

Identifikasi Senyawa Tanin Ekstrak Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic) dengan Metode Spektrofotometri Infra Merah

Firawati Firawati^{1*}, Hasrida Hasrida²

^{1,2}Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur

Email: apoteker.fira@gmail.com¹, hasridafarmasi@yahoo.com²

Diterima Redaksi: 18-01-2024; Selesai Revisi: 22-01-2024; Diterbitkan Online: 29-01-2024

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa tanin pada biji tanaman kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic). Penelitian menggunakan metode ekstraksi refluks dengan pelarut etanol. Fraksi n-butanol diidentifikasi dengan *kromatografi* lapis tipis *preparatif* menggunakan eluen etil asetat – n-butanol - air (3 : 14 : 1) menghasilkan 5 fraksi *isolat* yaitu A, B, C, D, dan E . Isolat A dilanjutkan proses pemisahan dengan menggunakan *kromatografi* lapis tipis dua dimensi menghasilkan noda tunggal yang mengindikasikan senyawa saponin. Kemudian dibuktikan dengan menggunakan metode *spektrofotometri inframerah* menunjukkan adanya gugus fungsi yang khas, yaitu O-H, C=O, C=C alkena, C aromatik dan C-H aromatik dimana semua gugus fungsi ini diduga merupakan golongan senyawa tanin yang terhidrolisis.

Kata Kunci: Biji Kapas, *Abelmoschus moschatus*, Tanin

Pendahuluan

Herbal tradisional baru bisa dikatakan sebagai obat jika telah diteliti melalui proses yang panjang dan lama sehingga bisa dipastikan unsur atau zat aktifnya, diketahui efek farmakologisnya, bisa dipastikan dosisnya, diketahui efek sampingnya, dan dipastikan proses pembuatannya. Meskipun saat sekarang banyak obat–obatan yang dibuat secara sintetik, tetapi tidak boleh diabaikan arti tumbuhan sebagai penghasil bahan yang berkhasiat obat (Tjitrosoepomo, 2003). Tahapan yang perlu mendapat perhatian dalam usaha pengembangan tumbuhan obat adalah kajian aspek farmakognostik terhadap simplisia sebagai bahan obat tradisional sehingga memiliki persyaratan resmi seperti yang tertuang dalam Materi Medika Indonesia, sehingga penggunaannya dapat lebih dipertanggung jawabkan secara ilmiah (Gunawan, 2004).

Tanin merupakan senyawa makromolekul yang dihasilkan oleh tanaman dan berperan sebagai penolak nutrisi (antinutrient) dan penghambat enzim (enzim inhibisi) sehingga mengakibatkan rendahnya hidrolisis pati dan menurunkan respon terhadap gula darah pada hewan (Matsushita, dkk., 2002). Tanin adalah polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein, tanin juga dipakai untuk menyamak kulit. Tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis, kedua jenis tanin ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi. Kadar tanin yang tinggi pada daun sebesar 10,92% (Ummah, 2010).

Berdasarkan uraian di atas maka permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah apakah Ekstrak Biji Kapasan (*Abelmoschus moschatus* L. Medic), mengandung senyawa tannin

dan bagaimana bentuk spektrum senyawa tanin yang terkandung dalam Ekstrak Biji Kapasan (*Abelmoschus moschatus* L. Medic) secara Spektrofotometri Infra Merah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa tanin yang terkandung dalam Ekstrak Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L. Medic) secara Spektrofotometri Infra Merah. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh data ilmiah biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L. Medic), sehingga penggunaannya sebagai obat tradisional tidak hanya berdasarkan pengalaman, tetapi telah didukung dengan data ilmiah.

Metode

Jenis penelitian ini adalah eksperimental yang dilakukan di laboratorium di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Timur Makassar dan Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makassar dengan menggunakan biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L. Medic) asal Kabupaten Bombana Sulawesi Tenggara, Provinsi Sulawesi Selatan.

1. Ekstraksi Sampel

Biji kapas ditimbang 400 gram dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan dimasukkan cairan penyari etanol sebanyak 2/3 bagian dari sampel lalu ditutup dengan gabus yang berlubang dan dipasang pada kondensor diatas tangas air. Setelah terpasang kuat aliran air dan tangas air dijalankan hingga 4 jam. Setelah itu sampel disaring, ekstrak dan ampas ditampung dalam wadah yang berbeda. Ampas dimasukkan kembali dan dikerjakan seperti semula. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak etanol yang diperoleh dikumpulkan, kemudian dipekatkan dengan rotavapor untuk mendapatkan ekstrak etanol kental.

2. Partisi Cair-Cair

Ekstrak kental etanol ini dilakukan partisi cair-cair dengan menggunakan pelarut air, n-butanol, dan dietil eter dengan perbandingan (1:1:1) sebanyak 50 ml dengan menggunakan corong pisah. Kemudian diperoleh 2 jenis ekstrak yaitu ekstrak n-butanol dan ekstrak dietil eter.

3. Uji Pendahuluan Senyawa Tanin (Uji Warna)

Ekstrak sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi $FeCl_3$ kemudian dikocok, dan diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna coklat menunjukkan adanya tanin.

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebanyak 100 mg ekstrak metanol dilarutkan dalam 5 ml metanol kemudian ditotolkan pada lempeng KLT (3 x 7.5 cm), dikeringkan dan dielusi dengan menggunakan campuran eluen Etil asetat : n-Butanol : Air (3:14:1) bercak yang diperoleh dilihat pada sinar UV untuk identifikasi tanin.

5. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Diambil 100 mg ekstrak etanol dan tambahkan 10 mL etanol kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) (20 x 20 cm). lalu dielusi pada chamber yang telah dijenuhkan dengan eluen Etil asetat : n-Butanol : Air (3:14:1) dan sampai titik akhir elusi. Bercak noda berupa pita dideteksi pada sinar UV, kemudian pitanya dikerok lalu dilarutkan dengan etanol dan masing-masing ditampung dalam bentuk fraksi-fraksi untuk kemudian diidentifikasi dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

6. KLT Dua Dimensi (KLT 2D)

Ekstrak etanol ditotolkan berupa titik pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) (10 x 10 cm), dikeringkan lalu dielusi dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan Etil asetat : n-Butanol : Air (3:14:1) sampai titik akhir elusi. lempeng dikeringkan, bercak noda dideteksi dengan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Dilakukan elusi dua arah menggunakan eluen sama.

7. Identifikasi secara Spektrofotometri Infra Merah

Isolat aktif yang diduga golongan senyawa murni ditempatkan pada dua buah lempeng kristal dan dimasukkan dalam alat infra merah, kemudian diukur serapannya dan diamati spektrum yang dihasilkan.

8. Pengumpulan Data
Data yang diperoleh dikumpulkan.
9. Analisis Data
Data yang telah dikumpulkan dianalisis untuk selanjutnya dilakukan pembahasan dan menarik kesimpulan.

Hasil

Ekstrak etanol yang diperoleh dari hasil maserasi adalah 2,9 gram, hasil partisi cair-cair untuk ekstrak dietil eter sebanyak 31 mg dan ekstrak n-butanol sebanyak 19 mg.

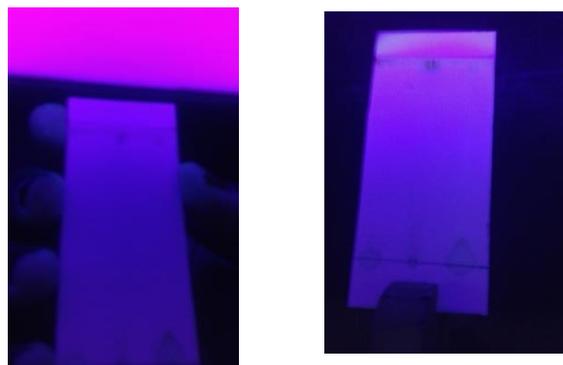


Gambar 1. Tumbuhan dan Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic)

Hasil identifikasi dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Hasil Uji Pendahuluan dan Hasil Kromatografi Lapis Tipis Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic) Eluen Etil asetat : n-Butanol : Air (3:14:1)

Ekstrak	Warna Noda		Nilai Rf	Keterangan
	UV 366 nm	Pereaksi FeCl ₃		
Etanol	-	-	-	-
n-Butanol	Coklat	Coklat	0,68	Positif
Air	-	-	-	-



Gambar 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic) Eluen Etil asetat : n-Butanol : Air (3:14:1) positif berwarna coklat

Tabel 2. Kromatografi Dua Dimensi Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic)

Fraksi	Arah I		Arah II	
	Warna Noda	Nilai Rf	Warna Noda	Nilai Rf
A	Coklat	0,68	Coklat	0,68

Gambar 3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi Biji Kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic)



Tabel 4. Hasil Analisis Spektrum Inframerah Senyawa dari Isolat Fraksi A

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas	Kemungkinan Gugus Fungsi	Bentuk Pita	Literatur
1	3444,87	Kuat	O-H	Lebar	3200-3500 (cm ⁻¹)
2	3008,07	Kuat	C-H aromatik	Sempit	2850-3000 (cm ⁻¹)
3	1714,72	Kuat	C=O	Sempit	1650-1900 (cm ⁻¹)
4	1678,07	Kuat	C=C alkena	Sempit	1600-1680 (cm ⁻¹)
5	800,46	Sedang	C aromatik	Tajam	690-900 (cm ⁻¹)

Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel biji kapas (*Abelmoschus moschatus* L.Medic) dari Kabupaten Bombana. Simplisia biji kapasan sebanyak 400 gram diekstraksi dengan metode refluks dalam 800 ml etanol 96% kemudian diperoleh ekstrak kering sebanyak 10 gram. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 96% karena etanol 96% merupakan pelarut yang bersifat semipolar yang dapat mengekstraksi senyawa non polar maupun senyawa polar yang terkandung dalam simplisia yang diteliti. Metode refluks digunakan untuk mengekstraksi simplisia biji kapasan karena tekstur biji keras sehingga memerlukan pemanasan untuk mengambil senyawa tannin yang diteliti dimana titik didih senyawa tanin cukup tinggi yaitu 250°C.

Ekstrak etanol biji kapas ini dipartisi (dipisahkan) senyawa nonpolar, semipolar, dan senyawa polar dengan menggunakan metode partisi cair-cair karena untuk menarik/memisahkan komponen kimia dari sampel berdasarkan tingkat kepolarannya. Pelarut partisi pertama yang digunakan adalah dietil eter karena dietil eter dapat melarutkan senyawa

semipolar yang masih terkandung dalam ekstrak etanol tersebut. Pelarut partisi kedua yang digunakan adalah n-butanol karena n-butanol dapat melarutkan senyawa polar yang masih terkandung dalam ekstrak etanol tersebut. Air yang digunakan dalam partisi untuk memisahkan pelarut dietil eter dengan ekstrak etanol dengan bobot jenis etanol 0,8119-0,8139, akan saling bercampur sehingga diperlukan air dengan bobot jenis 1 mg/ml lebih berat dari kedua pelarut tersebut.

Untuk identifikasi pertama-tama dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 1 % dan menghasilkan warna coklat pada ekstrak n-butanol. Hal ini terjadi karena FeCl_3 1 % untuk mengetahui perubahan warna pada senyawa tannin, sehingga senyawa tannin yang terkandung dalam ekstrak tersebut dapat diketahui dengan adanya perubahan warna menjadi coklat.

Identifikasi kedua dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dengan menggunakan cairan pengelusi/eluen yaitu etil asetat : n-butanol : air dengan perbandingan (3 : 14 : 1) yang merupakan eluen spesifik untuk senyawa tannin. Hasil kromatogram terdapat 1 noda pada ekstrak n-butanol dengan nilai R_f 0,68 dan berwarna coklat di penampak noda lampu UV 366 nm dan berwarna coklat setelah disemprotkan pereaksi warna FeCl_3 1% menunjukkan warna coklat.

Tannin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tannin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tannin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tannin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tannins*). Tannin terhidrolisiskan merupakan derivat dari asam galat yang teresterkan (Xu, 1991). Berdasarkan strukturnya, tannin ini dibedakan menjadi dua kelas yaitu, gallotanin dan ellagitanin.

Perbedaan struktur keduanya adalah adanya ester asam galat pada gallotanin dan ester asam heksahidroksidifenat (HHDP) pada ellagitanin. Kedua ester asam tersebut berikatan dengan glukosa. Ellagitanin yang dihidrolisis akan menghasilkan asam elagat (Harbone, 1996). Oksidasi perangkaian (*oxidative coupling*) pada gugus galoil dari gallotanin akan menghasilkan ellagitanin (Gross, 1992).

Banyaknya glukosa yang terkandung dalam ekstrak n-butanol inilah yang menunjukkan warna coklat. Hasil kromatogram pada metode KLT menunjukkan bahwa hanya ekstrak n-butanol yang positif diduga mengandung senyawa tannin sehingga dilakukan pengujian lebih lanjut dengan metode KLTP. Tujuan menggunakan KLTP yaitu untuk mengetahui bahan dalam jumlah gram. Dari pemisahan komponen kimia dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), dengan menggunakan eluen etil asetat : butanol : air dengan perbandingan (3 : 14 : 1), diperoleh 1 pita yang berwarna coklat selanjutnya pita-pita tersebut dikeruk dan ditampung dalam bentuk fraksi.

Identifikasi akhir untuk menentukan senyawa tannin yang terkandung dalam ekstrak n-butanol digunakan metode spektrofotometri infra merah dengan bilangan gelombang maksimal 4000 cm^{-1} untuk penentuan gugus fungsi senyawa tannin yang diduga terkandung dalam fraksi dari ekstrak n-butanol. Spektrofotometri infra merah digunakan karena untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa terutama senyawa organik.

Hasil spektrum infra merah menunjukkan serapan pada daerah bilangan gelombang $3444,87 \text{ cm}^{-1}$ adalah gugus O-H, dengan intensitas kuat dan bentuk pitanya yaitu lebar, pada daerah bilangan gelombang $3008,07 \text{ cm}^{-1}$ adalah gugus fungsi C-H aromatik dengan intensitas kuat dan bentuk pitanya yaitu sempit dan pada daerah bilangan gelombang $1714,72 \text{ cm}^{-1}$ adalah gugus C=O, dengan intensitas kuat dan bentuk pitanya yaitu sempit, pada daerah bilangan gelombang $1678,07 \text{ cm}^{-1}$ adalah gugus C=C alkana dengan intensitas kuat dan bentuk pitanya yaitu sempit, pada daerah bilangan gelombang $800,46 \text{ cm}^{-1}$ adalah gugus fungsi C aromatik dengan intensitas sedang dan bentuk pitanya yaitu tajam. Adanya gugus

fungsi O-H, C=O, C=C alkena, C aromatik dan C-H aromatik dimana semua gugus fungsi ini diduga merupakan golongan senyawa tannin yang terhidrolisis.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap biji kapas (*Abelmoschus moschatus* L. Medic) yang diperoleh dari Kabupaten Bombana Sulawesi Tenggara Dengan Metode Spektrofotometri Infra Merah maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kapas diduga mengandung senyawa tannin yang terhidrolisis. Adanya gugus fungsi O-H, C=O, C=C alkena, C aromatik dan C-H aromatik dimana semua gugus fungsi ini diduga merupakan golongan senyawa tannin yang terhidrolisis. Dalam bidang ilmu farmasi digunakan sebagai obat sumber terapi medis yang efektif dan penting, misalnya sebagai obat anti bakteri dan anti kanker.

Referensi

- Agromedia, 2008, *Buku Pintar Tanaman Obat* Jilid 1. Agromedia pustaka.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenik*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta
- Farnsworth, N.R., 1966, *Biological and Phytochemical Screening of Plants*, J. Pharm. Sci., Vol 55, 3, Hal. 225-276.
- Gitter, R.J, 1991, *Pengantar Kromotografi Edisi II*, Penerbit ITB Bandung.
- Gross, G.G. 1992. *Enzymes in The Biosynthesis of Hydrolyzable Tannins*. In Hemingway, R.W. and P.E.Laks (ed.). *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, and Significance*. New York: Plenum Press.
- Gunawan D. 2010. *Ramuan Tradisional Untuk Keharmonisan Suami Istri*. Cetakan Ketiga Penebar Swadaya. Jakarta
- Harborne, J., 1996, *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Edisi II, Penerbit ITB, Bandung
- Lau, W.S 1999. *Karakterisasi inframerah untuk Mikroelektronik*. World Scientific.
- Makhmud, AI. 2001. "Metode Pemisahan". Departemen Farmasi Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Maryani, H., 2003. *Sehat Dengan Ramuan Tradisional: Tanaman Obat Untuk Mengatasi Penyakit Pada Usia Lanjut*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Matsushita, H., dkk., 2002. *Porcine Pancreatic Amylase Shows Binding Activity Toward N-Linked Oligosaccharides Of Glycoproteins*. *The Journal Of Biological Chemistry*, 277, 4680-4686
- Mulja, M., dan Suharman 1995. *Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Tandi Herbie, 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat*. Octopus Publishing House. Yogyakarta.
- Ummah, Mk., 2010. *Ekstraksi Dan Pengujian Aktifitas Antibakteri Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (Avverhoa bilimbi L) (Kajian Variasi Pelarut)*, Skripsi Kimia UIN Malang, Malang.