

**PENENTUAN JENIS TANIN DAN PENETAPAN
KADAR TANIN DARI BUAH BUNGUR MUDA (*Lagerstroemia
speciosa* Pers.) SECARA
SPEKTROFOTOMETRI DAN PERMANGANOMETRI**

**Fitriani Rizky Amelia
Fakultas Farmasi Universitas Surabaya
v3_galzZ@yahoo.com**

Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai penentuan jenis tanin dan penetapan kadar tanin dari buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) dengan metode spektrofotometri dan permanganometri. Buah bungur muda yang telah dihaluskan diekstraksi secara maserasi kinetik dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang didapat diuji kualitatif maupun kuantitatif. Dari hasil uji kualitatif diperoleh hasil bahwa buah bungur muda mengandung tanin terhidrolisis. Pada uji kuantitatif didapatkan panjang gelombang maksimum asam galat dalam pelarut aquadem yaitu 765,5 nm dengan waktu reaksi 90 menit sehingga diperoleh kurva baku asam galat adalah $y = 0,0887 x + 0,0601$, nilai $r = 0,9992$ dan $r^2 = 0,9985$. Hasil uji kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri didapat kadar tanin rata-rata 24,37% b/b GAE dengan menggunakan pereaksi Folin ciocalteu dan menggunakan metode permanganometri didapat kadar tanin rata-rata 7,98%.

Kata kunci: bungur, *Lagerstroemia speciosa* Pers., jenis tanin, kadar tanin, olin Cioalceu , spektrofotometri, permanganometri

PENDAHULUAN

Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik yang banyak terdapat pada bermacam-macam tumbuhan, antara lain: pinang, akasia, gabus, bakau, pinus dan gambir. Umumnya tanin tersebar hampir pada seluruh bagian tumbuhan seperti pada bagian kulit kayu, batang, daun, dan buah (**Sajaratud, 2013**). Istilah tanin pertama sekali diaplikasikan pada tahun 1796 oleh Seguin. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat diantaranya yaitu sebagai *astringent*, anti diare, antibakteri dan antioksidan (**Desmiaty et al., 2008**). Tanin berbentuk serpihan mengkilat berwarna kekuningan sampai coklat muda atau serbuk amorf, tidak berbau, atau sedikit berbau khas (**Depkes RI, 1995**). Tanin biasanya disebut juga asam tanat atau galotanat. Tanin memiliki sifat kelarutan sangat mudah larut dalam air, larut alkohol, larut aseton, larut 1:1 dalam gliserol hangat, praktis tidak larut dalam petroleum, kloroform dan eter (**Reynold, 1996**). Tanin mempunyai aktivitas antioksidan menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti *reverse transkriptase dan DNA topoisomerase* (**Sharma et al., 2009**). Kegunaan lain tanin dibidang industri adalah untuk penyamak kulit (**Robinson, 1995**).

Secara kimia, tanin dibagi menjadi empat golongan yaitu tanin terhidrolisis, tanin terkondensasi, tanin kompleks, pseudotanin. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (**Hagerman, 2002; Trease dan Evans, 1996**).

Umumnya senyawa tanin banyak terdapat pada tumbuhan dikotil dan tersebar luas pada tanaman yang berpembuluh terutama pada Angiospermae (**Harborne, 1996**). Salah satu tumbuhan Angiospermae dan berkeping dua (dikotil) yang mengandung senyawa tanin adalah bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). Tanaman ini banyak dijumpai sebagai peneduh jalan, akan tetapi tanaman ini juga bisa digunakan untuk menurunkan kadar gula dalam darah setelah diujikan pada mencit diabetik karena adanya kelompok senyawa polifenol (**Hernawan dan Setyawan, 2004**). Masyarakat Filipina telah lama menggunakan bungur sebagai pengobatan tradisional untuk mengatasi diabetes dan gangguan ginjal (**Klein et al., 2007**). Bagian tumbuhan ini yang sering digunakan sebagai obat yaitu biji, daun, dan kulit kayu. Biji tumbuhan ini dapat digunakan untuk mengobati tekanan darah tinggi dan kencing manis. Daunnya digunakan untuk mengobati kencing batu, kencing manis, dan tekanan darah tinggi, sedangkan bagian kulit kayu digunakan untuk mengobati diare, disentri dan kencing darah. Daun bungur memiliki kandungan kimia, seperti saponin, flavonoid dan tanin, sedangkan pada kulit batang bungur mengandung flavonoid dan tanin (**Dalimartha, 2003**).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penetapan kadar tanin dari kulit buah dan biji bungur (**Puspitasari, 2011**) serta daun bungur (**Rahayu, 2012**). Oleh karena itu perlu adanya upaya lebih lanjut untuk mengetahui jenis tanin dan kadar tanin pada bagian lain pada tanaman bungur. Pada penelitian ini, digunakan buah bungur muda untuk dilihat kadar senyawa taninnya karena buah yang masih

muda mengandung senyawa tanin yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan buah yang tua.

Salah satu parameter standarisasi terhadap simplisia adalah penetapan kadar senyawa marker yang idealnya adalah merupakan senyawa aktif ataupun senyawa dominan dan khas dalam simplisia tersebut (**Depkes RI, 2000**), dimana salah satu senyawa tersebut adalah tanin (**Harborne, 1987**).

Metode penentuan kualitatif tanin dapat dilakukan dengan mengidentifikasi adanya tanin dan jenis tanin. Identifikasi adanya tanin dapat dilakukan uji FeCl_3 , gelatin test, uji penambahan kalium ferricyanida dan ammonia, dan *test for chlorogenic acid*. Sedangkan untuk menentukan jenis tanin terkondensasi, terhidrolisis, dan kompleks tanin dilakukan dengan menggunakan uji asam asetat ditambah Pb asetat, uji HCl, uji FeCl_3 , uji KBr, dan *test for catechin*. Jika hasil uji menunjukkan hasil positif pada pengujian tanin terhidrolisis dan terkondensasi, kemungkinan tergolong tanin kompleks. Untuk itu dilakukan uji tambahan dengan menggunakan pereaksi Stiasny (formaldehid 30%-HCl 2N) dan uji penambahan FeCl_3 pada filtrat.

Dua metode yang sering digunakan untuk menetapkan kadar tanin yaitu secara spektrofotometri dan permanganometri (**DepKes RI, 1989**), dalam penelitian ini digunakan buah bungur muda sebagai sampelnya. Spektrofotometri UV-Vis merupakan teknik analisis yang memakai sumber radiasi sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrument spektrofotometer (**Mulja, 1995**). Pada metode ini digunakan *Folin Ciocalteu* sebagai pereaksi dan asam galat sebagai standart. Sedangkan metode titrasi permanganometri merupakan pengukuran volume suatu larutan yang diketahui konsentrasinya dengan pasti, yang diperlukan untuk bereaksi sempurna dengan salah satu volume tepat zat yang akan ditentukan. Larutan yang kadarnya diketahui dengan pasti itu dinamakan larutan baku atau larutan standart (**Underwood dan Day, 1998**). Metode spektrofotometri dan permanganometri merupakan metode yang sering digunakan karena termasuk metode yang sederhana, mudah, mempunyai tingkat ketelitian yang cukup tinggi.

Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan upaya lebih lanjut untuk menjadikan buah bungur muda sebagai bahan yang bermanfaat, salah satunya dengan menetapkan kadar senyawa tanin dengan metode spektrofotometri dan permanganometri.

METODE PENELITIAN

A. BAHAN PENELITIAN

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.), yang diambil di kota Surabaya (daerah Rungkut), pada bulan Mei 2014. Tanaman ini dideterminasi oleh Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT), Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: etanol 70% yang dibuat dari etanol absolut GR pro analisis (Mallinckrodt), aqua demineralisata, asam asetat 10%, asam oksalat $2\text{H}_2\text{O}$, asam galat, Folin Ciocalteu,

asam klorida, stiasny (formaldehid 30%-HCl 2N), Besi (III) ammonium sulfat, larutan ammonia, kalium ferricyanida, KBr, H₂SO₄ 4N, indigo karmin P, larutan asam sulfat pekat, larutan FeCl₃, larutan gelatin 1%, larutan KMnO₄ 0,1N, Na₂CO₃ 15%, Pb asetat 10%.

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: timbangan analitik (Ohaus), pengayak mesh 30, *rotary evaporator* (Buchii), *moisture content balance* (Mettler Toledo), alat maserasi kinetik, *waterbath* B-480 (Buchii), *waterbath* listrik (Mettler), *blender*, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), mikropipet volume 100-1000 µl dan 0,5-5 ml (SOCOREX), magnetic stirrer, buret, pipet volume, dan alat-alat gelas laboratorium.

B. METODE KERJA

Penyiapan Bahan Penelitian

Buah bungur muda dicuci bersih, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah diperoleh simplisia kering, buah bungur muda yang sudah bersih dihaluskan dengan *blender* dan diayak menggunakan pengayak ukuran mesh 30 agar terbentuk serbuk yang lebih halus dan seragam.

Penentuan Kandungan Lembab

Ditimbang 5 g serbuk simplisia kemudian dimasukkan ke dalam *Moisture Content Balance* permukaan pada wadah diratakan. Alat dioperasikan dan dibiarkan sampai proses selesai (lampu padam). Kemudian dihitung kandungan lembab dengan rumus nilai MC

$$\text{Rumus} \quad : \quad \text{MC} = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan : W = Berat serbuk awal (g)
W = Berat serbuk akhir (g)
%MC = % kandungan lembab

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara Maserasi Kinetik

Serbuk kering buah bungur muda sebanyak 100 gram diaduk dengan penambahan pelarut etanol 70% sebanyak 300 ml selama ± 2 jam dan didiamkan semalam kemudian disaring, didapatkan ampas dan filtratnya. Pada ampas dilakukan maserasi ulang (maserasi ulang dilakukan 3 kali). Filtrat yang didapat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* dan diuapkan diatas *waterbath* sampai didapatkan ekstrak etanol 70% dengan bobot konstan.

Penentuan Jenis Tanin

- **Identifikasi Adanya Tanin**

Dari ekstrak etanol 70% buah bungur muda yang didapat, dilakukan uji sebagai berikut:

1. Ekstrak ditambah FeCl₃ akan memberikan endapan biru-hitam pada tanin terhidrolisis dan memberikan endapan hitam kehijauan pada tanin terkondensasi

2. Gelatin test
Ekstrak ditambah larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl, jika timbul endapan berarti mengandung tanin (**Trease dan Evans, 1996**).
3. Penambahan Kalium ferricyanida dan ammonia
Ekstrak yang mengandung tanin akan bereaksi positif, memberikan warna merah tua (**Tyler dkk, 1976**).
4. *Test for chlorogenic acid*
Ekstrak ditambah larutan ammonia kemudian dipapar dengan udara, jika timbul warna hijau berarti mengandung tanin (**Trease dan Evans, 1996**).

- **Identifikasi Jenis Tanin**

- a. Tanin terhidrolisis (*pyrogallotannin*)

Dari ekstrak etanol 70% buah bungur muda yang didapat, dilakukan uji sebagai berikut:

1. Ekstrak buah bungur muda ditambah 2 ml asam asetat 10% dan 1 ml larutan Pb asetat 10%, akan terbentuk endapan dalam 5 menit (**Robinson, 1995**).
2. Ekstrak buah bungur muda dididihkan dengan HCl, tidak akan terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut (**Tyler dkk, 1976**).
3. Ekstrak buah bungur muda ditambah FeCl₃ akan berwarna hitam kebiruan (**Tyler dkk, 1976**).
4. Ekstrak buah bungur muda ditambahkan pereaksi bromine (KBr) tidak mengendap (**Tyler dkk, 1976**).
5. Batang korek api dimasukkan ke dalam masing-masing ekstrak buah bungur muda, dikeringkan, dibasahi dengan HCl dan dipanaskan, batang korek api tidak berubah warna menjadi pink atau merah (**Trease dan Evan, 1996**).

- b. Tanin terkondensasi (*catechol* atau *pyrocatechol tannin, phlobatannin, proanthocyanidine*)

Dari ekstrak etanol 70% buah bungur muda yang didapat, dilakukan uji sebagai berikut:

1. Ekstrak buah bungur muda ditambahkan 2 ml asam asetat 10% dan 1 ml larutan Pb asetat 10%, tidak menimbulkan endapan atau tetap berupa larutan (**Robinson, 1995**).
2. Ekstrak buah bungur muda dididihkan dengan HCl, akan terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut (**Tyler dkk, 1976**).
3. Ekstrak buah bungur muda ditambah FeCl₃ akan memberikan warna hitam kehijauan (**Tyler dkk, 1976**).
4. Ekstrak buah bungur muda ditambahkan pereaksi bromine (KBr) akan mengendap (**Tyler dkk, 1976**).
5. Batang korek api dimasukkan ke dalam masing-masing ekstrak buah bungur muda, dikeringkan, dibasahi dengan HCl dan dipanaskan, bila terbentuk phloroglucinol akan menyebabkan batang korek api berubah warna menjadi pink atau merah (*Catechin + HCl* menghasilkan *phloroglucinol*) (**Trease dan Evan, 1996**).

c. Tanin kompleks

Untuk membedakan tanin katekol dan tanin galat, larutan ekstrak etanol 70% buah bungur muda ditambah dengan pereaksi Stiasny (formaldehid 30%-HCl 2N (2:1)) dan dipanaskan di atas penangas air sambil digoyang-goyangkan. Bila terjadi endapan merah, menunjukkan adanya tanin katekol. Endapan yang terbentuk disaring kemudian filtrat dinetralkan dengan Natrium Asetat. Dengan penambahan FeCl_3 1% pada filtrat akan terbentuk warna biru tinta atau hitam yang menunjukkan adanya tanin galat (Hilpiani, 2012).

Penetapan Kadar Tanin Secara Spektrofotometri

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Ditimbang asam galat sebanyak 10,0 mg, dilarutkan dan ditambahkan aqua demineralisata sampai volume 100,0 ml sehingga didapatkan baku induk 100,0 bpj. Larutan baku induk asam galat dipipet sejumlah tertentu dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 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 didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan aqua demineralisata sampai tepat 10,0 ml dan dibaca pada panjang gelombang pada rentang λ 500-900 nm.

b. Penentuan Waktu Stabil

Larutan baku induk asam galat dipipet sejumlah tertentu dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 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 didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan aqua demineralisata sampai tepat 10,0 ml. Lalu diamati absorbansinya pada λ 765 nm dengan interval waktu pengamatan 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, sampai 110 menit pada panjang gelombang maksimum.

c. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat dengan Reagen *Folin Ciocalteu*

Larutan baku induk asam galat dipipet sejumlah tertentu dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml, lalu ditambahkan 1 ml reagen *Folin Ciocalteu*, 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. Selanjutnya ditambahkan aqua demineralisata sampai tepat volume 10,0 ml, dikocok homogen dan didiamkan selama 90 menit. Lalu amati absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Dilakukan pengambilan larutan baku induk asam galat sejumlah tertentu sebanyak tujuh kali, sehingga didapatkan tujuh konsentrasi dan dibuat kurva baku standar asam galat.

d. Penetapan Kadar Tanin Total

Sebanyak 50,0 mg ekstrak etanol 70% buah bungur dilarutkan dengan aqua demineralisata sampai volume 50,0 ml. Larutan ekstrak yang diperoleh

kemudian dipipet sejumlah tertentu 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. Selanjutnya ditambahkan aqua demineralisata sampai volume 10,0 ml, diamkan pada range waktu stabil yang diperoleh. Absorbansi larutan ekstrak diamati pada panjang gelombang maksimum. Konsentrasi yang didapatkan dilakukan replikasi sebanyak dua kali. Kadar tanin total dihitung ekivalen dengan asam galat (*Gallic Acid Equivalent/ GAE*).

Penetapan Kadar Tanin Secara Permanganometri

a. Pembakuan Larutan Baku Primer Asam Oksalat

Ditimbang dalam botol timbang asam oksalat $2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak $\pm 0,693$ gram, dilarutkan dengan aqua demineralisata secukupnya. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml, lalu ditambah aqua demineralisata sampai batas tanda pada labu ukur. Dihitung N asam oksalat $2\text{H}_2\text{O}$.

b. Pembakuan Larutan KMnO_4 dengan Asam Oksalat 0,1N

Dipipet 10,0 ml larutan asam oksalat $2\text{H}_2\text{O}$ 0,1N. Lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml, ditambah 10 ml larutan H_2SO_4 4N, dipanaskan sampai suhu 70°C , kemudian dititrasi dengan KMnO_4 0,1N. Titrasi dihentikan apabila sudah terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi berwarna merah muda (sudah mencapai TAT). Dilakukan 5 kali replikasi dan dicatat hasilnya.

c. Penetapan Kadar Tanin dengan KMnO_4

Sebanyak ± 2 gram serbuk buah bungur muda dimasukkan ke dalam beaker glass. Lalu ditambahkan 50 ml aqua demineralisata, dipanaskan di atas *waterbath* sampai mendidih selama 30 menit sambil diaduk. Didiamkan beberapa menit, diendapkan, lalu dituang melalui kertas saring ke dalam labu ukur 250,0 ml dan didapat filtrat. Ampasnya disari kembali dengan aqua demineralisata mendidih dan dimasukkan ke dalam labu ukur yang sama. Penyarian dilakukan beberapa kali hingga residu tidak menunjukkan perubahan warna menjadi berwarna biru hitam apabila direaksikan dengan FeCl_3 .

Larutan didinginkan dan ditambah aqua demineralisata sampai 250,0 ml secara kuantitatif ke dalam labu ukur. Lalu dipipet 25,0 ml, dipindahkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml, ditambah 750 ml aqua demineralisata dan 25,0 ml indikator asam indigo sulfonat LP. Selanjutnya, dititrasi dengan KMnO_4 hingga terjadi perubahan warna dari biru tua menjadi berwarna kuning keemasan. Dicatat volume KMnO_4 yang digunakan. Dilakukan 5 kali replikasi.

d. Penyiapan dan Pengukuran Titrasi Blanko

Disiapkan 775 ml aqua demineralisata dalam erlenmeyer 1000 ml. Ditambahkan indikator asam indigo sulfonat 25,0 ml, lalu dititrasi dengan KMnO_4 hingga terjadi perubahan warna larutan dari biru tua menjadi berwarna kuning keemasan. Dicatat volume KMnO_4 yang digunakan. Dilakukan 5 kali replikasi.

HASIL PENELITIAN

PENENTUAN KANDUNGAN LEMBAB SERBUK BUAH BUNGUR MUDA (*Lagerstroemia speciosa* Pers.)

Serbuk buah bungur muda yang telah dikeringkan, ditentukan kandungan lembabnya menggunakan alat *Moisture Content* dan diukur sebanyak tiga kali replikasi. Hasil penentuan kandungan lembab serbuk buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Penentuan Kandungan Lembab Serbuk Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.)

W (gram)	W ₀ (gram)	MC (%)
5,003	4,589	9,02
5,000	4,588	8,98
5,006	4,582	9,25
Rata-rata		9,08
SD		0,1457
KV (%)		1,60

Keterangan :
 W = Bobot serbuk awal
 W₀ = Bobot serbuk akhir
 MC = *Moisture Content* (kandungan lembab)

EKSTRAKSI SERBUK BUAH BUNGUR MUDA (*Lagerstroemia speciosa* Pers.)

Sebanyak 101,3999 gram serbuk buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) dilakukan ekstraksi secara maserasi kinetik menggunakan pelarut etanol 70%. Filtrat yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* lalu diuapkan diatas *waterbath* sampai tercapai bobot konstan sehingga diperoleh ekstrak etanol 70% sebanyak 7,8211 g yang berwarna coklat kehitaman.

PENENTUAN ADANYA TANIN SECARA KUALITATIF

Hasil penelitian kualitatif adanya tanin dilakukan dari ekstrak etanol 70% buah bungur muda yang didapat. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Penentuan Adanya Tanin secara Kualitatif

No.	Pereaksi	Hasil	Tanin
1	FeCl ₃	Biru Hitam	+
2	Larutan garam gelatin	Adanya endapan	+
3	Penambahan K ₃ Fe(CN) ₆ + Ammonia	Merah Tua	+
4	<i>Test for Chlorogenic Acid</i>	+	+

Berdasarkan data percobaan yang dilakukan menunjukkan bahwa buah bungur muda positif mengandung tanin.

PENENTUAN JENIS TANIN

Hasil penelitian kualitatif jenis tanin dilakukan dari ekstrak etanol 70% buah bungur muda yang didapat. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Penentuan Jenis Tanin Terhidrolisis

No.	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
1	+Asam Asetat 10% +Pb Asetat 10%	Terbentuk endapan	+
2	+HCl dipanaskan	Tidak terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut	+
3	FeCl ₃	Biru kehitaman	+
4	Pereaksi Bromine	Tidak mengendap	+
5	Tes Katekin	Batang korek api tidak berubah warna	+

Tabel 4.4 Penentuan Jenis Tanin Terkondensasi

No.	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
1	+ Asam asetat 10% + Pb asetat 10%	Terbentuk endapan	-
2	+ HCl dipanaskan	Tidak terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut	-
3	FeCl ₃	Biru kehitaman	-
4	Pereaksi bromine	Tidak mengendap	-
5	Tes Katekin	Batang korek api tidak berubah warna	-

Tabel 4.5 Penentuan Jenis Tanin Kompleks

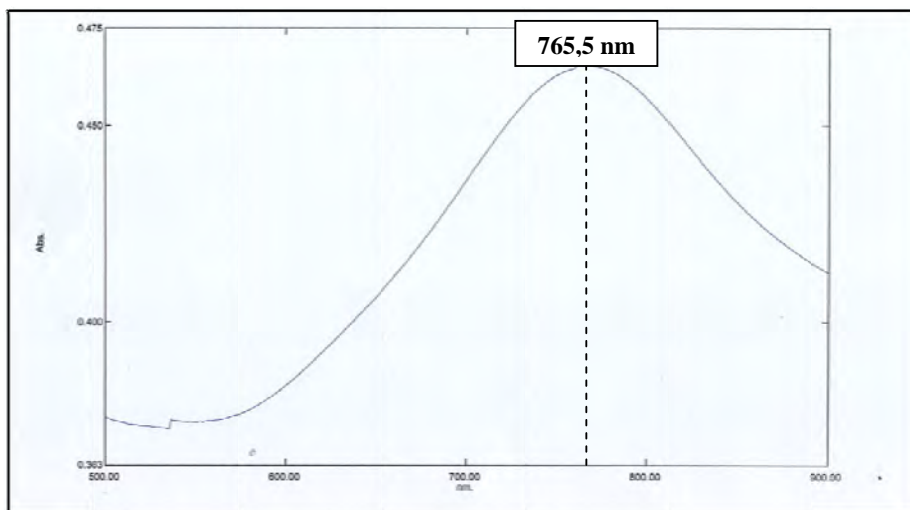
No.	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
1	+ Stiasny	Tidak mengendap	—
	+ FeCl ₃	Mengendap coklat muda	—

Buah bungur muda mengandung tanin terhidrolisis karena pada data percobaan yang dilakukan menunjukkan bahwa buah bungur muda mengandung tanin terhidrolisis.

PENETAPAN KADAR TANIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dibuat larutan asam galat 4,0 bpj, ditambahkan pereaksi *Folin Ciocalteu* dan dilakukan *scanning* pada λ 500-900 nm. Pada hasil percobaan yang telah dilakukan, diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum dari baku asam galat adalah 765,5 nm yang dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.1 Profil Spektra Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

b. Penentuan Waktu Stabil

Penentuan waktu stabil didapat dari konsentrasi asam galat 4,0 bpj yang ditambahkan pereaksi *Folin Ciocalteu* dilakukan *time scanning* sampai 110 menit pada panjang gelombang 765 nm. Dan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.6 Penentuan Waktu Stabil

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,300
5	0,312
10	0,320
15	0,328
20	0,334
25	0,341
30	0,347
35	0,353
40	0,359
45	0,365
50	0,372
55	0,378
60	0,383
65	0,386
70	0,403
75	0,404
80	0,430
85	0,462
90	0,466
95	0,487
100	0,474
105	0,478
110	0,480

Waktu stabil didapat pada menit ke-90 yang ditunjukkan dengan perubahan absorbansi yang sangat kecil pada menit tersebut.

c. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat dengan Reagen *Folin Ciocalteu*

Kurva baku asam galat dibuat dari larutan baku kerja dengan penambahan pereaksi *Folin Ciocalteu* yang diamati dengan menggunakan spektrofotometri Visibel pada panjang gelombang 765,5 nm. Hasil yang didapatkan telah dicantumkan pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Baku Kerja Asam Galat

Konsentrasi (bpj)	Absorbansi
1,0	0,156
2,0	0,242
3,0	0,313
4,0	0,409
5,0	0,508
6,0	0,590
7,0	0,687

Regresi (Konsentrasi vs Absorbansi)

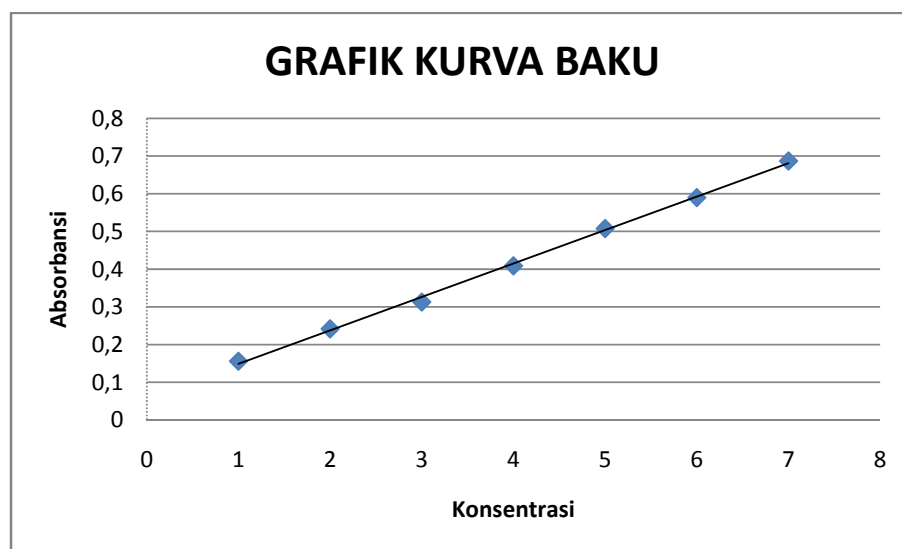
$$a = 0,0601$$

$$b = 0,0887$$

$$y = 0,0601 + 0,0887x$$

$$r = 0,9992$$

$$r^2 = 0,9985$$



Gambar 4.2 Kurva Baku Asam Galat

$$S_{y/x} = 7,874 \times 10^{-3}$$

$$S_{x_0} = 0,0888$$

$$V_{x_0} = 2,2189\%$$

Hasil regresi menunjukkan bahwa r hitung $>$ r tabel ($0,999 > 0,754$), maka hubungan antara konsentrasi dan absorbansi memiliki korelasi yang bermakna.

d. Penetapan Kadar Sampel Buah Bungur Muda

Tabel 4.8 Hasil Penetapan Kadar Tanin secara Spektrofotometri

Bobot sampel (mg)	Konsentrasi (bpj)	Absorbansi	Kadar (%)
50,1	15,03	0,393	24,96
	20,04	0,497	24,57
	30,06	0,698	23,92
50,6	15,18	0,392	24,64
	20,24	0,495	24,22
	30,36	0,704	23,91
Kadar Tanin Rata-rata (%)	24,37		
SD	0,4237		
KV (%)	1,74		

Dari penelitian penetapan kuantitatif kadar tanin pada buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara spektrofotometri, diperoleh rata-rata kadar tanin sebesar 24,37% b/b GAE.

PEMBAKUAN DAN PENETAPAN KADAR TANIN SECARA PERMANGANOMETRI

a. Penetapan Normalitas Asam Oksalat

Untuk menetapkan Normalitas $KMnO_4$ yang dibaku dengan larutan asam oksalat dipakai rumus sebagai berikut:

$$N_{\text{asam oksalat}} = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{\text{vol. Ad}} \times \text{ekivalen}$$

Hasil penimbangan baku primer asam oksalat sebanyak 0,6948 g, sehingga diperoleh normalitas baku primer asam oksalat sebesar 0,1102 N.

b. Penetapan Normalitas $KMnO_4$

Untuk menetapkan Normalitas $KMnO_4$ yang dibaku dengan larutan asam oksalat dipakai rumus sebagai berikut:

$$N_{KMnO_4} = \frac{V_{\text{Asam Oksalat}} \times N_{\text{Asam Oksalat}}}{V_{KMnO_4}}$$

Tabel 4.9 Hasil Penetapan Normalitas $KMnO_4$

Volume Asam Oksalat (ml)	Normalitas asam Oksalat	Volume $KMnO_4$ (ml)	Normalitas $KMnO_4$
10,0	0,1102	0,00 – 10,23	0,1075
		0,00 – 10,25	
		0,00 – 10,25	
		0,00 – 10,27	
		0,00 – 10,25	
Rata-rata volume $KMnO_4$		10,25	

c. Penetapan Kadar Tanin pada Buah Bungur Muda

Tabel 4.10 Hasil Penetapan Kadar Tanin secara Permanganometri

Bobot Serbuk (g)	Volume titran (ml)	Volume blanko (ml)	Kadar tanin (%)
4,0023	0,00 - 8,50	0,00 – 1,38	7,95
4,0058	0,00 - 8,55	0,00 – 1,40	7,98
4,0027	0,00 - 8,50	0,00 – 1,38	7,95
4,0072	0,00 - 8,60	0,00 – 1,40	8,03
4,0050	0,00 - 8,55	0,00 – 1,40	7,98
Kadar tanin rata-rata (%)			7,98
SD			0,0327
KV (%)			0,41

Dari penelitian penetapan kuantitatif kadar tanin pada buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara permanganometri, diperoleh hasil rata-rata kadar tanin sebesar 7,98%.

PEMBAHASAN

Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik yang banyak terdapat pada bermacam-macam tumbuhan. Umumnya tanin tersebar hampir pada seluruh bagian tumbuhan seperti pada bagian kulit kayu, batang, daun, dan buah (**Sajaratud, 2013**). Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat diantaranya yaitu sebagai *astringent*, anti diare, antibakteri dan antioksidan (**Desmiaty et al., 2008**). Umumnya senyawa tanin banyak terdapat pada tumbuhan dikotil dan tersebar luas pada tanaman yang berpembuluh terutama pada Angiospermae (**Harborne, 1996**). Salah satu tumbuhan Angiospermae dan berkeping dua (dikotil) yang mengandung senyawa tanin adalah bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). Bagian tumbuhan ini yang sering digunakan sebagai obat yaitu biji, daun, dan kulit kayu (**Dalimartha, 2003**).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penentuan jenis tanin dan kadar tanin total pada kulit buah dan biji bungur secara kolorimetri (**Puspitasari, 2011**) serta penetapan kadar tanin pada daun bungur secara permanganometri dan kolorimetri (**Rahayu, 2012**). Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan bagian tanaman lain pada bungur yaitu buah bungur yang masih muda untuk dilihat kadar senyawa taninnya karena buah yang masih muda mengandung senyawa tanin yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan buah yang tua.

Langkah awal yang dilakukan untuk persiapan ekstraksi yaitu buah bungur muda yang telah dikeringkan, dihaluskan dan diayak dengan mesh 30. Setelah itu diukur kadar lembabnya dengan alat *moisture content balance*. Kadar lembab dalam simplisia merupakan salah satu uji kualitas simplisia dalam bentuk serbuk kering. Simplisia perlu dikeringkan agar jumlah kandungan air dalam simplisia sedikit, karena kandungan air dalam suatu simplisia kemungkinan akan mempengaruhi hasil penelitian dan kadar air yang tinggi akan mempercepat pembusukan dan tumbuhnya jamur pada simplisia. Hasil rata-rata kadar lembab untuk serbuk buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) adalah 9,08% (Tabel 4.1), hasil ini sesuai dengan literatur yaitu proses pengeringan dilakukan sampai kadar air maksimal 10%. (**Harborne, 1987**).

Pembuatan ekstrak etanol 70% buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) dilakukan dengan metode maserasi kinetik yang termasuk ekstraksi dingin, karena dalam upaya memperoleh ekstrak dihindari adanya penggunaan pemanasan sehingga dapat menghindari adanya senyawa dalam buah bungur muda yang bisa rusak bila dipanaskan pada suhu tinggi. Serbuk kering buah bungur muda direndam dengan penambahan pelarut etanol 70% dan diaduk selama ± 2 jam kemudian didiamkan semalam dan disaring sehingga didapat filtrat dan ampas. Pada ampas dilakukan maserasi ulang (maserasi dilakukan 3 kali). Filtrat yang didapat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai sepertiga bagian. Setelah etanol terpisahkan, filtrat kemudian diuapkan diatas *waterbath* sampai didapatkan ekstrak etanol dengan bobot konstan. Dari 101,3999 gram serbuk kering buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) yang ditimbang, diperoleh ekstrak etanol 70% sebanyak 7,8211 g yang berwarna coklat kehitaman.

Selanjutnya dilakukan analisis kualitatif untuk melihat adanya tanin dan jenis tanin. Dari hasil penelitian, buah bungur muda mengandung tanin ditunjukkan dengan FeCl_3 , dimana dengan adanya gugus fenol pada tanin yang akan berikatan dengan FeCl_3 membentuk kompleks berwarna biru (**Depkes RI, 1979**). Menggunakan larutan garam ditambah gelatin menghasilkan endapan yang menunjukkan adanya tanin (**Trease dan Evan, 1996**). Sifat tanin dapat mengendapkan protein, semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin, karena gelatin termasuk protein alami (**Harborne, 1995**). Serta pada penambahan Kalium ferricyanida dan ammonia positif memberikan warna merah tua. Juga pada *test for chlorogenic acid* terbentuk warna hijau di lapisan atas yang menunjukkan positif mengandung tanin (Tabel 4.2).

Pada hasil penelitian identifikasi jenis tanin, buah bungur muda termasuk jenis tanin terhidrolisis. Hal ini dapat dilihat pada tes untuk identifikasi jenis tanin terkondensasi dan tanin kompleks menunjukkan hasil negatif (Tabel 4.4 dan Tabel 4.5). Sedangkan untuk identifikasi jenis tanin terhidrolisis menunjukkan hasil yang positif (Tabel 4.3). Adapun perinciannya adalah dengan penambahan FeCl_3 memberikan warna biru kehitaman, ditambah HCl lalu dipanaskan tidak terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut, ditambah asam asetat 10% dan larutan Pb asetat 10% terbentuk endapan, ditambah dengan pereaksi bromine (KBr) tidak memberikan endapan (Tabel 4.3). Dari data yang didapat, semua uji menunjukkan bahwa tanin yang terkandung adalah tanin terhidrolisis.

Setelah serangkaian uji kualitatif menunjukkan hasil positif, selanjutnya dilakukan analisis kuantitatif dengan menetapkan kadar senyawa tanin secara spektrofotometri dan permanganometri.

Pada penetapan kadar tanin secara spektrofotometri digunakan 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* membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang dideteksi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 765 nm. Natrium karbonat digunakan untuk membuat kondisi basa, karena senyawa fenolik bereaksi dengan *Folin ciocalteu* hanya dalam suasana basa. Asam galat digunakan sebagai pembanding karena asam galat memiliki gugus fenol, senyawa yang stabil, murni dan lebih murah dibandingkan pembanding yang lain (**Waterhouse, 1999**). Penentuan panjang gelombang maksimum larutan asam galat ditambah dengan reagen *Folin ciocalteu* dan natrium karbonat menggunakan spektrofotometer shimadzu diperoleh panjang gelombang 765,5 nm (gambar 4.1), yang dalam hal ini hanya berbeda sedikit dengan penelitian oleh Susanti (2012) yaitu 765 nm. Alasan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang tersebut adalah perubahan absorbansi setiap satuan konsentrasi adalah paling besar pada panjang gelombang maksimum, sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimal (**Gandjar, 2012**).

Penentuan waktu stabil reduksi *Folin ciocalteu* oleh asam galat pada panjang gelombang 765 nm diukur dengan interval waktu tiap lima menit selama 110 menit. Waktu pengamatan dilakukan selama 110 menit karena berdasarkan penelitian Susanti (2012) absorbansinya diamati setelah didiamkan selama 90

menit, sehingga diperpanjang sampai 110 menit untuk melihat waktu stabil reduksi *Folin ciocalteu* oleh asam galat yang terjadi. Pada penelitian ini diperoleh absorbansi larutan asam galat ditambah *Folin ciocalteu* dan natrium karbonat absorbansi sudah stabil dengan ditunjukkannya perubahan absorbansi yang sangat kecil pada menit ke-90 (Tabel 4.6).

Kemudian dilakukan pembuatan kurva baku asam galat untuk mengetahui korelasi antara konsentrasi asam galat dan absorbansinya. Persamaan kurva baku yang diperoleh dari konsentrasi larutan asam galat adalah $y = 0,0887 x + 0,0601$, nilai r hitung = 0,999 lebih besar dari r tabel = 0,754 dengan taraf signifikansi 5%. Hasil regresi tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi dan absorbansi memiliki korelasi yang bermakna (gambar 4.2).

Dilanjutkan dengan pengukuran serapan sampel. Sejumlah tertentu sampel direaksikan dengan 1 ml pereaksi *Folin Ciocalteu* yang berfungsi sebagai reduktor, kemudian direaksikan dengan Na_2CO_3 15% menghasilkan larutan berwarna biru. Larutan tersebut dikocok sampai homogen, dan didiamkan pada waktu stabil yang diperoleh kemudian dilihat absorbansinya pada panjang gelombang 765,5 nm dengan blanko aquadem. Data absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam kurva persamaan regresi linier larutan standar asam galat sehingga didapat hasil dalam %b/b *Gallic Acid Equivalents* (GAE). Hasil penetapan kadar tanin secara spektrofotometri yang didapat adalah sebesar 24,37% b/b GAE (Tabel 4.8)

Penetapan kadar tanin dari buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara permanganometri dilakukan dengan pembuatan baku primer terlebih dahulu. Didapatkan penimbangan baku primer asam oksalat $2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,6948 gram, kemudian dilarutkan dengan aqua demineralisata sampai 100,0 ml sehingga didapatkan Normalitas asam oksalat 0,1102 N. Perhitungan Normalitas asam oksalat dapat dilihat pada lampiran 6. Setelah itu dibuat pembakuan KMnO_4 dengan asam oksalat sebagai larutan baku, karena asam oksalat sangat baik dalam keadaan asam sehingga memudahkan titrasinya. Sebanyak 10,0 ml larutan asam oksalat $2\text{H}_2\text{O}$ yang telah dibuat dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan 10 ml H_2SO_4 yang tahan panas dan tidak mudah teroksidasi untuk menciptakan suasana asam. Penambahan bertujuan untuk menjaga konsentrasi ion hidrogen yang tetap dalam larutan titrasi, juga untuk mencegah pembentukan mangan dioksida dan mencukupi kebutuhan ion hidrogen mereduksi permanganat. Campuran larutan tersebut dipanaskan sampai suhu $\pm 70^\circ \text{C}$ lalu dititrasi dengan KMnO_4 sambil dikocok konstan. Reaksi ini berjalan lambat pada temperatur kamar, sehingga pada saat titrasi diperlukan pemanasan hingga suhu $\pm 70^\circ \text{C}$. Hal ini disebabkan karena reaksi akan berjalan lambat jika titrasi dilakukan pada suhu kurang dari 60°C , dan asam oksalat akan terurai jika dititrasi pada suhu di atas 90°C . Pada penambahan tetesan titrasi, awalnya warna merah muda akan hilang dengan lambat tetapi lama kelamaan warna merah muda nya akan hilang semakin cepat karena Mn^{2+} sudah banyak terbentuk yang berfungsi sebagai katalis (mempercepat reaksi). Titrasi dihentikan apabila sudah terjadi perubahan warna dari tidak berwarna sampai merah muda yang disebabkan oleh kelebihan permanganat yang tahan ± 15 detik dan catat hasil volume larutan baku pada

titran. Volume titran yang terpakai pada saat titrasi sebanyak 10,25 ml sehingga didapatka Normalitas KMnO_4 0,1075 N.

Proses selanjutnya pada penelitian ini yaitu menetapkan kadar tanin dari buah bungur muda menggunakan KMnO_4 . Sejumlah tertentu serbuk buah bungur muda ditambahkan aquadem sambil dipanaskan diatas *waterbath* selama 30 menit dan diaduk. Kemudian diendapkan selama beberapa menit dan dituang melalui kertas saring ke dalam labu ukur 250,0 ml sehingga didapat filtrat. Ampasnya disari kembali dengan aqua demineralisata mendidih dan dimasukkan ke dalam labu ukur yang sama. Penyarian dilakukan beberapa kali hingga residu tidak menunjukkan perubahan warna menjadi biru kehitaman jika direaksikan dengan FeCl_3 . Jika pada plat tetes masih memberikan warna biru gelap dengan penambahan FeCl_3 , berarti residu tersebut masih mengandung tanin. Warna tersebut muncul karena tanin merupakan golongan polifenol yang mengandung gugus OH. Gugus OH ini akan berikatan dengan Fe membentuk Fe fenolik yang berwarna biru gelap. Jika larutan ekstrak diteteskan pada plat tetes berwarna kuning kecoklatan, maka larutan tersebut sudah tidak mengandung tanin. Filtrat yang terkumpul ditambah aqua demineralisata sampai 250,0 ml, kocok homogen. Selanjutnya dipipet 25,0 ml, masukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml, ditambah 750 ml aqua demineralisata dan 25,0 ml indikator asam indigo sulfonat LP. Penambahan aqua demineralisata pada sampel ini dimaksudkan agar sampel tidak terlalu pekat sehingga mempermudah pengamatan titrasi. Pada penetapan kadar tanin ini, digunakan indikator asam indigo sulfonat LP sebagai indikator dengan perubahan warna dari biru tua menjadi kuning emas. Penambahan indikator ini disebabkan karena warna ekstrak buah bungur muda yang coklat sehingga menyulitkan pengamatan titik akhir titrasi. Lalu titrasi dengan KMnO_4 menggunakan magnetik bar dan magentik stirrer untuk mengatur kecepatan adukan yang konstan antara partikel sampel, indikator, dan titran supaya homogen hingga terjadi perubahan warna dari biru menjadi berwarna kuning keemasan. Dicatat hasil titrasinya dan dilakukan 5 kali replikasi. Dilakukan juga titrasi blanko yang bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak KMnO_4 yang bereaksi dengan asam indigo sulfonat. Volume titrasi blanko dijadikan faktor pengurangan pada volume titrasi sampel. Dari hasil titrasi tersebut, didapat kadar tanin yang ada pada buah bungur muda sebanyak 7,98%.

Telah dilakukan penelitian dengan kedua metode, yaitu metode spektrofotometri dan metode permanganometri yang didapatkan data kadar tanin rata-rata yang berbeda. Kadar tanin rata-rata menggunakan metode spektrofotometri dengan pereaksi *Folin ciocalteu* adalah 24,37% b/b GAE, dan menggunakan metode permanganometri adalah 7,98%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Berdasarkan identifikasi adanya tanin dan penentuan jenis tanin, buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) mengandung tanin yang tergolong jenis tanin terhidrolisis.

2. Menggunakan metode spektrofotometri, kadar tanin rata-rata pada buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) yang diperoleh adalah 24,37% b/b GAE.
3. Menggunakan metode permanganometri, kadar tanin rata-rata pada buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) yang diperoleh adalah 7,98%.

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, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol. 2, No. 1, 73-80.
- Anonim, 2010, *Bungur* (online), (http://id.wikipedia.org/wiki/Bungur_diakses_21_April_2014).
- Atmadja T, 1985, *Mengembangkan Produksi Jamu*, Fa Skala Indah, Jakarta, 41-42.
- Cannel RJP, 1998, *Methods in Biotechnology (Natural Product Isolation)*, Vol. 4, Human Press Inc., Totowa.
- Dalimartha S, 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*, Cetakan I, Puspa Swara, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sedian Galenik*, Jakarta: DitjenPOM, 4-7, 10-11.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989, *Materia Medika Indonesia Jilid V*, Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan, 194-197, 513-520, 536, 539-540, 549-552.
- Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Cetakan I, Jakarta: Depkes RI, 1135, 1163.
- Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan I, Jakarta : Depkes RI, 7-12, 34-35.
- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia, 2001, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*, Jilid II, Jakarta, 332-333.
- Desmiaty Y, Ratih H, Dewi MA, 2008, Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor* Hassk) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia, *Artocarpus*, Vol. 8, 106-109.

- Fessenden RJ dan Fessenden JS, 1992, *Kimia Organik (Terjemahan)*, jilid I, edisi ketiga, Universitas Airlangga, Jakarta.
- Gandjar IG dan Rohman A, 2012, *Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi*, Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Hagerman AE, 2002, *Tannin Handbook*, Miami University, USA.
- Harbone, 1987, *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terbitan kedua, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung.
- Hernawan UE, Sutarno, Setyawan AD, 2004, Aktifitas Hipoglikemik Dan Hipolipidemik Ekstrak Air Daun Bungur (*Lagerstroemia Speciosa* Pers.) Terhadap Tikus Diabetik, *Biofarmasi*, 2(1):15-23.
- Hudayadi M, 2008, Efek Antidiare Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica* Val.) Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster, *Skripsi*, Surakarta, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 261 tahun 2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*, 2009, Jakarta, 179.
- Khopkar SM, 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik (Terjemahan)*, Indonesia, Jakarta, 201-218.
- Klein G, Kim J, Himmeldirk K, *et al*, 2007, Antidiabetes and Anti-obesity Activity of *Lagerstroemia speciosa*, *eCAM*, 4(4)401–407.
- Kristanti, Alfinda N, dkk, 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press., Surabaya
- Mulja M dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, edisi I, Universitas Airlangga, Surabaya, 26, 28, 231, 232.
- Reynolds JE, 1996, *Martindale The Extra Pharmacopoeia*, 31th edition, The Pharmaceutical Press, London, 1757.
- Robinson T, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 71-78.
- Sajaratud D, 2013, Pembuatan Tanin dari Buah Pinang, Fakultas Ilmu Tarbiyah & Keguruan Institut Agama Islam Negeri, Sumatera Utara

- Sharma P, Parmar J, Verma P, *et al*, 2009, Anti-tumor Activity of *Phyllanthus niruri* (a Medicinal Plant) on Chemical-induced Skin Carcinogenesis in Mice, University of Rajasthan, Jaipur, India.
- Singleton VL and Rossi JA, 1965, *Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents*, American Journal of Enology and Viticulture, 16: 147-158.
- Trease GE dan Evan WC, 1996, *Pharmacognosy*, 14th edition, Saunders, Company, London, 224-228, 403, 454-455.
- Tyler VE, Brady LR, Robbers JE, 1976, *Pharmacognosy*, 7th edition, Lea Febiger, Philadelphia, 77-78.
- Underwood AL dan Day RA, 2001, *Analisa Kimia Kuantitatif*, Edisi IV, Terjemahan oleh Lis Sopyan, 2001, Erlangga, Jakarta, 290-291.
- Voigt R, 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.