

PENGARUH METODE PENYARIAN TERHADAP PERBEDAAN HASIL ANALISIS KADAR TANIN DALAM DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) SECARA SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK

Marini, Any Guntarti, Kintoko

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Jogjakarta

Abstrak

Indonesia kaya dengan aneka ragam tanaman obat, salah satu diantaranya adalah daun jambu biji. Berdasarkan pengalaman, daun jambu biji sudah dikenal luas oleh masyarakat untuk mengobati diare. Kandungan zat bioaktif yang bertanggung jawab terhadap efek antidiarenya adalah senyawa tanin yang disebut *Psiditanin*. Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh metode penyarian terhadap kadar tanin tersari dalam daun jambu biji secara spektrofotometri sinar tampak. Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi, perkolası, dan Soxhlet dengan cairan penyari etanol 95%. Identifikasi terhadap tanin dilakukan menggunakan gelatin P, HCl P, FeCl₃ LP dan H₂SO₄ serta kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel G dan fase gerak toluena : n-butanol : asam asetat : air (1 : 3 : 1 : 5) dengan pembanding asam tanat. Sedangkan penetapan kadar tanin tersari dilakukan menggunakan spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang maksimal 729, 40 nm dan waktu operasi antara 1860-2820 detik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam daun jambu biji terdapat tanin. Hal ini didasarkan pada terbentuknya endapan putih dengan gelatin P, warna kuning kehijauan dengan HCl P, warna hitam kebiruan dengan FeCl₃ LP, dan endapan dengan H₂SO₄. Hasil KLT-nya menunjukkan harga hRF dan warna bercak yang relatif sama antara sampel dengan pembanding. Penetapan kadar tanin secara spektrofotometri sinar tampak diperoleh hasil : kadar tanin dengan metode maserasi = $1,0378 \pm 0,0318\%$ b/b, metode perkolası = $1,3033 \pm 0,0163\%$ b/b, dan metode Soxhlet = $2,2609 \pm 0,0878\%$ b/b. Setelah dianalisis dengan uji varian satu jalan menunjukkan perbedaan bermakna sehingga dilanjutkan dengan uji t. Hasil uji t menunjukkan perbedaan bermakna. Dengan demikian dapat disimpulkan adanya pengaruh metode penyarian terhadap kadar tanin tersari dalam daun jambu biji dengan metode Soxhlet yang paling tinggi.

Kata Kunci : Metode penyarian, Tanin, *Psidium guajava*, Spektrofotometri sinar tampak

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Daun jambu biji mengandung Tanin.. Dalam bidang pengobatan, daun jambu biji berkhasiat sebagai astringen pada saluran cerna sehingga dapat digunakan untuk antidiare. Hal ini didasarkan pada kemampuannya dalam membentuk lapisan oleh selaput lendir usus sehingga dapat mencuatkan selaput lendir usus tersebut (Dalimarta, 1999).

Mengingat kegunaan tanin dalam pengobatan, perlu dilakukan penelitian penetapan kadar tanin dalam daun jambu biji dengan variasi metode penyarian yang berbeda, yaitu metode Soxhlet, perkolası, dan maserasi. Penetapan kadar tanin dalam daun jambu biji dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak. Metode ini digunakan karena lebih praktis dan mempunyai sensitivitas yang tinggi.

B. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh metode penyarian terhadap perbedaan kadar tanin pada daun jambu biji.
2. Mengetahui metode penyarian yang efektif dengan kadar tanin terbanyak.

C. Tinjauan Pustaka

1. Klasifikasi jambu biji

Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Psidium
Species : *Psidium guajava* L. (Steenis, 1975).

2. Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh dalam angiospermae, terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin, yaitu tanin terkondensasi dan terhidrolisis. Tanin terkondensasi hampir terdapat di dalam paku-pakuan dan gimnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya tanin yang terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua.

Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintetis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (*galokatekin*) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Ikatan-ikatan karbon menghubungkan satu satuan flavon dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-8 atau 6-8, nama lain untuk tanin terkondensasi adalah proantosianidin karena bila direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon-karbon monomer antosianidin dibebaskan (Harborne, 1984).

Senyawa tanin (catekin) merupakan tanin yang tak terhidrolisis, memberikan reaksi dengan reagen-reagen untuk fenol. Reagen $FeCl_3$ yang tidak spesifik memberikan hasil yang baik untuk semua kelompok karena sensitivitasnya tidak terlalu tinggi. Sejumlah besar senyawa dapat terdeteksi katekin dan derivatnya memberikan warna merah dengan reagen vanilin HCl (Macek, 1972).

3. Metode Penyarian

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian yang paling sederhana dan banyak digunakan untuk menyaring bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Maserasi dilakukan

dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dengan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang. (Anonim, 1986).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyarian serbuk simplisia sebagai pelarut yang cocok dengan melewatkannya secara perlahan-lahan melewati suatu kolom. Serbuk simplisia dimasukkan dalam perkolator atau bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan (Anonim, 1986).

c. Soxhlet

Bahan yang akan disari berada di dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton) dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu. Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin air balik dan dihubungkan melalui pipa, labu tersebut berisi bahan-bahan penyari yang menguap jika diberi pemanasan. Uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping, kemudian diembunkan kembali oleh pendingin tegak. Cairan turun kelabu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Cairan penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Cairan penyari akan menguap kembali berulang proses seperti di atas. Karena adanya sifon, maka setelah cairan mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan kembali ke labu. Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia tetapi melalui pipa samping (Anonim, 1986).

4. Spektrofotometri Sinar Tampak

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra ultra violet dan sinar tampak dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi di antara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital antiikatan. Karena elektron dalam molekul memiliki tenaga yang tidak sama, maka tenaga yang diserap dalam proses eksitasi dapat mengakibatkan

terjadinya satu atau lebih transisi tergantung pada jenis elektron yang terlihat. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan dari berkas radiasi yang ditransmisikan bila spesies penyerap tidak ada, dengan intensitas yang ditransmisikan bila spesies penyerap ada (Sastrohamidjojo, 1991; Hendayana dkk., 1994).

5. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisika kimia. Lapisan yang memisahkan itu terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam) yang ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan/dideteksi (Stahl, 1985). Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang atau campuran pelarut pengembang (Mulja dan Suharman, 1995).

METODE PENELITIAN

A. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat spektrofotometri sinar tampak, timbangan analitik, alat-alat gelas, maserator, perkulator, Soxhlet, waterbath, seperangkat alat kromatografi.

B. Bahan

Bahan yang digunakan meliputi daun jambu biji, pereaksi Folin-Dennis, asam tanat, larutan natrium karbonat, asam fosfomolibdat, natrium tungstat, etanol 95%, asam asetat p.a, toluena p.a, besi (III) klorida p.a, akuades.

C. Prosedur Penelitian

1. Determinasi tanaman jambu biji
2. Pengumpulan daun jambu biji
3. Pengeringan daun
4. Identifikasi serbuk
5. Pembuatan larutan sampel
6. Pembuatan pereaksi

- a). Follin-Dennis
 - b). Larutan natrium karbonat
 - c). Larutan standar asam tanat 0,1 mg/ml
7. Penetapan waktu operasi
8. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum
9. Pembuatan kurva baku
10. Penetapan kadar tanin
11. Kromatografi lapis tipis

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kualitatif tanin pada daun jambu biji dilakukan dengan pereaksi kimia dan kromatografi lapis tipis yang hasilnya ditunjukkan pada Tabel I untuk pereaksi kimia dan Tabel II untuk data kromatografinya.

Tabel I. Hasil analisis tanin dengan pereaksi kimia

| Cuplikan | Identifikasi | | |
|------------|--------------|------------------|---|
| | Gelatin P | HCl P | FeCl ₃ +H ₂ SO ₄ |
| Asam tanat | Mengendap | Kuning kehijauan | Hitam kebiruan-endapan |
| Maserat | Mengendap | Kuning kehijauan | Hitam kebiruan-endapan |
| Perkolat | Mengendap | Kuning kehijauan | Hitam kebiruan-endapan |
| Soxhlet | Mengendap | Kuning kehijauan | Hitam kebiruan-endapan |

Tabel II. Data kromatografi tannin

| Cuplikan | hRf | Sebelum disemprot FeCl ₃ | | | Setelah disemprot FeCl ₃ | | |
|----------|-------|-------------------------------------|-----------------|--------------|-------------------------------------|----------------|------------|
| | | visibel | UV 254 | UV 366 | visibel | UV 254 | UV 366 |
| A | 53,00 | Coklat kehitaman | Hijau kehitaman | Coklat Gelap | Ungu | Ungu kehijauan | Ungu gelap |
| B | 52,00 | Coklat kehitaman | Hijau kehitaman | Coklat Gelap | Ungu kehitaman | Ungu kehijauan | Ungu gelap |
| C | 49,00 | Coklat kehitaman | Hijau kehitaman | Coklat Gelap | Ungu kehitaman | Ungu kehijauan | Ungu gelap |
| D | 53,75 | Coklat kehitaman | Hijau kehitaman | Coklat Gelap | Ungu kehitaman | Ungu kehijauan | Ungu gelap |

Keterangan : A : standar asam tanat; B : Maserasi; C : Perkolasi; D : Soxhlet

Fase diam : silika gel G 254; Fase gerak : TBAW (1:3:1:5)

Berdasarkan harga hRf dan warna bercak sebelum dan sesudah disemprot FeCl₃ dapat disimpulkan cuplikan B, C dan D mengandung tanin.

Penetapan kadar tanin tersari dilakukan secara spektrofotometri sinar tampak dengan pereaksi Follin-Dennis. Sebelumnya dilakukan optimasi terhadap waktu operasi untuk memperoleh waktu yang tepat terjadinya kestabilan warna (biru keunguan) sampai kestabilan

bertahan. Berdasarkan hasil optimasi didapat antara 31 sampai 47 menit. Selain itu, juga dioptimasi λ maksimum untuk meningkatkan kepekaan absorbansi sampel yang dianalisis. Diperoleh λ maksimum 729,240 nm. Setelah dilakukan optimasi, dibuat kurva baku hubungan antara kadar dengan absorbansi dan diperoleh persamaan linier $Y = 0,8969X + 0,0252$ dengan $r=0,99987$. Penetapan kadar tanin tersari dengan variasi metode penyarian dapat dilihat pada Tabel III berikut ini.

Tabel III. Kadar tanin tersari dengan variasi metode penyarian

| Metode | Absorbansi | Kadar (% b/b) | X (% b/b)±SE |
|-----------|------------|---------------|---------------|
| Merasasi | 0,221 | 1,0917 | 1,0378±0,0318 |
| | 0,201 | 0,9798 | |
| | 0,203 | 0,9908 | |
| | 0,229 | 1,1357 | |
| | 0,203 | 0,9908 | |
| Perkolasi | 0,268 | 0,1354 | 1,3033±0,0163 |
| | 0,258 | 0,1298 | |
| | 0,261 | 0,1315 | |
| | 0,258 | 0,1298 | |
| | 0,250 | 0,1253 | |
| Soxhlet | 0,439 | 0,2307 | 2,2609±0,0878 |
| | 0,481 | 0,2541 | |
| | 0,436 | 0,2290 | |
| | 0,412 | 0,2157 | |
| | 0,386 | 0,2012 | |

Dari Tabel tersebut di atas terlihat bahwa kadar tanin terbesar terdapat pada metode Soxhlet. Untuk mengetahui pengaruh variasi metode penyarian terhadap kadar tanin tersari dilakukan analisis varian satu jalan dengan taraf kepercayaan 95% dan derajat bebas (2;12). Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel IV di bawah ini.

Tabel IV. Hasil perhitungan ANAVA satu jalan

| Metode | X(% b/b)±SE | F hitung | F tabel | Keterangan |
|-----------|---------------|----------|---------|------------|
| Merasasi | 1,0378±0,0318 | | | |
| Perkolasi | 1,3033±0,0163 | 137,97 | 3,89 | Bermakna |
| Soxhlet | 2,2609±0,0878 | | | |

Berdasarkan Tabel di atas dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi metode terhadap kadar tanin tersari karena F hitung lebih besar dari F tabel.

Analisis dilanjutkan dengan uji t untuk membandingkan adanya perbedaan kadar antar metode dengan taraf kepercayaan 95% dan derajat bebas 8. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel V berikut.

Tabel V. Hasil perhitungan dengan uji t

| Metode | T hitung | T tabel | Keterangan |
|--------------------|----------|---------|----------------|
| Soxhlet-perkolasi | 3,510 | 2,306 | Bermakna |
| Soxhlet-maserasi | 3,992 | | Bermakna |
| Perkolasi-maserasi | 0,481 | | Tidak bermakna |

Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar antara metode Soxhlet dengan perkolasi karena t hitung lebih besar dari t tabel, demikian juga antara metode Soxhlet dengan maserasi. Namun antara metode perkolasi dengan maserasi tidak terdapat perbedaan yang bermakna karena t hitung lebih kecil dari t tabel. Metode Soxhlet paling tinggi kadar taninnya, hal ini disebabkan metode ini dapat menyari tanin secara sempurna dengan cairan penyari yang selalu murni, tidak terjadi penjenuhan oleh hasil sari sebelumnya sehingga kemampuan melarutkan tanin tinggi.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Metode penyarian dapat mempengaruhi kadar tanin dalam daun jambu biji .
2. Penyarian dengan metode Soxhlet mendapatkan kadar tanin terbesar yaitu sebesar $2,2609 \pm 0,0878$ dibandingkan perkolasi ($1,3033 \pm 0,0163$) dan maserasi ($1,0378 \pm 0,0318$).

B. Saran

1. Perlu diadakan penelitian tentang penetapan kadar tanin dalam daun jambu biji menggunakan metode penyarian Soxhlet dengan pelarut yang berbeda.
2. Perlu diadakan penelitian penetapan kadar tanin dengan metode penyarian Soxhlet dalam daun, pucuk daun, dan buah.
3. Perlu dilakukan penetapan kadar tanin dalam bentuk isolatnya.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Hal: 8.

Anonim, 1996, *Official Methode Of Analysis Of AOAC International*, Edition, Vol II, AOAC International Suite 500, Mary Land, USA, Hal: 703.

Dalimartha, S., 1999, *Atlas Tumbuhan Indonesia*, Jilid I, Tribus Angriwidya, Jakarta, Hal: 150-153.

Hendayana, S., Kadarohman, A., Sumarna, A., Supriatna, A., 1994, *Kimia Analitik Instrumen*, IKIP, Semarang Press, Semarang, Hal: 155.

Harborne, J.B., 1984, *Metode Fitokimia*, ITB, Bandung, Hal: 102-106.

- Macek, K., 1972, *Pharmaceutical Application Of Thin – Layer And Paper Kromotography*, Elsclier Publishing Company, Amsterdam, Hal: 600-603.
- Mulja, M., Suharman, 1995, Analisis Instrumental, Cetakan pertama, Airlangga Press, Surabaya, Hal 26-224
- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Spektroskopi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta, Hal: 23-42.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi Dan Mikroskopi*, ITB, Bandung, Hal: 3-17.
- Steenis, V., 1975, *Flora Untuk Sekolah DI Indonesia*, Pradnya Paramitha, Jakarta, Hal: 48.