

PENETAPAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Mukhriani, Faridha Yenny Nonci, Mumang

Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

ABSTRACT

Researched about The Total Tannin Assay Extract of Black Cumin Seeds (*Nigella sativa*) with Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. This research aims to determine the levels of total tannin extract of black cumin seeds (*Nigella sativa*). The method used is multilevel maceration using n-hexane and ethanol 70%. Extracts were identified using FeCl₃ reagent and gelatin solution showed positive results containing tannin on the ethanol 70% extract. The extracts that positive containing tannins diluted, added Folin Denis reagent and saturated sodium carbonate, then read at 740 nm wavelength. Forming reaction was the oxidation reduction where tannin as reductant and Folin Denis as an oxidant. The results of oxidation will form a blue color that can be read at maximum wavelength. Based on the regression $y = 0.004x + 0.097$ and 0.996 for determination coefficient, was gained an average of tannin levels in the ethanol extract of black cumin seeds (*Nigella sativa*) is 4, 13 %.

Keywords : Black Cumin Seeds, Tannin, Ultraviolet-Visible Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat Indonesia semakin banyak dimanfaatkan baik sebagai obat tradisional Indonesia (jamu), obat herbal terstandar ataupun fitofarmaka. Berbagai penelitian dan pengembangan yang memanfaatkan kemajuan teknologi juga dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat meningkatkan kepercayaan terhadap manfaat obat bahan alam tersebut. Obat tradisional dibuat dalam bentuk ekstrak karena

tanaman obat tidak lagi praktis jika digunakan dalam bentuk bahan utuh (simplicia). Ekstrak tersebut harus pula terstandarisasi untuk menjamin mutu dan keamanannya (Anam, dkk. 2013: 2).

Nigella sativa atau yang dikenal sebagai jintan hitam telah lama digunakan untuk meningkatkan kesehatan dan melawan penyakit. Kandungan kimia *Nigella sativa* terdiri atas asam amino, protein, karbohidrat, minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan berbagai kandungan lain (Indah, 2009: 10).

Agar khasiat dan kualitas ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) ini dapat terjamin, maka perlu dilakukan suatu standar mutu produk/bahan ekstrak dengan melakukan standarisasi ekstrak. Standarisasi dilakukan agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam yang akhirnya dapat menjamin efek farmakologi tanaman tersebut (Anam, dkk. 2013: 2).

Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Selain itu tanin juga bermanfaat sebagai pelindung tanaman ketika masa pertumbuhan dari bagian tertentu tanaman, misalnya pada bagian buah, saat masih muda akan terasa pahit dan sepat (Malangngi, 2012: 5).

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai penetapan kadar tanin total dari ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan dalam penelitian ini adalah biji jintan hitam (*Nigella sativa*) yang dikirim dari Mesir, aquabidestilata, asam tanat p.a, etanol 70%, FeCl₃ 5%, folin denis p.a, gelatin 1%, heksan, NaCl 2% dan Na₂CO₃ jenuh.

Penyiapan Sampel

Sampel yang telah dikumpulkan kemudian dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan air bersih, kemudian diangin-anginkan ditempat yang tidak terkena langsung sinar matahari. Setelah kering, sampel diserbukkan, kemudian diayak. Sampel siap untuk diekstraksi.

Metode Ekstraksi

Sampel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) yang telah diserbukkan di timbang sebanyak 1 kg dimasukkan dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70 %. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 24 jam ditempat terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ampas diekstraksi kembali dengan n-heksan yang baru dengan jumlah yang sama. Ekstrak n-heksan yang diperoleh diuapkan cairan penyarinya menggunakan evaporator sampai diperoleh ekstrak heksan kental.

Uji Kualitatif Tanin

Sebanyak 2 gram ekstrak etanol biji jintan hitam diekstraksi aquades panas kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan 1 ml NaCl 2% dan disaring. Filtrat dibagi 2 bagian A dan B. Filtrat A ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃ 5%. Positif tanin apabila terbentuk warna hitam kebiruan. Filtrat B diambahkan gelatin. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya tanin.

Penetapan Kadar Tanin

Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat 1000 ppm

0,1 gram asam tanat dilarutkan dalam 100 ml aquades. Larutan standar ini harus selalu dibuat baru tiap kali akan melakukan pengujian (Cunnif, 1996). Dibuat seri pengenceran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Diambil masing-masing 1 ml dari seri pengenceran dan dimasukkan ke dalam wadah labu tentukur 10 ml yang berisi 7,5 ml aquabidestilata. Ke dalam labu tersebut ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin denis, didiamkan 3 menit dan ditambahkan 1 ml larutan Na_2CO_3 jenuh, diinkubasi selama 15 menit. Kemudian serapannya dibaca pada panjang gelombang 740 nm.

Penetapan panjang gelombang serapan maksimum

Diambil salah satu konsentrasi larutan baku, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum

Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan hasil serapannya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 740 nm.

Penetapan Kadar Tanin

Sebanyak 0,5 gram maserat ditimbang dan dilarutkan dengan aquabidestilata sampai 10 ml. Jika belum larut sempurna bisa dibantu dengan alat yang berfungsi untuk menghomogenkan larutan. Dipipet 1,0 ml sampel dengan seksama, dimasukkan ke dalam wadah berukuran 10 ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilat. Ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin denis, didiamkan selama 3 menit, ditambahkan 1,0 ml larutan Na_2CO_3 jenuh. Diinkubasi selama 15 menit, kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi biji jintan hitam (*Nigella sativa*) yang ditimbang sebanyak 1 kg dengan pelarut etanol 70% sebanyak 18,73

Kandungan senyawa kimia yang berkhasiat terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) dan sebagai obat harus memenuhi syarat keamanan. Demikian pula dengan ekstrak tumbuhan itu sendiri dalam bentuk produk kefarmasian selain harus memenuhi persyaratan monografi bahan baku (simplisia), juga memiliki

persyaratan parameter-parameter standar umum dan spesifik (Depkes RI,2000).

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Senyawa tanin merupakan senyawa polifenol yang berada di tumbuhan, makanan dan minuman. Dapat larut dalam air dan pelarut organik.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang banyak digunakan dan cara pengerjaannya paling sederhana. Diekstraksi dengan pelarut etanol 70 % agar sanyawa tanin dapat tertarik. Tanin merupakan senyawa polar karena memiliki gugus hidroksi, sehingga untuk mengekstraksinya diperlukan senyawa-senyawa polar seperti air, etanol dan aseton.

Maserasi dilakukan dalam tiga tahap (3 × 24 jam) agar komponen kimia dalam biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat tertarik semua. Cairan penyari yang digunakan diganti setiap 24 jam. Proses ekstrasi yang terjadi yaitu cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel dan masuk kedalam rongga yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif disaring.

Untuk proses analisis kualitatif dilakukan dengan penambahan pereaksi

FeCl₃ dan larutan gelatin untuk menentukan apakah sampel mengandung tanin. Mula-mula penambahan pereaksi FeCl₃ terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tinta pekat menunjukkan adanya senyawa tanin dalam ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*). Reaksi antara tanin dan FeCl₃ membentuk senyawa kompleks. Selanjutnya dilakukan penambahan larutan gelatin pada ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*). Gelatin merupakan suatu protein, berdasarkan sifat tanin yang dapat menggumpalkan protein. Hasil positif dari ekstrak biji jintan hitam terbentuk endapan.

Pada pengukuran absorbansi tanin total untuk penentuan kurva kalibrasi asam tanat dengan panjang gelombang 740 nm didapat persamaan regresi $y = 0,004 x + 0,097$ dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,996. Nilai (r) yang mendekati satu menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear.

Pada penelitian ini kandungan tanin total ditentukan berdasarkan penambahan reagen pembentuk warna, yaitu folin denis. Pembentukan warnanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor dan folin denis sebagai oksidator. Prinsip dari metode folin denis adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur serapannya pada daerah sinar tampak.

Hasil penetapan kadar tanin total dari penelitian ini diperoleh kadar tanin dalam biji jintan hitam (*Nigella sativa*) sebesar 4,13 %.

KESIMPULAN

Kadar rata-rata tanin total dari ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) sebesar 4,13 %.

KEPUSTAKAAN

Anam, dkk. *Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Kayu Sanrego (Lunasia amara Blanco)*, Palu: Universitas Tadulako, 2013.

Cunnif, P., *Official Method Of Analysis Of AOAC International sixteenth edition Vol II, Published by AOAC international Suite 500, 481 North frederick Avenue Gaithersburg: Maryland 20877-2417 USA*, 1996.

Dirjen POM. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000.

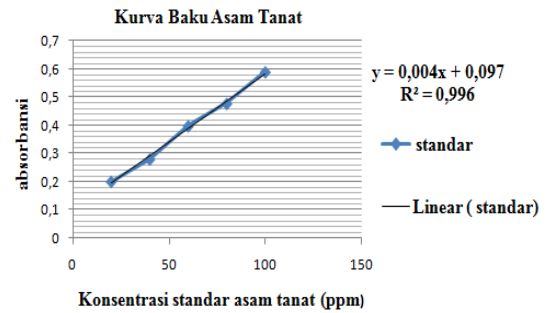
Indah, Ariestya Permata Sari. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Produksi NO Makrofag Mencit Balb/c yang Diinfeksi Salmonella typhimurium*. Semarang: Universitas Diponegoro, 2009.

Malangngi, Liberty P, dkk. *Jurnal Mipa Unsrat Online 1 "Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.)*. Manado: Jurusan Kimia FMIPA Unsrat, 2012.

Sampel	Jenis Pereaksi		Hasil
	+ NaCl + Gelatin	+ NaCl + FeCl ₃	
Ekstrak etanol	Endapan	Hitam kebiruan (Pekat)	+

LAMPIRAN

Tabel. Hasil Uji Kualitatif Tanin



Gambar 1. Kurva Baku Asam Tanat