

## ANALISIS FLAVONOID DAN TANNIN DENGAN METODA MIKROSKOPI-MIKROKIMIAWI

### FLAVONOID AND TANNIN ANALYSIS WITH MICROSCOPY – MICROCHEMICAL METODE

Sri Mulyani\* dan Toga Laksana

Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Skip Utara 55281, Yogyakarta

#### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk menganalisis senyawa flavonoid dan tannin dalam bahan uji dengan metoda mikroskopi – mikrokimiawi. Untuk analisis flavonoid digunakan bahan uji kulit jeruk, daun tempuyung, daun kumis kucing dengan kontrol negatif daun paku. Bahan uji daun jambu biji, daun jati belanda, biji pinang digunakan untuk analisis tannin dengan kontrol negatif rimpang jahe. Penelitian dilakukan dengan cara bahan uji diiris melintang, selanjutnya diberi pereaksi identifikasi flavonoid (amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, sitroborat), sedang pereaksi untuk tannin digunakan FeCl<sub>3</sub>, garam fast blue, dan prusian blue. Bahan uji selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop, daerah yang memberi reaksi positif terhadap pereaksi yang digunakan menunjukkan bahan uji mengandung senyawa yang dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode mikroskopi-mikrokimiawi dapat digunakan untuk menganalisis adanya flavonoid/tannin dalam bahan uji. Adanya senyawa flavonoid akan memberikan warna kuning dengan pereaksi amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, dan sitroborat sedang tannin akan berwarna biru sampai hitam dengan FeCl<sub>3</sub>, merah dengan garam fast blue, dan biru dengan prusian blue.

Kata kunci : analisis, flavonoid, tannin, mikroskopi-mikrokimiawi

#### ABSTRACT

Studies have been conducted to analyze flavonoids and tannins using microscopy-microchemical methods. Materials used for the analysis of flavonoid were orange peel, sonchi leaves, and orthosiphon leaves, with *N. exaltata* as negative control. While guajava leaves, guazama leaves, and areca seed were used for the analysis of tannins, with ginger rhizome as negative control. The study was conducted in a way of material sliced crosswise, subsequently given the identification reagent for flavonoids (ammonia, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, sitroborat). On the other hand, using FeCl<sub>3</sub>, fast blue salt, and prusian blue for tannins. Having examined under a microscope, the area which gave a positive reaction to the reagent used, indicate the test materials contained compounds that were analyze. The results showed that this microscopy-microchemical method can be used to analyze the presence of flavonoids / tannins in the test material. Presence of flavonoid compounds will give yellow color with ammonia, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, sitroborat reagent, while blue to black for the tannins with FeCl<sub>3</sub>, red with fast blue salt, and blue with prusian blue.

Key words : analysis, flavonoids, tannins, microscopy-microchemical

#### PENDAHULUAN

Dalam menganalisis senyawa flavonoid dan tannin pada bahan uji, metoda yang biasa digunakan adalah metoda uji tabung, mikrokimiawi-mikrokristal, KLT (kromatografi lapis tipis), dan HTS (*high throughput screening*)

Samuellsen, 1999). Analisis dengan metoda tersebut diperlukan bahan, pelarut, dan bahan-bahan pendukung yang relatif banyak dan harganya mahal.

Penggunaan metoda mikroskopi-mikrokimiawi untuk analisis kandungan kimia tumbuhan baru diterapkan pada senyawa golongan antrakuinon dengan mengiris kulit cascara dan frangula dan diperiksa di bawah mikroskop daerah yang berwarna merah setelah diberi KOH (Brain and Turner, 1975). Dengan metoda ini bahan uji dan pereaksi yang diperlukan

---

Korespondensi : Sri Mulyani  
Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM  
Email : motfarmasi@yahoo.co.id

(Brain & Turner, 1975; Wagner & Bladt, 1996;

sedikit. Daun tempuyung diketahui mengandung flavonoid 7-glukosil luteolin, 7-glukosil apigenin, dan kaemferol, daun kumis kucing mengandung flavonoid sinensetin, eupatorin, dan ortosifonin (Sampurna dkk., 2004), sedang kulit jeruk diketahui mengandung flavonoid hesperidin, neo hesperidin dan rutin (Evans, 2002). Daun jambu biji mengandung flavonoid kuersetin dan tannin, daun jati belanda mengandung flavonoid, friedelin-3 alfa asetat, friedelin 3-ol dan tannin (Sampurna dkk., 2004), sedang biji pinang mengandung alkaloid guvasin, arekain, arekolin, dan tannin merah (plobapen) (Evans, 2002). Menurut Farnsworth, 1966 keberadaan flavonoid dalam bahan uji dapat diketahui dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat kedalam ekstrak alkohol, akan berwarna jingga sampai merah apabila mengandung flavon, merah sampai merah tua (Flavanol), merah tua sampai magenta (Flavanon). Pereaksi lain yang sering digunakan untuk identifikasi flavonoid sebagai pereaksi semprot dalam KLT adalah amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, sitroborat akan memberikan warna kuning (Mabry dkk., 1970; Robinson, 1983).

Adanya tannin dalam bahan uji dapat diidentifikasi dengan menambahkan garam gelatin dalam ekstrak etanol bahan uji, maka akan terbentuk endapan (Farnsworth, 1966). Pereaksi lain yang sering digunakan untuk identifikasi tannin adalah FeCl<sub>3</sub>, garam *fast blue*, dan *prusian blue*, tannin dengan FeCl<sub>3</sub> akan membentuk kompleks yang berwarna biru sampai hitam, dengan garam *fast blue* berwarna merah karena terbentuknya senyawa diazo, dan berwarna biru dengan *prusian blue* karena terjadi oksidasi dengan adanya garam feri (Jork dkk., 1990).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah metode mikroskopi-mikrokimiawi dapat digunakan untuk menganalisis keberadaan senyawa flavonoid dan tannin dalam bahan uji seperti pada analisis antrakuinon dalam cascara dan frangula, sehingga bahan uji dan pereaksi yang dibutuhkan cukup sedikit. Dari luas daerah yang memberikan reaksi positif apakah dapat diperkirakan seberapa besar kandungan senyawa yang ada.

## METODOLOGI

### Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah *Sonchus arvensis* L. (tempuyung)-daun, *Orthosiphon aristatus* (Bl.) Miq. (kumis kucing)-daun, *Citrus Hystrix* DC. (jeruk nipis)-kulit buah, *Psidium guajava* L. (jambu biji)-daun, *Guazuma ulmifolia* Lmk. (jati belanda)-daun,

*Nephrolepis exaltata* Schott. (paku)-daun yang diperoleh dari kebun Fakultas Farmasi UGM, *Zingiber officinale* (jahe)-rimpang dari Temanggung dan *Areca cathecu* L. (pinang)-biji dari Kulon Progo.

Bahan kimia yang digunakan berupa pereaksi amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, sitroborat, FeCl<sub>3</sub>, garam *fast blue* dan *prusian blue* berkualitas p.a (E.Merck) diperoleh dari Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi UGM.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop dan kamera digital Canon A460 dan kamera digital Nikon Coolpix L23, neraca mettlert Toledo.

### Jalannya Penelitian

Identifikasi/determinasi bahan tanaman yang digunakan dilakukan di laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi UGM.

### Preparasi bahan uji

Bahan yang telah diidentifikasi/ dideterminasi selanjutnya dibersihkan dari kotoran dengan air mengalir, ditiriskan dan dibuat penampang melintang. Preparat yang telah dibuat diperiksa di bawah mikroskop sebelum dan sesudah diberi pereaksi, selanjutnya di dokumentasi. Daun paku sebagai kontrol negatif untuk senyawa flavonoid, dan rimpang jahe sebagai kontrol negatif untuk senyawa tannin diperlakukan sama seperti bahan uji. Masing-masing bahan uji diulang empat kali. Pereaksi identifikasi yang digunakan untuk analisis flavonoid adalah amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub> dan sitroborat. Pereaksi identifikasi untuk pereaksi tannin adalah FeCl<sub>3</sub>, garam *fast blue* dan *prusian blue*. Data yang diperoleh dianalisis secara diskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pemeriksaan secara mikroskopi-mikrokimiawi dari bahan uji dan kontrol negatif dapat dilihat dalam tabel I, II, dan gambar 1, 2 berikut.

Tabel I. Hasil Analisis Senyawa Flavonoid

		Daun Tempuyung	Daun Kumis Kucing	Kulit Jeruk	Daun Paku
Amonia	Sebelum	Hijau coklat	Hijau ungu	Hjau kning	Coklat
	Sesudah	Hijau pucat	Hijau pucat	Kuning tua	Cokl jingga
NaOH	Sebelum	Hijau coklat	Hijau ungu	Hjau kning	Coklat
	Sesudah	Hijau kng tua	Hijau kuning	Hjau jingga	Cokl kning
AlCl <sub>3</sub>	Sebelum	Hijau coklat	Hijau ungu	Hjau kning	Coklat
	Sesudah	Coklat muda	Hijau kuning	Hj Kng md	Coklat
Sitroborat	Sebelum	Hijau coklat	Hijau ungu	Hjau Kning	Coklat
	Sesudah	Hijau kning tua	Hijau kuning	Hj Kng tua	Coklat

Tabel II. Hasil Analisis Senyawa Tannin

		Daun Jambu Biji	Daun Jati Belanda	Biji Pinang	Jahe
FeCl <sub>3</sub>	Sebelum	Hijau	Hijau	Coklat	Coklat
	Sesudah	Hitam	Hijau ungu	Ungu	Coklat
Garam <i>fast blue</i>	Sebelum	Hijau	Hijau	Coklat	Coklat
	Sesudah	Merah	Merah	Merah	Coklat
<i>Prusian blue</i>	Sebelum	Hijau	Hijau	Coklat	Coklat
	Sesudah	Biru	Biru	Biru	Coklat

Dalam analisis flavonoid digunakan kontrol negatif daun paku. Menurut Samuelsson, 1999, flavonoid tersebar dalam tumbuhan paku dan tumbuhan tinggi, berada dalam bentuk bebas maupun glikosida. Mereka berbeda dalam kandungannya, berbeda pada gugus hidroksil atau metoksil, dan posisi residu gula yang terikat pada aglikon. Hasil penelitian terhadap hidrolisat asam 40 tumbuhan paku, suku Aspleniaceae menunjukkan bahwa 13% diantaranya mengandung flavon termetilasi, 13% flavon C-glikosida, dan proantosianidin. Aglikon flavonoid dari Angiospermae didasarkan pada kaemferol dan kuersetin (Umikalsom dan Harborne, 1991). Adanya gugus OH yang termetilasi menyebabkan flavonoid tersebut tidak dapat teridentifikasi dengan pereaksi amoniak, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, dan sitroborat (Mabry dkk., 1970; Robinson, 1983).

Kontrol negatif untuk analisis tannin digunakan rimpang jahe. Menurut Samuelsson, 1999, tannin terdistribusi dalam organ seperti daun, buah, kulit batang dan kayu. tannin sering ada dalam buah belum masak, tapi hilang selama pemasakan. Dengan demikian tannin tidak ditemukan di dalam rimpang.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pereaksi amonia, NaOH, AlCl<sub>3</sub>, sitroborat dapat digunakan sebagai pereaksi penunjuk flavonoid dalam sampel yang digunakan, hanya intensitas warna yang terjadi antara bahan yang satu dengan lainnya berbeda. Hal ini kemungkinan disebabkan jenis flavonoid ataupun kadarnya berbeda. Secara

umum kulit jeruk memberikan perubahan warna yang paling intensif dengan semua pereaksi yang digunakan, dibanding bahan uji yang lain. Penggunaan pereaksi AlCl<sub>3</sub> dan sitroborat sebagai pereaksi flavonoid hanya berlaku jika flavonoid tersebut memiliki gugus o-dihidroksi bebas. Sedang amonia atau NaOH dengan flavonoid akan membentuk senyawa kuinoid yang berwarna merah.

Hanya saja amoniak dan NaOH juga akan bereaksi dengan senyawa antrakuinon yang akan menghasilkan warna merah. Reaksi dari flavonoid dengan AlCl<sub>3</sub>, asam borat dan NaOH tertera pada gambar 3-5.

Dalam analisis tannin dari bahan uji dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub>, garam *fast blue*, dan *prusian blue*, perubahan warna yang terjadi terlihat jelas pada semua bahan uji. Dari analisis senyawa flavonoid dan tannin dengan metode mikroskopi-mikrokimiawi ini hanya dibutuhkan sampel yang kecil berupa irisan melintang, dan satu tetes pereaksi. Apabila metoda ini dibandingkan dengan metoda yang digunakan oleh Fitriyani dkk., 2011 untuk menganalisis senyawa yang sama, maka metoda ini lebih efisien. Untuk analisis senyawa flavonoid dan tannin dari daun sirih, masing-masing digunakan ekstrak sebesar 0,3 g. Ekstrak ini diperoleh dari 2,21 g bahan segar atau kira-kira 2 sampai 3 lembar daun sirih (Fitriyani dkk., 2011).

Tumb. Paku sebelum ditambah  $AlCl_3$



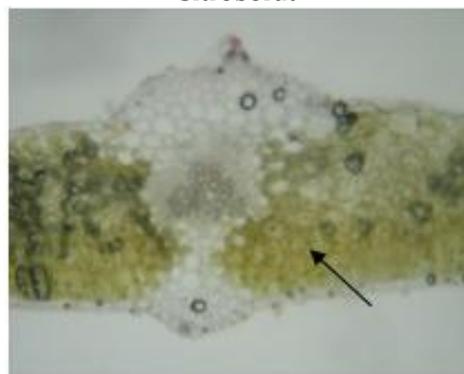
Tumb. Paku sesudah ditambah  $AlCl_3$



Daun Kumis Kucing sebelum ditambah Sitroborat



Daun Kumis Kucing sesudah ditambah Sitroborat



Kulit Jeruk sebelum ditambah Amonia



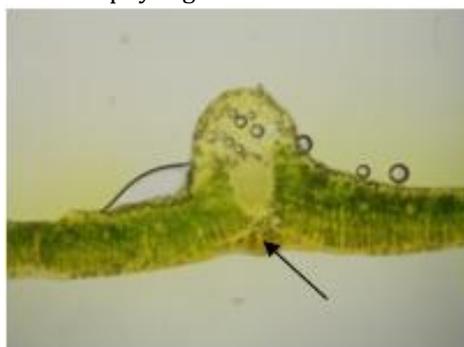
Kulit Jeruk sesudah ditambah Amonia



Daun Tempuyung sebelum ditambah NaOH



Daun Tempuyung sesudah ditambah NaOH



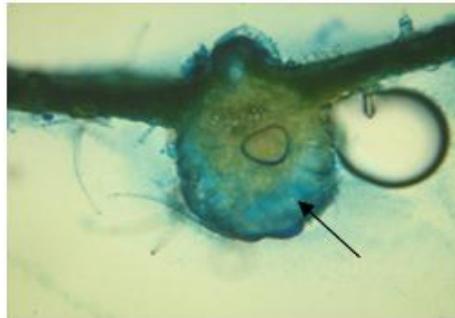
Gambar 1. Hasil Analisis Flavonoid dengan Metode Mikroskopi-Mikrokimiawi  
Keterangan:

→ : flavonoid berwarna kuning dengan pereaksi identifikasi

Daun Jati Belanda sebelum ditambah *Prussian Blue*



Daun Jati Belanda sesudah ditambah *Prussian Blue*



Biji Pinang sebelum ditambah Garam *Fast Blue*



Biji Pinang sesudah ditambah Garam *Fast Blue*



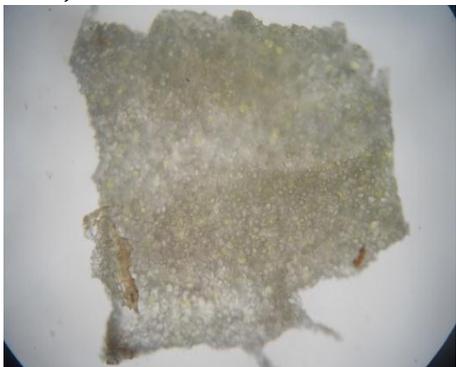
Daun Jambu Biji sebelum ditambah  $\text{FeCl}_3$



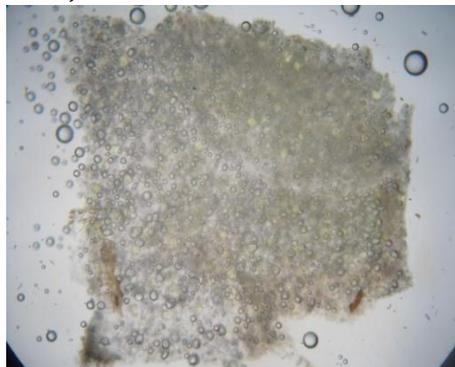
Daun Jambu Biji sesudah ditambah  $\text{FeCl}_3$



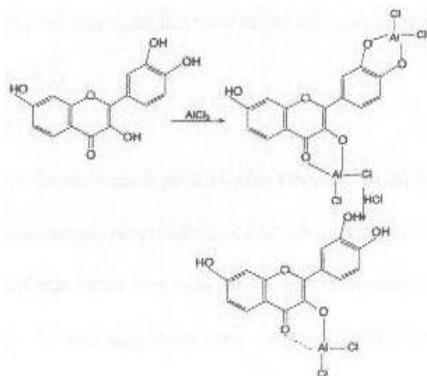
Jahe sebelum ditambah  $\text{FeCl}_3$



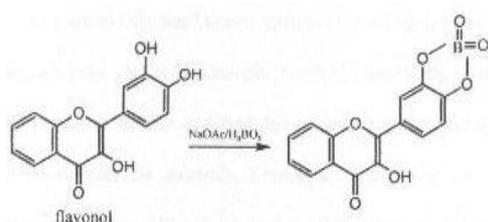
Jahe sesudah ditambah  $\text{FeCl}_3$



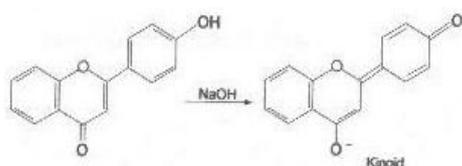
Gambar 2. Hasil Analisis Tannin dengan Metode Mikroskopi-Mikrokimiawi  
Keterangan:  $\rightarrow$  : tannin berwarna dengan pereaksi identifikasi



Gambar 3. Reaksi Flavonoid dengan  $AlCl_3$  (Mabry, dkk, 1970)



Gambar 4. Reaksi Flavonoid dengan Asam Borat (Mabry, dkk, 1970)



Gambar 5. Reaksi Flavonoid dengan NaOH (Robinson, 1983)

Untuk membuat ekstraknya diperlukan metanol 7,5 kali berat bahan ujinya. Dengan metode mikroskopi-mikrokimiawi untuk identifikasi senyawa dari bahan uji tidak dibutuhkan pelarut, sehingga metoda ini lebih murah dibanding metoda yang digunakan oleh Fitriyani dkk., 2011 untuk analisis senyawa yang sama. Dari hasil penelitian ini diharapkan bahwa metoda mikroskopi-mikrokimiawi ini dapat diterapkan untuk menganalisis senyawa yang lain, sehingga kedepannya metoda ini dapat digunakan untuk skrining fitokimia dengan cara yang mudah dan biaya lebih murah.

## KESIMPULAN

Metoda mikroskopi-mikrokimiawi dapat digunakan untuk menganalisis senyawa flavonoid dan tannin dalam bahan uji secara kualitatif.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Fakultas Farmasi UGM yang mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Penelitian Madya tahun 2011.

## DAFTAR PUSTAKA

- Brain, K.R., & Turner, T.D., 1975, *The Practical Evaluation of Phytopharmaceuticals*, 24-27, Wright-Scientechnica, Bristol
- Evans, W.C., 2002, *Trease and Evans Pharmacognosy*, 14 th Ed., 297, 344, Saunders, Toronto.
- Farnsworth, N.R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *J. Pharm. Sci.*, 55, 3, 225-273
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., dan Nuri, 2011, Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Pada Tikus Putih, *Majalah Obat Tradisional*, 16 (1), 34-42
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W., and Wimmer, H., 1990, *Thin Layer Chromatography Reagent and Detection Methods*, Vol. 1 a, 148, 152., 167, 207, 289. VCH publishers, USA
- Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoid*, 50, 52, Springer-Verlag, Berlin.
- Robinson, T., 1983, *The Organic Constituents of Higher Plants Their Chemistry and Interrelationships*, 5th Ed., 200, Cordus Press., North Amherst.
- Sampurna, Aspan, R., Assaratun, I., Hakim, L., Sidik, Wiryowidagdo, S., Arbain, D., Subarnas, A., Suganda, A.G., Fachruddin, Pramono, S., Djatmiko, W., Erfansyah, N., Kardono, B.I., Harsodjo, S., dan Lindawati, 2004, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol. 1, 29, 48, 104, BPOM, Jakarta.
- Samuelsson, G., 1999, *Drugs and Natural Origin*, a Textbook of Pharmacognosy, 4th, Rev. Ed., 78, 85, 118-141, Swedish Pharm Press., Sweden
- Umikalsom, Y., and Harborne, J.B., 1991, *Flavonoid Distribution in Asplenoid Ferns*, *Pertanika*, 14(3), 297-300
- Wagner, H. and Bladts, S., 1996, *Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2 nd Ed., 102, 240-251, Springer-Verlag, Berlin