



# PharmaCine

## Journal of Pharmacy, Medical and Health Science

<https://journal.unsika.ac.id/>  
Volume 02 Nomor 01 Maret 2021  
ISSN : 2746-4199

Review Artikel

### Metode Pemisahan Fitokimia Tanin pada Tanaman Herbal Indonesia

Wildani Zakiyah<sup>1\*</sup>, Annastya Eka Agustin<sup>1</sup>, Anisa Fauziah<sup>1</sup>, Dhavina Maharani<sup>1</sup>, Galih Ibnu Mukti<sup>1</sup>  
\*email korespondensi : 1910631210020@studet.unsika.ac.id

<sup>1</sup>Universitas Singaperbangsa Karawang

#### Abstrak

Pemisahan kimia adalah cara untuk memisahkan bagian tertentu dari suatu campuran. Pemisahan fitokimia secara umum sistematisnya adalah pembuatan simplisia, skrining, ekstraksi, fraksinasi, isolasi, dan identifikasi senyawa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tahapan pemisahan yang cocok terhadap senyawa tannin yang cenderung polar, baik tannin terkondensasi atau proantosianidin maupun tannin terhidrolisis. Metode penelitian ini dengan melakukan penelusuran terhadap beberapa literatur jurnal ilmiah yang telah terpublikasi sebagai acuan penulisan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sejumlah tanaman yang dijadikan sampel terbukti memiliki kandungan tannin. Hal ini dilakukan melalui beberapa metode pemisahan yang efektif yakni, fraksinasi berupa ECC atau kromatografi, isolasi berupa KLT atau KLTP, serta pengidentifikasian senyawa melalui Spektrofotometer UV-VIS dan FTIR.

**Kata Kunci:** pemisahan, ekstraksi, fraksinasi, isolasi, tannin

### *The Method of Separating Tannin Phytochemistry in Indonesian Herbs*

#### **Abstract**

*Chemical separation is a way of separating certain parts of a mixture. In general, the systematic separation of phytochemicals is the manufacture of simplicia, screening, extraction, fractionation, isolation, and identification of compounds. The purpose of this research is to knowing the appropriate separation steps for tannin compounds that tend to be polar, either condensed tannins or proanthocyanidins and hydrolyzed tannins.. We use a conduct a search on several scientific journal literature that has been published as a writing reference. The result indicate that in a number of plants that were sampled proven to contain tannins. This is done through several effective separation methods, fractionation in the form of ECC or chromatography, isolation in the form of TLC or PTLC, and identification of compounds through UV-VIS spectrophotometer and FTIR.*

**Keywords:** separation, extraction, fractionation, isolation, tannins

## Pendahuluan

Fitokimia adalah salah satu cabang ilmu kefarmasian yang erat kaitannya dengan bahan alam baik tanaman, hewan, maupun mineral. Fitokimia adalah cabang ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Definisi pemisahan kimia menurut Rony adalah “suatu cara untuk memisahkan bagian tertentu dari suatu campuran”. Ada beberapa tahapan yang termasuk dalam pemisahan fitokimia secara umum sistematisnya adalah pembuatan simplisia, skrining simplisia ekstraksi simplisia, fraksinasi simplisia, isolasi senyawa, dan identifikasi senyawa. Pemisahan senyawa bahan alam bertujuan untuk menelaah struktur senyawa, mengisolasi senyawa model atau marker, sebagai bahan baku sediaan dalam bentuk ekstrak atau fraksinya, sebagai bahan untuk dilakukan uji farmakologi pada hewan percobaan.

Pada tahapan ekstraksi dilakukan isolasi senyawa dalam suatu campuran baik larutan ataupun padatan dengan menggunakan pelarut yang sesuai untuk mendapatkan hasil berupa ekstrak. Ekstraksi berdasarkan bentuknya ada ekstraksi padat-cair dengan rafinat berupa padatan dan ada ekstraksi cair-cair

dengan rafinat berupa cairan. Umumnya, ekstraksi yang dilakukan pada simplisia senyawa bahan alam adalah ekstraksi padat cair. Ekstraksi padat cair sendiri dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, maserasi-perkolasi, refluks, dan soklet. Ekstraksi berdasarkan energinya adalah ekstraksi dingin yang tidak melibatkan panas danamun cocok untuk semua bahan alam terutama yang sifatnya belum diketahui. Adapula ekstraksi panas yang menggunakan energi panas untuk bahan alam yang tahan terhadap pemanasan,

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dengan hasilnya disebut dengan fraksi. Fraksinasi terdiri dari ECC dan kromatografi. ECC biasanya lebih sering menggunakan corong pisah dibandingkan dengan alat craig. Kromatografi terdiri dari dua jenis yakni kromatografi cair datar dan kromatografi kolom. Review ini dilakukan untuk mengetahui tahapan pemisahan yang cocok untuk dilakukan terhadap senyawa tanin yang cenderung polar karena seluruh jenis tanin baik tanin terkondensasi atau proantosianidin maupun tanin terhidrolisis (gallotanin dan ellagitanin) akan larut dalam air.

## Metodologi

Dalam penyusunan review artikel ini, penulis melakukan penelusuran terhadap beberapa literatur jurnal ilmiah yang telah terpublikasi sebagai acuan penulisan. Secara keseluruhan literatur yang kami gunakan terdapat sebanyak 3 jurnal utama dan 4 jurnal pendukung yang teraktual dari 10 tahun terakhir. Kata kunci yang digunakan untuk mempermudah dalam pencarian jurnal diantaranya : pemisahan ; ekstraksi ; fraksinasi ; isolasi ; tannin.

## Hasil

Berdasarkan hasil penelitian terhadap sejumlah tanaman, ditemukan adanya keberadaan senyawa tannin yang terkandung di dalamnya. Hal ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan tanin dalam tanaman

Jenis Tanaman	Keberadaan Senyawa Tanin		Keterangan
	Ada	Tidak Ada	
Daun Trembesi	√		Tannin terhidrolisis
Daun Belimbing Wuluh	√		Flavan-3,6,7,4',5'-pentaol
Kulit Kelapa Gading	√		

Diketahui bahwa ketiga jenis tanaman positif mengandung tannin. Pada daun trembesi, setelah dilakukan isolasi

senyawa serta identifikasi melalui spektrofotometer UV-VIS dan FTIR dengan gelombang IR 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  diduga sampel positif mengandung tannin terhidrolisis.

Metode yang sama juga dilakukan terhadap pengidentifikasian tannin pada daun belimbing wuluh. Melalui isolasi serta identifikasi senyawa dengan spektrofotometer UV-VIS (di bawah sinar UV 254 dan 366 nm) dan FTIR pada gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  didapatkan jenis senyawa tannin berupa flavan-3,6,7,4',5'-pentaol.

Pada pengidentifikasian kulit kelapa gading juga dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa tannin dengan spektrofotometer UV-VIS (200 – 800 nm) serta FTIR pada gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  dinyatakan bahwa sampel juga positif mengandung tannin.

## Pembahasan

Pada uji metode pemisahan tannin, dilakukan penelitian terhadap beberapa tanaman yang diduga memiliki kandungan metabolit sekunder tanin di dalamnya. Adapun sampel dari tanaman yang digunakan meliputi daun trembesi, daun belimbing wuluh dan kulit kelapa gading melalui metode fraksinasi dan

isolasi untuk dilakukan pemisahan fitokimia.

### ***Fraksinasi Daun Trembesi***

Ekstrak pekat yang sudah didapatkan pada proses ekstraksi akan dilarutkan dengan etanol : air (3:7) kemudian diuapkan untuk menghilangkan etanolnya. Ekstrak tersebut dipartisi dengan pelarut n- heksana (non-polar), kloroform (semi-polar) dan aseton (semi-polar).<sup>1</sup>

### ***Isolasi Senyawa Tanin pada Daun Trembesi Melalui Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)***

Pemisahan senyawa dengan metode KLTP menunjukkan pemisahan terbaik yaitu pada pemisahan dengan menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5). Hasil dari pemisahan KLTP dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) adalah noda atau bercak sebanyak 6 pita yang dapat dilihat dengan lampu UV 366 nm. Isolat 2 dan 3 menunjukkan hasil positif mengandung tanin terhidrolisis karena terdapat intensitas warna yang sama.<sup>1,2,3</sup>

### ***Identifikasi Senyawa Tanin Daun Trembesi dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR***

Untuk mengetahui adanya senyawa tanin pada metode spektrofotometer FTIR dapat dilihat berdasarkan gelombangnya, pada gelombang IR 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya senyawa tanin. Isolat 2 dan 3 hasil KLTP dari ekstrak aseton daun trembesi menunjukkan adanya senyawa tanin terhidrolisis.<sup>3</sup>

### ***Fraksinasi Daun Belimbing Wuluh***

Ekstrak daun belimbing wuluh difraksinasi dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak diambil sebanyak 4 ml lalu ditambahkan dengan 25 ml kloroform kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah (kloroform) dipisah dan lapisan atas (air) sebanyak 1 mL ditambahkan 25 mL etil asetat dan terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas (etil asetat) dipisahkan dan lapisan bawah dipekatkan menggunakan vacuum rotary evaporator.<sup>4</sup>

### ***Isolasi Tanin pada Daun Belimbing Wuluh Melalui KLT Analitik dan KLT Preparatif***

Pada proses isolasi dengan KLT analitik digunakan plat silika G 60 F254 yang telah diaktifkan dengan dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 10

menit. Plat yang digunakan berukuran 1 cm x 10 cm. Masing-masing plat ditotolkan ekstrak tanin pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak toluene : etil asetat (3:1), etil asetat : metanol : asam asetat (6:14:1) dengan pendeteksi aluminium klorida 5 %, n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), metanol : etil asetat (4:1) dengan pendeteksi  $AlCl_3$  1 %, dan campuran etil asetat : kloroform : asam asetat 10 % (15:5:2). Elusi dihentikan ketika noda sudah mencapai garis batas. Noda yang terbentuk diukur nilai  $R_f$  nya, selanjutnya ditentukan perbandingan larutan pengembang yang paling baik untuk keperluan preparatif. Dengan menggunakan lampu UV-Vis pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dilakukan pemeriksaan terhadap noda yang terbentuk.<sup>4</sup>

Pada KLT analitik didapatkan larutan pengembang terbaik adalah n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), maka pada KLT preparatif akan digunakan larutan ini. KLT preparatif menggunakan plat silika G 60 F254 dengan ukuran 10x20 cm. Ekstrak pekat hasil ekstraksi dilarutkan dengan aseton-air, kemudian ditotolkan pada plat dengan jarak 1 cm

dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi. Selanjutnya di elusi dengan menggunakan larutan yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT analitik yaitu BAA. Proses elusi dihentikan ketika noda sudah mencapai garis batas, dan dihitung nilai  $R_f$ nya. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan terhadap noda-noda yang terbentuk menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.<sup>4</sup>

#### ***Identifikasi Senyawa Tanin Daun Belimbing Wuluh dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR***

Penentuan spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M,  $AlCl_3$  5%,  $AlCl_3$  5%/HCl, NaOAc, NaOAc/ $H_3BO_3$  dapat dilihat dalam Tabel 2.

Dari data spektrum pada Tabel 2 didapatkan senyawa tanin yang mungkin dari hasil KLT preparatif di bawah sinar UV 254 dan 366 nm adalah isolat 2. Hal ini dikarenakan isolat 2 memiliki panjang gelombang maksimum yang hampir sama dengan tanin standard.

Sesudah dilakukan pemisahan senyawa dengan KLT preparatif, didapatkan isolat yang diduga merupakan senyawa tannin dengan

diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Sebanyak 0,2 g pelet KBr ditambahkan dengan satu tetes isolat yang diduga senyawa tanin, kemudian dikeringkan dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR merek IR Buck M500 Scientific pada panjang gelombang

Tabel 2. Data spektrum UV-Vis dari isolat sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser.

Pereaksi	Panjang gelombang			Pergeseran Panjang Gelombang			Dugaan distribusi		
	Isolat		Isolat	Isolat			Isolat		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
----	331,0	331,0	-	-	-	-	-	-	-
NaOH	341,5	333,5	-	+10,5	+2,5	-	4'-OH	4'-OH	-
NaOH 5 menit	341,5	333,0	-	+10,5	+2,0	-	4'-OH	4'-OH	-
AlCl <sub>3</sub> 5 %	328,0	331,0	-	-3,0	tetap	-	Mungkin cincin A	<i>o</i> -di OH pada cincin A	Mungkin <i>o</i> -diOH pada cincin A
AlCl <sub>3</sub> 5 % + HCl	331,0	333,0	-	tetap	+2,0	-	Mungkin cincin A	<i>o</i> - diOH pada cincin A	Mungkin <i>o</i> -di OH pada cincin A
NaOAc	329,0	329,0	-	-2,0	-2,0	-	Gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH	Gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-di OH	-
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	330,0	331,5	-	-1,0	+0,5	-	<i>o</i> -diOH A (6,7) atau (7,8)	pada cincin <i>o</i> -diOH cincin A (6,7) atau (7,8)	pada A

4000-400 cm<sup>-1</sup>. Pada proses ini dilakukan untuk memperkuat dugaan bahwa dalam isolat 2 hasil pemisahan tanin dengan KLT preparative mengandung senyawa tanin. Dari hasil

pemisahan ekstrak (isolat 2) daun belimbing wuluh dengan KLT didapatkan jenis senyawa tannin berupa flavan-3,6,7,4',5'-pentaol atau flavan 3,7,8,4',5'-pentaol.<sup>5</sup>

### ***Fraksinasi Kulit Kelapa Gading***

Melarutkan ekstrak kulit kelapa gading seberat satu gram dengan aseton:air perbandingan 7:3. Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik dengan fase diam silika gel 60 GF254 lalu, di totolkan di atas pelat KLT kira-kira 1 cm dari bawah plat didiamkan hingga kering. Kemudian, pelat KLT dimasukkan dalam bejana eluen n – butanol:asam asetat:air menggunakan perbandingan sebesar 4:1:5.<sup>6</sup>

### ***Isolasi Senyawa Tannin pada Kulit Kelapa Gading Melalui Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)***

Mengisolasi kulit kelapa gading menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dengan pelarut yang sama yaitu n – butanol:asam asetat:air perbandingan 4:1:5 dan fase diamnya silika gel GF 254 ukuran 10x20 cm. Setelah dielusi, didapatkan bercak yang diduga sebagai tannin dan dikerok untuk melarutkannya dengan aseton:air yaitu 7:3. Pengujian selanjutnya adalah uji kemurnian tannin menggunakan KLT dua dimensi. Dari isolasi menggunakan KLT Preparatif didapatkan bahwa hasilnya cukup murni. Hal ini, diketahui dengan melakukan pengujian menggunakan KLT dua dimensi dan hanya menghasilkan satu bercak saja.<sup>6</sup>

### ***Identifikasi Senyawa Tanin Kulit Kelapa Gading dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR***

Dilakukan menggunakan dua alat yaitu Spektrofotometer UV-VIS dan FTIR. Pada spektrofotometer UV-VIS sampel yang sudah murni berupa isolat sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam kuvet. Lalu spektrum isolat diperhatikan dengan panjang gelombang 200 – 800 nm. Hasil maksimal yang didapatkan ialah 333 nm. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang hampir sama pada tanaman daun belimbing wuluh pada panjang gelombang 331 nm (Sa'dah, 2010). Hal ini diperkuat melalui pereaksi geser yang antara lain NaOH 2M, NaOH 2M selama 5 menit, AlCl<sub>3</sub> 5%, AlCl<sub>3</sub> yang direaksikan dengan HCl, NaOAc, dan NaOAc ditambahkan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Hasil pengamatan memperlihatkan terdapat isolat yang mengalami substitusi OH terletak di orto pada cincin A.

Pengujian kedua menggunakan spektrofotometer FTIR digunakan sampel yang sudah murni berupa isolat tetapi yang sudah kering di reaksikan sebanyak 0,2 gram pelet Kalium Bromida. Di amati dalam bilangan gelombang 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Gugus Fungsi yang sesuai bagi tanin antara lain hasil menunjukkan terdapat

rentang asimetri OH di bilangan 3424,96  $\text{cm}^{-1}$ , rentang CH sp<sup>3</sup> di bilangan 2923,56  $\text{cm}^{-1}$ , rentang cincin aromatik di bilangan 1635,34  $\text{cm}^{-1}$ , Gugus fungsi C-O alkohol sekunder di bilangan 1130,08  $\text{cm}^{-1}$ , dan cincin aromatik mengalami substitusi pada orto di bilangan 759,816  $\text{cm}^{-1}$ . Hasil dari kedua pengujian tersebut menyatakan bahwa isolat dari Kromatografi Lapis Tipis Preparatif berupa tannin.<sup>7</sup>

### Simpulan

Pemisahan tannin baik pada daun trembesi, daun belimbing wuluh maupun kulit kelapa gading dapat dilakukan melalui metode fraksinasi berupa ECC ataupun kromatografi. Kemudian dilakukan isolasi melalui KLT dan KLTP untuk mendapatkan isolat murni yang nantinya akan diidentifikasi lebih lanjut menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Maka didapatkan isolat dari ketiga sampel yang diketahui adanya keberadaan tannin.

### Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Ibu Lely Sulfiani Saula, S.Farm., M.Si atas segala bimbingan dan arahannya, sehingga kami dapat menyelesaikan review artikel ini dengan baik tanpa kendala yang berarti.

Ucapan terima kasih juga kami tujukan kepada rekan-rekan yang ikut berkontribusi dalam penyusunan review artikel ini.

### Pendanaan

Penelitian ini ialah penelitian secara mandiri dimana tidak menggunakan dana hibah dari instansi manapun yang terkait.

### Konflik Kepentingan

Dengan ini kami sebagai penulis menyatakan bahwa tidak mengandung unsur yang menimbulkan potensi konflik kepentingan dalam hal melakukan penelitian, cara penulisan, dan dalam publikasi artikel ini.

### Daftar Pustaka

1. Kharisma Krisna P, Dwi Wahyuni, Rosa J. Hesturini, dan Agustina D. Lestari. Uji Aktivitas Analgesik Daun Trembesi (*Samanea Saman (Jacq.) Merr.*). Jurnal Wiyata. 2020; 7(2) :138-146.
2. Kristianto, A., Winata, I. N. A., & Haryati, T. Pengaruh Ekstrak Kasar Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) pada Pengolahan Air. Berkala Sainstek. 2014; 2(1) :54-58.
3. Hayati, E. K., Fasyah, G., & Sa'adah, L. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh

- 
- (Averrhoa bilimbi L.). Jurnal Kimia. 2010; 4(2) :193–200.
4. Lestari Tresna dan Sidik Yusup. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Ekstrak Air Kulit Batang Kelapa Gading. Jurnal Kesehatan Bakti Tuna Husada. 2013; 9(1) :22–27.
  5. Putri Nia Basita, Auliya Nurhikmatul, dan Mustariani Baiq Ayu Aprilia. Uji Toksisitas Ekstrak Batang Kelapa Gading (*Cocos nucifera* varietas *eburneo*) Sebagai Kandidat Anti Tumor Melalui Uji BSLT. *Pharmaceutical and Traditional Medicine*. 2019; 3(1) :1–7.
  6. Puspita Putu Sari, Wiwik Susannah Rita, dan Ni Made Puspawati. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman (Jacq.) Merr*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli (E. coli)*. Jurnal Kimia. 2015; 9(1): 27-34
  7. Setiawan Sarno, Yusuf Nasrulloh. Penggunaan Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman (Jacq.) Merr*) sebagai Inhibitor Organik untuk Mereduksi Laju Korosi Logam Baja Karbon. Jurnal Mahasiswa. 2019; 12(1): 83-87