

**PENETAPAN KADAR TANIN PADA DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)
YANG BERASAL DARI KABUPATEN JENEPONTO DENGAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**
*Determination Of Tanin Levels In Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Leaves From Jeneponto District Using
The Ultraviolet-Visible Spectrophotometry Method*

Abd. Karim¹⁾, Dedy Ma'ruf²⁾, Mariasti Rahim³⁾

^{1,2,3)} D III Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Kesdam XIV Hasanuddin

¹⁾arimjie@gmail.com, ²⁾himadipo@gmail.com, ³⁾mariastirahim.mr@yahoo.com

ABSTRACT

*Tannins are one of the chemical compounds contained in starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) which are believed to have been used for generations as antibacterial. The purpose of this study was to determine the levels of tannins contained in the leaves of star fruit with UV-Vis Spectrophotometry method.*

The type of research used is observation by first extracting simplicia by maceration using 70% ethanol as a solvent. The obtained filtrate is then evaporated. The extracted extract was then diluted, added Folin Ciocalteu reagent and anhydrous sodium carbonate, after which it was read at a wavelength of 768.1 nm. The formation reaction that occurs is oxidation reduction in which tannins as reducing agents and Folin Ciocalteu as oxidizing agents. The results of oxidation will form a blue color. Gallic acid solution was used as a comparison solution and to determine the maximum wavelength

*The standard curve for gallic acid is: $y = 0.1401 + 1.5071 x$, the value of the correlation coefficient is 0.9933. . The results obtained were starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) containing 0.0256% tannin.*

Keywords: *Averrhoa bilimbi* L., Folin Ciocalteu, Tanin, Ultraviolet-Visible Spectrophotometry

ABSTRAK

Tanin merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung di dalam Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dipercaya secara turun temurun digunakan sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar tanin yang terkandung dalam daun belimbing wuluh dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Jenis penelitian yang digunakan yaitu observasi dengan terlebih dahulu mengestraksi simplisia secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Filtrat yang didapat kemudian diuapkan. Ekstrak yang sudah didapat kemudian diencerkan, ditambahkan reagen Folin Ciocalteu dan Natrium Karbonat anhidrat, setelah itu dibaca pada panjang gelombang 768,1 nm. Reaksi pembentukan yang terjadi adalah reduksi oksidasi dimana tanin sebagai reduktor dan Folin Ciocalteu sebagai oksidator. Hasil oksidasi akan membentuk warna biru. Larutan asam galat digunakan sebagai larutan pembanding dan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum

Kurva baku asam galat adalah : $y = 0,1401 + 1,5071 x$, nilai koefisien korelasi adalah 0,9933. . Hasil penelitian yang didapatkan adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung tanin sebesar 0,0256 %.

Kata Kunci : *Averrhoa bilimbi* L., Folin Ciocalteu, Spektrofotometri Ultraviolet-Visibel, Tanin

PENDAHULUAN

Banyak jenis tanaman dan tumbuhan yang tumbuh di Indonesia, yang sering digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat secara turun temurun, yang dipercaya ampuh untuk mengobati suatu penyakit jauh sebelum pelayanan kesehatan dengan obat-obat modern atau obat-obat kimia yang digunakan sekarang oleh masyarakat secara luas.

Pemanfaatan bahan alam yang sering digunakan untuk obat tradisional di Indonesia akhir-akhir ini banyak digunakan, karena penggunaan obat yang berasal dari bahan alami dipercaya memiliki efek samping yang lebih kecil jika dibandingkan dengan obat sintetis atau yang berasal dari bahan kimia, disamping itu harganya lebih terjangkau dan mudah didapatkan (Afifi dkk, 2018).

Salah satu obat asli Indonesia yang sudah digunakan oleh masyarakat sejak dulu adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) karena memiliki kandungan salah satunya tanin, yang bersifat sebagai astrigen dapat dimanfaatkan sebagai antidiare, menghentikan pendarahan, dan mencegah peradangan terutama pada mukosa mulut, serta digunakan sebagai antidotum pada keracunan logam berat. Tanin juga digunakan sebagai antiseptik karena adanya gugus fenol (Hanani, 2016).

Seiring dengan perkembangan zaman daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sering digunakan sebagai obat antibiotik yang sudah dipercaya turun-temurun. Alasan penggunaan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai antibiotik alami karena mengandung zat aktif yang dapat berperan sebagai zat antibakteri. Senyawa kimia tersebut adalah tanin. Tanin adalah senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat yang bisa menyembuhkan infeksi penyebab bakteri (Afifi, dkk, 2018).

Kandungan senyawa aktif ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai potensi yang kuat sebagai antibakteri (Yahya, 2014). Menurut Pendit dkk, 2016, ekstrak pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat menghambat bahkan membunuh bakteri dan spesifiknya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan misalkan, tanin saponin dan flavonoid. Beberapa

dari hasil penelitian sebelumnya diduga berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Di dalam daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), senyawa metabolit sekunder diduga memiliki aktivitas anti bakteri adalah tanin dan flavonoid. Penggunaan daun belimbing wuluh sebagai antibakteri karena adanya potensi aktif terhadap beberapa bakteri biasa digunakan untuk obat diare dan sebagai pengawet alami (Arief, 2009). Fungsi utama dari tanin dalam tumbuhan salah satunya ialah sebagai pengusir penolak atau hewan salah satunya serangga (Harborne, 1987) dan sebagai antibakteri karena dapat menghambat sintesis protein bakteri (Danarto dkk, 2011).

Menurut Fatchurrozaq dkk (2013), ketinggian suatu tempat diukur dari permukaan laut merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dari suatu tanaman. Di dalam suatu tumbuhan walaupun senyawa yang dikandungnya sama akan tetapi kadarnya berbeda-beda.

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) adalah salah satu jenis tanaman Indonesia sering kali digunakan untuk pengobatan tradisional, terutama digunakan pada masyarakat setempat, tanaman ini juga sangat mudah didapatkan dan tidak membutuhkan perawatan khusus. Selain itu senyawa tanin sangat bermanfaat untuk melindungi tanaman dari berbagai gangguan pada masa pertumbuhan dari bagian tertentu tanaman, misalnya pada buah, saat masih muda rasanya akan terasa kecut (sepat) (Mukhrani dkk, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penetapan kadar tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Jenis, tempat dan waktu

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasi. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar dan waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni tahun 2021.

BAHAN DAN ALAT

Bahan yang digunakan adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang berasal dari kabupaten Jeneponto, daun dipilih segar yang tidak muda dan tuadiperoleh dari kabupaten Jeneponto. Bahan-bahan

kimia yang digunakan adalah Ammonia, Aquades, Asam galat, Etanol 70%, FeCl_3 , Folin Ciocalteu, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dan Natrium karbonat anhidrat (Na_2CO_3).

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik (Ohaus), pharmaSpec UV-Vis 2500, seperangkat alat gelas, seperangkat alat maserasi, mesin pengaduk, sonikator (ultrasonic LC 30 H), dan penangas air.

PROSEDUR KERJA

Pengambilan Sampel

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diambil dari Desa Kampala, Kecamatan Arungkeke, Kabupaten Jeneponto.

Pengolahan sampel

Daun yang diambil adalah daun yang masih terlihat segar, bukan daun muda maupun daun tua dan tidak rusak, kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air bersih yang mengalir. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diperoleh disortasi basah kemudian dikeringkan hingga kering selama tiga hari tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah benar-benar kering simplisia siap untuk diserbukkan dengan derajat kehalusan 44/85, menurut Anief (1997) dimana dengan derajat kehalusan ini serbuk tidak terlalu kasar dan tidak terlalu halus.

Pembuatan Ekstrak Dengan Metode Ekstraksi

Ekstraksi sampel penelitian simplisia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) ditimbang sebanyak 230 gr, lalu dimasukkan ke dalam toples. Kemudian direndam dengan etanol 70% hingga seluruh sampel terendam sebanyak 1.700 mL, kemudian ditutup dan didiamkan selama tiga hari pada temperatur kamar terlindung cahaya sambil diaduk sesekali. Setelah 3 hari, dipisahkan antara filtrat dan ampas. Sementara ampasnya dimaserasi kembali sebanyak dua kali dengan menggunakan etanol 70% selama tiga hari. Lalu disaring dengan menggunakan kertas saring, selanjutnya ekstrak encer yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penjarinya sampai diperoleh ekstrak kering.

Penyiapan Sampel

Ekstrak kering yang sudah didapat, kemudian dilarutkan pada tabung reaksi sebanyak 50 mg dalam 50 mL aquades. Larutan yang didapatkan digunakan untuk uji kualitatif dan uji kuantitatif.

1. Uji Kualitatif

- Ekstrak dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah FeCl_3 ,

akan memberikan endapan biru hijau kehitaman (Ryanata, 2015)..

- Penambahan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dan ammonia. Ekstrak yang mengandung tanin akan bereaksi positif, memberikan warna merah tua (Ryanata, 2015).
- Test for chlorogenic acid. Ekstrak ditambah larutan ammonia kemudian dipapar dengan udara, jika timbul warna hijau berarti mengandung tanin (Ryanata, 2015)..

2. Uji Kuantitatif

- Pembuatan Larutan Standar Asam Galat 10 mg/L

Sebanyak 10 mg asam galat ditimbang kemudian dilarutkan dengan aquadestilata dalam gelas kimia. Selanjutnya dimasukkan dalam labu ukur 1000 mL dan ditambah aquadest sampai tanda batas. Larutan tersebut dijadikan sebagai larutan induk 10 mg/L, dari larutan tersebut dibuat larutan standar asam galat dengan konsentrasi 0, 0,2, 0,4, 0,6, 1 mg/L, kemudian ditambahkan reagen folin ciocalteu, didiamkan 5 menit lalu ditambahkan Na_2CO_3 , didiamkan lagi selama 5 menit, lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL dan dibaca pada panjang gelombang 768,1 nm.

- Penetapan panjang gelombang serapan maksimum

Diambil salah satu konsentrasi larutan baku, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 768,1 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum.

- Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan hasil serapannya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

- Penetapan Kadar Tanin dengan Spektrofotometri UV-Vis

Untuk dapat mengetahui kadar tanin dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Dibuat larutan asam galat 10 mg/L, lalu direaksikan dengan reagen pembentuk warna yaitu folin ciocalteu. Diinkubasi selama 5 menit, lalu ditambahkan Na_2CO_3

kemudian didiamkan 5 menit, lalu dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur. Kadar tanin dihitung dalam % b/b terhadap pembanding asam galat (Hanani, 2016).

HASIL

Ekstraksi Serbuk Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Hasil ekstraksi serbuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan cara maserasi ditimbang sebanyak 230 gr dengan pelarut etanol 70% didapatkan hasil ekstrak 21,12 gr. Dan hasil rendamen adalah 0,092 %.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dibuat larutan asam galat 0,4 mg/L, ditambahkan pereaksi folin ciocalteau dan dilakukan *scanning* pada λ 500-900 nm. Pada hasil percobaan yang telah dilakukan, diperoleh panjang gelombang maksimum dari larutan baku asam galat adalah 768,1 nm.

Penetapan Kadar Sampel Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Hasil penetapan kadar tanin dari penelitian ini dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis diperoleh kadar tanin daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebesar 0,0256 %.

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini bahan yang digunakan adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diperoleh dari kabupaten Jeneponto. Daun dipetik pada pagi hari dan dipilih daun yang segar. kemudian dicuci bersih agar terpisah dari benda asing, lalu dikeringkan pada suhu ruangan. Setelah itu diserbukkan kemudian ditimbang sebanyak 230 gr untuk dilakukan maserasi. Setelah itu disaring, didapatkan ampas dan filtrat. Filtrat ditampung dan ampas dimaserasi lagi selama tiga hari. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali maserasi selama 3 hari. Filtrat dicampur dengan filtrat pertama dan ditampung. Cairan penyari yang digunakan diganti setiap kali maserasi. Proses ekstraksi yang terjadi yaitu cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel dan masuk ke dalam rongga yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif disaring. Kemudian diuapkan, hingga didapatkan ekstrak kering. Hasil bobot ekstrak yang

didapatkan adalah 21,12 gr dan hasil rendamen yang didapatkan adalah 0,092%.

Untuk proses selanjutnya dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui adanya tanin yang terdapat pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Uji kualitatif yang dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 , dimana dengan adanya gugus fenol pada tanin akan berikatan dengan FeCl_3 membentuk kompleks berwarna hijau (Hanani 2016). Pada penelitian ini hasil yang didapatkan berwarna hijau yang menunjukkan bahwa adanya tanin pada sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Kemudian dilakukan penambahan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dan ammonia terbentuk warna merah tua, dimana ekstrak yang mengandung tanin akan bereaksi positif, jika memberikan warna merah tua (Ryanata, 2015). Selanjutnya, dilakukan test asam klorogenik terbentuk warna hijau di lapisan atas yang menandakan positif mengandung tanin.

Setelah rangkaian uji kualitatif menunjukkan hasil positif, selanjutnya dilakukan uji kuantitatif untuk mengetahui kadar tanin yang terdapat di dalam daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Adapun uji kuantitatif yang dilakukan, yaitu dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Penetapan kadar tanin dengan cara spektrofotometri UV-Vis menggunakan reagen pembentuk warna, yaitu folin ciocalteau. Reaksi pembentukan yang terjadi adalah reaksi oksidasi dimana tanin sebagai reduktor dan folin ciocalteau sebagai oksidator. Gugus hidroksil pada gugus fenolik bereaksi dengan reagen folin ciocalteau membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometri. Dan sebagai standar pembanding adalah asam galat. Hasil oksidasi akan membentuk warna biru dan menunjukkan panjang gelombang gelombang 768,1 nm. Untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 15%.

Sebelum melakukan penetapan kadar tanin pada sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), maka terlebih dahulu melakukan penetapan panjang gelombang maksimum. Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam galat untuk mencapai serapan maksimum dan untuk mengurangi kesalahan pembacaan serapan seminimal mungkin. 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. Pada penelitian ini dicari serapan maksimum antara 500-900 nm, dan didapatkan panjang gelombang serapan maksimum dari larutan standar asam galat adalah 768,1 nm pada konsentrasi 0,4 mg/L yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Setelah penentuan panjang gelombang maksimum dilanjutkan dengan pembuatan kurva baku, ini bertujuan untuk mengetahui hubungan konsentrasi asam galat dengan kekuatan serapan. Dari larutan standar 1 mg/mL (1000 ppm) kemudian dibuat seri larutan dengan konsentrasi 0,2 mg/L, 0,4 mg/L, 0,6 mg/L, 8 mg/L dan 1 mg/L. Larutan ini diukur serapannya pada panjang gelombang 768,1 nm. Dari hasil pengukuran didapatkan data serapan berturut-turut, yaitu : 0,100; 0,416; 0,776; 1,141 dan 1,580 kemudian dicari persamaan regresi liniernya dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi. Tujuan pembuatan kurva baku ini adalah untuk membantu menentukan kadar senyawa tanin dalam sampel melalui persamaan regresi linier dari kurva baku asam galat. Dari pengukuran spektrofotometri kurva baku yang telah dilakukan, dapat dibuat persamaan regresi linier $y = 0,1401 + 1,5071x$, dimana y = serapan, x = konsentrasi dan harga koefisien korelasi (r) 0,9933 yang mendekati satu membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier.

Pada penelitian ini pengukuran kekuatan serapan sampel, hasil yang didapat pada penetapan kadar tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis adalah 0,0256 %.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri mempunyai kadar tanin adalah 0,0256 %.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh metabolit sekunder terhadap daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, R., Erlin, E. And Rachmawati, J. (2018) 'Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium Acnes* Secara In Vitro', *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*, 10(01), P. 10. Doi: 10.25134/Quagga.V10i01.803.
- Anief, M. (1997). 'Ilmu Meracik Obat'. Gadjja Mada University Press. Yogyakarta.
- Arif, P. (2009) *Belimbing*. Bandung: CV. Pustaka Grafika.
- Danarto, Y. C., Ajie Prihananto, S. And Anjas Pamungkas, Z. (2011) 'Pemanfaatan Tanin Dari Kulit Kayu Bakau Sebagai Pengganti Gugus Fenol Pada Resin Fenol Formaldehid', *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" 2011*, Pp. 1–5.
- Fatchurrozaq, Suranto And Sugiyarto (2013) 'Pengaruh Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Vitamin C Dan Zat Antioksidan Pada Buah Carica Pubescens Di Dataran Tinggi Dieng', *El-Vivo*. 1, Pp. 24–31.
- Hanani, Endang (2016). 'Analisis Fitokimia'. Penerbit Buku Kedokteran. EGC'. Jakarta.
- Mukhriani, Nonci, F. Y. And Mumang (2014) 'Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis', *Jf Fik Unam*, 2(4), Pp. 154–158.
- Pendit, P.A.C.D., Zubaidah, E., Sriherfyna, F.H., 2016, Karakteristik Fisik-Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 4 No 1, 400-409.
- Ryanata. E. (2015) 'Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Kulit Buah Pisang Masak (*Musa paradisiaca* L.) Secara Spektrofotometri dan Permangametri. *Jurnal*. Universitas Surabaya.

Yahya, D.R., Posmaningsih, D.A., dan Notes, N.
2014. Pengaruh Penambahan Ekstrak
Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa
bilimbi* L.) Pada Perebusan Telur Asin
Terhadap Nilai Angka Kuman Dan Uji
Organoleptik, Jurnal Kesehatan
Lingkungan Vol.4 No.