

**PENGURANGAN KADAR TANIN PADA EKSTRAK STEVIA REBAUDIANA
DENGAN MENGGUNAKAN KARBON AKTIF
(REDUCTION ON THE LEVELS OF TANNINS FROM STEVIA REBAUDIANA
EXTRACT USING ACTIVATED CARBON)**

**Triana Kusumaningsih^{*}, Nur Jannah Asrilya, Suci Wulandari, Dewi Restu Tri
Wardani, Khoirul Fatikhin**

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36 A, Ketingan Surakarta

* email: triana.kusumaningsih@yahoo.com

Received 10 June 2014, Accepted 25 February 2015, Published 01 March 2015

ABSTRAK

Ekstraksi tanin dari daun *Stevia rebaudiana* menggunakan pelarut etanol 30% dengan variasi suhu 30, 50, 70 dan 100 °C selama waktu 3 jam telah dilakukan. Pengurangan kadar tanin pada ekstrak stevia dilakukan dengan menggunakan karbon aktif.

Hasil penelitian menunjukkan berat ekstrak paling besar pada suhu 70 °C yaitu 1,008 g dan pH ekstrak relatif basa. Pengurangan kadar tanin pada ekstrak stevia dilakukan dengan cara melewatkan ekstrak stevia pada buret yang berisi karbon aktif sebanyak 4 kali siklus. Kadar tanin berkurang sebesar 39,74%.

Kata Kunci : karbon aktif, *stevia rebaudiana*, tanin

ABSTRACT

Extraction of tannins from leaves of *Stevia rebaudiana* using ethanol 30% with a temperature variation of 30, 50, 70 and 100 °C for 3 hours was performed. Reduction on the levels of tannins in *stevia* extract is done by using activated carbon.

The results showed the greatest weight of the extract at 70 °C is 1.008 g and extract relatively alkaline pH. Reduction on the levels of tannins on *stevia* extracts done by passing the extract of *stevia* in the burette containing activated carbon as much as 4 times the cycle. Tannin concentration was reduced by 39.74%.

Keywords: activated carbon, *stevia rebaudiana*, tannin

PENDAHULUAN

Pada era globalisasi ini industri makanan, minuman dan suplemen sering menggunakan pemanis untuk menambah cita rasa. Bahan pemanis yang ada dapat dibagi menjadi dua macam yaitu pemanis alami dan pemanis buatan. Dalam hal ini pemanis alami yang sering digunakan adalah sukrosa atau gula tebu. Akan tetapi, gula tebu/ sukrosa memiliki nilai kalori yang tinggi sehingga dapat menyebabkan kegemukan dan diabetes. Dalam bidang industri sering sekali menggunakan pemanis buatan karena memiliki tingkat

kemanisan yang tinggi dan rendah kalori serta harganya yang relatif murah. Namun, pemanis buatan tidak baik jika dikonsumsi secara terus menerus karena pemanis buatan bersifat karsinogenik. Sehingga, perlu dicari alternatif pemanis alami yang memiliki tingkat kemanisan yang lebih tinggi, rendah kalori, dan non-karsinogenik. Salah satu pemanis alami tersebut adalah pemanis dari daun stevia.

Stevia merupakan sumber pemanis alternatif yang berpotensi untuk menggantikan pemanis buatan seperti sakarin, aspartam, asesulfam dan lain-lain (Buchori, 2007). Tanaman *stevia* memiliki kandungan kalori yang rendah sehingga banyak digunakan sebagai gula diet bagi penderita diabetes dan kegemukan atau obesitas. Senyawa gula yang ada pada daun stevia bersifat non-karsinogenik sehingga dapat dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama.

Daun tanaman *Stevia rebaudiana* mengandung campuran dari diterpen, triterpen, tanin, stigmasterol, minyak yang mudah menguap dan delapan senyawa manis diterpen glikosida (Crammer, 1986). Daun stevia memiliki rasa yang sedikit getir dan pahit. Rasa pahit ini disebabkan oleh senyawa tanin yang terdapat pada stevia. Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Tumbuhan yang banyak mengandung tanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya sepat, sehingga mungkin mempunyai arti sebagai pertahanan bagi tumbuhan (Harbone, 1996).

Pada pemanis daun stevia, kandungan tanin yang tinggi tidak diinginkan, karena menyebabkan rasa pahit dan sedikit langu. Pada penelitian ini dilakukan pengurangan kadar tanin pada ekstrak stevia dengan menggunakan karbon aktif. Ekstraksi daun stevia dilakukan selama 3 jam dengan menggunakan pelarut etanol 30% pada variasi suhu sebesar 30, 50, 70 dan 100 °C. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah akan menghasilkan ekstrak gula stevia dengan cita rasa yang manis, tidak pahit dan *langu* serta bisa menjadi salah satu bahan tambahan makanan dengan kualitas yang baik.

METODE PENELITIAN

Proses ekstraksi simplisia *stevia*

Ekstraksi simplisia *stevia* dengan metode maserasi. Simplisia daun stevia ditimbang sebanyak 5 g dilarutkan dalam 200 mL pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol 30%. Larutan diekstraksi pada suhu 30, 50, 70 dan 100 °C selama 3 jam. Campuran ini disaring dengan kertas saring dan ditampung dalam botol. Pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga mendapatkan serbuk ekstrak kental, selanjutnya diidentifikasi kadar

taninnya.

Uji Kualitatif Ekstrak Daun *Stevia*

Hasil ekstraksi stevia dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 3 mL. Ekstrak pada tabung pertama direaksikan dengan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika ekstrak mengandung senyawa tanin akan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua. Ekstrak pada tabung kedua ditambahkan dengan 5 tetes larutan gelatin jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung tanin.

Uji Kuantitatif Ekstrak Daun *Stevia* dengan Spektrofotometer UV-Vis

Persiapan

Larutan ekstrak stevia dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Langkah pertama adalah menyiapkan reagen folin ciocalteu 1:1, Na_2CO_3 jenuh (35 g Na_2CO_3 yang dilarutkan dengan 100 mL aquades, dicampur pada suhu 70-80 °C), dan larutan standar tanin 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; dan 0,1 mg/mL.

Preparasi Kurva standar

Larutan standar tanin 1 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan dengan 7,5 mL aquades. Masukkan 0,5 mL folin ciocalteu dan 1 mL Na_2CO_3 jenuh kemudian diencerkan dengan aquades hingga batas. Dicampurkan dengan baik dan terbentuk warna, ditunggu 30 menit lalu dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ sebesar 760 nm.

Preparasi sampel

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan labu ukur 50 mL kemudian diencerkan dengan aquades hingga batas. Kemudian dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,5 mL folin ciocalteu dan 1 mL Na_2CO_3 jenuh diencerkan dengan aquades hingga batas. Dicampurkan dengan baik dan terbentuk warna, ditunggu 30 menit lalu dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 760 nm.

PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun *Stevia*

Sebanyak 5 g simplisia *stevia* dilakukan ekstraksi maserasi dalam 200 mL campuran pelarut etanol 30% selama 3 jam pada suhu 30, 50, dan 70 °C. Hasil ekstrak *stevia* memiliki warna coklat muda. Maserasi digunakan karena proses ini memiliki efektivitas penyerapan yang cukup tinggi dari zat aktif yang terkandung dalam simplisia *stevia* termasuk tanin (Mailoa, 2013). Hasil ekstraksi kemudian diuapkan untuk mendapatkan serbuk *stevia*. Dalam penelitian ini dilakukan kristalisasi ekstrak *stevia*

dengan *rotary evaporator*, untuk menghilangkan pelarut dengan cara penguapan dalam keadaan vakum. Pada penelitian ini, hasil evaporasi berupa serbuk yang memiliki berat berbeda beda dikarenakan kandungan bioaktif diekstraksi dengan pelarut yang berbeda. Hasil berat ekstrak ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Berat ekstrak stevia hasil evaporasi

Suhu (°C)	Berat (g/ 100 mL)
30	0,688
50	0,857
70	1,008

Hasil berat yang diperoleh seperti ditunjukkan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu semakin tinggi pula berat dari hasil evaporasi. Berat ekstrak yang paling tinggi pada suhu pelarut 70 °C, yaitu sebesar 1,008 g. Hasil evaporasi berupa serbuk dan berwarna coklat tua.

Tingkat Keasaman Ekstrak

Tingkat keasaman (pH) adalah penting dalam reaktivitas tanin. Pada pH asam dapat berlangsung reaksi kondensasi antara tanin dan formaldehid, sehingga menghasilkan polimerisasi resin (Vieria, 2011). Tapi jika dilihat dari mekanisme reaksi dari tanin dan air maupun etanol, tanin mengalami protonasi sehingga OH⁻ pada tanin digantikan oleh H⁺ dari air maupun etanol, dari reaksi tersebut menyebabkan pH ekstrak stevia relatif basa. Pengukuran pH ekstrak stevia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengukuran pH ekstrak stevia (SNI 01-2891-1992)

Suhu (°C)	pH
30	7,85
50	7,51
70	7,71

Dari hasil pengukuran pH ekstrak stevia menunjukkan bahwa ekstrak stevia memiliki pH relatif basa, sedangkan pelarut dan suhu tidak berpengaruh signifikan terhadap pengukuran pH.

Uji Fitokimia Senyawa Tanin

Uji Fitokimia dengan Menggunakan FeCl₃ 1%

Uji fitokimia tanin dilakukan dengan menguji ekstrak stevia menggunakan reagen FeCl₃ 1%. Hasil menunjukkan pada variasi suhu terjadi perubahan warna hijau kehitaman,

seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji FeCl_3 (a) ekstrak awal (b) ekstrak setelah di uji dengan FeCl_3 .

Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 1% digunakan untuk menentukan kandungan fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , 1%, sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 1% memberikan hasil positif disimpulkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hasil uji fitokimia ekstrak daun stevia dengan FeCl_3 1% menghasilkan suatu warna hijau kehitaman, karena reaksi antara tanin dan FeCl_3 membentuk senyawa kompleks. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya.

Uji Fitokimia Senyawa Tanin dengan Menggunakan Larutan Gelatin

Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu menambahkan ekstrak stevia dengan gelatin. Uji fitokimia dengan menggunakan larutan gelatin merupakan pengujian awal untuk memperkuat dugaan adanya senyawa tanin dalam ekstrak stevia. Hasil menunjukkan adanya endapan putih pada setiap variasi suhu, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji gelatin (a) ekstrak awal, (b) ekstrak setelah diuji gelatin

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak stevia yang ditambah dengan gelatin menunjukkan adanya endapan putih yang menunjukkan adanya tanin. Gelatin merupakan protein alami yang memberikan sifat penstabil dan pengental bagi media yang berbasis air, mengandung asam amino yaitu dengan kandungan glisin (27%), prolin (16%) dan hidroksiprolin (14%), sehingga terbentuknya senyawa tanin protein dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara tanin dan protein pada gelatin sehingga terbentuk endapan putih (Leemensand, 1991).

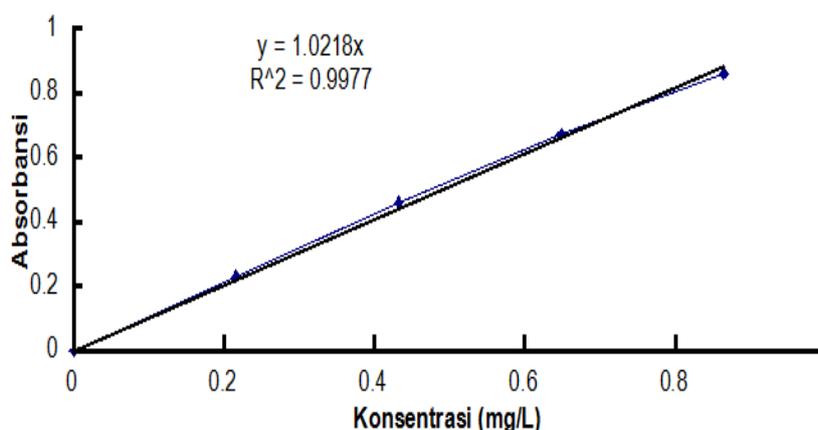
Analisa tanin pada ekstrak stevia dengan Spektrofotometer UV-Vis

Penentuan kadar total tanin dalam daun stevia dengan menggunakan metode total fenol yaitu dengan reagen folin ciocalteu. Metode folin tidak membedakan antara jenis komponen fenolik. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil fenolik, semakin besar konsentrasi komponen fenolik yang terdeteksi (Khadambi, 2007).

Penentuan kadar tanin diukur dengan menggunakan kurva standar tanin pada Tabel 3 dan Gambar 3. Standar tanin yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam tanat, hal ini sesuai dengan penelitian (Rangana, 1997; Bharti, 2012) dan didukung data HPLC. Dengan metode spektrofotometer muncul warna biru yang terbentuk dari reduksi asam phosphotungstomolybdat dari tanin yang komposisinya seperti larutan alkalin. Pengukuran dengan UV-Vis menggunakan panjang gelombang maksimum sebesar 760 nm (Rangana, 1997; Bharti, 2012).

Tabel 3. Tabel konsentrasi Standar asam tanat

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
0	0
0,216	0,232
0,432	0,461
0,648	0,673
0,864	0,862



Gambar 3. Kurva standar tanin

Jumlah kandungan tanin ekstrak stevia dapat dilihat pada Tabel 4. Kandungan total tanin dinyatakan dalam mg/L asam tanat. Tabel 4. menunjukkan bahwa kandungan tanin tertinggi pada ekstrak stevia pada suhu 70 °C.

Tabel 4. Analisa Tanin dengan Spektrofotometer UV-Vis (Rangana S, 1977)

Suhu (°C)	Kadar tanin total (% (b/b))
30	5,09
50	8,19
70	8,48

Berdasarkan Tabel 4. dapat dilihat bahwa variasi suhu berpengaruh signifikan pada kadar tanin. Dari hasil percobaan, dapat dilihat bahwa kadar tanin yang paling tinggi adalah pada suhu 70 °C. Efek pemanasan berpengaruh terhadap kadar tanin, semakin tinggi suhu ekstraksi, kadar tanin juga semakin meningkat. Menurut Markon (2007) ekstraksi

tanin dipengaruhi juga oleh polaritas pelarut. Air dan etanol adalah pelarut polar yang dapat memberikan ion OH⁻, sehingga mudah untuk berinteraksi dengan kelompok fungsional polar pada tanin.

Hasil ekstrak stevia kemudian dimurnikan dengan cara melewati ekstrak stevia ke dalam buret yang berisi arang aktif. Adsorben arang aktif digunakan dalam pemisahan ini karena arang aktif memiliki daya serap tinggi, mampu menghilangkan bau dan menjernihkan kondensat, serta secara ekonomi tidak mahal. Arang aktif yang baik digunakan dalam pemurnian adalah arang aktif yang memiliki daya serap 70 – 80%. Semakin besar daya serap arang aktif maka pengurangan kadar tanin juga semakin besar. Penggunaan arang aktif ini dinilai sangat sederhana dan praktis, maka metode ini digunakan untuk mengurangi senyawa tanin pada ekstrak stevia sehingga diharapkan dapat mengurangi rasa getir dan pahit. Hasil pengukuran uji tanin dengan spektrofotometer UV-Vis setelah dilewatkan arang aktif, ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengurangan kadar tanin setelah dilewatkan arang aktif

Sampel	Kadar tanin awal	Kadar tanin akhir	Pengurangan	Pengurangan (%)
Ekstrak 30°C	5,09	4,34	0,75	14,73
Ekstrak 50°C	8,19	5,62	2,57	31,38
Ekstrak 70°C	8,48	5,11	3,37	39,74

Hasil pengurangan kadar tanin pada ekstrak etanol 30% pada berbagai suhu menunjukkan hasil yang bervariasi. Ekstrak pada suhu 30 °C menunjukkan pengurangan paling sedikit yaitu sebesar 14,73%. Sedangkan pada hasil ekstrak pada suhu 50 dan 70 °C menunjukkan hasil pengurangan yang hampir sama yaitu 31,38 dan 39,74%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan arang aktif sebagai adsorben dapat menyebabkan penurunan kadar tanin.

KESIMPULAN

- Ekstraksi daun tanaman *Stevia rebaudiana* dengan menggunakan etanol 30%, paling efektif dilakukan pada suhu 70 °C.
- Pengurangan kadar tanin pada hasil ekstrak etanol 30% dari daun *Stevia rebaudiana* menunjukkan hasil yang bervariasi yaitu 14,73; 31,38 dan 39,74%, masing-masing untuk hasil ekstraksi pada suhu 30, 50 dan 70 °C.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIKTI (Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi) atas bantuan dana melalui hibah PKM (Program Kreativitas Mahasiswa) Tahun 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Bharti, S., and Vijaya, K., 2012, Extraction of Tannin by *Terminalia bellirica* (Gaertner) roxb Seed from Different Provenances. *Journal of Phytology*, 4, pp. 9–13.
- Buchori, L., 2007, Pembuatan Gula Non Karsinogenik Non Kalori Dari Daun Stevia, *Reaktor*, 11, pp. 57–60.
- Crammer, B., and Ikan, R., 1986, Sweet Glycosides from the Stevia Plant, *Chemistry in Britain*, 22, pp. 915–917.
- Harborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimia. Terbitan ke-II*, a.b. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Khadambi, T. N., 2007, Extraction of Phenolic Compounds and Quantification of the Total Phenol and Condensed Tannin Content of Bran Fraction of Condensed Tannin and Condensed Tannin-free sorghum Varieties, University of Pretoria etd., Pretoria.
- Leemensand, 1991, *Plant Resources of South East Asia 3 Dye and Tanin Production Plant*, Netherland, Pudoc Wagengan.
- Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., and Djide, N., 2013, Tannin Extract Of Guava Leaves (*Psidium Guajava* L) Variation With Concentration Organic Solvents, *International Journal Of Scientific & Technology Research*, vol. 2, pp. 106–110.
- Markom, M., Hasan, M., Ramli, W., Daud, W., Singh, H., and Jahim, J., 2007, Extraction of Hydrolysable Tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of Solvents and Extraction Methods, *Separation and Purification Technology*, vol. 52, pp. 487–496.
- Rangana, S., 1977, *Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Product*, Tata Mc.graw-Hill Publishing, Ltd., New Delhi, Page 69.
- SNI, 1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman SNI 01-2891-1992*, Badan Standar Nasional, pp. 34-35.
- Vieira, M. C., Lelis, R. C. C., Silva, B. C. Da, and Oliveira, G. D. L., 2011, Tannin Extraction from the Bark of *Pinus oocarpa* var. *oocarpa* with Sodium Carbonate and Sodium Bisulfite. *Floresta e Ambiente*, vol. 18, pp. 1–8.