

## Penentuan Kadar Tanin Pada Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi

Ira Oktavia<sup>1\*)</sup>, Ardiah Rizky Belliasari<sup>2</sup>, Rosa Juwita Hesturini<sup>3</sup>, Shania Chrisnatasha Putri<sup>4</sup>,  
Yuni Susanti<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>S1 Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

<sup>5</sup>S1 Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Jember

<sup>\*)</sup>E-mail: [oktavia28.kim@gmail.com](mailto:oktavia28.kim@gmail.com)

### Info Artikel

*Sejarah Artikel :*

Diterima

08-Mei-2026

Disetujui

11-Juni-2026

Dipublikasikan

31-Juli-2026

### Kata Kunci:

Daun, Tanin, Etanol,  
Maserasi, Refluks

### Keywords:

Leaves, Tannin,  
Ethanol, Maseration,  
Reflux

### Abstrak

**Latar belakang:** Tanin ialah salah satu metabolit sekunder yang memiliki banyak manfaat. Tanin memiliki efek farmakologis seperti aktivitas antelmintik, anti-virus, anti-oksidan, anti-bakteri dan astringen. Tanin juga diaplikasikan di bidang lingkungan sebagai koagulan senyawa anorganik garam aluminium, besi klorida dan aluminium sulfat agar tidak mencemari lingkungan. Di bidang industri pangan, tanin digunakan sebagai matriks pelapis kemasan untuk memperpanjang masa simpan pangan. Banyaknya aplikasi di berbagai bidang, tanin menjadi menarik untuk diteliti. Tanin pada tanaman ditemukan pada bagian buah, daun, batang dan kulit. Salah satu tanaman yang mengandung tanin ialah daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl). **Tujuan:** menentukan kadar tanin pada ekstrak etanol 96% daun singkong. yang dipengaruhi oleh perbedaan metode ekstraksi maserasi dan refluks. **Metode:** ekstraksi metode maserasi dan refluks, uji kualitatif tanin, uji kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. **Hasil:** Uji kualitatif sampel menunjukkan positif terhadap tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna hitam kehijauan dan dengan gelatin menghasilkan endapan putih. Hasil uji kuantitatif menunjukkan panjang gelombang maksimum standar tanin 770nm dengan kurva baku  $y = 0,0074x + 0,1113$  dan  $R^2 = 0,98$ . Hasil penentuan kadar tanin pada sampel metode maserasi sebesar 0,52 mg/g dan refluks sebesar 1,17 mg/g. **Simpulan dan saran:** Kadar tanin pada ekstrak etanol daun singkong metode refluks lebih tinggi dibandingkan maserasi.

### Abstract

**Background:** Tannin is a secondary metabolite with various pharmacological effects, including anthelmintic, antiviral, antioxidant, antibacterial, and astringent activity. It is also used environmentally as a coagulant for inorganic compounds (e.g aluminum salts, ferric chloride, and aluminum sulfate) to reduce the pollution. In the food industry, tannin is used as a packaging coating matrix to extend the shelf life of food. Due to its wide applications, tannin is of significant research interest. It is found in many plant parts, including cassava leaves (*Manihot utilissima* Pohl). **Objectives:** This study aimed to determine tannin content in 96% ethanol extract of cassava leaves using different extraction methods: maceration and reflux. **Methods:** extraction, qualitative tannin test, and quantitative test using UV-Vis spectrophotometry. **Results:** Qualitative result showed positive tannin presence, indicated by a greenish-black color with  $\text{FeCl}_3$  and white precipitate with gelatin. Quantitative analysis showed a maximum wavelength of the tannin standard of 770 nm with a standard curve of  $y = 0.0074x + 0.1113$  ( $R^2 = 0.98$ ). Tannin content was 0,52% (mg/g) using maceration and 1,17% (mg/g) using reflux. **Conclusions and suggestions:** Thus, the reflux method yielded tannin content than maceration.

## PENDAHULUAN

Tanin ialah salah satu metabolit sekunder dengan berat molekul  $> 400$  g/mol. (Safitri et al., 2023). Tanin diklasifikasikan ke dalam dua jenis yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi yang tersebar luas pada bagian tanaman yaitu buah, batang, kulit kayu, dan daun. Pada tanaman umumnya memiliki konsentrasi tanin terkondensasi yang lebih tinggi daripada tanin terhidrolisis (Sunani & Hendriani, 2023). Fungsi utama tanin pada tanaman untuk melindungi diri dari herbivora (predator) dan membantu regulasi pertumbuhannya (Kumar et al., 2020). Tanin stabil pada pH 6-7 dan pemanasan 60-80°C, namun tidak stabil terhadap  $H_2O_2$ , cahaya UV dan penyimpanan suhu dingin 10°C (Warnasih & Hasanah, 2018).

Tanin merupakan senyawa fenolik yang memiliki banyak aplikasi di berbagai bidang farmasi, industri maupun lingkungan. Aplikasi tanin dalam kosmetik dapat digunakan sebagai alternatif pewarna alami seperti yang telah dilakukan penelitian pada ekstrak etanol kulit kayu manis (Rizki et al., 2024). Tanin dalam dunia kesehatan juga memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti kardioprotektif yang berkontribusi dalam penurunan risiko penyakit kronis (Cosme et al., 2025), berperan dalam penyembuhan luka untuk stimulasi pertumbuhan jaringan (Ningsih et al., 2024), sebagai antibakteri yang dapat mengendapkan protein bakteri sehingga dapat memberikan efek antidiare dan dapat digunakan sebagai *hand sanitizer* alami seperti tanin dari tanaman seledri (Adelina et al., 2025), sebagai bahan tambahan pasta gigi dan obat kumur untuk agen potensial mengatasi penyakit infeksi oral (Kovac et al., 2023). Tanin terkondensasi memiliki aktivitas antioksidan yang mendukung efek antiinflamasi, antiiskemik, neuroprotektif dan metabolik. Sedangkan tanin terhidrolisis memiliki aktivitas antioksidan yang mendukung efek antimikroba, modulasi enzim dan proteksi terhadap neuroinflamasi (Camarda et al., 2026). Berikutnya aplikasi tanin dalam bidang peternakan digunakan dalam ransum ruminansia untuk mencegah stress oksidatif pada ternak sehingga dapat meningkatkan kualitas produk daging dan susu yang dihasilkan (Tong et al., 2022). Pemanfaatan tanin dalam lingkungan digunakan sebagai sistem berkelanjutan ramah lingkungan sebagai agen pengambil uranium dari air laut, serta menghilangkan merkuri dan metilmerkuri yang larut (Kumar et al., 2020).

Meskipun penelitian tentang manfaat tanin telah banyak dieksplorasi, namun informasi mengenai kadar tanin dalam berbagai jenis bagian tanaman masih terbatas. Beberapa penelitian kadar tanin yang telah dilakukan yaitu ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*) mengandung kadar tanin 9,3% (Aola et al., 2025), ekstrak etanol daun karet kebo (*Ficus elastica*) mengandung kadar tanin 31,7% (Suhaenah et al., 2024), ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung kadar tanin 0,0236% (Karim et al., 2021), ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Auct. non (L.) Pers) mengandung kadar tanin 15,26% (Upa et al., 2024), ekstrak etil asetat ranting gambir (*Uncaria gambir* Roxb) mengandung kadar tanin 0,29% (Marjoni et al., 2025), ekstrak air daun

mimba (*Azadirachta indica* Juss) mengandung kadar tanin 0,55% (Mihra et al., 2018), ekstrak air daun porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) mengandung kadar tanin 11,58% dan ekstrak air daun jambu biji (*Psidium guajava* L) mengandung kadar tanin 10,11% (Margata et al., 2024) dan ekstrak etanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L) mengandung kadar tanin 32,71% (Wardi et al., 2025).

Daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) ialah salah satu daun tanaman yang sering dikonsumsi masyarakat karena dapat diperoleh dengan mudah. Tingginya kandungan serat dan protein, daun singkong dipercaya memiliki bioaktivitas untuk dimanfaatkan dalam bidang Kesehatan. Daun singkong juga kaya mineral seperti Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Ca, P, K, S, dan mengandung senyawa aktif seperti  $\beta$ -karoten, flavonoid, saponin, antosianin dan tanin (Lin et al., 2025). Daun singkong memiliki manfaat kesehatan sebagai antioksidan dan imunomodulator yang signifikan melalui mekanisme penekanan produksi sitokin pro-inflamasi, sehingga daun singkong berpotensi untuk mencegah penyakit metabolik dengan inflamasi derajat rendah (Boukhers et. al., 2022). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa daun singkong mampu memberikan efek pencegahan penurunan kadar serum albumin (Syafitri & Surabaya, 2022). Walaupun beberapa bioaktivitas daun singkong telah diteliti, namun belum ada yang meneliti kadar tanin dalam daun singkong yang dipengaruhi oleh perbedaan metode ekstraksi. Padahal senyawa tanin kemungkinan memiliki peran besar dalam bioaktivitas yang dimiliki oleh daun singkong. Sehingga pada penelitian ini dilakukan bertujuan untuk menentukan kadar tanin pada ekstrak daun singkong yang dipengaruhi oleh perbedaan metode ekstraksi dingin dan panas.

## **METODE PENELITIAN**

### **Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah tanaman singkong yang berasal dari Desa Bandar Lor, Kecamatan Mojojoto, Kota Kediri – Jawa Timur

### **Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun singkong yang berasal dari Desa Bandar Lor, Kecamatan Mojojoto, Kota Kediri – Jawa Timur.

### **Teknik Sampling**

Teknik sampling yang digunakan adalah purposive sampling. Daun yang dipilih berwarna hijau, segar dan tidak terdapat bercak

### **Variabel**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah perbedaan metode ekstraksi yaitu maserasi dan refluks. Variabel terikat pada penelitian ini adalah rendemen ekstrak dan kadar tanin.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), waterbath (Memmert), timbangan analitik (Mettler Toledo), blender (Philips), oven (Memmert), set refluks (Merck), pipet volume (Merck), pipet ukur (Merck), tabung reaksi (Merck), rak tabung, pipet tetes, labu takar (Merck) dan beaker glass (Merck).

Bahan yang digunakan etanol 96% (merck),  $\text{FeCl}_3$  (merck), gelatin (merck), Folin-Ciocalteu (sigma aldrich), aquadest, dan asam tanat (sigma aldrich),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (merck),  $\text{NaCl}$  (merck).

### **Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Multiguna IIK Bhakti Wiyata Kediri. Langkah ini dilakukan untuk memvalidasi jenis tanaman yang akan digunakan sebagai sampel agar terhindar dari kesalahan dalam pengumpulan sampel. Proses determinasi dilakukan menggunakan tanaman yang diambil lengkap dengan keseluruhan bagian organ mulai dari akar, batang, hingga daun. Pada tahap ini semua ciri-ciri morfologi tanaman diamati untuk dianalisis karakteristiknya hingga didapatkan hasil identifikasinya.

### **Persiapan Sampel**

Daun singkong yang digunakan sebagai sampel diperoleh dari tanaman singkong yang berada di desa Bandar Lor, Kota Kediri. Kriteria sampel daun singkong yang digunakan yaitu berwarna hijau segar serta langsung dipetik dari tanamannya. Berikutnya daun singkong dicuci menggunakan air mengalir dan dibersihkan dari pengotornya. Selanjutnya daun singkong dirajang dan dikeringkan menggunakan oven dengan temperatur  $60^\circ$ . Daun singkong yang telah kering kemudian diserbukkan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian ditimbang menggunakan neraca analitik, disimpan dalam wadah kering dan disimpan terhindar dari sinar matahari.

### **Proses Ekstraksi**

Disiapkan simplisia masing-masing 50 gram untuk metode ekstraksi yaitu maserasi dan refluks. Simplisia yang digunakan untuk ekstraksi maserasi ditambahkan pelarut etanol 96% . Proses ekstraksi maserasi dilakukan selama 3x 24 jam pada suhu ruang dan diaduk secara berkala dan diremaserasi selama 2x 24 jam. Maserat hasil ekstraksi dan dipekatkan menggunakan *waterbath* temperatur  $50^\circ\text{C}$ . Sedangkan simplisia untuk ekstraksi metode refluks juga ditambahkan pelarut etanol 96% . Refluks dilakukan pada suhu  $65^\circ$  selama 3 jam. Hasil refluks kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat hasil refluks dipekatkan dengan metode yang sama seperti maserat. Masing-masing ekstrak hasil pemekatan (ekstrak kental) dihitung rendemennya.

### **Uji Kualitatif Tanin**

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui adanya tanin dalam sampel. Setiap ekstrak kental diuji  $\text{FeCl}_3$  dan Gelatin. Sebanyak 1 gram sampel dilarutkan dalam 100mL aquades dan ditambahkan

larutan NaCl 2% sebanyak 1 mL. Larutan sampel dibagi menjadi dua bagian A dan B. Larutan A ditambahkan dengan tiga tetes FeCl<sub>3</sub> 5%. Sampel positif terhadap tanin apabila hasil uji dengan FeCl<sub>3</sub> menunjukkan hasil hijau kehitaman. Sedangkan larutan B ditambahkan dengan tiga tetes larutan gelatin dan apabila setelah direaksikan terdapat endapan putih maka sampel positif terhadap tanin.

### Uji Kuantitatif

Pada penelitian ini asam tanat digunakan sebagai senyawa standar tanin. Uji kuantitatif diawali dengan pembuatan larutan baku induk asam tanat konsentrasi 500 ppm dan larutan baku seri dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Larutan baku seri konsentrasi 20 ppm yang telah dibuat diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu dan 1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Setelah itu ditambahkan aquades hingga tanda batas labu takar. Larutan ini yang akan digunakan untuk optimasi panjang gelombang maksimum dan penentuan *operating time*. Optimasi panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara menentukan serapan tertinggi pada rentang 700-800 nm. Kemudian penentuan *operating time* dilakukan dengan cara mengamati serapan larutan pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu pengamatan 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 menit.

Berikutnya pembuatan kurva baku asam tanat dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Tiap konsentrasi diambil 1 mL ditambahkan 1 mL pereaksi Folin-Ciocalteu dan 1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kemudian dihomogenkan. Tiap konsentrasi diamati serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan serta diinkubasi pada waktu serapan stabil yang telah ditentukan pada *operating time*. Data serapan yang didapatkan tiap konsentrasi kemudian dibuat persamaan kurva baku  $y = bx + a$  dan ditentukan juga nilai koefisien relasi ( $R^2$ ).

Selanjutnya penetapan kadar tanin ekstrak etanol daun singkong dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 500mg sampel dan dihomogenkan 10mL akuades kemudian diencerkan 10 kali. Sebanyak 1mL larutan sampel ditambahkan 1mL pereaksi Folin-Ciocalteu dan 1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Serapan sampel diamati setelah diinkubasi selama 10 menit hasil *operating time* dan diukur pada panjang gelombang maksimum 770 nm. Konsentrasi sampel diukur menggunakan kurva baku asam tanat yang telah didapatkan. Kadar tanin dihitung dalam % (b/b) terhadap pembanding asam tanat.

## HASIL PENELITIAN

### Determinasi

Berdasarkan hasil identifikasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium IIK Bhakti Wiyata Kediri yang tertuang dalam surat nomor 595/DA.PB/III/2022 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar merupakan singkong (*Manihot utilissima* Pohl). Berikut merupakan kunci determinasi hasil identifikasi pada tanaman singkong yang daunnya digunakan sebagai sampel

:1b\_2b\_3b\_4b\_6b\_7b\_9b\_10b\_11b\_12b\_13b\_14a\_15a\_109b\_119b\_120a\_121b\_124b\_125b\_1b\_3a\_4b\_5b\_6b\_7a\_8a.

### Rendemen Ekstrak Etanol Daun Singkong

Berikut data rendemen hasil ekstraksi daun singkong menggunakan dua metode yang berbeda dengan persamaan pelarut yaitu etanol 96%

**Tabel 1.** Rendemen Ekstrak Etanol Daun Singkong

| Metode Ekstraksi | Berat Sampel (gram) | Berat Ekstrak (gram) | Rendemen (%) |
|------------------|---------------------|----------------------|--------------|
| Maserasi         | 50                  | 8,03                 | 16,06        |
| Refluks          | 50                  | 14,21                | 28,42        |

### Uji Kualitatif Tanin Ekstrak Etanol Daun Singkong

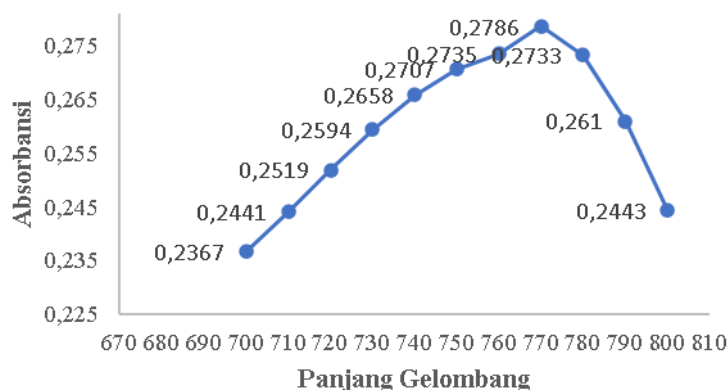
Berikut data hasil uji kualitatif tanin dalam sampel ekstrak etanol daun singkong dengan perbedaan metode ekstraksi serta menggunakan dua jenis pereaksi.

**Tabel 2.** Hasil Uji Kualitatif Tanin

| Pereaksi          | Hasil Positif ( + )<br>Berdasarkan Literatur<br>(Wardi et al., 2025) | Hasil Pengujian | Metode Ekstraksi |         |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|---------|
|                   |                                                                      |                 | Maserasi         | Refluks |
| FeCl <sub>3</sub> | Hitam kehijauan                                                      | Hitam kehijauan | ( + )            | ( + )   |
| Gelatin           | Endapan                                                              | Endapan         | ( + )            | ( + )   |

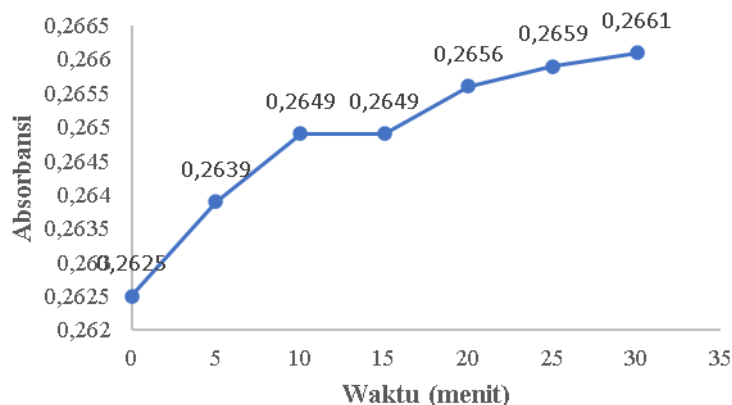
### Uji Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Singkong

Hasil optimasi panjang gelombang maksimum asam tanat yang digunakan sebagai standar tannin yaitu 770 nm dengan absorbansi 0,2786. Berikut gambar kurva yang menunjukkan hasil optimasi panjang gelombang maksimum pada rentang 700-800 nm.



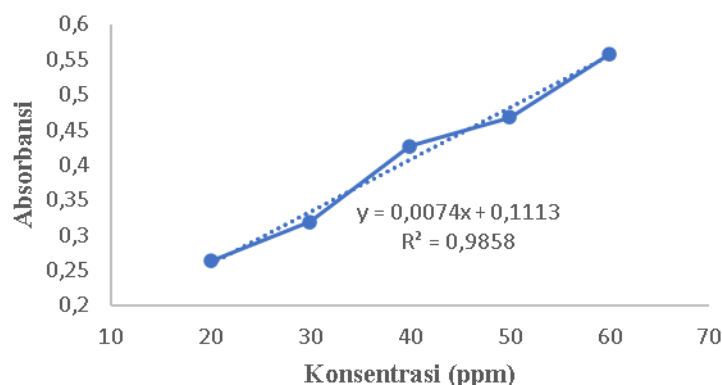
**Gambar 1.** Optimasi Panjang Gelombang

Berikutnya hasil penentuan operating time asam tanat diperoleh data serapan stabil pada waktu menit ke 10-15 menit. Berikut gambar kurva penentuan operating time yang dilakukan pada rentang waktu 0 – 30 menit dengan interval 5 menit.



**Gambar 2.** Penentuan Operating Time

Hasil pembuatan kurva baku asam tanat pada konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm diperoleh linieritas  $y = 0,0074x + 0,1113$  ( $R^2 = 0,98$ ). Berikut disajikan hasil penentuan kurva baku



**Gambar 3.** Kurva Baku Asam Tanat

Berikutnya kadar tanin dalam sampel ekstrak etanol daun singkong hasil ekstraksi maserasi dan refluks dapat ditentukan. Berikut data tabel penetapan kadar tanin dalam sampel

**Tabel 3.** Kadar Tanin dalam Sampel Ekstrak Etanol Daun Singkong

| Sampel Metode Ekstraksi | Replikasi | Kadar (ppm) | Kadar % (mg/g) | Kadar rata-rata % (mg/g) |
|-------------------------|-----------|-------------|----------------|--------------------------|
| Ekstrak hasil maserasi  | 1         | 26,05       | 0,512          | 0,52                     |
|                         | 2         | 26,04       | 0,520          |                          |
|                         | 3         | 26,25       | 0,525          |                          |
| Ekstrak hasil refluks   | 1         | 58,45       | 1,169          | 1,17                     |
|                         | 2         | 58,70       | 1,174          |                          |
|                         | 3         | 58,60       | 1,172          |                          |

## PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel daun singkong yang digunakan untuk penelitian adalah benar dari tanaman singkong (*Manihot utilissima* Pohl.). Determinasi merupakan bagian tahap awal penelitian yang sangat penting dilakukan untuk memvalidasi jenis spesies tanaman yang akan digunakan sebagai sampel. Hal ini dilakukan untuk menghindari kekeliruan dalam pengambilan bahan tanaman (Marsus & Nur, 2024). Berikutnya

pembuatan simplisia sampel daun singkong sebelum dilakukan ekstraksi. Tujuan dibuatnya simplisia yaitu untuk memperluas permukaan kontak antar partikel dengan pelarut, sehingga proses ekstraksi dapat lebih efisien dan optimal dalam penarikan senyawa bioaktif (Musrifah & Bahri, 2025).

Pada penelitian ini ekstraksi sampel menggunakan pelarut etanol 96% dengan dua jenis metode, yaitu metode maserasi (ekstraksi dingin) dan metode refluks (ekstraksi panas). Digunakan pelarut etanol 96% pada proses ekstraksi disesuaikan dengan polaritas senyawa tanin yang akan ditentukan kadarnya. Tanin merupakan senyawa polar yang akan larut dalam pelarut-pelarut organik bersifat polar (Mihra et al., 2018). Sesuai (Tabel 1) hasil ekstraksi didapatkan rendemen ekstrak metode refluks lebih tinggi dibandingkan rendemen ekstrak metode maserasi. Tinggi rendahnya rendemen dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi pelarut. Kuantitas senyawa yang diekstraksi lebih baik memiliki tingkat polaritas yang sama dengan pelarutnya. Seperti pada penelitian Wardatun et al., (2025) melakukan ekstraksi biji alpukat (*Persea americana* Mill) dengan ekstrak etanol berbagai konsentrasi dihasilkan rendemen tertinggi yaitu pada ekstrak etanol 96% sebesar 47,1%, diikuti dengan ekstrak etanol 70% sebesar 30,4%, kemudian ekstrak etanol 50% sebesar 26,4% dan paling rendah ekstrak etanol 30% hanya sebesar 2,9%. Selain itu tinggi rendahnya rendemen hasil ekstraksi juga dipengaruhi oleh temperature, oleh karena itu pemilihan metode ekstraksi juga berperan dalam hal ini. Pada penelitian ini dilakukan dua jenis metode ekstraksi yaitu maserasi dilakukan pada suhu ruang, sedangkan refluks dilakukan pada suhu 65°C. Perbedaan suhu ini dapat mempengaruhi proses kelarutan senyawa dalam pelarut. Pemanasan dapat menyebabkan dinding sel mudah pecah, sehingga senyawa aktif dapat terekstraksi lebih maksimal (Susanty and Fairus Bachmid, 2016). Selain itu adanya pemanasan juga meningkatkan kelarutan senyawa dalam pelarut yang tidak dapat larut dalam suhu kamar (Issusilaningtyas et al, 2023). Sejalan dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Apriliana et al., (2019) yang juga menghasilkan rendemen tertinggi ekstrak daun selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) sebesar 25,76% menggunakan metode refluks dibandingkan maserasi yang hanya sebesar 24,37%. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol 96% daun jeruju (*Acanthus ebracteatus* Vahl) dari ekstraksi metode refluks menghasilkan rendemen tertinggi sebesar 25,03% dibandingkan dengan metode maserasi hanya sebesar 9,52% (Issusilaningtyas et al, 2023).

Tahapan berikutnya ialah uji kualitatif tanin menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub> dan gelatin. Sesuai dengan (Tabel 2) hasil uji menunjukkan bahwa kedua ekstrak etanol daun singkong dari hasil maserasi maupun refluks positif terhadap tanin. Hasil uji dengan FeCl<sub>3</sub> menunjukkan terbentuknya warna hijau kehitaman, hal ini mengindikasikan adanya reaksi dari tanin membentuk kompleks berwarna gelap (Styawan & Khairiyah, 2025). Hasil uji dengan gelatin menunjukkan terbentuknya endapan, hal ini dapat terjadi karena senyawa tanin dapat membentuk kompleks dengan protein yang tidak larut (Wardi et al., 2025). Hasil uji ini sesuai dengan penelitian Wardi et al., (2025) yang menunjukkan bahwa

ekstrak etanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L) positif terhadap tanin menggunakan uji dengan  $\text{FeCl}_3$  dan gelatin.

Penentuan panjang gelombang maksimum dan *operating time* dilakukan dengan menggunakan standar asam tanat. Asam tanat digunakan sebagai standar tanin karena merupakan senyawa yang stabil, mudah diperoleh dalam bentuk murni, larut baik dalam pelarut polar dan stabil pada saat direaksikan dengan Follin Ciocalteu. Hasil optimasi menunjukkan bahwa asam tanat memiliki panjang gelombang maksimum pada 770 nm wilayah visibel. Panjang gelombang ini relatif sesuai dengan penelitian dari Styawan & Khairiyah (2025) yang memperoleh panjang gelombang optimum pada 780nm dan Suhaenah et al., (2024) memperoleh panjang gelombang optimum pada 772nm. Selanjutnya penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu stabil serapan setelah tanin bereaksi dengan reagen Follin Ciocalteu sehingga tidak mengalami penurunan pada saat pengukuran (Margata et al., 2024). Pada penelitian ini waktu stabil diperoleh pada rentang waktu 10-15 menit.

Pada penentuan kadar total tanin ekstrak etanol daun singkong dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dan Follin Ciocalteu serta menggunakan asam tanat sebagai standar. Penggunaan perekasi Follin Ciocalteu karena tanin dapat membentuk kompleks warna biru yang disebabkan adanya reduksi kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat (Utomo & Rizki, 2022). Analisis kadar tanin pada penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Kadar tanin dapat ditentukan dengan cara mengukur absorbansi sampel dan dihitung menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari pengukuran absorbansi asam tanat. Berdasarkan penentuan kadar total tanin (Tabel 3) hasil ekstraksi metode refluks lebih tinggi dibandingkan dengan metode maserasi. Tinggi rendahnya kadar tanin dalam suatu ekstrak sangat dipengaruhi oleh suhu dan lama waktu ekstraksi. Suhu terlalu tinggi atau rendah serta waktu yang terlalu lama dapat menurunkan kadar tanin karena adanya degradasi senyawa aktif (Natasya et al., 2025). Tanin memiliki stabilitas suhu pada  $60^{\circ} - 80^{\circ} \text{C}$  (Warnasih & Hasanah, 2018), sehingga memungkinkan pada saat pengukuran kadar tanin pada ekstrak hasil maserasi lebih banyak yang terdegradasi karena pada saat ekstraksi dilakukan pada suhu ruang serta pada waktu yang lebih lama dibandingkan dengan ekstrak hasil refluks yang dilakukan pada suhu  $65^{\circ} \text{C}$  dengan waktu hanya 3 jam.

## SIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun singkong hasil ekstraksi metode refluks mengandung senyawa tanin dengan kadar 1,17% (mg/g) yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil ekstraksi metode maserasi yaitu 0,52% (mg/g).

## REFERENSI

Apriliana, A., Handayani, F., Ariyanti, L., Tinggi, S., Kesehatan, I., Brig, J., Abdul, J., Sjahanie, W., Hitam, A., & Timur, K. (2019). Perbandingan Metode Maserasi Dan Refluks Terhadap

- Rendemen Ekstrak Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack). *Jurnal Farmasi Galenika*, 6(1). <https://doi.org/10.70410/jfg.v6i1.142>
- Camarda, L., Budriesi, R., Corazza, I., Frosini, M., Marzetti, C., & Mattioli, L. B. (2026). Antioxidant and Health-Related Effects of Tannins : *From Agri-Food By-Products to Human and Animal Health*. 1–16.
- Cosme, F., Aires, A., Pinto, T., Oliveira, I., & Vilela, A. (2025). A Comprehensive Review of Bioactive Tannins in Foods and Beverages : *Functional Properties , Health Benefits , and Sensory Qualities*. 1–28.
- Dina Adelina\*, Irman Ansari Adlin, Agustina Dyah S, R. J. (2025). Tannin Test on Celery Leaves ( *Apium graveolens* L .) Using UV-Vis Spectrophotometry Method as an Active Ingredient in Hand Sanitizer.*Jurnal Teknologi* 25(2), 111–116.
- Elisa Issusilaningtyas, Fatimah Azzahra, Nikmah Nuur Rochmah, Anita Ratna Faoziyah, A. P. A. (2023). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Daun Jeruju (*Acanthus ebracteatus* Vahl). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 3(2), 620–630.
- Imane Boukhers 1, Frederic Boudard 1, Sylvie Morel 2, A. S. 1, & , Karine Portet 1, Caroline Guzman 1, Manon Vitou 2, Joelle Kongolo 1, A. M. 1 and P. P. (2022). Nutrition , Healthcare Benefits and Phytochemical Properties of Cassava ( *Manihot esculenta* ) Leaves Sourced from Three. *Foods*, 11.
- Ján Kováč 1, 2, Livia Slobodníková 3, Eva Trajčiková 4, Katarína Rendeková 4, P. M. 4, & Fialová, and S. B. (2023). Therapeutic Potential of Flavonoids and Tannins in Management of Oral Infectious Diseases — A Review. *Molecules Review*. 28 (158)
- Karim, A., Ma'ruf, D., Rahim, M. (2021). Penetapan Kadar Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang Berasal dari Kabupaten Jeneponto dengan Metode Spektrofotometri UV Vis. *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 01(1), 34–39.
- Kumar, A., Islam, N., Faruk, O., & Dungani, R. (2020). Review on tannins : Extraction processes , applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 58–70. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>
- Lin, L., Yulianti, E., & Ferdinal, F. (2025). Uji Fenolik Total dan Kapasitas Antioksidan DPPH Ekstrak Daun Singkong ( *Manihot esculenta* ).*JUSINDO* 7(2), 520–526.
- M. S. S. Aolal, Ratman1, S. Nuryanti1, Reny1, H. (2025). Analisis Kadar Tanin Dan Flavonoid Pada Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.). *MEDIA EKSAKTA*, 21(2), 54–58.
- Margata, L., Nadia, S., Pakpahan, M., Hafiza, N., & Journal, F. (2024). Penetapan Kadar Tanin Pada Rebusan Daun Porang ( *Amorphophallus muelleri* Blume ) Dan Daun Jambu Biji ( *Psidium guajava* L ) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis.*FORTE JOURNAL* 04, 81–90.

- Marjoni, M. R., Trijuanda, S. E., & Evani, N. P. (2025). Determination Of Tannins And Catechin In Ethyl Acetate Extract Of Gambir Twigs By Uv-Vis Spectrophotometry. *Proceeding of The Multidiciplinary Research Community 2023*, 729–737.
- Marsus, I., & Nur, M. K. (2024). Effectiveness Of Avocado Seed Extract (*Persea americana* Mill.) On Inhibit Growth Of *Candida albicans* And *Trichopyton* sp. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 9(4), 987–998.
- Mihra, Minarni Rama Jura, dan P. N. (2018). Analisis Kadar Tanindalam Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss) Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 7(November), 179–183.
- Musrifah, S., & Bahri, S. (2025). Evaluation Of The Antimicrobial Activity Of Ethanol Extract From Galangal Rhizome ( *Kaempferia galanga* L .) In The Purbalingga Accession. *BIOEDUPAT:Pattimura Journal of Biology and Learning* 5(1), 278–286.
- Natasya, A., Azzahra, A. T., & Sandra, Y. (2025). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kadar Tanin Dari Ekstrak Etanol Daun Badotan ( *Ageratum conyzoides* L .). *Syntax Literate: Jurnal Ilmiah Indonesia* 10(11), 9380–9394.
- Ningsih, P., Pratiwi, N., Ahmar, D. S., & Tiwow, V. M. (2024). Quantification of Tannin in Chromolaena Odorat ( *Kirinyu* ) Leaf Extract. *International Journal of Design & Nature and Ecodynamics* 19(4), 1341–1346.
- Upa, Nurul Fatmawati Pua, Matias Nataniel Kolobani, Nimas Prita R.K Wardani, Maria Laurenci Fanny Permata Kale, D. T. (2024). Effect of Oven Drying Temperature on The Tanin Content of Bungur ( *Lagerstroemia speciosa* Auct . non ( L .) Pers ) Leaves. *Golden Ratio of Data in Summary*, 4(1), 144–152. <https://doi.org/doi.org/10.52970/grdis.v4i1.1001>
- Rizki, W. T., Wahyuni, W. S., Sari, R. D., Lestari, S. M., & Rahmadevi, R. (2024). Tannin Extraction from Bark of Cinnamomum burmannii and Its Application for use as Natural Dye in Cosmetic Products. *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry*, 9(1), 35–40. <https://doi.org/10.24845/ijfac.v9.i1.35>
- Safitri, L., Nofita. Tutik (2023). Hubungan Kadar Tanin Dengan Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Buah Kakao ( *Theobroma cacao* L .) Yang Tumbuh Di Dataran Rendah Dan Dataran Tinggi. *JURNAL FARMASI MALAHAYATI* Vol 6(1), 52–62.
- Styawan, A. A., & Khairiyah, F. N. (2025). Test for Determination of Tannin Characteristics of Oolong Tea Leaf Extract ( *Camellia sinensis* ( L .) Kuntze ) from Kemuning Tea Plant Karanganyar. *Journal of Food and Pharmaceutical Science* 13(4), 335–342.
- Suhaenah, A., Muflihunna, A., Renhoran, A. A., Indonesia, U. M., Selatan, S., Indonesia, U. M., & Selatan, S. (2024). Penentuan Kadar Tanin Pada Ekstrak Etanol Daun Karet Kebo ( *Ficus elastica* Roxb . ex Hornem ) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Makassar*

- Pharmaceutical Science Journal*, 2(3), 427–437.
- Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). Review Article : Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Review Jurnal : Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy* 3(2), 130–136.
- Susanty and Fairus Bachmid. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.) *KONVERSI*, 5(2), 87–93.
- Syafitri, M. H., & Surabaya, A. F. (2022). Edukasi manfaat daun singkong dan daun pepaya serta pelatihan pengolahannya menjadi dendeng sebagai pangan alternatif untuk menguatkan imun. *Epmas: Edukasi dan Pengabdian Masyarakat II*, 16–23.
- Tong, Z., He, W., Fan, X., & Guo, A. (2022). Biological Function of Plant Tannin and Its Application in Animal Health. *Frontiers in Veterinary* 8(January), 1–7.  
<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.803657>
- Utomo, Y., & Rizki, L. M. (2022). Pengukuran Kadar Tanin Total pada Ekstrak Daun Afrika dengan Perbedaan Volume Maserasi. *Proceedings of Life and Applied Sciences*, 2.
- Wardatun, S., Mahyuni, S., & Mulyani, J. S. (2025). The Effect of Ethanol Polarities on Tannin Content of Persea americana Mill Seeds Extract Using Gelatin Precipitation Method. *Helium: Journal of Science and Applied Chemistry* 4(2), 72–77.
- Wardi, E. S., Rasyid, R., & Soniamarta, M. (2025). Determination of Total Tannin Content and Antioxidant Activity of the Ethanol Extract from Senduduk Leaves (*Melastoma malabathricum* L.). *Asian Journal of Research in Biochemistry* 15(4), 111–117.
- Warnasih, S., & Hasanah, U. (2018). Phytochemical Characterization And Tannin Stability Test From Kluwek (*Pangium edule Reinw*). *JOURNAL OF SCIENCE INNOVARE* 01(02), 44–49.