

Penetapan Kadar Tanin Ekstrak Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum*) Dengan Metode Spektrofotometri Visible Dan Titrasi Permanganometri

Elly Mulyani^{a,1*}, Herlina^{a,2}, Kurnia Suci^{a,3}

^aD3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Al Fatah, Jl. Indra Giri gang 3 serangkai, Padang Harapan, Bengkulu, Indonesia.

¹mulyanielly17@gmail.com*

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Diterima : 31-12-2021 Direvisi : 04-01-2022 Disetujui : 04-01-2022</p>	<p>Indonesia merupakan negara yang memiliki beraneka ragam tanaman obat yang salah satunya adalah tanaman pagoda (<i>Clerodendrum paniculatum</i>). Daun Pagoda (<i>Clerodendrum paniculatum</i>) mengandung senyawa flavanoid, terpenoid, tanin, alkaloid, sterol dan glikosida. Uji identifikasi tanin dari ekstrak daun pagoda penelitian (Hafiz dkk, 2016) dan (Fitriana, 2018) menjelaskan bahwa daun pagoda positif mengandung senyawa tanin yang belum diketahui kadarnya. Oleh karena itu, peneliti melakukan penetapan kadar tanin pada daun pagoda (<i>Clerodendrum paniculatum</i>). Daun pagoda yang telah dikeringkan di estraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif menggunakan preaksi warna FeCl₃ 1% dan uji kuantitatif menggunakan dua metode yaitu Spektrofotometri Visible dan titrasi permanganometri. Hasil dari kualitatif dengan menambahkan FeCl₃ terjadi perubahan warna biru kehitaman menunjukkan bahwa ekstrak daun pagoda mengandung tanin. Hasil dari uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri Visible didapat kadar tanin yaitu 4,146% (15 ppm), 5,546% (20 ppm) dan 7,598% (30 ppm). Sedangkan menggunakan metode permanganometri didapatkan kadar rata-rata yaitu 0,443%</p>
<p>Kata kunci: <i>Clerodendrum paniculatum</i>; Tanin; Spektrofotometri Visible; Permanganometri.</p>	
<p>Key word: <i>Clerodendrum paniculatum</i>; Tannins; Visible spectrophotometry; Permanganometric.</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>Indonesia is a country that has a variety of medicinal plants, one of which is the pagoda plant (<i>Clerodendrum paniculatum</i>). Pagoda leaves (<i>Clerodendrum paniculatum</i>) contain flavonoid compounds, terpenoids, tannins, alkaloids, sterols and glycosides. The tannin identification test from the research pagoda leaf extract (Hafiz et al, 2016) and (Fitriana, 2018) explained that the positive pagoda leaf contained an unknown level of tannin compounds. Therefore, the researchers determined the levels of tannins in pagoda (<i>Clerodendrum paniculatum</i>) leaves. The dried pagoda leaves were extracted by maceration using 96% ethanol solvent and then qualitative and quantitative tests were carried out. The qualitative test used 1% FeCl₃ color reaction and the quantitative test used two methods, namely visible spectrophotometry and permanganometric titration. The results of the qualitative by adding FeCl₃ there was a blue-black color change indicating that the pagoda leaf extract contains tannins. The results of the quantitative test using visible spectrophotometry obtained tannin levels of 4.146% (15 ppm), 5.546% (20 ppm) and 7.598% (30 ppm). While using the permanganometry method, the average level was 0.443%</p> <p>This is an open access article under the CC-BY-SA license.</p>



Pendahuluan

Kekayaan alam Indonesia sangat beraneka ragam, hampir segala jenis tumbuhan dapat tumbuh di Negara ini. Sebagian besar tanaman di Indonesia sudah banyak yang di gunakan sebagai pengobatan penyakit, dari zaman nenek moyang hingga saat ini (Sjahid, 2008).

Para ahli ilmu pengobatan yang dikenal dengan istilah tabib membuat ramuan obat yang bahan bakunya berasal dari hutan. Diperkirakan hutan Indonesia menyimpan potensi tumbuhan obat sebanyak 30.000 jenis, di antaranya 940 jenis telah dinyatakan berkhasiat obat, dimana sekitar 78 % masih diperoleh melalui pengambilan langsung dari hutan (Nurrani, 2015)

Metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer. Kandungan senyawa metabolit sekunder telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker, antibakteri dan antioksidan, antara lain adalah golongan alkaloid, tanin, golongan polifenol dan turunannya (Hayati dkk, 2010).

Pada tahun 1796, Seguin mengaplikasikan istilah tanin. Tanin merupakan senyawa zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik yang banyak terdapat pada bermacam-macam tumbuhan. Tanin tersebar hampir pada seluruh bagian tumbuhan seperti pada bagian batang, kulit kayu, buah dan daun (Sajaratud, 2013).

Tanin berbentuk serpihan mengkilat berwarna kekuningan sampai coklat muda atau serbuk amorf, tidak berbau, atau sedikit berbau khas (Depkes RI, 1995)

Tanaman pagoda (*Clorodenrum paniculatum*) biasanya bisa kita temui di perkarangan rumah, karena sering dijadikan tanaman hias oleh sebagian masyarakat di Indonesia (Shivastava dan Patel, 2007). Senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman pagoda yaitu flavanoid, terpen, tanin, alkaloid, sterol dan glikosida (Hafiz dkk, 2016)

Pada penelitian dengan menggunakan metode spektrofotometri ini digunakan ekstrak daun pagoda sebagai sampel. Metode ini merupakan metode yang menggunakan sumber radiasi sinar tampak (380-780 nm) dengan instrument spektrofotometer pada teknik analisisnya (Mulja dan suharman, 1995; Amelia, 2015)

Pemanganometri merupakan metode yang sederhana, mudah, dan mempunyai tingkat ketelitian yang cukup tinggi. Sehingga, metode ini sering digunakan sebagai metode analisis (Mulja dan suharman, 1995; Amelia, 2015).

Penelitian dengan dua metode ini dilakukan untuk mengetahui metode yang efektif untuk

penetapan kadar ekstrak dari daun pagoda (Mulja dan suharman, 1995; Amelia, 2015).

Uji identifikasi tanin dari ekstrak daun pagoda yang dilakukan oleh (Hafiz dkk, 2016) dan (Fitriana, 2018) dijelaskan bahwa daun pagoda positif mengandung senyawa tanin yang belum diketahui kadarnya. Oleh sebab itu, upaya lanjut sangat di perlukan untuk mengetahui kadar tanin pada daun pagoda. Pada penelitian kali ini, penetapan kadar tanin dari ekstrak daun pagoda akan menggunakan dua metode yaitu metode spektrofotometri uv-vis dan metode titrasi pemanganometri.

Metode

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium STIKES Al-Fatah Bengkulu. Daun pagoda yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini telah di verifikasi di Laboratorium Biologi Universitas Bengkulu dengan surat pemeriksaan No. 99/UN30.12.LEB.BIOLOGI/PM/2019.

I. Alat dan Bahan

Spektrofotometer UV-Vis mikropipet volume 100-1000µl dan 0,5-5ml, magnetic stirrer, buret, pipet volume, alat-alat gelas laboratorium, dan alat pelindung diri Asam Galat, Folin Ciocalteu, Na₂CO₃ 15%, Etanol 96%, Asam Oksalat, H₂SO₄ 4N, KMnO₄ 0,1N, Indigo Carmine, Aquadest.

2. Jalannya Penelitian.

Pembuatan ekstrak daun pagoda secara maserasi

Sebanyak 650 gram serbuk daun pagoda (*Clerodendrum paniculatum*) dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Tambahkan pelarut etanol 96% dengan volume etanol 2 liter dan serbuk simplisia terendam dan dibiarkan selama 3-4 hari. Maserat yang diperoleh kemudian di pekatkan menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental (Amelia, 2015)

Penetapan kadar tanin secara spektrofotometri

I. Larutan baku induk

Timbang asam galat sebanyak 10 mg, larutkan terlebih dahulu menggunakan aquadest dan add sampai volume 100 ml sehingga didapatkan baku induk 100 ppm.

II. Penentuan panjang gelombang maksimum dan Penentuan *operating time*

Asam galat dipipet sebanyak 4 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, ditambahkan 1 ml reagen *folin ciocalteu*, kemudian dikocok dan diamkan selama 5 menit. Kedalam larutan tersebut ditambahkan 2ml larutan Na₂CO₃ 15%, dikocok homogen dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya

ditambahkan aquadest sampai tepat 10 ml dan dilakukan *scanning* pada panjang gelombang λ 300-800 nm. Hasil dari pengukuran panjang gelombang maksimum baku asam galat adalah 765 nm. Kemudian dilakukan *time scanning* sampai 110 menit pada panjang gelombang 765 nm dan waktu stabil terbaca pada menit ke-90. Penelitian ini mengacu pada penelitian (Amelia, 2015)

III. Pembuatan kurva baku asam galat dengan reagen *folin ciocalteu*

Larutan baku induk asam galat dipipet sejumlah tertentu hingga didapatkan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm menggunakan labu ukur 10 ml. Tambahkan 1 ml reagen *folin ciocalteu*, dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Kedalam larutan tersebut ditambah 2 ml larutan Na_2CO_3 15% dikocok homogen dan didiamkan selama 90 menit. Amati absorbansi yang terukur pada panjang gelombang maksimum. Ulangi pengambilan hingga didapat tujuh konsentrasi kurva baku standar asam galat (Amelia, 2015).

IV. Penetapan kadar tanin ekstrak daun pagoda menggunakan spektrofotometri.

Sebanyak 50 mg ekstrak etanol daun pagoda dilarutkan dengan aquadest sampai volume 50 ml. Larutan ekstrak yang diperoleh kemudian dipipet sebanyak 15 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan ditambah 1 ml reagen *folin ciocalteu*, kemudian dikocok dan didiamkan 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 ml larutan Na_2CO_3 15%, dikocok homogen dan didiamkan selama 5 menit dan tambahkan aquadest hingga volume 10 ml. Diamkan selama 90 menit, amati absorbansi pada panjang gelombang 765 nm dengan replikasi sebanyak dua kali. Kadar tanin total dihitung ekuivalen dengan asam galat (gallic acid equivalent/GAE). (Amelia, 2015)

Penetapan kadar tanin secara permanganometri

I. Pembuatan larutan pereaksi larutan indigocarmin

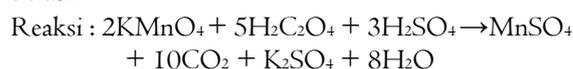
Sebanyak 6 gram indigocarmin dilarutkan kedalam 500 ml aquadest dan dipanaskan. Setelah dingin ditambah aquadest sampai satu liter lalu disaring (Sulastri, 2009).

II. Pembuatan larutan KMnO_4

Ditimbang KMnO_4 3,2 gram kemudian dilarutkan 1 liter aquadest. Didihkan selama 10-15 menit, kemudian di simpan selama satu malam. Setelah disaring dan diencerkan 1 liter aquadest larutan KMnO_4 standar perlu distandarisasi sebelum dipakai (Sulastri, 2009).

III. Standarisasi larutan KMnO_4 0,1N

Ditimbang 0,63 gram kristal asam oksalat, dilarutkan dalam 100 ml aquadest. Ambil 25 ml larutan asam oksalat, ditambahkan 5 ml H_2SO_4 P, panaskan sampai 70°C . Selanjutnya dalam keadaan panas dititrasi menggunakan kalium Permanganat (KMnO_4) standar sampai warna ungu dan tetesan larutan permanganat tidak hilang, catat volume titrasi.



$$\text{KMnO}_4 = \frac{w(\text{mg}) \times 2 \times 25 / 100}{v(\text{ml})} \dots (1)$$

Keterangan:

W : Berat asam oksalat yang ditimbang (mg)

BM : Berat molekul kristal asam oksalat (126)

V : Volume titrasi

IV. Penetapan Kadar Tanin dengan metode Permanganometri

Timbang 1,5 gr ekstrak etanol daun pagoda, masukan kedalam gelas piala 100 ml dan ditambahkan aquadest 50 ml. Panaskan pada suhu $40-60^\circ\text{C}$ selama 30 menit. Setelah dingin larutan disaring kedalam labu ukur 250 ml, lalu ditambah aquadest hingga tanda batas. Ambil 25 ml larutan tersebut, masukan kedalam erlemeyer dan ditambahkan 20 ml larutan *Indigocarmin*. Titrasi menggunakan larutan KMnO_4 0,1 N, titik akhir ditunjukkan dengan larutan berwarna menjadi kuning keemasan, pengujian dilakukan sebanyak tiga kali. Penetapan blanko dilakukan dengan cara memipet 20 ml larutan *indigocarmin* kedalam erlemeyer dan tambahkan aquadest. Titrasi dengan larutan KMnO_4 0,1 N, titik akhir ditunjukkan dengan larutan berwarna kuning keemasan (Sulastri, 2009).

3. Analisis Data

Data yang didapat dalam penelitian penetapan kadar senyawa tanin pada ekstrak daun pagoda (*Clorodenrum paniculatum*) adalah data metode spektrofotometri dan permanganometri. Data metode spektrofotometri berupa data absorbansi yang dihitung persamaan $y = bx + a$ dan dilanjutkan dengan perhitungan kadar tanin menggunakan rumus % Tanin = $\frac{cx \times V_{\text{xfp}}}{(w(\text{mg}))} \times 100\%$.

Sedangkan data permanganometri dihitung dengan rumus

$$\% \text{ Tanin} = \frac{(10 (A-B) \times N \times 0,00416)}{(\text{sampel (g)})} \times 100\% \dots (2)$$

kemudian hasil yang didapat akan dideskripsikan dalam bentuk tabel dan grafik.

Hasil dan Pembahasan

Uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun pagoda positif mengandung senyawa tanin yang dapat dilihat pada Tabel I. Selanjutnya dilanjutkan analisis kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri dan permanganometri untuk mengetahui kadarnya.

Tabel I. Hasil pemeriksaan identifikasi senyawa tanin

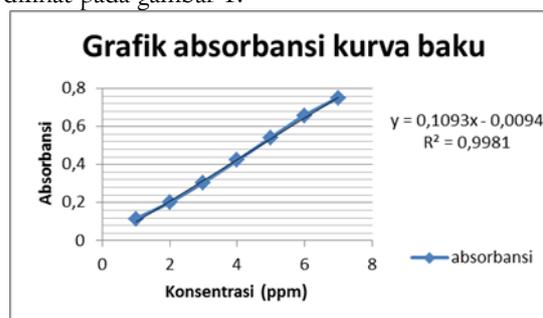
Sample	Pereaksi	Teori	Hasil	Keterangan
Estrak etanol daun pagoda	FeCl ₃	Larutan sample	Hijau kehitanan	Positif (+)
		2 ml + 1-2 tetes pereaksi FeCl ₃		Tanin

Pada penetapan kadar tanin secara spektrofotometri menggunakan pereaksi *folin ciocalteu*, yang didasarkan pada pembentukan kompleks dari *molybdenum tungsten blue*. Susanti (2012) menyatakan bahwa gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *folin ciocalteu* yang dideteksi dengan spektrotometer pada panjang gelombang maksimum 765 nm. Senyawa fenolik bereaksi dengan *folin ciocalteu* hanya dalam suasana basa, sehingga ditambahkan Natrium karbonat (Na₂CO₃) untuk membuat keadaan basa. Pemilihan asam galat sebagai pembanding pada penelitian ini dikarenakan asam galat memiliki gugus fenol, senyawa yang stabil, murni dan lebih murah dibandingkan pembanding yang lainnya (Underwood dan Day, (2001).

Kurva baku pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm menggunakan labu ukur 10 ml. Tambahkan 1 ml reagen folin ciocalteu, dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Kedalam larutan tersebut

ditambah 2 ml larutan Na₂CO₃ 15% dikocok homogen dan didiamkan selama 90 menit. Amati absorbansi yang terukur pada panjang gelombang maksimum 765 nm. Ulangi pengambilan hingga didapat tujuh konsentrasi kurva baku standar asam galat (Amelia, 2015)

Amati Absorbansi yang terukur pada konsentrasi kurva baku asam galat yang di buat. Selanjutnya hitung nilai absorbansi dengan rumus regresi linear $y = ax + b$ sehingga di dapat nilai regresi liniernya. Hasil pengukuran yang dilakukan didapatkan nilai r yang baik ($r = 0,9981$) dengan persamaan garis $y = 0,1093x - 0,0094$. Hasil dapat dilihat pada gambar I.



Gambar I. Grafik Absorbansi kurva baku (absorbansi vs konsentrasi)

Penetapan kadar sampel ekstrak daun pagoda menggunakan larutan sampel konsentrasi 15 ppm, 20 ppm dan 30 ppm. Dengan langkah yang sama dan pengulangan sebanyak 3 kali, kadar tanin total dihitung ekuivalen dengan asam galat (gallic acid equivalent/ GAE). didapatkan hasil rata-rata 15 ppm yaitu 4,143%, 20 ppm yaitu 5,543% dan 300 ppm yaitu 7,66%. Hasil Analisa kadar ekstrak tanin dengan metode spektrofotometri UV-Vis dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Hasil Analisa kadar tanin ekstrak daun pagoda dengan metode spektrofotometri UV-Vis

Bobot Sample (mg)	Konsentrasi (bpj)	Nilai absorbansi	Hasil nilai regresi linier (mg/ml)	kadar tanin (%)	Rata – rata tanin (%)
50	15 ppm	0,419	3,7614mg/ml	3,76	4,143
		0,495	4,4587mg/ml	4,45	
		0,496	4,2201mg/ml	4,22	
	20 ppm	0,609	5,587mg/ml	5,58	5,543
		0,611	5,522mg/ml	5,52	
		0,612	5,532mg/ml	5,53	
	30 ppm	0,796	7,220mg/ml	7,22	7,66
		0,859	7,798mg/ml	7,98	
		0,863	7,783mg/ml	7,78	

Selanjutnya dilakukan penetapan kadar dengan menggunakan metode permanganometri. Prinsip metode permanganometri ini adalah oksidasi, dimana adanya oksidator kuat yang mampu mengoksidasi sebagian besar reduktor secara kuantitatif, selain itu, terbentuknya larutan yang berwarna sekaligus

menjadikannya sebagai indikator titik ekuivalensi (kelebihan 1 tetes 0,1N sudah dapat mengasilkan warna ungu terang dalam volume yang besar). Larutan permanganat yang dibuat biasanya mempunyai konsentrasi sekitar 0,1 N (Mulyono, 2008).

Sampel yang telah diperlakukan dan telah diberi larutan *Indigocarmine* di titrasi menggunakan larutan $KMnO_4$ 0,1 N. titik akhir ditunjukkan dengan larutan berwarna menjadi kuning keemasan. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali dan hasil yang didapat dibandingkan dengan volume titrasi blanko. Persen kadar yang didapat menggunakan metode permanganometri adalah 0,443%. Hasil penetapan kadar dengan menggunakan metode permanganometri dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil penetapan kadar dengan menggunakan metode permanganometri.

No	Volume titrasi blanko tanin (ml)	Volume titrasi ekstrak daun pagoda (ml)	Kadar (%)
1	12,6	14,2	
2	12,8	14,1	
3	12,6	14,3	0,443
Rata-rata	12,6	14,2	

Telah dilakukan penetapan kadar ekstrak daun pagoda menggunakan metode spektrofotometri dan metode permanganometri. Hasil yang didapatkan adalah kadar tanin ekstrak daun pagoda menggunakan metode spektrofotometri konsentrasi 15 ppm (4,143%), 20 ppm (5,543%) dan 30 ppm (7,66%) terukur jauh lebih besar dibandingkan dengan menggunakan metode permanganometri adalah 0,443%. Hal ini membuktikan metode spektrofotometri lebih baik karena hasil yang diperoleh lebih akurat dan memiliki ketelitian yang tinggi dibanding dengan metode Permanganometri.

Simpulan dan Saran

Dari penelitian maka dapat disimpulkan bahwa Hasil penetapan kadar tanin ekstrak daun pagoda menggunakan metode spektrofotometri konsentrasi 15 ppm (4,143%), 20 ppm (5,543%) dan 30 ppm (7,66%) terukur jauh lebih besar dibandingkan dengan menggunakan metode permanganometri adalah 0,443%. Hal ini membuktikan metode spektrofotometri lebih baik karena hasil yang diperoleh lebih akurat dan memiliki ketelitian yang tinggi dibanding dengan metode Permanganometri.

Daftar Pustaka

Depkes RI (1995). Farmakope Indonesia. Edisi empat, Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 32
Amelia, FR (2015). Penentuan jenis tanin dan penetapan kadar tanin dari buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara spektrofotometri dan permanganometri.

Calypta : Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. Vol.4 No.2.

Fitriana, I., (2018), Efek Pemberian Ekstrak Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum*) Terhadap Kadar IL-6 pada Mamme Tikus Betina Sprague Dawley yang di Induksi *Staphylococcus Aureus*, *Sekripsi* Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanudin, Makassar.
Hafiz, I., Rosidah and Silalahi, J, (2016), Antioxidant and anti-inflammatory activity of pagoda leaves (*Clerodendrum paniculatum*) ethanolic extract in white male rats (*Rattus novergicus*), *International Journal of PharmTech Research*, 9(5), pp. 165–170.
Hayati, Elok Kamilah, A Ghanaim Fasyah, Dan Lailis Sa'adah. (2010). Fraksinasi Dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia* 4(2): 193–200.
Mulja M dan Suharman, (1995). Analisa Kimia Kualitatif, edisi IV. Terjemahan oleh Lis Sopyan, 2001, Erlangga, Jakarta, 290-291.
Mulyono, H., (2008), *Membuat reagen kimia,cetakan II*, Hal 151,PT Bumi Aksara Jl.Sawo Raya No.18. Jakarta.
Nurrani, Lis, Supratman Tabba, Dan Hendra S Mokodompit. (2015). Kearifan Lokal Dalam Pemanfaatan Tumbuhan Obat Oleh Masyarakat Di Sekitar Taman Nasional Aketajawe Lolobata, Provinsi Maluku Utara (Local Wisdom In The Utilization Of Medicine Plants By Community Around Aketajawe Lolobata National Park , North Maluku Prov). *Jurnal Penelitian Sosial Ekonomi Kehutanan* 12(3): 163–75.
Sajaratud D, (2013). *Pembuatan Tanin Dari Buah Pinang*. Fakultas Ilmu Tarbiya Dan Keguruan Institut Agama Islam Negeri, Sumatera Utara.
Shlivastava,N., Dan Patel, T.(2007). *Clerodendrum And Healthcare: An Overview, Medicinal And Aromatic Plant Science And Bioternologi: I* (2): 209-223
Sjahid, L.R (2008) Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Skripsi*. Universitas muhammadiyah Surakarta.
Sulastri,T. (2009). Analysis of concentration of tannins ethanol and water extract at the pinang sirih seed (*Ares catechu* L).10,59-63
Underwood Al Dan Day Ra, (2001)., *Analisa Kimia Kuantitatif, Edisi Iv*, Terjemahan Oleh Lis Sopyan, 2001, Erlanga, Jakarta, 290-291