

EKSTRAKSI TANIN DARI DAUN *PSIDIUM GUAJAVA* MENGUNAKAN METODE SOXHLET

Helda Niawanti, Fitri Yani, Mu'min Herman, Husnul Rafliansyah

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Mulawarman, Jl. Sambaliung No. 9,
Samarinda, Indonesia
[niawanti@ft.unmul.ac.id]

ABSTRAK

Daun *Psidium guajava* adalah bahan baku alami yang mengandung senyawa bioaktif, salah satunya adalah tanin. Tanin digunakan pada berbagai industri seperti tekstil, farmasi, kosmetik, dan makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh waktu ekstraksi dan rasio *solid-liquid* terhadap kandungan tanin ekstrak daun *Psidium guajava*. Daun segar dan kering diekstraksi dengan etanol dengan perbandingan *solid-liquid* 1/20 dan 1/60 (b/v). Temperatur ekstraksi pada suhu 80 °C dan waktu ekstraksi 30, 45, 60, 75, dan 90 menit. Kadar tanin tertinggi diperoleh pada waktu 60 menit dan perbandingan *solid-liquid* 1/20 (b/v) masing-masing sekitar 17 % dan 12 % untuk sampel daun kering dan basah. Sebaliknya, penambahan rasio pelarut tidak memberikan dampak yang signifikan terhadap peningkatan kandungan tanin yang diekstraksi. Penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan waktu ekstraksi meningkatkan perpindahan massa tanin sampai tercapai tahap kesetimbangan.

Kata kunci: ekstraksi, tanin, guava, soxhlet, etanol

ABSTRACT

Psidium guajava leaf is a natural raw material that contains bioactive compounds, one of which is tannin. Tannins are used in various industries such as textiles, pharmaceuticals, cosmetics, and food. This research aimed to study the effect of extraction time and solid-liquid ratio on the tannin content of Psidium guajava leaf extract. Fresh and dried leaves were extracted with ethanol in a solid-liquid ratio of 1/20 and 1/60 (w/v). The extraction temperature was 80 °C and the extraction time was 30, 45, 60, 75, and 90 minutes. The highest tannin content was obtained at 60 minutes, and the solid-liquid ratio of 1/20 (w/v) was about 17% and 12%, respectively, for dry and wet leaf samples. On the other hand, the solvent ratio's addition did not significantly impact increasing the extracted tannin content. This study shows that increasing the extraction time increases the mass transfer of tannins until an equilibrium stage is reached.

Keywords: extraction, tannin, guava, soxhlet, ethanol

1. PENDAHULUAN

Tanin merupakan senyawa bioaktif yang digunakan sebagai pewarna pada industri tekstil, pengawet makanan, dan juga sebagai bahan baku pada industri kosmetik dan obat-obatan. Tanin aman digunakan sebagai agen antibakteri dari bahan alami untuk mencegah pembusukan makanan pada industri makanan [1]. Tanin juga dapat digunakan sebagai pewarna alami karena struktur polifenol yang menghasilkan warna coklat dan sebagai agen untuk menghilangkan arsenik dari limbah cair [2,3]. Tanin adalah senyawa bioaktif yang merupakan bagian dari kelas polifenol dan dikategorikan menjadi dua kelompok yaitu tanin

terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis dapat dihidrolisis menjadi monomer menggunakan asam, basa, atau enzimatis [4,5].

Tanin dapat diproduksi secara sintetis dari bahan kimia dan dapat juga diproduksi melalui isolasi dari tanaman yang mengandung senyawa tanin. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai sumber bahan baku isolasi senyawa tanin adalah *Psidium guajava* (jambu). Selain tanin, *Psidium guajava* juga mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti kuarsetin, asam galat, rutin, dan flavonoid [6]. Bagian dari tanaman *Psidium guajava* yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah daun, yang mana daun juga mengandung senyawa tanin. Banyaknya manfaat dari senyawa tanin dan perlunya peningkatan nilai guna dari daun *Psidium guajava* berakibat pada urgensi penentuan metode yang tepat untuk isolasi senyawa tanin.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk isolasi tanin dari bahan alam menggunakan metode maserasi. Penelitian sebelumnya menggunakan metode maserasi untuk mengisolasi tanin dari daun jambu biji menggunakan pelarut organik. Waktu maserasi yang digunakan cukup lama hingga mencapai 24 jam. Akan tetapi, penelitian tersebut lebih berfokus untuk mengukur aktivitas antimikroba tanin pada mikroba patogen dan pengaruh tanin terhadap pertumbuhan morfologi sel *Escherichia coli* [7,8]. Penelitian oleh Aroonsrimorakot, dkk. membutuhkan waktu maserasi selama dua bulan pada suhu kamar menggunakan pelarut air untuk mengisolasi tanin dari jerami padi, daun teh, daun lengkung dan daun pisang [3]. Selain itu, beberapa penelitian sebelumnya terkait isolasi senyawa bioaktif dari *Psidium guajava* menggunakan metode maserasi juga menunjukkan bahwa metode tersebut memerlukan waktu ekstraksi yang panjang [9–13]. Waktu maserasi yang panjang mengakibatkan metode ini tidak efisien untuk industri.

Metode lain yang dapat digunakan untuk isolasi senyawa bioaktif adalah *soxhlet*. Metode ini merupakan jenis dari ekstraksi *solid-liquid* yang dilakukan dalam beberapa siklus dan menggunakan pemanasan. Metode *soxhlet* memerlukan jumlah pelarut yang lebih sedikit dan waktu ekstraksi yang lebih singkat dibandingkan dengan maserasi [14]. Beberapa penelitian tentang ekstraksi tanin menggunakan metode *soxhlet* dari bahan alam telah dilakukan yaitu *Acacia xanthophloea*, *Averrhoa bilimbi*, *Pithecellobium jiringa*, dan rumput laut [15–18]. Sehingga metode *soxhlet* sangat berpotensi diterapkan untuk ekstraksi tanin dari daun *Psidium guajava*.

Faktor yang berpengaruh pada ekstraksi *solid-liquid* adalah waktu ekstraksi dan rasio antara zat terlarut dan pelarut. Studi tentang pengaruh waktu ekstraksi terhadap kadar tanin dari daun *Psidium guajava* belum pernah dilaporkan. Waktu operasi sangat berpengaruh terhadap ekstraksi karena semakin lama maka akan memperpanjang interaksi antara pelarut dengan padatan sehingga dapat memperbesar jumlah zat terlarut yang tertarik dari matriks padatan ke dalam pelarut. Akan tetapi, waktu ekstraksi yang terlalu lama tidak efisien dan meningkatkan biaya ekstraksi. Sedangkan rasio *solid-liquid* antara zat terlarut dan pelarut akan mempengaruhi perpindahan massa. Jumlah pelarut yang lebih sedikit akan menyebabkan larutan mencapai titik jenuh lebih cepat; sementara itu, kelebihan pelarut juga akan mengakibatkan biaya ekstraksi yang mahal. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh waktu ekstraksi dan rasio *solid-liquid* terhadap kadar tanin pada ekstraksi daun *Psidium guajava* menggunakan metode *soxhlet*.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Bahan

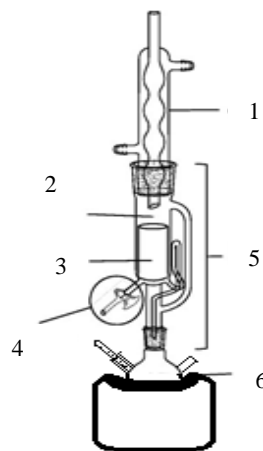
Daun *Psidium guajava* didapatkan dari Kota Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia. Semua pelarut dan bahan kimia yang digunakan berupa bahan pro analitik, yaitu asam sulfat (*Mallinckrodt*), *indigo carmine* dan asam oksalat (*Merck Ltd*), serta etanol 96 % dan kalium permanganat (*SAP Chemicals*). *Indigo carmine* sebagai indikator tersedia dalam bentuk padatan, sehingga perlu diubah menjadi cair sebelum digunakan sebagai titran sesuai dengan metode penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Niawanti, dkk. [16].

2.2. Ekstraksi dan Analisis Tanin dari Daun *Psidium guajava*

Daun *Psidium guajava* dipisahkan menjadi sampel daun segar dan kering. Daun segar dihancurkan menjadi potongan-potongan kecil dan dimasukkan sebanyak 25 g ke dalam *soxhlet* (Gambar 1). Sedangkan sampel kering dimasukkan ke dalam *soxhlet* setelah proses pengeringan pada suhu 80 °C menggunakan *oven*. Etanol 96 % digunakan sebagai pelarut, suhu ekstraksi 80 °C, dan perbandingan sampel daun dengan pelarut adalah 1/20 dan 1/60 (b/v). Ekstraksi dilakukan secara kontinyu dengan 20 mL ekstrak diambil untuk proses analisis pada waktu 30, 45, 60, 75, dan 90 menit. Sebelum dilakukan analisis tanin, ekstrak dipisahkan dari pelarutnya menggunakan destilasi. Proses pemisahan pada suhu 83 °C sehingga pelarut etanol berubah menjadi fase uap dan tanin tetap berada pada fase cair. Kemudian, kadar tanin dianalisis menggunakan metode titrasi berdasarkan Niawanti, dkk. (16) dan dihitung dengan persamaan (1):

$$\% \text{ Tanin} = \frac{(V - V_0) \times 0,004157 \times 600}{\text{massa sampel (g)} \times 25} \times 100 \% \quad (1)$$

dimana V adalah volume Kalium Permanganat 0,1 N sebagai titran pada titrasi sampel (mL), V_0 adalah volume Kalium Permanganat 0,1 N sebagai titran pada titrasi blanko (mL), 0,004157 setara dengan tanin dalam 1 mL Kalium Permanganat 0,1 N, 600 volume dari *volumetric flask* yang digunakan (mL) dan 100 adalah persen (%).



Keterangan gambar:

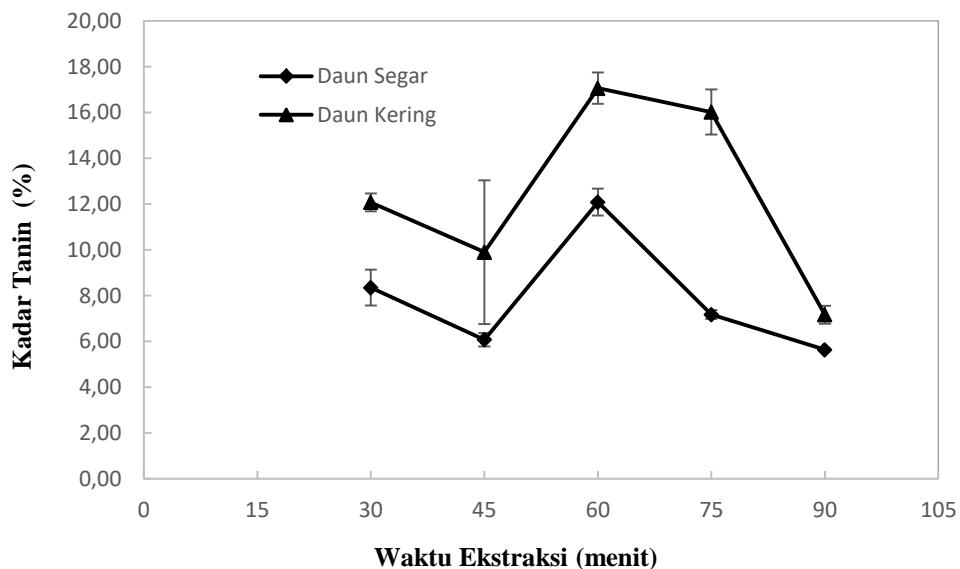
1. Kondensor
2. *Extraction chamber*
3. *Extraction thimble*
4. *Outlet valve*
5. *Soxhlet extractor*
6. *Round bottom flask*

Gambar 1. Rangkaian alat ekstraksi

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Waktu Ekstraksi Terhadap Kadar Tanin

Penelitian ini mempelajari pengaruh waktu ekstraksi terhadap kandungan tanin yang diperoleh dalam ekstrak *Psidium guajava*. Senyawa tanin sebagai zat terlarut terjerat dalam matriks padatan dan berpindah ke pelarut melalui pori-pori daun *Psidium guajava*. Tanin berdifusi keluar dari permukaan partikel padat, bergerak ke film di sekitar padatan, dan kemudian berpindah ke larutan. Semakin lama waktu ekstraksi akan meningkatkan rendemen ekstrak tanin karena semakin panjang interaksi antara zat terlarut dan pelarut. Namun, penentuan waktu yang optimal pada ekstraksi menggunakan metode *soxhlet* sangat penting karena metode ini menggunakan pemanasan yang apabila waktu ekstraksi terlalu lama akan memicu degradasi tanin. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap kadar tanin untuk sampel daun segar maupun daun kering disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap kadar tanin

Gambar 2 menunjukkan hasil yang diperoleh dari analisis kandungan tanin berdasarkan variasi waktu ekstraksi daun segar *Psidium guajava*. Seperti ditunjukkan pada Gambar 2, untuk rasio *solid-liquid* 1/20 (b/v), kandungan tanin turun dari $8,348 \pm 0,785$ % menjadi sekitar 6% pada ekstraksi 30-45 menit. Tanin yang diperoleh meningkat secara signifikan hingga mencapai $12,080 \pm 0,589$ % pada waktu ekstraksi 60 menit, menghasilkan kandungan tanin tertinggi. Kandungan tanin menurun drastis pada waktu ekstraksi 75 dan 90 menit hingga mencapai 5 % tanin pada akhir ekstraksi. Hasil ini menunjukkan bahwa waktu ekstraksi 60 menit adalah waktu yang optimal untuk ekstraksi tanin dari daun segar *Psidium guajava* dengan rasio zat terlarut dan pelarut sebesar 1/20 (b/v). Penambahan waktu ekstraksi setelah 60 menit tidak berguna karena kandungan tanin telah terekstraksi optimal pada menit ke-60, penambahan waktu hanya akan berpotensi menyebabkan degradasi tanin. Selain itu, semakin lama waktu ekstraksi maka konsentrasi tanin dalam pelarut telah berada dalam kesetimbangan sehingga laju difusi

tanin dari permukaan padatan ke pelarut sama dengan laju difusi tanin dari pelarut ke permukaan padatan.

Hasil ekstraksi tanin dari sampel daun segar dapat dibandingkan dengan daun kering untuk mempelajari pengaruh penghilangan kadar air pada efisiensi ekstraksi tanin. Kadar air daun *Psidium guajava* yang diukur dalam penelitian ini adalah 69,66 %. Kandungan tanin ekstrak daun kering menunjukkan pola yang sama dengan daun segar. Kadar tanin tertinggi diperoleh pada waktu ekstraksi 60 menit sebesar $17,058 \pm 0,686$ %. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa kandungan tanin tertinggi dari daun kering lebih tinggi dari sampel daun segar. Hasil ini sesuai dengan temuan beberapa penelitian bahwa pengeringan dengan oven (40 sampai 80 °C) pada sampel tanaman akan menghasilkan kandungan tertinggi pada ekstraksi senyawa fenolik [19–22].

3.2 Pengaruh Rasio *Solid- Liquid* Terhadap Kadar Tanin

Rasio *solid-liquid* antara zat terlarut dan pelarut berpengaruh pada fenomena perpindahan massa. Jumlah pelarut yang lebih sedikit akan menyebabkan larutan mencapai titik jenuh lebih cepat dan kelebihan pelarut akan mengakibatkan biaya ekstraksi yang mahal. Tabel 1 menunjukkan pengaruh rasio *solid-liquid* terhadap persentase tanin dalam ekstrak dari sampel daun kering.

Tabel 1. Pengaruh rasio *solid-liquid* terhadap kadar tanin pada sampel daun kering

Rasio <i>Solid-Liquid</i> (b/v)	Waktu Ekstraksi (menit)	Densitas (g/mL)	Kadar Tanin (%)
1/20	30	1,017	12,069 ± 0,392
	45	1,018	9,896 ± 3,135
	60	1,018	17,058 ± 0,686
	75	1,015	16,016 ± 0,983
	90	1,017	7,161 ± 0,392
1/60	30	1,013	6,700 ± 0,098
	45	1,014	7,180 ± 0,196
	60	1,013	7,878 ± 0,098
	75	1,013	0,689 ± 0,295
	90	1,012	0,887 ± 0

Tabel 1 menunjukkan bahwa persentase kadar tanin tertinggi untuk rasio *solid-liquid* 1/60 (b/v) juga didapatkan pada waktu ekstraksi 60 menit. Jika dibandingkan maka kadar tanin pada rasio *solid-liquid* 1/20 (b/v) lebih besar dibandingkan 1/60 (b/v). Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan kuantitas pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap laju difusi tanin dari matriks daun *Psidium guajava*. Fenomena tersebut dapat disebabkan karena ukuran sampel daun yang belum seragam dan cukup besar, sehingga luas permukaan menjadi kecil dan menghambat proses difusi. Kesimpulannya, temuan ini menunjukkan bahwa penambahan pelarut hanya membuat larutan lebih encer dan mengurangi kandungan tanin yang diekstraksi.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kering *Psidium guajava* menunjukkan kandungan tanin tertinggi pada 60 menit ekstraksi dan rasio *solid-liquid* 1/20 (b/v). Studi ini telah mengidentifikasi bahwa peningkatan waktu ekstraksi meningkatkan transfer massa

tanin. Selain itu, penambahan waktu ekstraksi setelah 60 menit untuk semua rasio *solid-liquid* tidak berdampak karena kemungkinan kandungan tanin telah terekstraksi secara optimal. Namun, hasil penelitian ini mungkin tidak berlaku untuk pelarut organik yang lain. Eksperimen lebih lanjut tentang pemodelan transfer massa diperlukan untuk memberikan informasi yang lebih lengkap.

REFERENSI

- [1] Jacob, C., Kirsch, G., Slusarenko, A., Winyard, P.G., 2014, *Recent Advances in Redox Active Plant and Microbial Products*, Springer, 211-232.
- [2] Yusuf, M., Shabbir, M., Mohammad, F., 2017, *Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects*, Nat Products Bioprospect., Vol. 7, No. 1, 123–145.
- [3] Aroonsrimorakot, S., Whangchai, N., 2019. *The Application of Tanin Extract from Plants to Reduce The Concentration of Arsenic*, Int J Agric Technol., Vol. 15, No. 2, 207–214.
- [4] Khanbabaee, K., Van Ree, T., 2001, *Tanins: Classification and Definition*, Nat Prod Rep., Vol. 18, No. 6, 641–649.
- [5] Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A.M., Saura-Calixto, F., 2009, *Tanins: Current Knowledge of Food Sources, Intake, Bioavailability and Biological Effects*, Mol Nutr Food Res., Vol. 53, 310–329.
- [6] Masud Parvez, G.M., Uzzaman, S., Miah, A.K., Mehjabin, S., 2018. *A Short Review on A Nutritional Fruit : Guava*, Open Access Toxicol Res., Vol. 1, No. 1, 1–8.
- [7] Mailoa, M.N., Mahendradatta, M., Laga, A., Djide, N., 2013, *Tanin Extract of Guava Leaves (Psidium Guajava L) Variation with Concentration Organic Solvents*, Int J Sci Technol Res., Vol. 2, No. 9, 106–110.
- [8] Mailoa, M.N., Mahendradatta, M., Laga, A., Djide, N., Fisheries, F.O., 2014, *Effectiveness of Tanins Extract From Leaf Guava (Psidium guajava L) on The Growth and Damage of Cell Morphology Escherichia coli*, Int J Adv Res., Vol. 2, No. 1, 908–914.
- [9] Zhu, X., Ouyang, W., Lan, Y., Xiao, H., Tang, L., Liu, G., Feng, K., Zhang, L., Song, M., Cao Y., 2020, *Anti-hyperglycemic and Liver Protective Effects of Flavonoids from Psidium guajava L. (guava) Leaf in Diabetic Mice*, Food Biosci., Vol. 35, 100574.
- [10] Sudira, I.W., Merdana, I.M., Qurani, S.N., 2019, *Preliminary Phitochemical Analysis of Guava Leaves (Psidium guajava L.) Extract As Antidiarrheal in Calves*, Adv Trop Biodivers Environ Sci., Vol. 3, No. 2, 21.
- [11] Mota, M.D., Costa, R.Y.S., Guedes, A.S., Silva, LCRC e., Chinalia, F.A., 2019, *Guava-Fruit Extract Can Improve The UV-Protection Efficiency of Synthetic Filters in Sun Cream Formulations*, J Photochem Photobiol B Biol., Vol. 201, 111639.
- [12] Garcia, R., Aguilera, A., Contreras-esquivel, J.C., 2008, *Extraction of Condensed Tanins from Mexican Plant Sources*, Z. Naturforsch, Vol. 63c, 17–20.
- [13] Abdel-Tawwab, M., Hamed, H.S., 2020, *Antagonistic Effects of Dietary Guava (Psidium guajava) Leaves Extract on Growth, Hemato-Biochemical, and Immunity Response of Cypermethrin-Intoxicated Nile Tilapia, Oreochromis Niloticus, Fingerlings*, Aquaculture Vol. 529, 735668.
- [14] Nn, A., 2015, *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation*, Med Aromat Plants, Vol. 04, No. 03, 3–8.
- [15] Duraisamy, R., Shuge, T., Worku, B., Kerebo B.A., M Ramasamy K., 2020, *Extraction, Screening and Spectral Characterization of Tanins from Acacia Xanthophloea (Fever Tree) Bark*, Res J Text Leather, Vol. 1, 1–10.

- [16] Niawanti, H., Putri, N.P., Rabimardani, N., Amalia, S., Lusiani, C.E., 2019, *Modeling of Tanin Mass Transfer on The Averrhoa bilimbi Leaf Extraction Using Box-Behnken Design*. *EurAsian J Biosci.*, Vol. 13, No. 2, 2327–2335.
- [17] Tambun, R., Husna, R., Fitri, M.D., Ginting, Y., Alexander, V., 2021, *The Use of soxhletation Method and Microwave-Assisted Extraction in Extracting Tanin from Jengkol Peel (Pithecellobium jiringa)*, *IOP Conf Ser Mater Sci Eng.*, Vol. 1122, 012092.
- [18] Petchidurai, G., Amruthraj, J., Sindhura, M., Sahayaraj, K., Murugesan, N., Pucciarelli, S., 2019, *Standardization and Quantification of Total Tanins, Condensed Tanin and Soluble PhloroTanins Extracted from Thirty-Two Drifted Coastal Macroalgae Using High Performance Liquid Chromatography*, *Bioresour Technol Reports*, Vol. 7, 100273.
- [19] Anwar, F., Zreen, Z., Sultana, B., Jamil, A., 2004, *Enzyme-aided Cold Pressing of Flaxseed (Linum usitatissimum L.): Enhancement in Yield, Quality and Phenolics of the Oil*, *Grasas y Aceites*, Vol. 55, No.4, 463–471.
- [20] Bernard, D., Kwabena, A., Osei, O., Daniel, G., Elom, S., Sandra, A., 2014, *The Effect of Different Drying Methods on the Phytochemicals and Radical Scavenging Activity of Ceylon Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) Plant Parts*, *European J Med Plants.*, Vol. 4, No. 11, 1324–1335.
- [21] Pham, H., Nguyen, V., Vuong, Q., Bowyer, M., Scarlett, C., 2015, *Effect of Extraction Solvents and Drying Methods on the Physicochemical and Antioxidant Properties of Helicteres hirsuta Lour. Leaves*, *Technologies*, Vol. 3, No. 4, 285–301.
- [22] Rodríguez, K., Ah-Hen, K.S., Vega-Gálvez, A., Vásquez, V., Quispe-Fuentes, I., Rojas, P., Mondaca, R.L., 2016, *Changes in Bioactive Components and Antioxidant Capacity of Maqui, Aristotelia chilensis [Mol] Stuntz, Berries During Drying*, *LWT - Food Sci Technol.*, Vol. 65, 537–542.