

PENETAPAN KADAR TANIN DALAM EKSTRAK ETANOL DAUN ANGSA (Pterocarpus indicus Willd) HASIL MASERASI DAN SOKLETASI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

DETERMINATION OF TANIN LEVELS IN ANGSA (Pterocarpus indicus Willd) LEAVES ETHANOL EXTRACT RESULTS OF MACERATION AND SOKLETATION USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETER

Hurip Budi Riyanti^{1*}, Yeni¹, Risa Apriani Wilianita¹

¹Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Jl. Jl. Delima II/IV, RT.9/RW.3, Malaka Sari, Kec. Duren Sawit, Jakarta Timur,

*Email Corresponding: huripbudiriyanti@uhamka.ac.id

Submitted: 15 February 2022 Revised: 12 August 2022 Accepted: 8 February 2023

ABSTRAK

Angsa (*Pterocarpus indicus* Willd.) merupakan jenis pohon yang berasal dari suku *Fabaceae* yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Ekstrak daun angsa mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa tanin pada ekstrak etanol daun angsa yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penarikan senyawa tanin dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi dengan pelarut etanol 96%. Asam galat digunakan sebagai pembanding. Analisa kuantitatif tanin dilakukan dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan natrium karbonat yang akan menghasilkan warna biru bila bereaksi dengan tanin. Diperoleh kadar tanin ekstrak etanol daun angsa dengan perbandingan metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi sokletasi yaitu 92,39 mg GAE/g dan 197,88 mg GAE/g. Selain itu, ekstraksi metode sokletasi nilai rendemen 24,04% lebih besar dibandingkan rendemen ekstraksi metode maserasi yaitu 10,64%. Berdasarkan hasil uji *independent sample t-test* diperoleh nilai Signifikan $0,000386 < 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh signifikan terhadap kadar tanin ekstrak etanol daun angsa.

Kata kunci: Daun Angsa, *Folin-Ciocalteu*, Tanin, Spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

Angsa (*Pterocarpus indicus* Willd.) is a type of tree originating from the *Fabaceae* family that has been used by the community as traditional medicine. Angsa leaf extract contains alkaloids, flavonoids, tannins, glycosides and saponins. This study aims to determine of different extraction methods on the levels of tannin compounds in the ethanolic extract of Angsa leaves which were measured using a UV-Vis spectrophotometer. Extraction of tannin compounds was carried out by maceration and soxhlet extraction methods with 96% ethanol as solvent. Gallic acid was used as a standard. Quantitative analysis of tannins was carried out with *Folin-Ciocalteu* reagent and sodium carbonate which will produce a blue color when reacted with tannins. The tannin level of the ethanol extract of the Angsa leaf with the comparison of maceration and soxhlet extraction methods was 92.39 mg GAE/g and 197.88 mg GAE/g. In addition, the extraction rendements value of the soxhlet method was 24.04% higher than the extraction of the maceration method, which was 10.64%. Based

on the results of the independent sample *t*-test, a significant value was $0.000386 < 0.05$, so it can be concluded that the different extraction methods had a significant on the tannin levels of the ethanol extract of the *Angsana* leaf.

Keywords : *Angsana* leaf, Folin-Ciocalteu, Tanin, Spektrofotometer UV-Vis.

PENDAHULUAN

Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) adalah salah satu tanaman famili *Fabaceae* yang banyak ditemui di Indonesia. Di Indonesia bagian daun yang muda digunakan dalam mengobati bisul dan biang keringat (Thomson, 2006). Menurut Endang Hanani untuk mengetahui senyawa yang tersari bisa menggunakan tiga metode yaitu ekstraksi panas dengan pelarut air, ekstraksi dingin dengan pelarut yang sesuai juga metode *soxhlet* dengan pelarut etanol (Endang Hanani, 2017). Dari paparan tersebut peneliti akan membandingkan dua metode yang sama menggunakan pelarut etanol yaitu maserasi dan *soxhlet*.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa pada bagian daun *angsana* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, dan saponin (Elya et al., 2015). Salah satu senyawa pada daun *angsana*, yaitu tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang tersebar luas dalam tumbuhan. Tanin berwujud *amorf* yang menyebabkan terbentuknya koloid dalam air, mempunyai rasa yang sepat, akan membentuk endapan apabila bereaksi dengan protein yang menyebabkan terhambatnya kerja enzim proteolitik. Kegunaan tanin sebagai penyamak kulit hewan juga berfungsi dalam farmasi seperti antidiare, menghentikan pendarahan, dan terutama pada mukosa mulut dapat mencegah peradangan, sekaligus dengan adanya gugus fenol dapat digunakan sebagai antiseptik (Endang Hanani, 2017).

Melihat banyaknya manfaat dari senyawa tanin secara umum serta adanya aktivitas farmakologi yang dihasilkan dari senyawa tanin, maka perlu dilakukan penelitian analisa kuantitatif tanin dalam ekstrak etanol daun *angsana* dengan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas farmakologi suatu tanaman dipengaruhi oleh kadar kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya. Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat ditemukan adanya pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa tanin pada ekstrak etanol daun *angsana*.

METODE PENELITIAN

Alat

Timbangan analitik (Ohaus), blender (Miyako), ayakan nomor 60, desikator, tanur (*Thermolyne thermo scientific*), *waterbath* (*Water Bath H-WBE-8L*), bejana untuk maserasi, alat soklet, *rotary vaccum evaporator* (*Eyela*), oven (*Memmert UN 55*), alat ultrasonik, mikropipet (Dumo) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601).

Bahan

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *angsana* segar yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) Kementerian Pertanian RI, Bogor. Bahan kimia yang digunakan, yaitu etanol (Merck) akuadest (Merck), asam galat (*Shaanxi Undersun Biomedtech Co*), *Folin-Ciocalteu* (Merck), FeCl_3 (Merck), NaCl (Merck), Na_2CO_3 (Merck), dan gelatin (Merck).

Metode

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran simplisia yang akan digunakan. Determinasi dilakukan di Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya LIPI, Bogor, Jawa Barat.

2. Pembuatan Simplisia

Bagian daun yang dipilih adalah daun tua karena diharapkan memiliki banyak kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Sebelum

diolah menjadi ekstrak daun angšana segar terlebih dahulu dilakukan sortasi basah. Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing yang tidak diinginkan.

Simplisia segar daun angšana dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang melekat, kemudian ditiriskan. Selanjutnya, dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 40°C. Setelah kering, daun angšana diserbuk menggunakan blender dan diayak menggunakan pengayak mesh 60. Simplisia kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

Daun yang dipilih adalah daun yang tua karena mempunyai banyak kandungan metabolit sekunder seperti tanin. Waktu pengumpulan daun kemungkinan tidak bersih, maka harus dilakukan sortasi basah. Pencucian dengan air mengalir, kemudian ditiriskan untuk selanjutnya dikeringkan di oven suhu 40°C. Setelah kering, dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan pengayak mesh 60. Serbuk daun angšana disimpan dalam wadah tertutup rapat dan bersih (Endang Hanani, 2017).

3. Pembuatan Ekstrak

a. Metode Maserasi

Timbang 400 g serbuk daun angšana, masukkan ke dalam maserator dengan penambahan etanol 96% v/v hingga 1 cm di atas serbuk dan didiamkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk sebanyak 3 kali. Remaserisasi dilakukan tiga kali sampai tanin tersari sempurna. Kemudian dilakukan uji ampas untuk memastikan sudah tidak ada lagi tanin yang perlu di ekstrak. Ekstrak dikentalkan menggunakan *rotary vaccum evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Salamah, 2017).

b. Metode Sokletasi

Timbang simplisia daun angšana sebanyak 400 g (dibagi menjadi 8, menyesuaikan volume ekstraktor) kemudian dibungkus kertas saring, diikat dengan benang, dimasukkan ke dalam timbal yang terletak dibagian tengah alat soklet. Tambahkan etanol 96% v/v sebanyak 1,5 x volume ekstraktor soklet. Sokletasi dilakukan pada suhu 50°C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi dan kemudian dilakukan uji ampas untuk memastikan sudah tidak ada lagi tanin yang perlu diekstrak. Ekstrak dikentalkan menggunakan *rotary vaccum evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Salamah, 2017).

4. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

a. Pemeriksaan Mutu Ekstrak

Pengujian pendahuluan mutu ekstrak dilakukan dengan pemeriksaan organoleptis dan rendemen ekstrak. Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan bau, rasa, bentuk dan warna dari ekstrak daun angšana. Selanjutnya perhitungan rendemen ekstrak dilakukan menggunakan rumus (1).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang didapat (g)}}{\text{bobot simplisia yang diekstrak (g)}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

b. Penetapan Susut Pengeringan

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 g dan dimasukkan ke botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan botol, hingga terdapat lapisan setebal ±5 mm sampai 10 mm. Kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengeringan, buka tutupnya, keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum ditimbang, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar (Ditjen POM, 2000).

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_0} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Ket:

w0 = Berat botol kosong (g)

w1 = Berat botol dengan ekstrak (g)

w2 = Berat botol dengan ekstrak setelah pengeringan (g)

c. Penetapan Kadar Abu

Lebih kurang 2 g ekstrak ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat kemudian dipijarkan sampel ekstrak yang telah menjadi arang. Krus dimasukkan ke dalam tanur dengan suhu 600°C selama 5 jam hingga menjadi abu. Setelah itu dimasukkan ke dalam desikator hingga suhu kamar dan ditimbang (Ditjen POM, 2000).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{w_1 - w_2}{w} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Ket:

w = Berat ekstrak (g)

w1 = Berat krus dengan ekstrak setelah menjadi abu (g)

w2 = Berat botol dengan ekstrak (g)

5. Analisa Kualitatif Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan akuades panas, dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko, ke dalam filtrat B ditambahkan FeCl₃ 1% bila terbentuk warna biru hitam sampai hijau cokelat menunjukkan positif mengandung tanin dan ke dalam filtrat C ditambahkan NaCl 10 % kemudian ditambahkan gelatin 1%, bila terjadi endapan putih menunjukkan tanin positif (Marliana et al., 2005).

6. Pembuatan Larutan

a. Larutan Na₂CO₃ 15%

Ditimbang 7,5 g padatan Na₂CO₃ kemudian larutkan dengan akuades, panaskan. Setelah dingin didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya larutan disaring dan ditambahkan akuades sampai 50 ml (Waterhouse, 2012).

b. Pengenceran Reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v)

Sebanyak 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu* di tambahkan 10 ml akuades. Kemudian disimpan dalam wadah gelap tertutup rapat.

c. Pembuatan Larutan Baku Induk Asam Galat 200 ppm

Ditimbang asam galat sebanyak 20,0 mg, dilarutkan dalam 0,5 ml etanol *p.a* dan ditambahkan akuades sampai volume 100 ml sehingga didapatkan baku induk 200 ug/ml (Amelia, 2015).

7. Analisa Kuantitatif Tanin

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dari larutan baku induk asam galat (200 ug/ml) dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, ditambahkan 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu*. Kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 2 ml larutan Na₂CO₃ 15%, dikocok homogen dan diamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tepat 10 ml dan dibaca pada panjang gelombang rentang 500 - 900 nm (Amelia, 2015).

b. Penentuan Operating Time

Dari larutan baku induk asam galat (200 ug/ml) dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, ditambahkan 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu*, Kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 2 ml

larutan Na_2CO_3 15%, dikocok homogen dan diamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tepat 10 ml. Dibaca pada panjang gelombang maksimum yang di dapat dengan interval waktu pengamatan 0 – 90 menit (Amelia, 2015).

c. Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat dengan membuat lima seri larutan dengan menggunakan rumus *Lambert–Beer*. Absorbansi untuk seri konsentrasi terendah 0,2 dan seri konsentrasi tertinggi 0,8.

$$A = a.b.c \dots \dots \dots (4)$$

Ket:

A = Absorbansi

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi (ug/ml)

Dari larutan induk asam galat dibuat 5 deret standar dengan konsentrasi 9, 15, 21, 27, 33 ug/ml ke dalam labu ukur 10 ml. Ditambahkan 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu*, Kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 2 ml larutan Na_2CO_3 15%, dikocok homogen dan diamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tepat 10 ml dikocok homogen dan diamkan selama waktu stabil yang didapat. Amati absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Amelia, 2015).

d. Penetapan Kadar Tanin

Sebanyak 50 mg ekstrak etanol daun angkana masing-masing metode dilarutkan dengan akuades sampai volume 50 ml, kemudian di-ultrasonik. Larutan ekstrak yang diperoleh kemudian dipipet 1 ml, dan ditambah 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu*, kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 2 ml larutan Na_2CO_3 15%, dikocok homogen dan didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan akuades sampai volume 10 ml, diamkan pada rentang waktu stabil yang diperoleh. Absorbansi larutan ekstrak diamati pada panjang gelombang maksimum yang didapat. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Analisis Data

Kurva standar yang telah dibuat akan menghasilkan nilai a dan b dari suatu persamaan regresi linier sebagai berikut:

$$y = bx \pm a \dots \dots \dots (5)$$

Ket:

y = absorbansi

b = slope

x = konsentrasi

a = intersep

Persamaan regresi linier tersebut digunakan untuk mengetahui konsentrasi tanin dalam sampel yang dianalisis dengan syarat nilai koefisien korelasi $r \geq 0,99$ (Sarwono, 2006) dan koefisien determinasi $R^2 \geq 0,990$ yaitu mendekati satu (Ghozali, 2016). Data kadar tanin yang diperoleh kemudian dianalisis uji *independent sample test* atau *t-test* menggunakan SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman Angsana

Determinasi tanaman angsana dilakukan di Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya - LIPI, Bogor. Dari hasil determinasi tersebut didapat bahwa daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar dari jenis *Pterocarpus indicus Willd.*, suku *Fabaceae*, angsana.

2. Pembuatan Ekstrak

Dengan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Simplisia daun angsana yang sudah serbukkan masing-masing ditimbang 400 g untuk kemudian diekstraksi dengan dua metode ekstraksi, yaitu metode maserasi dan metode sokletasi. Hasil ekstraksi daun angsana dapat dilihat pada [Tabel I](#).

Ekstraksi metode maserasi merupakan metode yang paling umum digunakan karena alat yang sederhana, teknik pengerjaan yang mudah dilakukan, biaya relatif rendah, dan dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang *termolabil*. Metode maserasi dilakukan dengan cara mengekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Sedangkan ekstraksi metode sokletasi melibatkan pemanasan pada suhu didih pelarut. Pemanasan ini akan menyebabkan pelarut menguap dan masuk ke dalam labu pendingin kemudian terkondensasi dan jatuh pada bagian simplisia sehingga proses ekstraksi akan berlangsung secara terus-menerus (kontinyu) namun jumlah pelarut konstan ([Endang Hanani, 2017](#)). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, karena etanol merupakan pelarut universal yang memiliki sifat dapat melarutkan hampir semua zat, dari yang bersifat polar sampai non polar. Etanol 96% adalah pelarut paling efektif dalam mengekstraksi senyawa tanin ([Rahmi et al., 2021](#)).

Tabel I. Hasil Ekstraksi Daun Angsana

Bahan	Metode Ekstraksi	
	Maserasi	Sokletasi
Serbuk Simplisia Daun Angsana	400 g	400 g
Ekstrak Kental Daun Angsana	42,55 g	96,16 g
Rendemen (%)	10,64%	24,04%

3. Hasil Pemeriksaan Mutu Ekstrak Etanol Daun Angsana

a. Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik terhadap ekstrak etanol daun angsana meliputi pemeriksaan bentuk, warna, rasa, dan bau. Hasil pemeriksaan organoleptik ekstrak etanol daun angsana metode ekstraksi maserasi dan sokletasi dapat dilihat dalam [Tabel II](#).

Tabel II. Organoleptik Ekstrak Etanol Daun Angsana

Organoleptis	Ekstrak Etanol Daun Angsana	
	Hasil Metode Maserasi	Hasil Metode Sokletasi
Bentuk	Ekstrak Kental	Ekstrak Kental
Warna	Hijau Kecokelatan	Hijau Kecokelatan
Rasa	Pahit	Pahit
Bau	Khas	Khas

b. Susut Pengerangan

Dilakukan penentuan susut pengeringan untuk memberikan batasan rentang maksimal tentang besarnya senyawa yang menghilang pada saat proses pengeringan ([Ditjen POM, 2000](#)).

Tabel III. Hasil Susut Pengerinan Ekstrak Etanol Daun Angsana

Metode Ekstraksi	Susut Pengerinan (%)	Rata-Rata (%) $\pm$ SD
Metode Maserasi	8,48 7,49 7,67	7,88 $\pm$ 0,53
Metode Sokletasi	8,21 8,71 8,20	8,37 $\pm$ 0,30
Nilai Signifikansi	0,2292	

c. Kadar Abu

Pengujian kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral baik internal maupun eksternal yang berasal dari proses pembentukan ekstrak (Ditjen POM, 2000). Uji kadar abu merupakan salah satu parameter non spesifik dalam standar mutu ekstrak yang terkait dengan kontaminasi dan kemurnian dalam ekstrak. Pada **Tabel IV** ditunjukkan nilai kadar abu ekstrak etanol daun angšana metode ekstraksi sokletasi lebih rendah dari metode ekstraksi maserasi.

Tabel IV. Hasil Uji Kadar Abu Ekstrak Etanol Daun Angsana

Metode Ekstraksi	Kadar Abu (%)	Rata-Rata (%) $\pm$ SD
Metode Maserasi	2,39 2,28 2,44	2,37 $\pm$ 0,08
Metode Sokletasi	1,92 1,80 1,73	1,82 $\pm$ 0,09
Nilai Signifikansi	0,0016	

4. Analisa Kualitatif Tanin

Analisa kualitatif tanin pada ekstrak etanol daun angšana dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 dan uji gelatin. Hasil analisa kualitatif tanin dapat diamati pada **Tabel V**. Tujuan dari dilakukannya analisa kualitatif tanin yaitu untuk membuktikan adanya kandungan senyawa tanin pada ekstrak etanol daun angšana. Hasil pada **Tabel V** menunjukkan bahwa dengan penambahan FeCl_3 kedua sampel uji menghasilkan warna hijau kecokelatan yang mengindikasikan ekstrak mengandung senyawa tanin terkondensasi. Reaksi ini dapat terjadi karena tanin merupakan senyawa polifenol dimana dengan adanya gugus fenol, FeCl_3 akan berikatan dengan gugus fenol sehingga membentuk kompleks berwarna hijau kecokelatan (Harborne, 1996). Selain itu, analisa kualitatif tanin juga dapat dilakukan dengan menggunakan larutan gelatin dalam natrium klorida yang menimbulkan endapan (Endang Hanani, 2017). Penggunaan larutan natrium klorida bertujuan untuk mempertinggi penggaraman dari tanin-gelatin (Marliana et al., 2005).

Tabel V. Hasil Analisa Kualitatif Tanin Ekstrak Etanol Daun Angsana

Pereaksi Uji	Ekstrak Etanol Daun Angsana	
	Metode Maserasi	Metode Sokletasi
Uji FeCl_3	+ (positif)	+ (positif)
Uji Gelatin	+ (positif)	+ (positif)

Keterangan :

+ (positif) mengandung tanin

5. Analisa Kuantitatif Kadar Tanin

Metode analisa kuantitatif senyawa tanin yang digunakan adalah metode spektrofotometri UV-Vis. Alasan digunakannya metode spektrofotometri UV-Vis adalah karena metode tersebut dapat mengukur kadar pada skala yang lebih kecil, lebih spesifik, kesalahan saat pembacaan kecil, serta memiliki kinerja yang cepat dan pembacaan yang otomatis (Feladita et al., 2019). Kandungan senyawa tanin masing-masing ekstrak etanol daun angkana ditentukan menggunakan metode pereaksi *Folin-Ciocalteu*, yang didasarkan dengan terbentuknya kompleks *molybdenum-tungsten blue* (Amelia, 2015). Reagen *Folin-Ciocalteu* dibuat dari natrium tungstat, natrium molibdat, air, asam fosfat dan asam klorida (Ditjen POM, 2017).

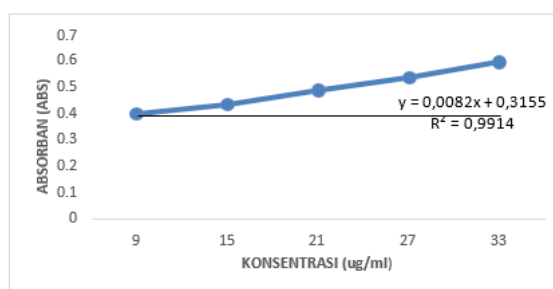
Sebagai pembanding digunakan asam galat, karena senyawa tersebut merupakan senyawa yang murni, stabil, dan harga yang juga lebih murah dari pembanding yang lain (Waterhouse, 2012). Metode reagen *Folin-Ciocalteu* digunakan karena senyawa tanin yang merupakan suatu senyawa polifenol yang bereaksi dengan *Folin-Ciocalteu* membentuk senyawa kompleks berwarna biru hanya dalam suasana basa. Maka dibuat kondisi basa dengan penambahan natrium karbonat (Alfian & Susanti, 2012). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis shimadzu yang diperoleh adalah 737,0 nm dengan absorbansi 0,4800. Pada penelitian Husna (2020) panjang gelombang maksimum asam galat yang didapat dan digunakan adalah 737 nm (Husna, 2020). Pengukuran pada panjang gelombang maksimum dilakukan karena perubahan absorbansi tiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar, sehingga kepekaannya akan maksimal juga (Gandjar & Rohman, 2017).

Penentuan operating time asam galat pada panjang gelombang 737,0 nm diukur selama 90 menit dengan interval waktu pengukuran tiap lima menit. Pada penelitian ini diperoleh waktu stabil pada rentang 85-90 menit dengan ditunjukkannya perubahan absorbansi yang sangat kecil. Tujuan dilakukan penentuan *operating time* adalah menentukan waktu stabil reaksi yang terbentuk atau lamanya reaksi dapat stabil dalam larutan (Feladita et al., 2019). Selanjutnya, sebagai standar untuk penentuan kadar senyawa tanin dalam ekstrak etanol daun angkana maka dibuat kurva baku asam galat. Dalam pembuatan seri konsentrasi asam galat digunakan konsentrasi minimum (C_{min}) dan konsentrasi maksimum (C_{maks}). Dilakukan pembacaan dari 5 seri konsentrasi asam galat yang diukur pada panjang gelombang 737,0 nm. Hasil pembacaan absorbansi kurva baku asam galat dapat dilihat pada Tabel VI.

Tabel VI. Hasil Absorbansi Kurva Baku Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
9	0,397
15	0,432
21	0,486
27	0,534
33	0,593

Berdasarkan data konsentrasi dan absorbansi larutan baku asam galat diperoleh nilai persamaan regresi *liner* $y = 0,0082x + 0,3155$ dan nilai koefisien determinan yang diperoleh sebesar $R^2 = 0,9914$. Nilai R^2 yang mendekati angka 1 menyatakan bahwa hubungan linearitas yang baik antara konsentrasi dan absorbansi Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Baku Asam Galat

Sebelum dilakukan penetapan kadar tanin, ekstrak terlebih dahulu dilakukan penentuan *operating time*. Diperoleh waktu stabil ekstrak etanol daun angšana metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi sokletasi pada rentang 85 - 90 menit dengan ditunjukkannya perubahan absorbansi yang sangat kecil. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar senyawa tanin dalam ekstrak etanol daun angšana metode ekstraksi maserasi dan sokletasi. Larutan uji terlebih dahulu dilarutkan dengan bantuan alat ultrasonik.

Alat ini memanfaatkan energi gelombang ultrasonik dengan frekuensi sekitar 20-2000 kHz (Endang Hanani, 2017). Pelarutan dengan bantuan ultrasonikasi didasarkan pada agitasi mekanis efek kavitasi yang disebabkan oleh masuknya gelombang ultrasonik ke cairan yang akan menghasilkan campuran homogen (Hielscher, 2020). Hasil kadar senyawa tanin dapat dilihat pada Tabel VII.

Tabel VII. Hasil Penetapan Kadar Tanin Ekstrak Etanol Daun Angšana

Metode Ekstraksi	Sampel	Kadar Tanin (mgGAE/g)	Rata-Rata (mgGAE/g) ± SD
Metode Maserasi	1	93,22	92,39 ± 3,69
	2	95,60	
	3	88,36	
Metode Sokletasi	1	179,81	197,88 ± 16,18
	2	210,99	
	3	202,85	
Nilai Signifikansi	0,000386		

Hasil tersebut sudah dikurangi rata-rata hasil pembacaan larutan blanko yaitu sebesar 0,027. Dilakukan pembacaan larutan blanko untuk mengetahui adanya serapan oleh pelarut dan pereaksi yang digunakan saat pembacaan sampel.

Dari hasil Tabel VII, kadar senyawa tanin terbesar terdapat pada ekstrak etanol daun angšana metode ekstraksi sokletasi yaitu sebesar 197,88 mg GAE/g. Sedangkan pada metode ekstraksi maserasi di dapat kadar senyawa tanin sebesar 92,39 mg GAE/g. Hal ini dapat disebabkan karena adanya faktor suhu dan sirkulasi pelarut pada metode ekstraksi sokletasi yang dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa tanin dari sel daun angšana. Semakin tinggi suhu ekstraksi yang digunakan akan membuat pergerakan molekul semakin cepat, begitu juga dengan pergerakan (sirkulasi) pelarut. Selain itu salah satu keuntungan metode ekstraksi sokletasi adalah suhu saat melakukan proses ekstraksi dapat diatur supaya tidak merusak senyawa tanin yang terkandung (Nurhasnawati et al., 2017). Menurut penelitian Oematan (2015) senyawa tanin tahan pemanasan sampai suhu 80°C (Oematan, 2015).

Berdasarkan hasil uji *independent sample t-test* diperoleh nilai Signifikansi 0,000386 < 0,05. Berdasarkan pada dasar pengambilan keputusan uji *independent sample t-test*, dapat disimpulkan H0 ditolak yang artinya terdapat perbedaan kadar senyawa tanin yang signifikan antara ekstrak etanol daun angšana metode ekstraksi maserasi dengan ekstraksi sokletasi. Sehingga dapat dibuat sebuah kesimpulan bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh signifikan terhadap kadar tanin ekstrak etanol daun angšana.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kadar tanin ekstrak etanol daun angkana dengan perbandingan metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi sokletasi yaitu 92,39 mg GAE/g dan 197,88 mg GAE/g. Kadar tersebut menunjukkan metode ekstraksi sokletasi lebih baik untuk mendapatkan kadar tanin dari ekstrak etanol daun angkana dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi. Selain itu, ekstraksi metode sokletasi dengan nilai rendemen 24,04% menghasilkan nilai rendemen lebih besar dibandingkan ekstraksi metode maserasi dengan nilai rendemen 10,64%. Berdasarkan hasil uji *independent sample t-test* diperoleh nilai Signifikansi $0,000386 < 0,05$, sehingga dapat dibuat sebuah kesimpulan bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh signifikan terhadap kadar tanin ekstrak etanol daun angkana.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2(1). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v2i1.655>
- Amelia, F. R. (2015). Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia Speciosa* Pers.) Secara Spektrofotometri dan Permanganometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4(2).
- Ditjen POM, D. R. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Departement Kesehatan Republik Indonesia. Edisi IV.
- Ditjen POM, D. R. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia II. Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*.
- Elya, B., Handayani, R., Sauriasari, R., Azizahwati, Hasyati, U. S., Permana, I. T., & Permatasari, Y. I. (2015). *Antidiabetic Activity And Phytochemical Screening Of Extracts From Indonesian Plants By Inhibition Of Alpha Amylase, Alpha Glucosidase And Dipeptidyl Peptidase IV. Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(6). <https://doi.org/10.3923/pjbs.2015.279.284>
- Endang Hanani. (2017). Analisis Fitokimia. In *Egc*.
- Feladita, N., Retnaningsih, A., & Susanto, P. (2019). *Penetapan Kadar Asam Salisilat Pada Krim Wajah Anti Jerawat Yang Dijual Bebas Di Daerah Kemiling Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Analisis Farmasi*, 4(2), 101–107.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2017). *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Pustaka Pelajar.
- Ghozali, I. (2016). Ghozali, Imam. 2016. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*. Semarang: Badan Penerbit UNDIP. Analisis Multivariate Dengan Program SPSS.
- Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia*. ITB.
- Hielscher. (2020). *Ultrasonic Dissolving of Solids in Liquid*. <https://www.hielscher.com/id/ultrasonic-dissolving-of-solids-in-liquids.htm>.
- Husna, R. (2020). *Ekstraksi Tanin Dari Kulit Jengkol (Pithecellobium jiringa (Jack) Prain) Dengan Metode Maserasi , Sokletasi, dan Bantuan Microwave Menggunakan Pelarut Etanol. September*.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi*, 3(1).
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, S., & Handayani, F. (2017). *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (Syzygium malaccense L.). Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1). <https://doi.org/10.51352/jim.v3i1.96>
- Oematan, Z. (2015). *Pengaruh Perbedaan Suhu dan Waktu Ekstraksi terhadap Kandungan Tanin pada Ekstrak Daun Jambu Mete. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4(2).

- Rahmi, N., Salim, R., Miyono, M., & Rizki, M. I. (2021). *Pengaruh Jenis Pelarut dan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antibakteri dan Penghambatan Radikal Bebas Ekstrak Kulit Kayu Bangkal (Nauclea subdita)*. Jurnal Penelitian Hasil Hutan, 39(1). <https://doi.org/10.20886/jphh.2021.39.1.13-26>
- Salamah, M.Sc, Apt., N., Rozak, M., & Al Abror, M. (2017). *Pengaruh Metode Penyarian Terhadap Kadar Alkaloid Total Daun Jembirit (Tabernaemontana Sphaerocarpa. BL) Dengan Metode Spektrofotometri Visibel*. Pharmacia, 7(1). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.6330>
- Sarwono, J. (2006). *Metode penelitian kuantitatif dan kualitatif*. Graha Ilmu.
- Thomson, L. A. J. (2006). *Pterocarpus indicus (narra)*. Permanent Agriculture Resources (PAR), April.
- Waterhouse, A. (2012). *Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine*. Waterhouse Lab.

