriksaan organoleptis terhadap *ekstrak* yaitu meliputi konsistensi, warna, bau dan rasa. Evaluasi selanjutnya adalah pemeriksaan rendemen,

pemeriksaan kelarutan, pemeriksaan susut pengeringan dan pemeriksaan kadar abu total. Hasil dari evaluasi *ekstrak* ini untuk organoleptis berwarna hijau kehitaman, berasa pahit, berbau khas dengan konsistensi ekstrak kental. Hasil evaluasi lainnya seperti yang tertera pada tabel 2.

**Hasil Uji Identifikasi Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*)**

Uji identifikasi dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia tanin pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*), seperti tertera pada tabel 3.

**Tabel 1.** Hasil Ekstrak kental daun biduri (*Calotropis gigantea*)

Simplisia	Berat Simplisia (Gram)	Pelarut etanol 96% (ml)	Berat Ekstrak kental (Gram)
Daun Biduri ( <i>Calotropis gigantea</i> )	600	6.000	102,57

**Tabel 2.** Hasil Evaluasi Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*)

Pemeriksaan Ekstrak	Hasil
Organoleptis	
-Warna	Warna Hijau Kehitaman
-Bau	Bau khas
-Rasa	Rasa Pahit
-Konsistensi	Ekstrak kental
Rendemen (%)	17,095%
Kelarutan	Aquadest (mudah larut) Etanol 96% (mudah larut)
Susut Pengeringan (%)	57%
Kadar Abu Total (%)	1,872%

**Tabel 3.** Hasil Uji identifikasi Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*)

Bahan Uji	Penambahan Reagen	Reaksi Warna	Hasil
Ekstrak Kental	FeCl <sub>3</sub> 1%	Hijau Kehitaman	(+) Positif Mengandung tanin
	Gelatin 1%	Terbentuk Endapan	(+) Positif Mengandung tanin

Pada percobaan identifikasi tanin menggunakan pereaksi Besi (III) Klorida dan larutan gelatin 1 %. Pada uji pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , hasil yang diperoleh pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) positif mengandung senyawa tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman<sup>(1),(2)</sup>.

Pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) direaksikan dengan gelatin 1% dalam larutan NaCl menghasilkan endapan yang menunjukkan positif tanin. Sifat tanin dapat mengendapkan protein, semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambah gelatin karena termasuk protein alami.

Terjadinya pembentukan warna hijau karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam  $\text{Fe}^{3+}$  dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atom logam atau non logam<sup>(10)</sup>. Kecenderungan ion  $\text{Fe}^{3+}$  dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 (enam) pasang elektron bebas. Ion  $\text{Fe}^{3+}$  dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi  $d^2sp^3$  sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O pada tanin<sup>(10)</sup>. Reaksi tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  ditunjukkan pada gambar 1.

Pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) direaksikan dengan gelatin 1% dalam larutan NaCl menghasilkan endapan yang menunjukkan positif tanin. Identifikasi tanin dengan gelatin digunakan untuk memperkuat dugaan adanya tanin dalam ekstrak dari suatu tanaman, selain itu, semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin. Gelatin adalah protein yang dapat larut dalam air dan dapat dicernakan, berasal dari kolagen yang telah dipanaskan dalam air mendidih oleh larutan asam dan basa encer, terdiri atas 25% glisin dan 25% prolin serta hidroksiprolin<sup>(12)</sup>.

### Pembuatan Kurva

Hasil absorbansi dan pembuatan kurva baku asam galat dengan reagen *folin ciocalteu*, seperti tertera pada tabel 4 dan gambar 2.

**Tabel 4.** Hasil Absorbansi Baku Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1,0	0,163
2,0	0,206
3,0	0,253
4,0	0,273
5,0	0,337
6,0	0,398
7,0	0,430

Hasil pengukuran kurva kalibrasi asam galat dengan panjang gelombang 765 nm didapat persamaan regresi linear  $y = 0,0453x + 0,113$  dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,9884. Nilai (r) yang mendekati 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear.

### Penetapan Kadar Tanin.

Hasil penetapan kadar tanin pada ekstrak daun biduri (*calotropis gigantea*) menggunakan *spektrofotometer Uv-Vis* memiliki kadar tertinggi rerata 7,12  $\mu\text{g/ml}$  pada konsentrasi 300 ppm, rerata kadar 3,53  $\mu\text{g/ml}$  pada konsentrasi 200 ppm dan rerata kadar terendah adalah 1,16  $\mu\text{g/ml}$  pada 100 ppm, seperti tertera pada tabel 5.

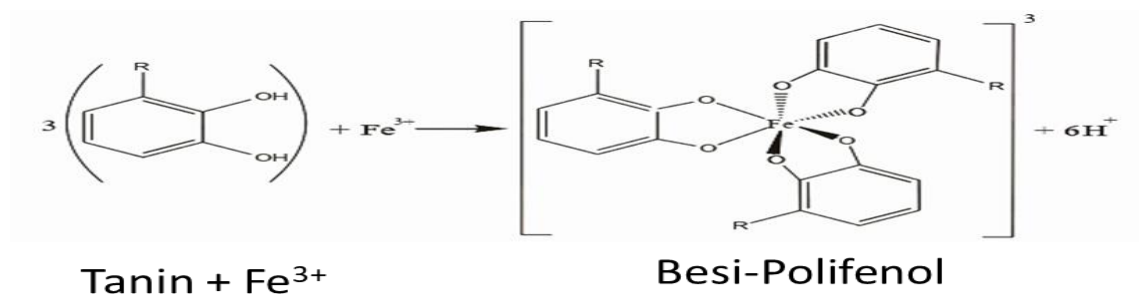
Penetapan kadar tanin dengan cara *spektrofotometri Uv-Vis* menggunakan reagen *Folin Ciocalteu*. Reaksi pembentukan yang terjadi adalah reduksi oksidasi dimana tanin sebagai reduktor dan *Folin Ciocalteu* sebagai oksidator. Hasil oksidasi akan membentuk warna biru yang dapat dibaca panjang gelombang maksimal. Reagen *Folin Ciocalteu* digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin

membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya.

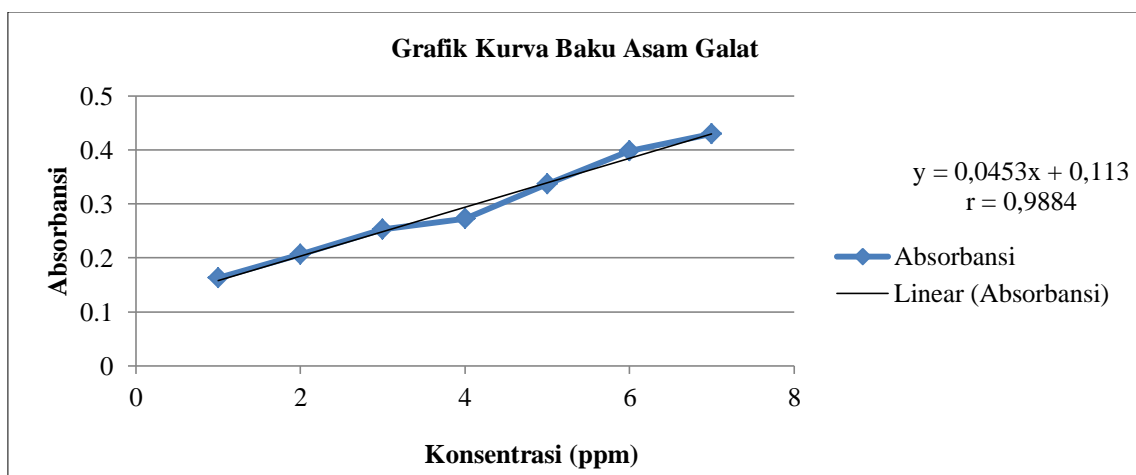
Prinsip dari metode *Folin Ciocalteu* adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (*Fosfomolibdat-fosfotungstat*) yang terdapat dalam pereaksi *Folin ciocalteu* menjadi suatu kompleks *Molibdenum-tungsten*. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin Ciocalteu* hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat kondisi basa digunakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  15%. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin Ciocalteu* membentuk kompleks *molibdenum-tungsten*

berwarna biru yang dapat banyak dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (*fosfomolibdat-fosfotungstat*) menjadi kompleks *molibdenum-tungsten* sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Dan sebagai standar perbandingan adalah asam galat<sup>(13)</sup>.

Pengukuran serapan sampel dari hasil yang didapat pada penetapan kadar tanin pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) dengan cara spektrofotometri Uv-Vis yaitu pada konsentrasi 100 ppm diperoleh kadar sebesar 1,16  $\mu\text{g/ml}$ , pada konsentrasi 200 ppm diperoleh kadar sebesar 3,53  $\mu\text{g/ml}$ , pada konsentrasi 300 ppm diperoleh kadar sebesar 7,12  $\mu\text{g/ml}$ .



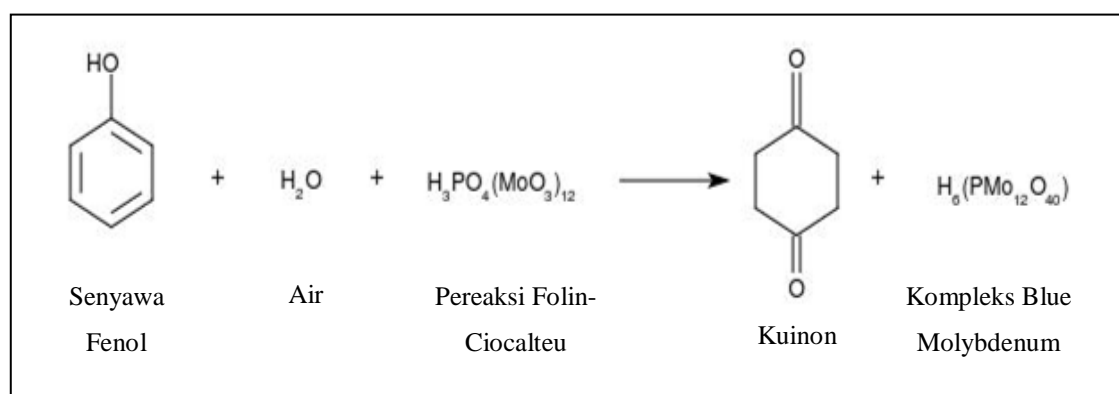
Gambar 1. Reaksi dugaan senyawa Tanin dengan  $\text{FeCl}_3$ <sup>(11)</sup>



Gambar 2. Grafik kurva baku asam galat

**Tabel 5.** Hasil Penetapan Kadar Tanin Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*)

Bobot Ekstrak (mg)	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Kadar Tanin(X) (µg/ml)	Rerata (µg/ml)
50 mg	100 ppm	I	0,167	1,192	1,16
		II	0,168	1,214	
		III	0,162	1,082	
	200 ppm	I	0,258	3,090	3,53
		II	0,292	3,951	
		III	0,274	3,554	
	300 ppm	I	0,452	7,483	7,12
		II	0,432	7,042	
		III	0,423	6,843	

**Gambar 3.** Reaksi Senyawa Fenol dengan Pereaksi Folin Ciocalteu<sup>(13)</sup>

## SIMPULAN

Ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) positif mengandung senyawa tanin. Pada sampel diperoleh kadar rata-rata tanin dalam ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) yaitu pada konsentrasi 100 ppm sebesar 1,16 µg/ml, pada konsentrasi 200 ppm sebesar 3,53 µg/ml, pada konsentrasi 300 ppm sebesar 7,12 µg/ml. Perlu dilakukan untuk penelitian selanjutnya agar mampu mengidentifikasi jenis-jenis senyawa tanin dan kadar total senyawa tanin ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) dengan metode yang berbeda dan lebih spesifik lagi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nadziroh M., 2014, *Uji Sitotoksitas Ekstrak Daun Biduri (Calotropis gigantea) Terhadap Larva Udang*

*Artemia Salina* Leach Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya, Kimia J., Sains, F., Teknologi, D.A.N., Islam, U., Maulana, N., & Ibrahim, Malang.

2. Singh S., Mishra R M., and Shrivastava M P., 2014, *Preliminary Phytochemical Screening of Calotropis gigantea leaf. International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(1), 2250–3153. Retrieved from www.ijsrp.org
3. Mustikasari K., Ariyani D., 2010, *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (Litsea angulata)*, Sains Dan Terapan Kimia, 4, 131–136.
4. Mangan, Yellia., 2009, *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker*, Jakarta: Agromedia Pustaka

5. Anonim, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1-2.
6. Diniatik, 2015, *Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepek (*Stelechocarpus burahol* (bi) Hook f. & th.), dengan metode Spektrofotometri*, Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi, ISSN 2354-6565.
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
8. Harborne JB., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung: ITB.
9. Amelia, F R., 2015, *Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) Spektrofotometri dan Permanganometri*, Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya, 4(2), 1–20.
10. Effendy, 2007, *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*, Malang: Banyu Media Publishing.
11. Perron R N., and Brumaghim L J., 2009, *A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding*. Cell Biochem Biophys, (53) : 75 – 100.
12. Mabruroh, *Asasu Iqonil (2015) Uji aktivitas antioksidan ekstrak tanin dari daun rumput bambu (*lopatherum gracile brongn*) dan identifikasinya*. Undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
13. Sulistyani S A., 2011, *Ekstraksi Senyawa Fenolik dari Limbah Kulit*, Surabaya.