

**PENENTUAN JENIS TANIN DAN PENETAPAN
KADAR TANIN DARI KULIT BUAH PISANG MASAK
(*Musa paradisiaca* L.) SECARA
SPEKTROFOTOMETRI DAN PERMANGANOMETRI**

Ebry Ryanata, 2014

Pembimbing: (I) Sajekti Palupi, (II) Azminah

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai penentuan kadar tanin kulit buah pisang masak (*Musa paradisiaca* L.) varietas kepok secara spektrofotometri dan permanganometri. Serbuk kulit buah pisang diekstraksi dengan cara maserasi kinetik menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang didapat diuji kualitatif maupun kuantitatif. Hasil uji kualitatif menunjukkan adanya tanin dan jenis taninnya adalah tanin terkondensasi. Uji kuantitatif secara spektrofotometer didapatkan panjang gelombang maksimum asam galat adalah 765,50, dan waktu yang diperlukan untuk mencapai serapan konstan adalah 90 menit. Kurva baku asam galat adalah : $y = 0,0601 + 0,0887x$, nilai r hitung = 0,999. Rata-rata kadar tanin yang didapat secara spektrofotometri adalah 2,45%. Dengan menggunakan permanganometri, didapatkan normalitas asam oksalat 0,11N dan normalitas $KMnO_4$ 0,1097N. Rata-rata kadar yang didapat dengan permanganometri 0,8%.

Kata kunci : *Musa paradisiaca* L., kulit buah pisang kepok, maserasi, Penentuan kadar tanin, Folin Ciocalteu, $KMnO_4$

PENDAHULUAN

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan salah satu tanaman yang paling umum ditanam di hamper semua negara-negara tropis (Wachirasiri, 2009). Pisang (*Musa paradisiaca* L.) adalah salah satu buah yang paling banyak diproduksi dan dikonsumsi di seluruh dunia dan potensi penggunaan kulitnya akan menjadi sangat relevan (Rebello, 2014). Pisang sangat populer karena ketersediaan mudah, murah, berbagai

penggunaan dan konten nutrisi tinggi. Pisang merupakan kelas monokotil, sub divisi Angiospermae dan masuk dalam keluarga Musaceae (Sen C, 2012). Dalam pengolahannya, kulit pisang biasanya tidak dimanfaatkan dan dibuang di tempat sampah. Padahal kulit pisang mengandung vitamin C, B, kalsium, protein, dan lemak dalam jumlah yang cukup banyak (Ramada, 2008). Pada penelitian yang dilakukan di Berlin, kulit pisang juga mengandung kadar tanin sebesar

6,84% pada kulit pisang hijau, 4,97% pada kulit pisang hampir matang, dan 4,69% pada kulit pisang matang (**Tartrakoon, 1999**). Berdasarkan kandungan kimia pada kulit pisang tersebut, pada penelitian ini digunakan limbah kulit pisang. Selain mudah didapat dan jumlahnya yang banyak, penelitian ini ditujukan untuk memanfaatkan limbah kulit pisang kepok yang diperoleh dari penjual pisang goreng.

Tanin merupakan senyawa alami dengan berat molekul 500-3000, dengan beberapa gugus hidroksi fenol bebas, terbentuk ikatan stabil dengan protein dan biopolimer (**Karamać, 2007**). Secara umum tanin digunakan sebagai *astrigent* (**Ashok, 2012**), gangguan *gastrointestinal tract*, abrasi kulit, antiseptik lemah untuk pengobatan luka bakar, antidotum keracunan glikosida alkaloida dan reagent untuk destilasi gelatin, protein dan alkaloida (**Tyler et al, 1976**). Gugus fenol yang terdapat ada tanin menyebabkan efek astringent, antiseptik, terjadi warna dengan garam besi (**Trease dan Evan, 1996**). Berdasarkan manfaat yang tanin tersebut penelitian ini digunakan untuk mendapatkan informasi tentang adanya tanin dari limbah kulit pisang kepok agar bisa dimanfaatkan dengan baik.

Untuk menentukan tanin secara kualitatif dapat dilakukan dengan mengidentifikasi adanya tanin dan jenis tanin. Untuk identifikasi adanya tanin menggunakan larutan uji FeCl_3 , gelatin test, uji penambahan kalium ferisianida dan ammonia, dan uji untuk asam klorogenik. Sedangkan

untuk menentukan jenis tanin terkondensasi, terhidrolisis, dan kompleks menggunakan larutan uji FeCl_3 , uji katekin, uji HCl, uji asam asetat ditambah Pb asetat, uji KBr. Jika hasil uji menunjukkan hasil positif pada pengujian tanin terhidrolisis dan terkondensasi, kemungkinan tergolong tanin kompleks. Untuk itu dilakukan uji tambahan dengan menggunakan pereaksi Stiasnya (formaldehid 3%-asam korida 2:1) dan uji penambahan FeCl_3 pada filtrat hasil refluks. Untuk uji kuantitatif tannin mrnggunakan metode spektrofotometri dan permanganometri.

Digunakan dua metode tersebut karena mudah, cepat, murah, serta mempunyai tingkat ketelitian yang tinggi. Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah memberikan cara yang sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Fajriati, 2005). Metode penetapan kadar tanin secara permanganometri yang digunakan berdasarkan *Materia Medika Indonesia*, karena lebih cepat dibandingkan dengan metode permanganometri pada *Official Methods Of Analysis Of Association Of Official Analytical Chemist*, yang memerlukan waktu 20 jam untuk penyarian dengan eter anhidris yang mudah menguap.

Metode titrasi Permanganometri yang 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

dinamakan larutan baku atau larutan standar (DepKes RI, 1989). Titrasi permanganometri berdasarkan proses oksidasi-reduksi atau redoks. Pada penelitian ini digunakan sebagai standar zat pengoksidasi adalah $KMnO_4$ karena termasuk oksidator kuat, umum digunakan, mudah diperoleh, dan tidak mahal. Dan sebagai larutan baku primer adalah asam oksalat. Pada penetapan kadar tanin, setelah ekstrak kulit pisang disari dengan air, kemudian dipipet volume tertentu ditambahkan asam indigo sulfonat sebagai indikator, kemudian dititrasi dengan kalium permanganat yang telah dibakukan dengan asam oksalat. Titik akhir titrasi pada penetaan kadar tanin ditunjukkan dari warna biru menjadi berwarna kuning emas (Soefia RS, 1980; Underwood AL and Day RA, 1980).

Metode kedua yang digunakan untuk penetapan kadar tanin adalah Kolorimetri memakai instrument spektrofotometer. Teknik ini menggunakan sumber radiasi sinar tampak dengan memakai instrument spektrofotometer (Mulja, 1995). Spektrofotometri merupakan pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Roth, 1985).

Penetapan kadar tanin total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode folin ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur

pada panjang gelombang 765 nm. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi Folin Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 15%. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenumtungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Dan sebagai standart pembanding adalah asam galat. (Sulistiyani, 2011).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.), yang diambil di kota Sidoarjo. 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 $2H_2O$, 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-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 (Memmert), *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.

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.

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Buah Pisang (*Musa Paradisiaca* L.)

Serbuk kering kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) 100 gram diaduk dengan penambahan pelarut etanol 70% sebanyak 300 ml selama ± 2 jam dan didiamkan semalaman 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

Penentuan jenis tanin (secara kualitatif) meliputi identifikasi adanya tanin dan identifikasi jenis tanin.

A. Identifikasi Adanya Tanin

Dari ekstrak etanol 70% kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) 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).

B. Identifikasi Jenis Tanin

a. Tanin terhidrolisis (pyrogallotannin)

Dari ekstrak etanol 70% kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) yang didapat, dilakukan uji sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) 2 ml asam asetat 10% dan 1 ml larutan Pb asetat 10%, akan terbentuk endapan dalam 5 menit (Robinson, 1995).
2. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) dididihkan dengan HCl, tidak akan terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut (Tyler dkk, 1976).
3. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) ditambah $FeCl_3$ akan berwarna hitam kebiruan (Tyler dkk, 1976).
4. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) ditambahkan pereaksi bromine (KBr) tidak mengendap (Tyler dkk, 1976).
5. Batang korek api dimasukkan ke dalam masing-masing ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.), 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% kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) yang didapat, dilakukan uji sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit buah pisang (*Musa paradisiaca* L.) ditambahkan 2 ml asam asetat 10% dan 1 ml larutan Pb asetat 10%, tidak menimbulkan endapan atau tetap berupa larutan (Robinson, 1995).
2. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) dididihkan dengan HCl, akan terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut (Tyler dkk, 1976).
3. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) ditambah $FeCl_3$ akan memberikan warna hitam kehijauan (Tyler dkk, 1976).
4. Ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) ditambahkan pereaksi bromine (KBr) akan mengendap (Tyler dkk, 1976).
5. Batang korek api dimasukkan ke dalam masing-masing ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.), 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% kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) 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

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% kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) 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 ekuivalen 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 kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) 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 dititansi 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

Ekstraksi Serbuk Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia Speciosa* Pers.)

Hasil ekstraksi serbuk kulit buah pisang dengan cara maserasi kinetik selama 1 jam dan diulang 3 kali. Penimbangan serbuk 102,6344 gram didapatkan hasil ekstrak 11,66085 gram.

Penentuan Adanya Tanin Secara Kualitatif

Hasil penetapan kualitatif adanya tanin dilakukan pada ekstrak kulit buah pisang dengan menggunakan aquadem. berdasarkan data percobaan yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah pisang positif mengandung tanin. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Penentuan Adanya Tanin secara Kualitatif

Pereaksi	Hasil	Tanin
FeCl_3	Biru Hitam	+
Larutan garam gelatin	Adanya endapan	+
Penambahan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ + Ammonia	Merah Tua	+
Test for Chlorogenic Acid	+	+

Penentuan Jenis Tanin

Hasil penetapan kualitatif jenis tanin dilakukan pada ekstrak kulit buah pisang dengan menggunakan aquadem. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4.3 untuk identifikasi jenis tanin terhidrolisis, 4.4 untuk identifikasi jenis tanin terkondensasi, 4.5 untuk jenis tanin kompleks.

Tabel 4.3 Penentuan Jenis Tanin Terhidrolisis

Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Ekstrak + Asam Asetat 10% + Pb Asetat 10%	Tidak terbentuk endapan	-
Ekstrak + HCl dipanaskan	Terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut	-
Ekstrak + FeCl_3	Biru kehitaman	-
Ekstrak + Pereaksi Bromine	Terbentuk endapan	-

Tabel 4.4 Penentuan Jenis Tanin Terkondensasi

Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
+ Asam asetat 10% + Pb asetat 10%	Tidak terbentuk endapan	+
+ HCl dipanaskan	Terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut	+
FeCl ₃	Biru kehitaman	+
Pereaksi bromine	mengendap	+

Tabel 4.5 Penentuan Jenis Tanin Kompleks

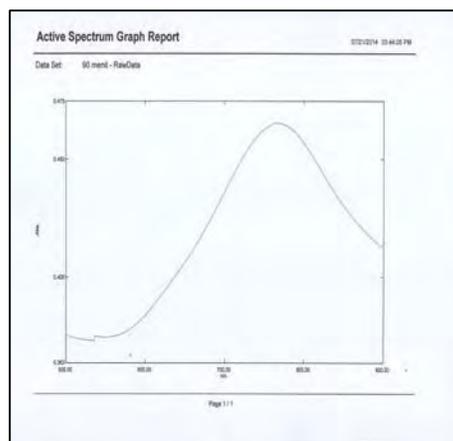
Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
+ Stiasny	Tidak mengendap	-
+ FeCl ₃	Mengendap coklat muda	-

Berdasarkan hasil percobaan diatas dapat disimpulkan bahwa kulit buah pisang masak mengandung tannin terkondensasi.

PENETAPAN KADAR TANIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI

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 4.1.



Gambar 4.1 Profil Spektra Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

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:

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

Tabel 4.6 Penentuan Waktu Stabil

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

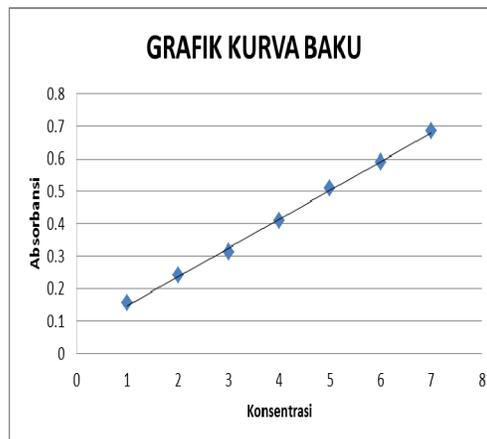
Pembuatan Kurva Baku Asam Galat dengan Reagen Folin Ciocalteu

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)
 $y = 0,0601 + 0,0887x$
 $r = 0,9992$
 $r^2 = 0,9985$



Gambar 4.2 Kurva Baku Asam Galat

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

Penetapan Kadar Sampel Buah Bungur Muda

Tabel 4.8 Hasil Penetapan Kadar Tanin secara Spektrofotometri

Sampel (bpj)	Pengenceran (bpj)	Absorbansi	Kadar
1018	81,44	0,236	2,43%
	91,62	0,263	2,49%
	101,8	0,278	2,41%
1002	80,16	0,237	2,48%
	90,18	0,254	2,42%
	200,4	0,498	2,46%
	210,42	0,521	2,46%
	220,44	0,553	2,52%
X±SD			2,458 ± 0,037
KV			1,52%

Dari penelitian penetapan kuantitatif kadar tanin pada kulit buah pisang masak secara spektrofotometri, diperoleh rata-rata kadar tanin sebesar 2,45% b/b GAE.

PEMBAKUAN DAN PENETAPAN KADAR TANIN SECARA PERMANGANOMETRI

Penetapan Normalitas Asam Oksalat

Pembuatan asam oksalat yaitu dengan menimbang asam oksalat 0,6938 gram, dilarutkan dengan aquadem dalam labu ukur 100 ml sampai tanda. Sehingga didapatkan N asam oksalat sebesar 0,1100N.

Penetapan Normalitas KMnO₄

Pembakuan larutan KMnO₄ dengan larutan baku asam oksalat, yaitu dengan memipet 10,0 ml asam oksalat secara kuantitatif, lalu dititansi dengan larutan KMnO₄ dan dilakukan 5 kali replikasi. Sehingga didapatkan hasil normalitas KMnO₄ 0,1097N. Data pembakuan KMnO₄ dengan asam oksalat dapat dilihat pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil Penetapan Normalitas KMnO₄

No	Normalitas Asam Oksalat (N)	Vol. Asam Oksalat (ml)	Vol. KMnO ₄ (ml)
1	0,11007	10,0	0,00-10,05
2		10,0	0,00-10,05
3		10,0	0,00-10,05
4		10,0	0,00-10,00
5		10,0	0,00-10,00
X _± SD			10,03 ± 0,0273

Penetapan Kadar Tanin pada Buah Bungur Muda

Tabel 4.10 Hasil Penetapan Kadar Tanin secara Permanganometri

Bobot Sampel (g)	Normalitas KMnO ₄ (N)	Vol. Titran (ml)	Vol. Blanko (ml)	Kadar
4,0025	0,10974	0,00 - 2,18	0,00 - 1,39	0,9%
4,0045		0,00 - 2,20	0,00 - 1,40	0,91%
4,0012		0,00 - 2,15	0,00 - 1,40	0,85%
4,0047		0,00 - 2,21	0,00 - 1,40	0,92%
4,0019		0,00 - 2,15	0,00 - 1,40	0,86%
X _± SD				0,888 ± 0,031
KV				3,5%

Dari penelitian penetapan kuantitatif kadar tanin pada kulit buah pisang masak secara permanganometri, diperoleh hasil rata-rata kadar tanin sebesar 0,88%.

PEMBAHASAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepok, yang diambil dari limbah penjual pisang goreng di daerah Ketapang Suko, Sidoarjo. Dipilih kulit pisang karena pisang (*Musa paradisiaca* L.). Langkah awal yang dilakukan adalah serbuk kulit buah

pisang ditentukan kadar lembabnya, rata-rata kadar lembab serbuk kulit buah pisang adalah 7,01%. Ditimbang serbuk kulit buah pisang 102,6344 gram, lalu diekstraksi dengan maserasi kinetik selama 1 jam menggunakan pelarut etanol 70%, didiamkan satu malam. Disaring, didapatkan ampas dan filtrat. Filtrat ditampung, ampas dimaserasi lagi selama satu jam, setelah itu didiamkan satu malam. Disaring, didapatkan filtrat dan ampas, filtrat dicampur dengan filtrat pertama dan ditampung, ampas dimaserasi lagi. Proses tersebut diulang tiga kali. Setelah semua filtrat ditampung, lalu filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga 1/3 bagian dan dilanjutkan dengan *waterbath electric* suhu 60°C hingga diperoleh bobot konstan ekstrak. Hasil akshir ekstraksi didapat bobot ekstrak 11,66085 gram.

Dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui adanya tanin dan jenis tanin yang terdapat pada kulit buah pisang kepok. Uji kualitatif yang dilakukan dengan FeCl_3 , dimana dengan adanya gugus fenol pada tanin akan berikatan dengan FeCl_3 membentuk kompleks berwarna hijau (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). Dengan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ditambah ammonia terbentuk warna merah tua, dengan test asam klorogenik

terbentuk warna hijau dilapisan atas yang menandakan positif mengandung tanin. Hasil uji kualitatif tanin dapat dilihat pada tabel 4.2.

Pada penetapan jenis tanin kulit buah pisang kepok termasuk tanin terkondensasi (tabel 4.3), adapun perinciannya adalah dengan penambahan FeCl_3 memberikan warna hijau, saat diberi larutan asam asetat 10% ditambah Pb asetat 10% terbentuk endapan. Menggunakan HCl dipanaskan terbentuk warna merah phlobaphen yang tidak larut, dengan KBr tidak terjadi endapan. Serangkaian uji jenis tanin tersebut menunjukkan bahwa jenis tanin kulit buah pisang kepok adalah tanin terkondensasi.

Setelah serangkaian uji kualitatif menunjukkan hasil positif, maka selanjutnya dilakukan uji kuantitatif untuk mengetahui kadar tanin yang terdapat dalam kulit pisang kepok. Adapun uji kuantitatif yang dilakukan, yaitu: dengan cara spektrofotometri dan permanganometri.

Penetapan kadar tanin dengan cara spektrofotometri menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reaksi pembentukan yang terjadi adalah reduksi oksidasi dimana tanin sebagai reduktor dan Folin Ciocalteu sebagai oksidator. Hasil oksidasi akan membentuk warna biru yang dapat dibaca panjang gelombang maksimal (Dewi, 2010). Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode

folin ciocalteau adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Perekasi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi Folin Ciocalteau menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteau hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 15%. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteau membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Dan sebagai standart pembanding adalah asam galat. (Sulistiyani, 2011).

Pertama dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum asam galat dalam pelarut aquadem. Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam galat untuk mencapai serapan maksimum. 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 (Dewi, 2010). Panjang gelombang yang dapat menghasilkan serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimumnya. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan panjang gelombang maksimum asam galat dalam pelarut aquadem adalah 765,50 yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-visibel (gambar 4.1). Kemudian menentukan operating time, uji ini untuk mengetahui lama waktu yang dibutuhkan larutan baku asam galat untuk mencapai serapan konstan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu yang diperlukan untuk mencapai serapan konstan adalah 90 menit, jadi pengukuran absorbansi dilakukan pada waktu ke 90 menit (tabel 4.6). Langkah ketiga dengan pembuatan kurva baku asam galat untuk mengetahui kolerasi antara konsentrasi asam galat dan absorbansinya. Persamaan kurva baku yang diperoleh dari konsentrasi larutan asam galat adalah : $y = 0,0601 + 0,0887x$, nilai r hitung = 0,999 lebih besar dari r tabel = 0,754 dengan taraf signifikansi 5%. Hasil regresi tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara kosentrasi dan absorbansi memiliki kolerasi yang bermakna (gambar 4.2).

Pengukuran serapan sampel. hasil yang didapat pada penetapan kadar tanin pada kulit buah pisang kepok

dengan cara spektrofotometri adalah 2,45% (tabel 4.8).

Penetapan kadar tanin dilakukan metode titrasi permanganometri, metode ini berdasarkan proses oksidasi-reduksi atau redoks. Pada penelitian ini digunakan sebagai standar zat pengoksidasi adalah KMnO_4 karena termasuk oksidator kuat, umum digunakan, mudah diperoleh, dan tidak mahal. Dan sebagai larutan baku primer adalah asam oksalat.

Langkah pertama yang dilakukan adalah pembuatan larutan baku asam oksalat dengan normalitas asam oksalat 0,1N. Lalu dilakukan pembakuan larutan KMnO_4 dengan asam oksalat yang normalitasnya sudah diketahui. Pembakuan larutan KMnO_4 dengan larutan baku asam oksalat, didapatkan hasil normalitas KMnO_4 0,1N. Data pembakuan KMnO_4 dengan asam oksalat dapat dilihat pada tabel 4.9.

Penetapan kadar tanin dengan metode titrasi permanganometri dilakukan dengan melarutkan sejumlah serbuk kulit buah pisang kepok dengan aquadem, lalu dipanaskan agar tanin dapat tersari dalam air, karena pada dasarnya tanin larut dalam air (**Reynold, 1996**). Dilakukan pendinginan, setelah itu disaring dan filtrat ditampung, proses tersebut diulang sampai ampas tidak menghasilkan warna biru apabila diberi larutan FeCl_3 , hal tersebut menandakan seluruh tanin sudah tersari. Filtrat dicampur, ditambah aquadem pada labu 250 ml, lalu dipipet 25 ml, ditambahkan asam indigo sulfonat sebanyak 25 ml dan dititrasi dengan larutan KMnO_4

yang sebelumnya sudah dibaku dengan asam oksalat. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna dari biru menjadi kuning emas (**Underwood dan Day,1998**). Dari hasil penelitian diperoleh kadar tanin rata-rata 0,8% dari 5 kali replikasi.

KESIMPULAN

Bedasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kulit buah pisang kepok tergolong jenis tanin terkondensasi. Pada penentuan kadar tanin kulit buah pisang kepok dengan cara spektrofotometri didapatkan hasil 2,45%. Kadar tanin kulit buah pisang kepok yang didapatkan dengan cara permanganometri adalah 0,8%.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia . (1986). *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia .
- Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia . (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* . Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia .
- Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia . (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Republik Indonesia .
- Determination Of Total Phenolic Content Of Methanolic Extracts Red Rossel (Hibiscus Sabdariffa Linn) Calyxes In Variation Of Growing Area By Spectrophotometry. (2012). 2.
- Fajriati, I. (2005). Optimasi Metode Penentuan Tanin. 51-57.
- Gandjar, G. I. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hagerman, A. E. (2010). *Hydrolyzable Tannin Structural Chemistry*.
- I. Palici, B. T. (2005). Method for Quantitative Determination of Polyphenolic.
- Khanittha Moosophon, T. W. (2010). Tannin Extraction from Mangosteen Peel for Protein. 15(5).
- Ligia Portugal Gomes Rebello a, A. M. (2014). Flour of banana (Musa AAA) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. 55, 397-403.
- Lin, L. L. (2008). HPLC, NMR and MALDI-TOF MS Analysis of Condensed. 2986-2997.
- Magdalena Karamać, A. K. (2007). Extraction And Chromatographic Separation Of Tannin Fractions From. 57, 471-474.
- Maria Inez de Godoy Pelozo, M. L. (2008). Spectrophotometric Determination of Tannins and Caffeine. 51(3), 447-451.
- Mursyidi, F. M. (1978). *Voumetri dan Gravimetri*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Phatcharaporn Wachirasiri, S. J. (2009). The effects of banana peel preparations on the properties of. 31(6), 605-611.
- Praveen Kumar Ashok, K. U. (2012). Tannins are Astringent. 1(3).
- Ramiro Garcíaa, A. A.-E. (2008). Extraction of Condensed Tannins from Mexican Plant Sources.
- Sen C, M. H. (2012). Modified atmosphere packaging and active packaging of banana (Musa spp.): A review on control of ripening and extension of shelf life. 39(9), 122-132.
- Singh, S. M. (2010). Quantitative Analysis of Total Phenolic. 2, 2403-2406.
- Sri Yuliani, L. U. (t.thn.). Kadar Tanin Dan Quersetin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (Psidium guajava).

- Suharman, M. M. (1995). *Analisa Instrumental*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Sulastri, T. (2009). Analysis of Concentration of Tannins from Ethanol and Water Extract at the Pinang Sirih Seed (*Areca Catechu L.*). *10*, 59-63.
- Tinnagon Tartrakoon, N. C. (1999). The Nutritive Value of Banana Peel (*Musa sapieutum L.*) in Growing Pigs.
- Tyler VE, B. L. (1976). *Pharmacognosy*. Philadelphia: Lea Febinger.
- Vasundhara Saxena, G. M. (2013). Comparative Study On Quantitative Estimation Of Tannins In Terminalia Chebula, Terminalia Belerica, Terminalia Arjuna And Saraca Indica Using Spectrophotometer. *6*.
- Yosophine Sulistyani, S. A. (2011). Ekstraksi Senyawa Fenolik Dari Limbah Kulit. *10*.