

**GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK ETANOL
PADA BIJI KEWER (*Senna occidentalis* (L.) Link) DENGAN
METODE MIKROPLATE READER**

KARYA TULIS ILMIAH

**TINA LESTARI
NIM : KHGF23002**



**PROGRAM STUDI D3 FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHTAN
INSTITUT KESEHATAN KARSA HUSADA GARUT
2026**

**GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK ETANOL
PADA BIJI KEWER (*Senna occidentalis* (L.) Link) DENGAN
METODE MIKROPLATE READER**

KARYA TULIS ILMIAH

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan dan
memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm.) pada
Program Studi D3 Farmasi**

**TINA LESTARI
NIM : KHGF23002**



**PROGRAM STUDI D3 FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
INSTITUT KESEHATAN KARSA HUSADA GARUT
2026**

LEMBAR PERSETUJUAN

**JUDUL : GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK ETANOL
PADA BIJI KEWER (*Senna occidentalis* (L.) Link) DENGAN
METODE MIKROPLATE READER**

NAMA : TINA LESTARI

NIM : KHGF23002

KARYA TULIS ILMIAH

Karya Tulis Ilmiah ini telah diperiksa dan disetujui isi serta susunan sehingga dapat diajukan dalam ujian Karya Tulis Ilmiah pada Program Studi D3 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Institut Kesehatan Karsa Husada Garut

Garut, 7 Juli 2026

Menyetujui,

Pembimbing

Dr. Dadang Muhammad Hasyim, M.Si.

LEMBAR PENGESAHAN

JUDUL : GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK ETANOL PADA BIJI KEWER (*Senna occidentalis* (L.) Link) DENGAN METODE MIKROPLATE READER
NAMA : TINA LESTARI
NIM : KHGF23002

KARYA TULIS ILMIAH

Karya Tulis Ilmiah ini telah dipertahankan dihadapan
Tim Penguji ujian Karya Tulis Ilmiah pada
Program Studi D3 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Institut Kesehatan Karsa Husada Garut

Garut, 07 Juli 2026

Mengetahui
Ketua Program Studi D3 Farmasi,

Menyetujui
Pembimbing,

apt. Nurul, S.Si., M.Farm.

Dr. Dadang Muhammad Hasyim, M.Si.

Mengesahkan
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,

Susan Susyanti, S.Kp., M.Kep.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, KTI ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik Ahli Madya Farmasi (A.Md. Farm.), baik dari Institut Kesehatan Karsa Husada Garut maupun di perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di Institut Kesehatan Karsa Husada Garut.

Garut, 02 Juli 2026
Yang membuat pernyataan

Tina Lestari
NIM : KHGF23002

ABSTRAK

GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK ETANOL PADA BIJI KEWER (*Senna occidentalis* (L.) Link) DENGAN METODE MIKROPLATE READER

Tina Lestari

Program Studi D3 Farmasi

Fakultas Ilmu Kesehatan

Institut Kesehatan Karsa Husada Garut

Biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki potensi sebagai sumber senyawa metabolit sekunder, khususnya tanin yang termasuk dalam kelompok polifenol. Tanin diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, serta agen astringen yang berperan penting dalam bidang farmasi dan kesehatan. Kandungan senyawa bioaktif dalam bahan alam dapat dipengaruhi oleh proses pengolahan pascapanen, salah satunya penyangraian, yang berpotensi menyebabkan perubahan struktur jaringan dan stabilitas senyawa akibat paparan suhu tinggi. Oleh karena itu, diperlukan kajian untuk mengetahui pengaruh perlakuan tersebut terhadap kadar tanin total pada biji kewer. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai menggunakan metode vanilin–asam sulfat dengan instrumen microplate reader. Penelitian ini menggunakan desain deskriptif kuantitatif dengan pendekatan laboratorium. Sampel dibagi menjadi dua kelompok, yaitu biji kewer yang disangrai pada suhu 150°C selama 15 menit dan biji kewer tanpa penyangraian. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Penetapan kadar tanin total dilakukan berdasarkan reaksi kolorimetri vanilin–asam sulfat dan diukur pada panjang gelombang 492 nm menggunakan microplate reader dengan katekin sebagai standar pembanding. Hasil dinyatakan dalam satuan mg Catechin Equivalent per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen ekstrak biji kewer yang disangrai sebesar 3,03%, sedangkan tanpa disangrai sebesar 6,15%. Nilai absorbansi masing-masing sampel adalah 0,0392 dan 0,0250. Kadar tanin total pada ekstrak disangrai sebesar 654,16 mg CE/g ekstrak, sedangkan pada ekstrak tanpa disangrai sebesar 27,63 mg CE/g ekstrak.

Kata Kunci: (*Senna occidentalis* (L.) Link), tanin total, penyangraian, maserasi, microplate reader.

ABSTRACT

DESCRIPTION OF TOTAL TANNIN CONTENT IN ETHANOLIC EXTRACT (*Senna occidentalis* (L.) Link) USING MICROPLATE READER

Tina Lestari

Program Studi D3 Farmasi

Fakultas Ilmu Kesehatan

Institut Kesehatan Karsa Husada Garut

(Senna occidentalis (L.) Link). seeds are one of the medicinal plants that have potential as a source of secondary metabolites, particularly tannins, which belong to the polyphenol group. Tannins are known to exhibit various biological activities, including antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, and astringent properties, which are important in pharmaceutical and health applications. The content of bioactive compounds in natural materials may be influenced by post-harvest processing, such as roasting, which can alter tissue structure and compound stability due to heat exposure. Therefore, an investigation is required to evaluate the effect of roasting on the total tannin content of *Senna occidentalis* Linn. seeds. This study aimed to determine the total tannin content of ethanol extracts from roasted and unroasted *Senna occidentalis* Linn. seeds using the vanillin–sulfuric acid method with a microplate reader instrument. This research employed a descriptive quantitative laboratory-based design. The samples were divided into two groups, namely roasted seeds at 150°C for 15 minutes and unroasted seeds. Extraction was performed using maceration with 96% ethanol. Total tannin content was determined based on a vanillin–sulfuric acid colorimetric reaction and measured at 492 nm using a microplate reader with catechin as the reference standard. Results were expressed as mg Catechin Equivalent per gram of extract (mg CE/g extract). The results showed that the extraction yield of roasted seeds was 3.03%, while unroasted seeds showed 6.15%. The absorbance values were 0.0392 and 0.0250, respectively. The total tannin content was 654.16 mg CE/g extract for roasted seeds and 27.63 mg CE/g extract for unroasted seeds. In conclusion, roasting treatment affects the total tannin content of ethanol extracts of *Senna occidentalis* Linn. seeds. The microplate reader method proved to be effective for quantitative tannin analysis due to its high sensitivity, minimal sample requirement, and good reproducibility.

Keywords: (*Senna occidentalis* (L.) Link, total tannin, roasting, maceration, microplate reader.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini dengan judul **“Gambaran Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Pada Biji Kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) Dengan Metode Mikroplate Reader”**. Shalawat serta salam semoga terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang mana telah memberikan ketauladanan yang baik kepada kita semua selaku umatnya.

Dalam penyusunan penelitian ini, penulis banyak mengalami hambatan dan kesulitan, namun berkat dukungan, bantuan, bimbingan, dan pengarahan dari berbagai pihak akhirnya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

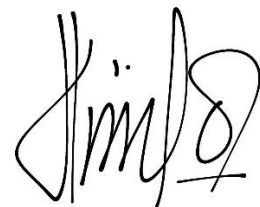
1. Dr. H. Hadiat, M.A., selaku Ketua Pembina Yayasan Dharma Husada Insani Garut;
2. Drs. H. Suryadi, M.Si., selaku Ketua Umum Yayasan Dharma Husada Insani Garut;
3. Dr. Iwan Wahyudi, S. Kep., NS., M. Kep, selaku Rektor Institut Kesehatan Karsa Husada Garut;
4. Susan Susyani, S.Kp., M. Kep., selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Institut Kesehatan Karsa Husada Garut;
5. Apt. Nurul, S.Si., M.Fram., selaku Ketua Program Studi D-III Farmasi Institut Kesehatan Karsa Husada Garut;
6. Dr. Dadang Muhammad Hasyim, M.Si., selaku Pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini;
7. apt Dina Nirwana Suwinda, S.Si., M. Fram. selaku penguji I yang telah memberikan masukan dan arahnya dalam karya tulis ilmiah ini;
8. Dr. H. Dian Roslan Hidayat, S.Kep., M.Kep. selaku penguji II yang telah memberikan masukan dan arahnya dalam karya tulis ilmiah ini;
9. Seluruh dosen pengajar yang telah memberikan bimbingan keilmuan dan nasihat-nasihat yang berharga selama menjalani perkuliahan. Semoga segala

ilmu dan amal baik Bapak dan Ibu mendapatkan balasan yang tak terhingga dari Allah SWT. Aamiin;

10. Kepada cinta pertama dan panutanku, Bapak Usep Permana dan pintu surgaku Mama Neni Sumarni. Terimakasih atas segala pengorbanan dan kasih sayang yang di berikan. Beliau memang tidak sempat merasakan Pendidikan bangku perkuliahan, namun mereka sumber inspirasi bagi penulis, yang senantiasa memberikan dorongan baik moril maupun materil serta tak kenal lelah mendo'akan sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah. Semoga bapak dan mama sehat, Panjang umur dan Bahagia selalu;
11. *Last but not least*, diri saya sendiri. Tina Lestari, terimakasih atas segala kerja keras dan semangatnya sehingga mampu bertahan dan terus melangkah sejauh ini. Terima kasih pada raga dan jiwa yang masih tetap tegar dan Ikhlas menjalani semuanya hingga sekarang.
12. Kepada teman-teman, terima kasih selalu menemani dan memberikan kenangan, pengalaman yang berharga dimasa perkuliahan ini. Dan semua pihak yang tidak tertulis terima kasih atas jasa yang telah diberikan, semoga Allah meridhoi dan memberikan balasan yang berlipat ganda. Amiin.

Penulis sangat sadar bahwa penelitian ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun serta bermanfaat guna perbaikan pada karya tulis ilmiah ini.

Garut, 07 Juli 2026



TINA LESTARI
KHGF23002

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
ABSTRAK.....	ii
ABSTRACT.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat	5
1.4.1 Manfaat bagi Penulis	5
1.4.2 Manfaat bagi Instansi.....	5
1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman <i>Senna occidentalis</i> (L) Link.....	7
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kewer	8
2.1.2 Morfologi Tanaman Kewer	11
2.1.3 Karakteristik Biji Kewer (<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link).....	13
2.1.4 Kandungan Metabolit Sekunder Biji Kewer	15

2.1.5 Senyawa Bioaktif pada Biji Kewer dan Potensi Farmakologinya.....	15
2.2 Senyawa Tanin Total.....	16
2.2.1 Pengertian dan Struktur Kimia Tanin	16
2.2.2 Klasifikasi Tanin	18
2.2.3 Karakteristik Fisikokimia Tanin.....	19
2.2.4 Fungsi Biologis Tanin pada Tanaman	20
2.2.5 Aktivitas Farmakologi Tanin	21
2.2.6 Faktor yang Memengaruhi Kandungan Tanin	23
2.3 Proses Penyangraian terhadap Stabilitas Senyawa Tanin.....	25
2.4 Ekstraksi dengan Pelarut Etanol.....	27
2.4.1 Maserasi	30
2.4.2 Perkolasi.....	31
2.4.3 Sokhletasi	33
2.5 Mikroplate Reader	35
2.7 Kerangka Pemikiran Penelitian.....	37
BAB III METODELOGI PENELITIAN	40
3.1 Desain Penelitian.....	40
3.2 Variabel Penelitian	40
3.3 Definisi Operasional	41
3.4 Populasi dan Sampel.....	41
3.4.1 Populasi.....	41
3.4.2 Sampel.....	41
3.5 Waktu dan Tempat Penelitian	42
3.6 Instrumen Penelitian	42
3.6.1 Alat	42
3.6.2 Bahan	43
3.6.3 Proses Penyangraian	43
3.6.4 Ekstrak Etanol	43
3.6.5 Pembuatan Larutan Standar	44
3.6.6 Pengukuran Absorbansi Menggunakan Microplate Reader....	44

3.7 Cara Pengumpulan Data	45
3.7.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman.....	45
3.7.2 Preparasi Sampel	45
3.7.3 Pembuatan Ekstrak	46
3.7.4 Uji Kadar Total Tanin dengan metode Microplate reader	47
3.8 Analisis Data	50
3.8.1 Pembuatan Kurva Baku Katekin	50
3.8.2 Penentuan Kadar Tanin Total.....	51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	53
4.1 Hasil Penelitian	53
4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman	53
4.1.2 Hasil Simplisia dan Serbuk	53
4.1.3 Hasil Ekstraksi Biji Kewer	55
4.1.4 Hasil Kurva Baku Katekin	55
4.1.5 Hasil Absorbansi Sampel	56
4.1.6 Hasil Kadar Tanin Total.....	57
4.2 Pembahasan.....	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Kesimpulan	62
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64
LAMPIRAN	67
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	80

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Tanaman Kewer	9
Tabel 3.1 Definisi Operasional	41
Tabel 4.1 karakteristik simplisia biji kewer.....	54
Tabel 4.2 Hasil ekstraksi serbuk simplisia biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai	55
Tabel 4. 3 Nilai hasil kurva baku katekin.....	56
Tabel 4. 4 Data Absorbansi Sampel	57
Tabel 4. 5 Hasil Kadar Tanin Total.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Pohon kewer (Detik.com, 2024)	9
Gambar 2. 2 Biji kewer (Martiani et al, 2023).....	10
Gambar 2. 3 Alat Penyangrai (Astro, 2026)	26
Gambar 2. 4 Alat Ekstraksi.....	27
Gambar 2. 5 Alat Maserasi (Farmasi Indonesia, 2021).....	31
Gambar 2. 6 Perkolasi (Branzowy, 2025)	32
Gambar 2. 7 Alat Soxhletasi	35
Gambar 2. 8 Microplate reader	36
Gambar 2. 9 Kerangka Pemikiran	39
Gambar 4. 1 Gambar Kurva Baku Katekin	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat hasil determinasi tanaman	67
Lampiran 2. Diagram alir penelitian	68
Lampiran 3. Diagram alir pembuatan ekstrak	69
Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai	70
Lampiran 5. Perhitungan kadar tanin total (CE/g ekstrak).....	71
Lampiran 6. Perhitungan kurva baku katekin.....	73
Lampiran 7. Dokumentasi penelitian	75
Lampiran 8. Lembar bimbingan karya tulis ilmiah.....	77
Lampiran 9. Lembar persetujuan dan matriks seminar hasil penelitian.....	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia dengan berbagai jenis tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Pemanfaatan tanaman obat telah dilakukan secara turun-temurun oleh masyarakat sebagai upaya menjaga kesehatan maupun membantu mengatasi berbagai penyakit. Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kefarmasian, penggunaan tanaman obat tidak hanya didasarkan pada pengalaman empiris, tetapi juga memerlukan pembuktian secara ilmiah melalui penelitian yang mampu memberikan informasi mengenai kandungan senyawa aktif, mutu, keamanan, dan potensi pemanfaatannya. Oleh karena itu, penelitian terhadap tanaman obat terus berkembang sebagai bagian dari upaya mendukung pengembangan obat tradisional yang bermutu, aman, dan bermanfaat (Hersila *et al.*, 2023).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan adalah biji kewer *Senna occidentalis* (L.) Link. Tanaman ini termasuk famili Fabaceae dan tumbuh cukup melimpah di berbagai wilayah Indonesia. Masyarakat telah memanfaatkan beberapa bagian tanaman ini sebagai bahan pengobatan tradisional, seperti daun, akar, batang, maupun bijinya. Biji kewer diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis, antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, antrakuinon, dan tanin. Keberadaan metabolit

sekunder tersebut menjadikan biji kewer sebagai salah satu tanaman yang berpotensi untuk terus diteliti dan dikembangkan sebagai bahan alam di bidang kefarmasian (Srivastava *et al.*, 2025).

Salah satu metabolit sekunder yang menjadi perhatian dalam penelitian bahan alam adalah tanin. Tanin merupakan senyawa polifenol yang tersusun atas gugus hidroksil dan memiliki kemampuan membentuk ikatan dengan protein maupun senyawa organik lainnya. Senyawa ini banyak ditemukan pada berbagai bagian tumbuhan, seperti daun, kulit batang, buah, biji, dan akar. Tanin diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, di antaranya sebagai antioksidan, antibakteri, antidiare, dan astringen, sehingga keberadaannya sering dijadikan salah satu parameter dalam evaluasi mutu bahan alam. Informasi mengenai kadar tanin total menjadi penting karena dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa aktif pada suatu ekstrak tanaman yang selanjutnya dapat digunakan sebagai data ilmiah dalam pengembangan penelitian maupun standarisasi bahan baku obat tradisional (Hersila *et al.*, 2023).

Penyangraian merupakan salah satu bentuk pengolahan awal yang banyak diterapkan pada bahan alam sebelum dimanfaatkan lebih lanjut. Proses ini dilakukan melalui pemanasan kering pada suhu dan waktu tertentu sehingga dapat menghasilkan perubahan karakteristik fisik bahan, seperti warna, aroma, tekstur, dan kadar air. Dalam penelitian bahan alam, penyangraian sering digunakan sebagai salah satu tahapan preparasi sampel karena mampu menghasilkan bahan yang lebih kering, lebih stabil selama penyimpanan, serta lebih mudah dihaluskan menjadi serbuk simplisia. Di sisi lain, biji kewer juga dapat digunakan tanpa melalui proses

penyangraian sehingga kedua kondisi tersebut dapat memberikan informasi mengenai kadar tanin total pada ekstrak yang dihasilkan (Liu *et al.*, 2023).

Tahap selanjutnya setelah preparasi bahan adalah proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa kimia yang terkandung di dalam bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai sehingga senyawa aktif dapat diperoleh dalam bentuk ekstrak. Keberhasilan proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut, metode ekstraksi, ukuran partikel simplisia, waktu ekstraksi, serta sifat kimia senyawa yang akan ditarik. Pada penelitian ini digunakan etanol sebagai pelarut karena memiliki kemampuan yang baik dalam melarutkan senyawa polifenol, termasuk tanin, serta relatif aman, mudah menguap, dan banyak digunakan dalam penelitian fitokimia. Penggunaan etanol juga sejalan dengan prinsip green chemistry karena berasal dari sumber yang dapat diperbarui dan memiliki dampak lingkungan yang lebih rendah dibandingkan beberapa pelarut organik lainnya (Firdiyansyah *et al.*, 2024).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu ruang selama waktu tertentu disertai pengadukan secara berkala. Metode ini dipilih karena prosedurnya sederhana, tidak memerlukan pemanasan selama proses ekstraksi, serta sesuai untuk senyawa metabolit sekunder yang sensitif terhadap suhu tinggi. Kontak yang berlangsung cukup lama antara pelarut dan bahan memungkinkan senyawa tanin larut secara optimal ke dalam pelarut etanol sehingga diperoleh ekstrak yang dapat digunakan untuk analisis kadar tanin total (Bitwell *et al.*, 2023; Naviglio *et al.*, 2019).

Setelah ekstrak diperoleh, dilakukan penetapan kadar tanin total menggunakan metode vanilin–asam sulfat dengan instrumen microplate reader. Metode ini bekerja berdasarkan pembentukan kompleks berwarna merah hasil reaksi antara tanin terkondensasi dengan pereaksi vanilin dalam suasana asam. Intensitas warna yang terbentuk diukur sebagai nilai absorbansi pada panjang gelombang 492 nm menggunakan microplate reader. Selanjutnya, nilai absorbansi tersebut dihitung menggunakan kurva baku katekin sehingga diperoleh kadar tanin total yang dinyatakan sebagai mg Catechin Equivalent per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak). Penggunaan microplate reader dipilih karena mampu memberikan hasil pengukuran yang cepat, akurat, memerlukan volume sampel yang relatif sedikit, serta dapat digunakan untuk menganalisis beberapa sampel secara bersamaan sehingga sesuai untuk analisis kuantitatif senyawa tanin (Latifa, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana Gambaran kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewan *Senna occidentalis* (L) Link yang disangrai dan tanpa disangrai menggunakan microplate reader?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui gambaran kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewan *Senna occidentalis* (L) Link yang disangrai dan tanpa disangrai menggunakan metode vanillin-asam sulfat dengan instrumen microplate reader.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewan *Senna occidentalis* (L) Link yang disangrai.

2. Mengetahui kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer *Senna occidentalis* (L.) Link tanpa disangrai.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat bagi Penulis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sarana bagi penulis untuk menerapkan ilmu dan keterampilan yang telah diperoleh selama proses perkuliahan, khususnya dalam bidang farmasi bahan alam dan analisis fitokimia. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan penulis dalam melakukan preparasi sampel, proses ekstraksi, penetapan kadar tanin total menggunakan metode vanilin–asam sulfat dengan instrumen microplate reader, serta menganalisis dan menyajikan data hasil penelitian secara ilmiah.

1.4.2 Manfaat bagi Instansi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah referensi ilmiah di lingkungan Program Studi D3 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Institut Kesehatan Karsa Husada Garut. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dan bahan acuan bagi mahasiswa maupun peneliti yang akan melakukan penelitian lanjutan mengenai kandungan metabolit sekunder, khususnya kadar tanin total pada tanaman obat.

1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) yang disangrai dan tanpa disangrai. Informasi tersebut diharapkan dapat menambah wawasan masyarakat mengenai kandungan senyawa tanin

pada biji kewer serta mendukung pemanfaatan tanaman obat secara lebih tepat berdasarkan data ilmiah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman *Senna occidentalis* (L.) Link

Senna occidentalis (L.) Link merupakan tanaman obat dari *famili Fabaceae* yang banyak ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini telah lama dimanfaatkan secara tradisional karena mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memberikan aktivitas farmakologis. Pemanfaatan tradisional tersebut mencerminkan adanya pengalaman empiris yang panjang, di mana masyarakat telah mengenali efek terapeutik tanaman ini, baik melalui penggunaan bijinya, daun, maupun bagian tanaman lainnya. Dalam pengembangan obat berbasis bahan alam, keberadaan tanaman yang telah digunakan secara tradisional menjadi titik awal yang penting untuk diteliti lebih lanjut secara ilmiah.

Dalam perspektif farmasi bahan alam, tanaman kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) menarik untuk diteliti karena mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, antrakuinon, terpenoid, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui berpotensi memberikan berbagai aktivitas biologis sehingga tanaman ini banyak dikembangkan sebagai bahan penelitian di bidang farmasi (Srivastava., *et al* 2025).

Bagian tanaman kewer yang dapat dimanfaatkan meliputi daun, batang, akar, dan biji. Namun, biji menjadi salah satu bagian yang menarik untuk dikaji karena mengandung berbagai komponen kimia yang berpotensi memberikan aktivitas

farmakologis. Biji tanaman berfungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan nutrisi sekaligus menyimpan senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam mempertahankan keberlangsungan hidup tanaman. Oleh karena itu, analisis terhadap kandungan senyawa aktif pada biji kewer, khususnya tanin, menjadi penting untuk memperoleh informasi ilmiah mengenai potensinya sebagai bahan alam (Martiani *et al.*, 2023).

Selain kandungan senyawa bioaktif, karakteristik pengolahan bahan juga dapat memengaruhi komposisi kimia tanaman. Salah satu bentuk pengolahan yang sering dilakukan pada biji adalah proses penyangraian. Penyangraian dapat menyebabkan perubahan fisik maupun kimia, seperti penurunan kadar air, perubahan warna, perubahan tekstur, serta perubahan kandungan senyawa aktif akibat paparan panas. Pada senyawa fenolik seperti tanin, perlakuan suhu tertentu dapat menyebabkan perubahan struktur kimia yang berpengaruh terhadap jumlah senyawa yang dapat diekstraksi (Liu *et al.*, 2023).

Berdasarkan potensi tersebut, tanaman kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) menjadi salah satu tanaman yang memiliki peluang untuk dikembangkan dalam bidang farmasi berbasis bahan alam. Namun, pemanfaatannya membutuhkan kajian ilmiah mengenai karakteristik bahan, kandungan metabolit sekunder, serta metode analisis yang tepat. Salah satu parameter penting dalam evaluasi bahan alam adalah penetapan kadar tanin total karena tanin merupakan salah satu senyawa aktif yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis tanaman.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kewer

Secara taksonomi, tanaman kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) termasuk

dalam famili Fabaceae atau suku polong-polongan. Famili Fabaceae merupakan salah satu famili tumbuhan terbesar yang memiliki banyak anggota dengan kemampuan menghasilkan berbagai metabolit sekunder, termasuk senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin. Karakteristik tersebut menyebabkan banyak tanaman dari famili Fabaceae menjadi objek penelitian dalam bidang farmasi bahan alam (Ahmad, 2025).

Tabel 2.1 Klasifikasi Tanaman Kewer

Tingkatan	Klasifikasi
Kingdom	<i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Divisi	<i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotyledon)
Sub Kelas	<i>Rosidae</i>
Ordo	<i>Fabales</i>
Famili	<i>Fabaceae</i> (Suku polong-polongan)
Genus	<i>Senna</i>
Spesies	<i>Senna occidentalis</i> L

Klasifikasi ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut masih satu kelompok dengan berbagai tanaman leguminosa lain yang dikenal kaya akan metabolit sekunder. Penempatan *Senna occidentalis* (L.) Link dalam famili Fabaceae menjadi indikator awal bahwa tanaman ini berpotensi mengandung senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, maupun tanin yang secara umum banyak ditemukan pada kelompok legum.



Gambar 2.1 Pohon kewer (Detik.com, 2024)

(*Senna occidentalis* (L) Link) dikenal dengan berbagai nama lokal, salah satunya biji kewer atau kopi senna. Penamaan ini berkaitan dengan bentuk dan warna bijinya yang menyerupai biji kopi setelah melalui proses tertentu, termasuk penyangraian. Di beberapa daerah, biji tanaman ini bahkan dimanfaatkan sebagai bahan minuman alternatif pengganti kopi, meskipun penggunaannya masih terbatas dan bersifat tradisional. Keberagaman nama lokal tersebut menunjukkan bahwa tanaman ini telah lama berinteraksi dengan kehidupan masyarakat, sekaligus menegaskan perannya sebagai tanaman yang memiliki nilai guna praktis.



Gambar 2. 2 Biji kewer (Martiani et al, 2023)

Secara ekologis, *Senna occidentalis* (L) Link merupakan tanaman yang mampu tumbuh dengan baik pada berbagai kondisi lingkungan. Tanaman ini sering dijumpai tumbuh liar di lahan terbuka, tepi jalan, area persawahan, maupun perkebunan. Kemampuannya beradaptasi terhadap kondisi tanah yang relatif miskin hara, paparan sinar matahari yang tinggi, serta variasi curah hujan menjadikan tanaman ini tergolong tangguh dan mudah berkembang. Karakter adaptif tersebut memberikan keuntungan tersendiri dalam konteks ketersediaan bahan baku, karena tanaman ini tidak memerlukan teknik budidaya yang kompleks untuk dapat tumbuh dan berkembang.

2.1.2 Morfologi Tanaman Kewer

Tanaman kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) merupakan tanaman semak tahunan yang termasuk dalam famili Fabaceae dengan karakteristik morfologi yang khas. Tanaman ini memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi sehingga dapat tumbuh pada berbagai kondisi lingkungan, terutama daerah tropis dan subtropis. Secara umum, tanaman kewer memiliki ukuran sedang dengan tinggi sekitar 1–2 meter, tergantung pada kondisi lingkungan tumbuh, ketersediaan unsur hara, serta faktor iklim seperti intensitas cahaya dan curah hujan (Ahmad, 2025).

Bagian batang tanaman kewer berbentuk tegak, bercabang banyak, dan memiliki permukaan yang relatif halus. Batangnya berwarna hijau ketika masih muda dan dapat berubah menjadi kecoklatan seiring dengan bertambahnya umur tanaman akibat proses lignifikasi. Struktur batang yang bercabang memungkinkan tanaman memiliki tajuk yang lebih luas sehingga mendukung pertumbuhan daun dan proses fotosintesis secara optimal. Selain itu, percabangan batang membantu menopang organ tanaman seperti daun, bunga, dan buah selama proses pertumbuhan (Srivastava *et al.*, 2025).

Daun tanaman kewer termasuk tipe daun majemuk menyirip (*pinnate compound leaves*) dengan susunan anak daun yang berpasangan di sepanjang tangkai daun utama. Anak daun berbentuk lonjong hingga elips dengan ujung meruncing dan permukaan daun berwarna hijau. Struktur daun tersebut merupakan karakteristik yang umum ditemukan pada genus *Senna*. Daun merupakan organ utama tempat berlangsungnya proses fotosintesis yang berperan dalam menghasilkan energi dan mendukung pertumbuhan serta perkembangan tanaman (Ahmad, 2025).

Bunga (*Senna occidentalis* (L.) Link) memiliki karakteristik berupa bunga

berwarna kuning cerah dengan bentuk khas kelompok Fabaceae. Bunga tersusun dalam kelompok bunga (*inflorescence*) yang muncul pada bagian ketiak daun atau ujung cabang. Warna bunga yang mencolok berfungsi sebagai daya tarik bagi serangga penyerbuk sehingga mendukung proses reproduksi tanaman. Struktur bunga menjadi salah satu karakter penting dalam identifikasi morfologi tanaman kewer di lapangan (Martiani *et al.*, 2023).

Buah tanaman kewer berbentuk polong (*legume*) yang memanjang dan mengandung beberapa biji di dalamnya. Buah muda umumnya berwarna hijau dan akan berubah menjadi coklat tua hingga kehitaman ketika mengalami pematangan. Bentuk buah polong merupakan ciri khas famili Fabaceae yang menjadi tempat perkembangan biji sebelum mengalami penyebaran. Setelah buah matang dan mengalami pengeringan, polong akan membuka dan melepaskan bijinya ke lingkungan (Srivastava *et al.*, 2025).

Biji merupakan bagian tanaman kewer yang menjadi fokus dalam penelitian ini. Biji *Senna occidentalis* (L.) Link memiliki bentuk pipih hingga oval dengan ukuran kecil dan permukaan yang relatif keras. Warna biji berkisar dari coklat ke-hijauan hingga coklat tua kehitaman tergantung tingkat kematangan. Struktur biji terdiri atas lapisan kulit biji (*seed coat*) yang berfungsi melindungi bagian dalam biji, jaringan penyimpan cadangan makanan, serta embrio yang berperan dalam proses perkecambahan tanaman (Martiani *et al.*, 2023).

Kulit biji yang keras berfungsi melindungi embrio dari kerusakan mekanis maupun pengaruh lingkungan. Sementara itu, jaringan penyimpan cadangan makanan menyediakan nutrisi yang diperlukan selama proses perkecambahan hingga

terbentuk tanaman (Liu *et al.*, 2023).

Selama proses pematangan, biji mengalami perubahan warna dan tekstur yang merupakan karakteristik alami tanaman. Perubahan tersebut menjadi salah satu ciri yang digunakan dalam identifikasi tingkat kematangan biji (Nakitto *et al.*, 2024).

Berdasarkan karakteristik morfologinya, biji kewer memiliki ciri khas berupa bentuk pipih hingga oval, permukaan yang keras, serta warna cokelat tua ketika matang. Karakteristik tersebut menjadi dasar dalam proses identifikasi bahan baku sebelum digunakan pada penelitian.

2.1.3 Karakteristik Biji Kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link)

Biji kewer merupakan salah satu bagian tanaman *Senna occidentalis* (L.) Link yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai sumber bahan alam dalam bidang farmasi. Tanaman ini termasuk dalam famili Fabaceae yang dikenal memiliki kemampuan menghasilkan berbagai metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap lingkungan. Bagian biji menjadi salah satu bagian yang menarik untuk diteliti karena berfungsi sebagai organ penyimpanan cadangan makanan sekaligus tempat akumulasi berbagai senyawa bioaktif yang diperlukan dalam proses pertumbuhan tanaman (Ahmad, 2025).

Secara morfologi, biji *Senna occidentalis* (L.) Link memiliki bentuk pipih hingga oval dengan ukuran relatif kecil dan permukaan yang keras. Warna biji umumnya hijau kecoklatan saat masih muda dan berubah menjadi coklat tua hingga hitam ketika mengalami pematangan. Karakteristik warna dan bentuk biji tersebut menjadi salah satu ciri khas tanaman kewer yang membedakannya dari spesies lain

dalam genus *Senna*. Setelah mengalami proses penyangraian, biji kewan mengalami perubahan karakteristik fisik berupa perubahan warna menjadi lebih gelap, penurunan kadar air, perubahan tekstur, serta terbentuknya aroma khas akibat reaksi kimia selama pemanasan (Martiani *et al.*, 2023).

Struktur biji secara umum terdiri atas tiga bagian utama yaitu kulit biji (*testa*), jaringan penyimpan cadangan makanan, dan embrio. Kulit biji berfungsi sebagai lapisan pelindung terhadap kondisi lingkungan dan gangguan mikroorganisme, sedangkan bagian dalam biji menyimpan berbagai komponen nutrisi seperti protein, lipid, karbohidrat, serta senyawa metabolit sekunder. Keberadaan metabolit sekunder pada biji berkaitan dengan mekanisme pertahanan tanaman karena senyawa tersebut mampu memberikan perlindungan terhadap serangan patogen maupun herbivora (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Biji kewan secara tradisional telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan alternatif minuman karena memiliki karakteristik menyerupai kopi setelah dilakukan proses penyangraian. Pemanfaatan tersebut menunjukkan bahwa biji kewan memiliki nilai fungsional yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut. Namun, penggunaan bahan alam sebagai bahan obat maupun produk kesehatan memerlukan kajian ilmiah mengenai kandungan senyawa aktif, keamanan, serta karakteristik kimianya agar dapat digunakan secara tepat (Srivastava *et al.*, 2025).

Selain karakteristik fisiknya, biji kewan juga memiliki karakteristik kimia berupa kandungan berbagai senyawa metabolit sekunder, terutama golongan

fenolik. Senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang berperan dalam berbagai aktivitas biologis tanaman. Salah satu golongan senyawa fenolik yang terdapat pada biji kewer adalah tanin, yang akan dibahas lebih lanjut pada subbab berikutnya (Putri *et al.*, 2024).

2.1.4 Kandungan Metabolit Sekunder Biji Kewer

Tanaman *Senna occidentalis* (L.) Link diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, antrakuinon, dan tanin. Dalam penelitian ini, pembahasan difokuskan pada tanin karena senyawa tersebut merupakan parameter yang dianalisis untuk menentukan kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer (Sunani & Hendriani, 2023).

2.1.5 Senyawa Bioaktif pada Biji Kewer dan Potensi Farmakologinya

Keberadaan senyawa bioaktif pada biji kewer menjadikan tanaman ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan baku obat tradisional maupun produk kesehatan berbasis bahan alam. Aktivitas biologis tanaman umumnya berasal dari interaksi berbagai metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa fenolik seperti tanin dan flavonoid menjadi kelompok utama yang berperan dalam aktivitas antioksidan melalui mekanisme penghambatan reaksi oksidatif (Li *et al.*, 2025).

Keberadaan berbagai metabolit sekunder pada biji kewer memberikan potensi farmakologi, antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Potensi tersebut terutama berasal dari senyawa fenolik, termasuk tanin, yang diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis. Pada penelitian ini, pembahasan

difokuskan pada tanin sebagai senyawa yang dianalisis kadar totalnya (Putri *et al.*, 2024).

Potensi farmakologi tersebut menunjukkan bahwa biji kewer tidak hanya memiliki nilai sebagai bahan pangan alternatif, tetapi juga memiliki peluang untuk dikembangkan dalam bidang kefarmasian. Namun, pengembangan bahan alam membutuhkan data ilmiah mengenai kandungan senyawa aktif, salah satunya melalui penetapan kadar tanin total. Oleh karena itu, penelitian mengenai kadar tanin pada ekstrak etanol biji kewer dengan perlakuan berbeda menjadi penting untuk mengetahui karakteristik kimia bahan tersebut.

2.2 Senyawa Tanin Total

Tanin merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang tergolong dalam kelompok polifenol kompleks dengan karakteristik utama mampu membentuk ikatan kuat dengan protein dan makromolekul lainnya. Secara kimiawi, senyawa ini tersusun atas gugus hidroksil dan beberapa gugus terkait seperti karboksil yang terikat pada cincin aromatik, sehingga memberikan sifat reaktif yang tinggi dalam sistem biologis (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

2.2.1 Pengertian dan Struktur Kimia Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk ke dalam kelompok polifenol kompleks dengan berat molekul relatif tinggi. Senyawa ini memiliki banyak gugus hidroksil fenolik yang memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen dengan protein dan makromolekul lainnya sehingga memberikan sifat khas berupa rasa sepat (*astringent*) serta kemampuan mengendapkan protein. Berdasar-

kan sifat hidrolisisnya, tanin dibedakan menjadi tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Fraga-Corral *et al.*, 2021). Berdasarkan responsnya terhadap proses hidrolisis, tanin umumnya dibedakan menjadi tanin terhidrolisis yang relatif labil dan tanin terkondensasi yang memiliki struktur polimer lebih stabil terhadap degradasi fisik (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Secara struktur kimia, tanin memiliki cincin aromatik yang terikat dengan gugus hidroksil fenolik. Gugus hidroksil tersebut berperan penting dalam aktivitas biologis tanin karena mampu memberikan elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas. Struktur polifenol pada tanin juga memungkinkan terjadinya interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen dengan berbagai senyawa biologis sehingga menghasilkan kompleks yang stabil (Sunani & Hendriani, 2023).

Berdasarkan struktur penyusunnya, tanin memiliki tingkat kompleksitas yang lebih tinggi senyawa fenolik sederhana. Struktur tersebut menyebabkan tanin memiliki karakteristik kimia yang beragam, termasuk kemampuan sebagai antioksidan, pengkelat ion logam, serta penghambat aktivitas enzim tertentu. Karakteristik ini menjadikan tanin banyak dikaji dalam pengembangan obat berbasis bahan alam (Li *et al.*, 2025).

Dalam tanaman, tanin tidak hanya berfungsi sebagai senyawa aktif yang memberikan manfaat farmakologis, tetapi juga memiliki fungsi ekologis. Tanin dapat mengurangi tingkat konsumsi tanaman oleh herbivora karena memberikan rasa pahit dan sepat. Selain itu, tanin juga membantu tanaman menghadapi serangan mikroorganisme melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan patogen (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

2.2.2 Klasifikasi Tanin

Berdasarkan struktur kimianya, tanin secara umum dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu tanin terhidrolisis (*hydrolysable tannins*) dan tanin terkondensasi (*condensed tannins*). Perbedaan kedua kelompok tersebut didasarkan pada struktur penyusun, kestabilan kimia, serta kemampuan mengalami proses hidrolisis.

a. Tanin Terhidrolisis (*Hydrolysable Tannins*)

Tanin terhidrolisis merupakan jenis tanin yang memiliki struktur lebih sederhana dibandingkan tanin terkondensasi. Senyawa ini tersusun atas inti molekul gula, terutama glukosa, yang berikatan dengan asam fenolat seperti asam galat atau asam elagat melalui ikatan ester.

Karakteristik utama tanin terhidrolisis adalah kemampuannya mengalami pemecahan struktur melalui proses hidrolisis menggunakan asam, basa, atau enzim tertentu. Hasil hidrolisis tersebut menghasilkan komponen penyusun berupa gula dan senyawa fenolik sederhana (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Tanin jenis ini banyak ditemukan pada beberapa tanaman obat dan diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan dan antimikroba. Namun, karena struktur esternya relatif mudah mengalami perubahan, tanin terhidrolisis memiliki kestabilan yang lebih rendah terhadap perlakuan panas dibandingkan tanin terkondensasi.

b. Tanin Terkondensasi (*Condensed Tannins*)

Tanin terkondensasi merupakan kelompok tanin yang tersusun dari polimer flavonoid, terutama unit flavan-3-ol seperti katekin dan epikatekin. Jenis tanin ini memiliki struktur yang lebih kompleks dan lebih stabil dibandingkan tanin terhidrolisis.

Tanin terkondensasi banyak ditemukan pada bagian kulit batang, biji, buah, dan daun tanaman. Dalam penelitian bahan alam, kelompok tanin ini sering dianalisis menggunakan metode vanilin–asam sulfat karena mampu menghasilkan reaksi warna dengan intensitas tertentu yang dapat diukur secara spektrofotometri (Rahayu *et al.*, 2019).

Pada penelitian biji kwer, penggunaan standar katekin dalam analisis kadar tanin total berkaitan dengan kemampuan metode vanilin–asam sulfat dalam mendeteksi kelompok tanin terkondensasi. Hasil pengukuran kemudian dinyatakan sebagai ekuivalen katekin (*Catechin Equivalent*) yang menggambarkan jumlah tanin berdasarkan standar pembanding tersebut.

2.2.3 Karakteristik Fisikokimia Tanin

Tanin memiliki beberapa karakteristik fisikokimia yang menjadi dasar dalam proses ekstraksi, identifikasi, dan analisis kuantitatif. Salah satu karakteristik utama tanin adalah sifat polaritasnya yang tinggi akibat keberadaan gugus hidroksil fenolik dalam jumlah besar.

Sifat polar tersebut menyebabkan tanin memiliki kemampuan larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol. Dalam penelitian bahan alam, penggunaan etanol sebagai pelarut ekstraksi dipilih karena mampu melarutkan senyawa fenolik termasuk tanin secara efektif serta memiliki tingkat keamanan yang baik untuk penelitian bidang farmasi.

Selain sifat kelarutan, tanin juga memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein. Interaksi antara tanin dan protein terjadi melalui ikatan hidrogen

serta interaksi hidrofobik. Kemampuan tersebut menyebabkan terjadinya pengendapan protein yang menjadi dasar aktivitas astringen tanin.

Karakteristik lain dari tanin adalah kemampuan sebagai agen pengkelat ion logam. Tanin mampu mengikat ion logam seperti besi (Fe^{2+}) dan tembaga (Cu^{2+}) yang berperan dalam pembentukan radikal bebas. Mekanisme tersebut berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan tanin dalam sistem biologis (Sunani & Hendriani, 2023).

2.2.4 Fungsi Biologis Tanin pada Tanaman

Tanin merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki peranan penting dalam sistem pertahanan alami tanaman. Keberadaan tanin dalam jaringan tanaman tidak hanya berfungsi sebagai komponen penyusun kimia, tetapi juga berperan dalam mekanisme adaptasi tanaman terhadap berbagai tekanan lingkungan. Senyawa ini diproduksi oleh tanaman sebagai bentuk perlindungan terhadap gangguan biotik maupun abiotik, seperti serangan herbivora, mikroorganisme patogen, serta kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Salah satu fungsi utama tanin pada tanaman adalah sebagai mekanisme pertahanan terhadap herbivora. Tanin memiliki karakteristik rasa sepat (*astringent*) yang dapat menurunkan tingkat palatabilitas jaringan tanaman sehingga mengurangi kemungkinan tanaman dikonsumsi oleh hewan pemakan tumbuhan. Selain memberikan rasa tidak nyaman, tanin juga dapat berikatan dengan protein dalam sistem pencernaan hewan sehingga menghambat proses pemanfaatan nutrisi.

Mekanisme tersebut menjadikan tanin sebagai salah satu senyawa pertahanan kimia yang efektif bagi tanaman (Sunani & Hendriani, 2023).

Selain sebagai perlindungan terhadap herbivora, tanin juga memiliki fungsi dalam mempertahankan tanaman terhadap serangan mikroorganisme. Kemampuan tanin dalam membentuk kompleks dengan protein dan enzim menyebabkan senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroorganisme. Interaksi antara tanin dengan protein membran maupun enzim mikroorganisme dapat menyebabkan gangguan metabolisme sel sehingga pertumbuhan patogen menjadi terhambat.

Pada bagian biji tanaman, tanin memiliki fungsi penting dalam menjaga keberlangsungan dan perlindungan embrio. Kandungan tanin pada biji dapat membantu menghambat aktivitas mikroorganisme selama proses penyimpanan serta melindungi jaringan biji dari kerusakan akibat faktor lingkungan. Keberadaan tanin dalam biji kewan (*Senna occidentalis* (L.) Link) menjadi salah satu alasan bagian tersebut menarik untuk diteliti, karena selain berperan dalam sistem pertahanan tanaman, tanin juga memiliki potensi aktivitas biologis yang bermanfaat dalam bidang farmasi.

2.2.5 Aktivitas Farmakologi Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa bioaktif tanaman yang banyak diteliti karena memiliki berbagai aktivitas farmakologi. Aktivitas tersebut berkaitan erat dengan struktur kimianya yang kaya akan gugus hidroksil fenolik sehingga memungkinkan tanin berinteraksi dengan berbagai molekul biologis. Dalam bidang

farmasi, tanin diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, anti-inflamasi, serta astringen yang mendukung potensinya sebagai bahan aktif alami (Putri *et al.*, 2024).

Aktivitas antioksidan merupakan salah satu aktivitas farmakologi utama dari tanin. Radikal bebas yang terbentuk akibat proses metabolisme maupun paparan lingkungan dapat menyebabkan stres oksidatif yang berpotensi merusak komponen sel. Tanin memiliki kemampuan menangkap radikal bebas melalui mekanisme donor atom hidrogen dari gugus hidroksil fenolik yang dimilikinya. Selain itu, tanin juga mampu mengikat ion logam seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} yang berperan dalam pembentukan radikal bebas melalui reaksi oksidatif. Kemampuan tersebut menjadikan tanin berpotensi sebagai agen antioksidan alami dalam pengembangan produk kesehatan (Li *et al.*, 2025).

Selain aktivitas antioksidan, tanin juga memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme antibakteri tanin terjadi melalui beberapa jalur, salah satunya adalah kemampuan tanin dalam membentuk ikatan dengan protein penyusun dinding dan membran sel bakteri. Ikatan tersebut dapat menyebabkan perubahan permeabilitas membran sehingga mengganggu proses transportasi nutrisi dan metabolisme sel bakteri. Tanin juga dapat menghambat aktivitas enzim tertentu yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk mempertahankan kehidupannya (Sunani & Hendriani, 2023).

Tanin juga diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi yang berkaitan dengan kemampuannya dalam menghambat proses oksidatif dan mengurangi pembentukan

mediator inflamasi. Inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan akibat peningkatan produksi radikal bebas dan mediator peradangan. Kandungan senyawa fenolik dalam tanin dapat membantu mengurangi efek tersebut melalui mekanisme penghambatan jalur inflamasi tertentu (Li et al., 2025).

Aktivitas farmakologi lain yang menjadi karakteristik khas tanin adalah aktivitas astringen. Sifat astringen terjadi akibat kemampuan tanin dalam mengendapkan protein pada permukaan jaringan. Dalam bidang farmasi, sifat ini dapat dimanfaatkan untuk memberikan efek protektif pada jaringan mukosa, mengurangi sekresi cairan, serta membantu proses penyembuhan luka ringan. Oleh karena itu, kandungan tanin dalam suatu tanaman sering menjadi salah satu parameter penting dalam evaluasi potensi farmakologi bahan alam.

2.2.6 Faktor yang Memengaruhi Kandungan Tanin

Kandungan tanin dalam suatu tanaman tidak selalu memiliki nilai yang sama karena dipengaruhi oleh berbagai faktor internal maupun eksternal. Perbedaan kadar tanin dapat terjadi antarspesies tanaman, antarbagian tanaman, maupun akibat perlakuan yang diberikan selama proses pengolahan bahan. Faktor-faktor tersebut perlu diperhatikan dalam penelitian bahan alam karena dapat memengaruhi hasil analisis kadar tanin total.

Faktor genetik merupakan salah satu faktor utama yang menentukan kemampuan tanaman dalam menghasilkan tanin. Setiap jenis tanaman memiliki jalur biosintesis metabolit sekunder yang berbeda sehingga menghasilkan jumlah dan

komposisi tanin yang berbeda pula. Perbedaan genetik antarspesies maupun varietas dapat menyebabkan variasi kandungan tanin meskipun tanaman berasal dari kelompok yang sama (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Selain faktor genetik, kondisi lingkungan tumbuh juga berpengaruh terhadap produksi tanin. Faktor seperti intensitas cahaya, suhu, ketersediaan air, jenis tanah, serta unsur hara dapat memengaruhi aktivitas metabolisme tanaman. Pada kondisi tertentu, tanaman dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder termasuk tanin sebagai bentuk adaptasi terhadap tekanan lingkungan.

Umur tanaman dan tingkat kematangan bagian tanaman juga dapat memengaruhi kandungan tanin. Pada beberapa tanaman, kadar tanin dapat meningkat pada fase tertentu sebagai bagian dari mekanisme pertahanan. Oleh karena itu, tahap perkembangan tanaman perlu diperhatikan agar hasil analisis kandungan senyawa aktif dapat dibandingkan secara lebih akurat.

Proses pengolahan bahan sebelum ekstraksi juga menjadi faktor penting yang memengaruhi kadar tanin. Tahapan seperti pengeringan dan penyangraian dapat menyebabkan perubahan struktur kimia senyawa aktif. Pada proses penyangraian, panas dapat menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga senyawa tanin lebih mudah keluar saat ekstraksi. Namun, paparan suhu tinggi dalam waktu lama juga dapat menyebabkan oksidasi dan degradasi senyawa fenolik sehingga jumlah tanin yang terukur dapat mengalami perubahan (Nakitto *et al.*, 2024).

Selain perlakuan bahan, metode ekstraksi juga sangat menentukan jumlah tanin yang diperoleh. Jenis pelarut, konsentrasi pelarut, lama ekstraksi, suhu, serta

ukuran partikel simplisia dapat memengaruhi efektivitas proses ekstraksi. Tanin memiliki sifat polar sehingga umumnya lebih mudah diekstraksi menggunakan pelarut polar seperti etanol dan air. Oleh karena itu, pemilihan metode ekstraksi yang tepat menjadi faktor penting dalam memperoleh kadar tanin yang optimal (Firdiansyah *et al.*, 2024).

2.3 Proses Penyangraian terhadap Stabilitas Senyawa Tanin

Penyangraian (*roasting*) merupakan teknik pengolahan pasca-panen yang melibatkan aplikasi panas kering pada suhu tinggi untuk memicu serangkaian perubahan fisik, kimia, dan organoleptik pada bahan biji-bijian. Proses ini tidak hanya bertujuan untuk menurunkan kadar air guna memperpanjang umur simpan dan mencegah pertumbuhan mikroba, tetapi juga krusial dalam pembentukan aroma, rasa, dan warna melalui reaksi *Maillard* dan degradasi Strecker. Namun, dari perspektif fitokimia, penyangraian adalah proses "pedang bermata dua". Di satu sisi, pemanasan dapat membantu menghancurkan dinding sel tanaman, sehingga mempermudah pelepasan senyawa bioaktif yang terikat dalam matriks seluler saat proses ekstraksi selanjutnya. Namun, di sisi lain, paparan suhu yang ekstrem dan durasi waktu yang tidak terkontrol dapat berdampak fatal terhadap stabilitas senyawa metabolit sekunder senyawa metabolit sekunder (Nakitto *et al.*, 2024).



Gambar 2. 3 Alat Penyangrai (Astro, 2026)

Senyawa fenolik dan tanin memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap perlakuan termal. Selama proses penyangraian, terjadi pemutusan ikatan kovalen dan degradasi struktur cincin aromatik polifenol akibat oksidasi termal. Studi yang dilakukan oleh Leba Uron, M. (2017) menunjukkan bahwa variasi suhu dan waktu penyangraian berkorelasi langsung dengan penurunan kadar total fenolik. Mekanisme penurunannya melibatkan dekomposisi senyawa fenolik sederhana menjadi bentuk yang tidak terdeteksi atau polimerisasi lanjut menjadi senyawa melanoidin yang tidak larut. Suhu tinggi dapat menyebabkan gugus hidroksil (-OH) yang merupakan ciri khas senyawa fenolik mengalami oksidasi, sehingga menurunkan kapasitas antioksidan bahan tersebut secara drastis (Mubarok *et al.*, 2023). Selain itu, fenomena *thermal degradation* ini juga sering kali diikuti oleh reaksi hidrolisis pada ikatan ester tanin galat atau tanin ellagat. Oleh karena itu, penentuan titik kritis suhu dan lama penyangraian menjadi parameter yang sangat vital untuk menyeimbangkan antara pembentukan karakteristik sensorik yang diinginkan dengan preservasi kandungan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan (Putri *et al.*, 2024).

2.4 Ekstraksi dengan Pelarut Etanol

Ekstraksi merupakan tahapan fundamental yang tidak dapat dipisahkan dalam penelitian senyawa bioaktif berbasis bahan alam, karena tahap inilah yang menentukan sejauh mana senyawa target dapat dipisahkan secara optimal dari matriks alaminya. Keberhasilan analisis kuantitatif dan kualitatif suatu senyawa sangat bergantung pada efektivitas proses ekstraksi yang diterapkan. Dalam konteks penelitian farmasi, ekstraksi tidak hanya dipahami sebagai proses teknis pemisahan, tetapi juga sebagai upaya ilmiah untuk menjaga integritas struktur kimia senyawa aktif agar tetap stabil dan representatif terhadap kondisi alaminya.



Gambar 2. 4 Alat Ekstraksi

Secara prinsip, ekstraksi bekerja berdasarkan mekanisme perpindahan massa, yaitu berpindahnya senyawa target dari jaringan atau matriks bahan ke dalam pelarut yang digunakan. Proses ini terjadi karena adanya perbedaan afinitas antara senyawa dengan pelarut, yang umumnya dipengaruhi oleh kesesuaian sifat fisikokimia, khususnya polaritas. Senyawa akan lebih mudah larut dan terekstraksi ke dalam pelarut yang memiliki karakteristik polaritas serupa. Pemahaman mengenai sifat kimia senyawa target menjadi landasan utama dalam menentukan jenis pelarut yang paling tepat digunakan.

Tanin sebagai salah satu kelompok metabolit sekunder utama pada tanaman dikenal memiliki sifat polar hingga semipolar. Karakter ini berasal dari keberadaan banyak gugus hidroksil fenolik dalam strukturnya, yang memungkinkan tanin berinteraksi kuat melalui ikatan hidrogen dengan pelarut polar. Atas dasar tersebut, tanin umumnya dapat diekstraksi secara efektif menggunakan pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol. Namun, dalam praktik penelitian farmasi, pemilihan pelarut tidak hanya mempertimbangkan daya larut semata, tetapi juga aspek keamanan, stabilitas senyawa, dan kemudahan penguapan pelarut setelah proses ekstraksi selesai. Etanol dipilih sebagai pelarut dalam penelitian ini karena memiliki sejumlah keunggulan yang relevan dengan tujuan analisis tanin. Secara kimia, etanol merupakan pelarut polar protik yang mampu melarutkan berbagai senyawa fenolik, termasuk tanin dalam berbagai bentuknya. Etanol juga memiliki kemampuan penetrasi yang baik ke dalam jaringan sel tanaman, sehingga dapat membantu pelepasan senyawa bioaktif dari matriks seluler secara lebih efektif dibandingkan beberapa pelarut lainnya.

Selain keunggulan dari sisi kemampuan melarutkan, etanol juga dikenal sebagai pelarut yang relatif aman digunakan. Dalam bidang farmasi dan ilmu bahan alam, etanol digolongkan sebagai pelarut yang memiliki tingkat toksisitas rendah dibandingkan pelarut organik lain seperti metanol atau kloroform. Hal ini menjadikan etanol lebih sesuai untuk penelitian yang berorientasi pada pengembangan bahan baku farmasi, sediaan herbal, maupun produk kesehatan, karena residu pelarut yang mungkin tertinggal tidak menimbulkan risiko signifikan bagi keamanan pengguna.

Aspek lain yang mendukung penggunaan etanol adalah sifatnya yang mudah menguap. Titik didih etanol yang relatif rendah memungkinkan pelarut ini dihilangkan dengan mudah melalui proses penguapan atau pemekatan, tanpa memerlukan suhu yang terlalu tinggi. Kondisi ini penting untuk menjaga stabilitas tanin yang sensitif terhadap panas berlebih. Dalam metodologi penelitian, penggunaan etanol juga memberikan fleksibilitas dalam pemilihan teknik ekstraksi. Etanol dapat diaplikasikan dalam berbagai metode, seperti maserasi, refluks, soxhletasi, maupun ekstraksi berbantuan ultrasonik. Metode maserasi dengan etanol sering dipilih karena prosedurnya relatif sederhana, tidak memerlukan peralatan kompleks, serta mampu mempertahankan struktur senyawa fenolik dengan baik. Proses ini memungkinkan kontak yang cukup lama antara pelarut dan bahan, sehingga senyawa tanin dapat terekstraksi secara optimal.

Dari sudut pandang analisis lanjutan, ekstrak etanol dalam analisis fitokimia memiliki peran penting sebagai medium yang digunakan untuk menarik senyawa metabolit sekunder dari bahan alam, termasuk senyawa fenolik seperti tanin yang terdapat pada biji *Senna occidentalis* (L.) Link. Tanin sebagai senyawa polifenol memiliki karakteristik yang dapat terdeteksi melalui reaksi kolorimetri menggunakan pereaksi spesifik seperti vanilin–asam sulfat, sehingga dapat dianalisis secara kuantitatif menggunakan instrumen microplate reader. Metode ini menghasilkan respons absorbansi yang dapat digunakan untuk menentukan kadar tanin total dalam ekstrak tanaman melalui pembentukan kompleks berwarna yang stabil pada kondisi analisis tertentu (Rahayu *et al.*, 2019)

Firdiyansyah *et al.* (2024) menjelaskan bahwa pemilihan metode ekstraksi sangat memengaruhi efektivitas perolehan senyawa fenolik. Metode ekstraksi modern dinilai lebih efisien dari segi waktu, penggunaan pelarut, dan selektivitas, namun tetap harus disesuaikan dengan sifat kimia senyawa target. Di sisi lain, Arrofiqui, Sakti, dan Mayangsari (2024) menyatakan secara langsung bahwa “Literature review ini mengeksplorasi berbagai metode ekstraksi konvensional yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik dari bahan alam termasuk maserasi, perkolasi, refluks, Soxhlet, dekok, dan infusa, serta memaparkan efisiensi, kelebihan, dan keterbatasannya.” Mereka juga menegaskan bahwa metode konvensional, meskipun sederhana dan ekonomis, sering memerlukan waktu lama dan berisiko menyebabkan degradasi senyawa fenolik sensitif panas. Dalam penelitian ini, penggunaan ekstraksi etanol dengan metode yang terkontrol diharapkan mampu menghasilkan ekstrak yang representatif untuk analisis kadar tanin secara kuantitatif menggunakan metode *microplate reader*.

2.4.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi paling sederhana dan ekonomis yang melibatkan perendaman bahan padat dalam pelarut pada suhu ruang (Bitwell *et al.*, 2023). Metode ini cocok untuk senyawa yang sensitif terhadap panas (Naviglio *et al.*, 2019). Keunggulannya terletak pada kesederhanaan alat, meskipun memerlukan jumlah pelarut yang banyak.

1. **Prinsip Kerja:** Terjadi proses keseimbangan konsentrasi. Cairan pelarut (etanol) akan menembus dinding sel biji kewan dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung tanin. Tanin akan larut dalam etanol karena perbedaan

konsentrasi (di dalam sel pekat, di luar sel encer), sehingga tanin terdorong keluar ke pelarut.

2. **Proses Detail:** Biasanya dilakukan selama 3 x 24 jam (atau sesuai prosedurnya) sambil sesekali diaduk. Pengadukan ini penting supaya konsentrasi larutan di sekitar permukaan bahan tetap terjaga encer, sehingga proses "penarikan" tanin terus berjalan.
3. **Kelebihan:** Sangat aman untuk tanin yang sensitif panas, alatnya murah, dan pengerjaannya gampang.
4. **Kekurangan:** Perlu waktu lama dan pelarutnya boros karena setelah beberapa lama, pelarut akan jenuh dan tidak bisa menarik tanin lagi secara maksimal.



Gambar 2. 5 Alat Maserasi (Farmasi Indonesia, 2021)

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi kontinyu di mana pelarut mengalir melalui matriks padat yang dikemas dalam wadah silindris atau perkolator (Chhetri *et al.*, 2018a). Metode ini lebih efisien dibandingkan maserasi karena pelarut yang jenuh terus digantikan oleh pelarut segar (Chhetri *et al.*, 2018).

1. Prinsip Kerja: Pelarut etanol dialirkan secara perlahan dari atas ke bawah melewati tumpukan serbuk biji kewan yang ada di dalam tabung perkulator.
2. Proses Detail: Serbuk biji kewan dibasahi dulu sebelum dimasukkan ke perkulator supaya selnya mengembang. Setelah itu, etanol diteteskan terus-menerus. Pelarut yang turun ke bawah membawa tanin, sementara tumpukan bahan di atas selalu dibilas oleh etanol baru (pelarut segar).
3. Kelebihan: Jauh lebih efektif daripada maserasi karena bahan selalu bertemu dengan pelarut yang masih "bersih" (belum jenuh), sehingga tanin yang tertarik bisa lebih banyak.
4. Kekurangan: Alatnya lebih khusus (perkulator), butuh waktu untuk mengatur kecepatan tetesan pelarut, dan kalau serbuknya terlalu halus, alirannya bisa mampet.



Gambar 2. 6 Perlokasi (Branzowy, 2025)

2.4.3 Sokhletasi

Sokhletasi atau *Soxhlet extraction* merupakan salah satu metode ekstraksi konvensional yang banyak digunakan dalam penelitian bahan alam, khususnya untuk mengekstraksi senyawa fenolik dari matriks tanaman. Metode ini dirancang untuk memungkinkan proses ekstraksi berlangsung secara kontinu menggunakan pelarut yang sama melalui mekanisme refluks berulang. Dalam konteks penelitian senyawa tanin, sokhletasi dipandang sebagai metode yang mampu memberikan efisiensi ekstraksi yang tinggi karena kontak antara bahan dan pelarut berlangsung secara intensif dan berulang dalam sistem tertutup. Secara konseptual, metode sokhletasi memadukan prinsip pelarutan senyawa target dengan pemanasan terkontrol, sehingga proses difusi dan pelarutan tanin dari matriks sel tanaman ke dalam pelarut etanol dapat berlangsung lebih cepat dari pada metode tanpa pemanasan. Alara, Abdurahman, dan Ukaegbu (2018) menjelaskan bahwa *Soxhlet extraction* merupakan salah satu metode konvensional yang umum dipilih untuk memulihkan senyawa fenolik dari bahan tanaman karena relatif hemat pelarut serta memiliki kemampuan ekstraksi yang lebih baik dibandingkan teknik lain seperti maserasi atau perkolasi. Keunggulan ini menjadikan sokhletasi sering digunakan sebagai metode pembanding atau metode standar dalam kajian ekstraksi senyawa fenolik.

1. Prinsip Kerja

Prinsip dasar sokhletasi adalah ekstraksi berulang menggunakan pelarut panas yang direfluks. Etanol dipanaskan hingga mendidih, kemudian uapnya naik ke kondensor dan mengalami pendinginan hingga kembali menjadi cairan. Pelarut cair ini kemudian menetes ke dalam selongsong (thimble)

yang berisi serbuk biji kwer. Tanin yang larut dalam etanol akan terekstraksi dan dibawa ke dalam labu alas bulat. Setelah volume tertentu tercapai, larutan ekstrak akan tersifon kembali ke labu, dan siklus ini berlangsung berulang kali hingga proses ekstraksi dianggap optimal.

2. Proses Detail

Serbuk biji kwer dimasukkan ke dalam selongsong kertas saring atau *thimble*, kemudian ditempatkan dalam alat Soxhlet yang terhubung dengan labu alas bulat berisi etanol sebagai pelarut. Sistem kemudian dipanaskan menggunakan pemanas listrik atau *heating mantle*. Proses ekstraksi berlangsung dalam beberapa siklus refluks, biasanya selama 6–8 jam atau sesuai dengan protokol penelitian. Selama proses berlangsung, etanol yang bersirkulasi secara kontinu akan terus melarutkan tanin dari matriks bahan.

3. Kelebihan

Metode sokhletasi memiliki efisiensi ekstraksi yang tinggi karena bahan diekstraksi secara terus-menerus dengan pelarut yang relatif segar. Penggunaan pelarut juga lebih hemat dari pada maserasi, karena pelarut yang sama digunakan berulang kali dalam satu sistem tertutup. Selain itu, pemanasan yang terkontrol dapat mempercepat proses pelarutan tanin, sehingga waktu ekstraksi lebih singkat dibandingkan metode perendaman.

4. Kekurangan

Meskipun efektif, sokhletasi memiliki keterbatasan utama berupa penggunaan suhu tinggi dalam waktu relatif lama. Kondisi ini berpotensi menyebabkan degradasi senyawa fenolik yang sensitif terhadap panas, termasuk

beberapa fraksi tanin. Selain itu, metode ini memerlukan peralatan khusus dan konsumsi energi yang lebih besar dibandingkan maserasi.



Gambar 2. 7 Alat Soxhletasi

2.5 Mikroplate Reader

Microplate reader adalah *spektrofotometer* khusus yang disusun untuk membaca lempeng mikro (microplate). Microplate reader menggunakan prinsip spektrofotometri yang sama seperti metode konvensional, tetapi dapat menghasilkan peningkatan jumlah sampel yang dapat dianalisis. Perbedaan dengan spektrofotometer konvensional yang memfasilitasi pembacaan pada berbagai panjang gelombang, microplate reader memiliki filter atau kisi-kisi difraksi yang membatasi rentang panjang gelombang yang digunakan, umumnya antara 400 sampai 750 nm. Beberapa microplate reader bekerja dalam rentang ultraviolet dan melakukan analisis antara 340-700 nm. Sistem optik yang dimanfaatkan oleh banyak produsen menggunakan serat optik untuk menyuplai cahaya untuk sumur lempeng mikro yang berisi sampel. Berkas cahaya yang melewati sampel memiliki diameter yang berkisar antara 1 sampai 3 mm. Suatu sistem deteksi mendeteksi cahaya yang berasal dari sampel, menguatkan sinyal dan menentukan absorbansi sampel. Selanjut-

nya suatu sistem pembacaan mengubahnya menjadi data yang memungkinkan interpretasi hasil pengujian. Saat ini beberapa microplate reader menggunakan sistem berkas cahaya ganda (Latifa, 2015).

Metode *microtiter plate* adalah teknik yang paling sering digunakan untuk menilai kuantitatif pembentukan biofilm. Teknik ini melibatkan melekatkan film bakteri dengan metanol, pewarnaan dengan Kristal violet, melepaskan pewarna terikat dengan asam asetat glasial 33% dan mengukur densitas optik (OD) dengan panjang gelombang 492nm menggunakan pembaca enzim immu nosorbent. Pewarnaan Kristal Violet telah banyak dimodifikasi untuk meningkatkan akurasi dan untuk memungkinkan kuantifikasi biofilm di seluruh sumuran well. Kristal violet adalah pewarna dasar yang mengikat molekul bermuatan negatif dan polisakarida dalam matriks ekstraseluler (Latifa, 2015).

Metode *microtiter plate* adalah metode pemeriksaan biofilm yang efektif karena lebih banyak bakteri yang menempel pada dinding sumuran, juga tampaknya penggunaan asam asetat glasial sebagai dekolonisasi menjadi nilai lebih dari teknik ini (Latifa, 2015).



Gambar 2. 8 Microplate reader

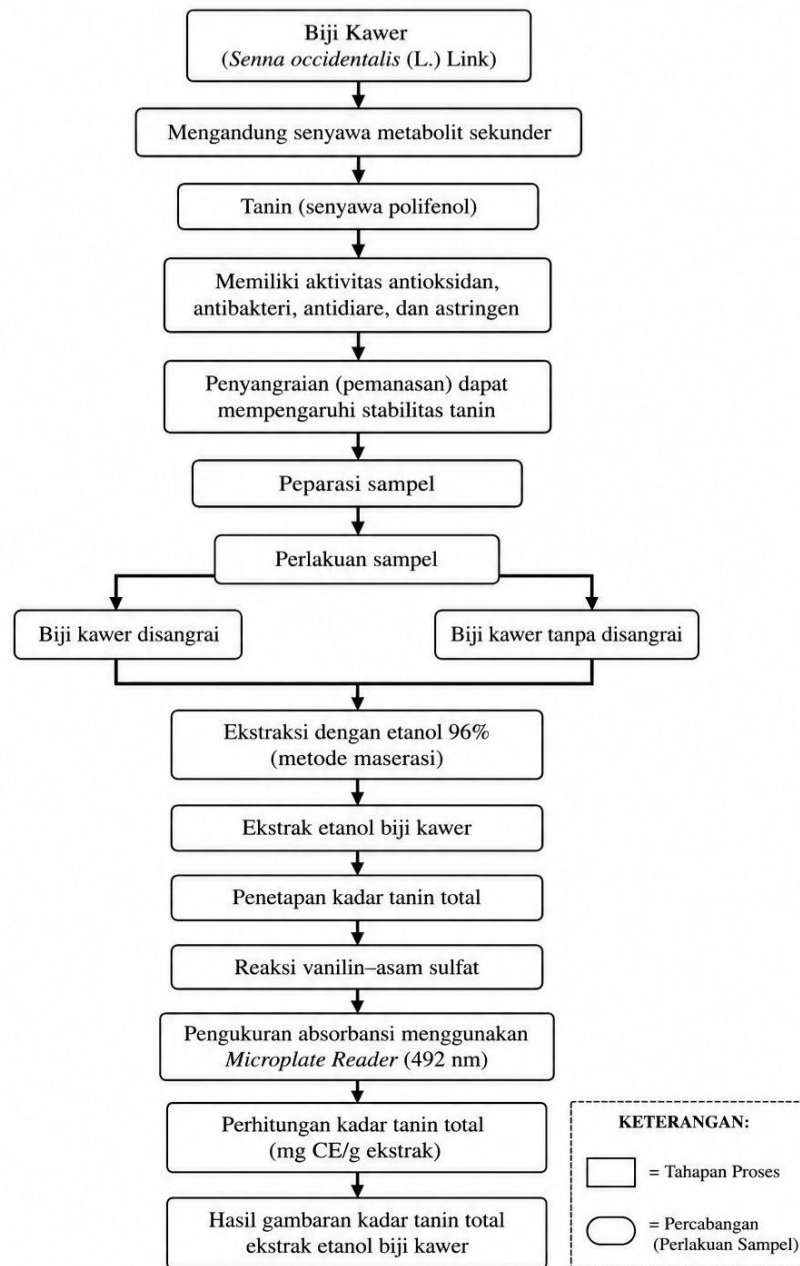
2.7 Kerangka Pemikiran Penelitian

Senna occidentalis (L.) Link yang mengandung metabolit sekunder golongan fenolik, terutama tanin yang memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan dan agen astringen melalui kemampuan membentuk kompleks dengan protein serta senyawa makromolekul lainnya (Fraga-Corral et al., 2021). Penelitian ini didasari oleh pemikiran bahwa biji kewer *Senna occidentalis* (L.) Link merupakan sumber daya alam lokal yang memiliki potensi kekayaan fitokimia luar biasa, namun pemanfaatannya dalam bidang farmasi masih perlu didukung oleh data profil zat aktif yang terstandar. Tanaman ini menyimpan spektrum metabolit sekunder yang sangat luas, di mana identifikasi terhadap bioaktivitasnya menjadi kunci penting dalam membuka potensi pemanfaatan di masa depan sebagai agen terapeutik fungsional (Srivastava et al., 2025). Salah satu komponen metabolit sekunder utama yang menjadi fokus dalam penelitian ini adalah senyawa tanin, yang secara kimiawi didefinisikan sebagai senyawa polifenol kompleks yang tersusun atas gugus hidroksi dan gugus karboksil yang dihasilkan secara alami oleh tanaman. Senyawa tanin ini diketahui memiliki peranan strategis dalam dunia kesehatan karena spektrum aktivitas biologisnya yang luas, mencakup khasiat sebagai agen astringen, anti diare, antibakteri, serta antioksidan alami (Hersila et al., 2023).

Dalam aspek pengolahannya, biji kewer sering kali diberikan perlakuan fisik berupa penyangraian guna meningkatkan karakteristik organoleptik serta memperbaiki stabilitas penyimpanan bahan. Akan tetapi, secara ilmiah perlu dipahami bahwa setiap metode pemrosesan termal, termasuk pemanasan kering melalui penyangraian, memiliki dampak yang sangat signifikan terhadap jumlah, stabilitas,

serta profil aktivitas farmakologis dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalam matriks bahan nabati tersebut (Liu *et al.*, 2023). Perubahan suhu dan lama pemanasan berisiko memicu terjadinya degradasi termal maupun perubahan struktur kimia pada senyawa fenolik sensitif panas, yang pada akhirnya akan memengaruhi integritas mutu bahan alam. Oleh karena itu, klasifikasi yang tepat terhadap jenis tanin serta pemilihan strategi pemrosesan yang hati-hati sangat diperlukan guna meminimalkan dampak hilangnya zat aktif akibat faktor degradasi fisik (Li *et al.*, 2025).

Guna memperoleh data yang representatif, penetapan kadar tanin total dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode *microplate reader* yang berdasarkan reaksi vanillin-asam sulfat, yang menghasilkan warna terukur pada Panjang gelombang 492nm. Besar absorbansi yang terbentuk berbanding lurus dengan kadar.



Gambar 2. 9 Kerangka Pemikiran

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan metode penelitian deskriptif dengan pendekatan kuantitatif. Desain deskriptif dipilih secara spesifik karena tujuan utama penelitian ini adalah untuk membuat deskripsi, gambaran, atau lukisan secara sistematis, faktual, dan akurat mengenai fakta-fakta serta hubungan antar fenomena yang diselidiki, dalam hal ini adalah profil kadar tanin total. Pendekatan kuantitatif diterapkan melalui pengukuran variabel penelitian menggunakan instrumen laboratorium yang menghasilkan data numerik berupa nilai absorbansi, yang selanjutnya dikonversi menjadi satuan konsentrasi. Penelitian ini tidak dimaksudkan untuk menguji hipotesis statistik, melainkan bertujuan menggambarkan kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) yang memperoleh perlakuan penyangraian dan tanpa penyangraian berdasarkan hasil pengukuran menggunakan metode vanilin–asam sulfat.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi yang kemudian digunakan untuk menarik kesimpulan. Variabel dalam penelitian ini adalah kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer *Senna occidentalis* (L.) Link yang disangrai dan tanpa disangrai yang ditentukan menggunakan metode vanilin-asam sulfat dengan instrumen microplate reader.

3.3 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Komponen	Penjelasan
Variabel	Gambaran Kadar Tanin pada Ekstrak Etanol pada Biji Kewer <i>Senna occidentalis</i> (L) Link yang Disangrai dan Tanpa Disangrai.
Definisi Variabel	Jumlah tanin total yang terdapat dalam ekstrak etanol biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai.
Cara Ukur	Pengukuran absorbansi menggunakan metode microplate reader dan perhitungan kurva baku katekin.
Alat Ukur	Microplate Reader.
Hasil Ukur	Kadar Tanin Total dalam satuan mg Catechin Equivalent (mg CE/g ekstrak)
Skala	Rasio

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link yang diperoleh dari Desa Wisata Saung Ciburial Sukalaksana, Kecamatan Samarang, Kabupaten Garut.

3.4.2 Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi yang diambil dari keseluruhan objek penelitian dan dianggap mewakili karakteristik populasi secara umum. Pemilihan sampel dilakukan secara purposif dengan mempertimbangkan kesesuaian bahan terhadap tujuan penelitian serta homogenitas karakteristik fisik dan biologis bahan uji. Sampel dalam penelitian ini berupa ekstrak biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link yang mengalami perlakuan penyangraian dan tanpa penyangraian. Biji kewer yang digunakan sebagai sampel diperoleh dari tanaman *Senna occidentalis* yang telah mencapai fase kematangan fisiologis optimal, dengan perkiraan umur tanaman $\pm 6-8$ bulan, yaitu pada kondisi tanaman telah berbuah sempurna dan biji telah

berkembang secara maksimal. Pemilihan biji pada rentang umur tersebut didasarkan pada pertimbangan bahwa pada fase kematangan ini akumulasi metabolit sekunder, khususnya senyawa fenolik seperti tanin, telah mencapai tingkat yang relatif stabil dan representatif untuk dianalisis.

Seluruh sampel biji kewan diperoleh dari wilayah Desa Wisata Saung Ciburial Sukalaksana, Kecamatan Samarang, Kabupaten Garut. Pemilihan lokasi ini didasarkan pada ketersediaan tanaman yang tumbuh secara alami serta kondisi lingkungan yang relatif seragam, sehingga dapat meminimalkan variasi eksternal yang berpotensi memengaruhi kandungan kimia bahan. Setelah dikumpulkan, biji kewan diseleksi secara visual untuk memastikan keseragaman ukuran, warna, dan tingkat kematangan, serta dibersihkan dari kotoran sebelum diproses lebih lanjut menjadi ekstrak sesuai dengan perlakuan yang telah ditetapkan.

3.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari–Mei 2026 di Laboratorium Kimia Farmasi Analisis dan Laboratorium Bahan Alam Program Studi D3 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Institut Kesehatan Karsa Husada Garut.

3.6 Instrumen Penelitian

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat utama dan alat ukur, Kertas saring whatman No.1, timbangan analitik, oven pengering, ayakan mesh 40, microplate reader, microplate 96 well, vortex mixer, tabung reaksi, rotary evaporator, water bath, corong kaca, tip mikropipet, cawan porselen, mortir dan stamper.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai, ekstrak sampel biji kewer, etanol 96%, katekin, larutan vanillin 4%, larutan asam sulfat (H_2SO_4) 32%, methanol p.a, alumunium foil, dan aquadest.

3.6.3 Proses Penyangraian

Penyangraian biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link dilakukan menggunakan alat penyangrai pada suhu 150°C selama 15 menit. Proses penyangraian bertujuan untuk memberikan perlakuan termal pada sampel untuk memperoleh ekstrak biji kewer yang selanjutnya digunakan dalam kadar tanin total yang terkandung dalam biji kewer. Selama proses penyangraian, biji kewer diaduk secara perlahan agar pemanasan berlangsung merata dan mencegah terjadinya gosong pada sebagian bahan. Setelah proses penyangraian selesai, biji kewer didinginkan pada suhu ruang hingga mencapai kondisi stabil, kemudian dihaluskan menjadi serbuk dan digunakan untuk proses ekstraksi.

3.6.4 Ekstrak Etanol

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk biji kewer direndam dalam etanol dengan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1:10 (b/v), kemudian didiamkan selama 3×24 jam pada suhu ruang dengan pengadukan setiap 24 jam disertai pengadukan berkala untuk membantu proses perpindahan senyawa aktif dari matriks simplisia ke dalam pelarut. Metode maserasi dipilih karena memiliki prosedur yang sederhana serta mampu mengekstraksi senyawa fenolik secara efektif (Bitwell & Indra, 2023; Zhang *et al.*, 2018). Dalam beberapa penelitian, metode ini juga digunakan sebagai pendekatan

ekstraksi tanin dari bahan tanaman sebelum dilakukan analisis menggunakan microplate reader (Mukhriani et al., 2014). Setelah proses maserasi selesai, filtrat dipisahkan dari residu, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental sebagai hasil akhir proses ekstraksi (Leba Uron, 2017; Naviglio *et al.*, 2019).

3.6.5 Pembuatan Larutan Standar

Larutan standar dibuat menggunakan katekin sebagai senyawa standar. Sebanyak 10 mg katekin ditimbang secara seksama, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. hingga volume 10 mL sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok kemudian diencerkan menjadi beberapa seri konsentrasi, yaitu 14,71; 29,43; 58,85; 117,70; 235,40; 470,80; dan 941,60 ppm. Masing-masing larutan standar selanjutnya direaksikan dengan pereaksi vanilin 4% dan asam sulfat 32%, kemudian diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 492 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva baku katekin dan memperoleh persamaan regresi linear sebagai dasar perhitungan kadar tanin total sampel.

3.6.6 Pengukuran Absorbansi Menggunakan Microplate Reader

Pengukuran absorbansi dalam penelitian ini dilakukan menggunakan instrumen microplate reader dengan metode vanilin-asam sulfat. Metode ini didasarkan pada reaksi antara senyawa tanin terkondensasi yang terdapat dalam sampel dengan pereaksi vanilin dalam suasana asam, sehingga menghasilkan kompleks berwarna merah. Intensitas warna yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi tanin yang terkandung dalam sampel. Katekin digunakan

sebagai larutan standar untuk pembuatan kurva baku karena memiliki struktur yang mewakili golongan tanin terkondensasi. Larutan standar katekin dan larutan sampel direaksikan dengan larutan vanilin 4% dan asam sulfat 32%, kemudian diinkubasi pada suhu ruang hingga terbentuk warna yang stabil. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 492 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dari larutan standar digunakan untuk membuat kurva baku katekin dan menghasilkan persamaan regresi linear, sedangkan nilai absorbansi sampel digunakan untuk menentukan kadar tanin total yang dinyatakan sebagai mg Catechin Equivalent per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak).

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kewan *Senna occidentalis* (L) Link yang diperoleh dari Desa Wisata Saung Ciburial, Sukalaksana, Kecamatan Samarang, Kabupaten Garut. Biji kewan dibagi menjadi dua kelompok perlakuan, yaitu biji kewan yang disangrai dan tanpa disangrai. Masing-masing kelompok sampel dibuat menjadi simplisia, kemudian dihaluskan dan ditimbang sebanyak 600gram untuk proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung (ITB).

3.7.2 Preparasi Sampel

Biji kewan *Senna occidentalis* (L) Link yang diperoleh dari Desa Wisata Saung Ciburial, Sukalaksana, Kecamatan Samarang, Kabupaten Garut terlebih dahulu dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran, biji yang rusak, dan bahan

asing lainnya. Selanjutnya, biji dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan.

Biji kewer kemudian dibagi menjadi dua kelompok perlakuan, yaitu kelompok biji kewer yang disangrai dan kelompok biji kewer tanpa disangrai. Penyangraian dilakukan pada suhu dan waktu yang telah ditentukan dalam penelitian. Setelah perlakuan selesai, kedua kelompok sampel dikeringkan menggunakan lemari pengering hingga diperoleh bahan yang kering dan memiliki kadar air rendah. Proses pengeringan bertujuan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme serta menjaga kestabilan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel.

Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 sehingga diperoleh serbuk simplisia dengan ukuran yang seragam. Serbuk simplisia yang diperoleh selanjutnya disimpan dalam wadah tertutup rapat dan digunakan untuk proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia biji kewer yang telah dikeringkan dan dihaluskan ditimbang sebanyak 600 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi yang bersih dan kering. Selanjutnya, simplisia direndam menggunakan etanol 96% hingga seluruh bagian simplisia terendam sempurna.

Proses maserasi dilakukan selama 3×24 jam pada suhu ruang dan sesekali dilakukan pengadukan untuk meningkatkan kontak antara pelarut dan bahan sehingga

proses penarikan senyawa aktif dapat berlangsung secara optimal. Setelah proses maserasi selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas simplisia. Ampas yang diperoleh kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol 96% hingga proses ekstraksi berlangsung optimal.

Seluruh filtrat hasil maserasi dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40–50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk menentukan rendemen ekstrak dan disimpan dalam wadah tertutup sebelum digunakan untuk pengujian kadar tanin total menggunakan metode vanilin-asam sulfat dengan instrumen microplate reader.

3.7.4 Uji Kadar Total Tanin dengan metode Microplate reader

Penetapan kadar total tanin pada ekstrak etanol biji kewan *Senna occidentalis* (L) Link yang disangrai dan tanpa disangrai dilakukan menggunakan metode Vanilin-Asam Sulfat dengan instrumen microplate reader. Metode ini berdasarkan pada reaksi antara senyawa tanin terkondensasi dengan pereaksi vanilin dalam suasana asam yang akan menghasilkan kompleks berwarna merah. Intensitas warna yang berbentuk sebanding dengan konsentrasi tanin dalam sampel sehingga dapat diukur secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan. Pengukuran dilakukan menggunakan microplate reader karena memiliki sensitivitas yang baik, membutuhkan volume sampel secara simultan sehingga meningkat efisiensi analisis.

1. Pembuatan Larutan Vanilin 4%

Larutan vanilin 4% dibuat dengan menimbang vanilin sebanyak 4 gram kemudian dilarutkan menggunakan metanol p.a hingga volume 100 ml dalam

labu ukur. Larutan dihomogenkan hingga seluruh serbuk vanilin larut sempurna dan diperoleh larutan yang jernih. Larutan vanilin yang telah dibuat disimpan dalam botol gelap untuk menghindari kerusksn akibat paparan cahaya dan digunakan sebagai pereaksi dalam penetapan kadar total tanin.

2. Pembuatan Larutan Asam Sulfat 32%

Larutan asam sulfat 32% dibuat dengan mengencerkan asam sulfat pekat menggunakan aquades hingga diperoleh konsentrasi 32%. Proses pengenceran dilakukan secara hati-hati dengan menambahkan asam ke dalam air secara perlahan sambil diaduk untuk menghindari peningkatkan suhu yang berlebihan larutan yang telah dibuat disimpan dalam wadah tertutup hingga digunakan dalam proses analisis

3. Pembuatan Larutan Standar Katekin

Larutan standar dibuat menggunakan katekin sebagai senyawa pembanding. Sebanyak 10 mg katekin ditimbang secara seksama kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok kemudian diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi standar yaitu 14,71; 29,43; 58,85; 117,70; 235,40; 470,80; dan 941,60 ppm. Larutan standar ini digunakan untuk membuat kurva baku yang akan digunakan dalam penentuan kadar tanin total sampel.

4. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak etanol biji kewer yang disangrai dan ekstrak etanol biji kewer tanpa disangrai digunakan sebagai sampel pengujian. Masing-masing ekstrak

ditimbang secara seksama sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex hingga ekstrak larut sempurna.

Apabila masih terdapat partikel yang tidak larut, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh larutan yang jernih. Larutan sampel yang telah homogen kemudian digunakan dalam proses pengujian kadar tanin total menggunakan metode microplate reader.

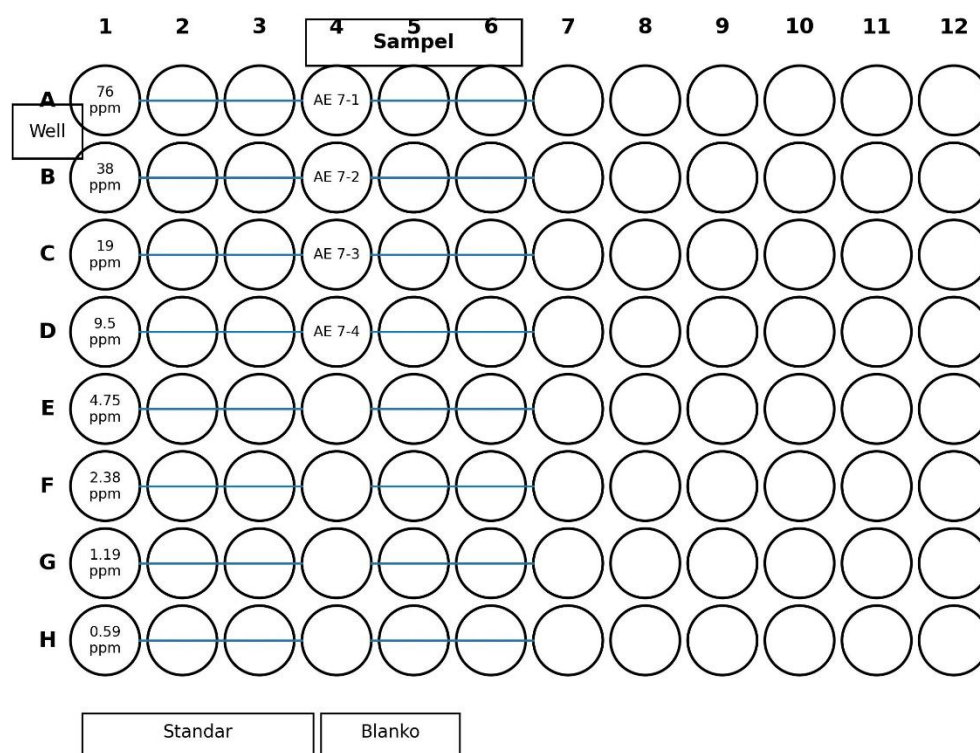
5. Pengujian Kadar Total Tanin Menggunakan microplate Reader

Pengujian kadar tanin total dilakukan menggunakan microplate 96 well. Larutan standar katekin, blanko, dan larutan sampel dipipet ke dalam sumur (well) microplate sesuai dengan tata letak pengujian yang telah ditentukan. Setiap konsentrasi standar dan sampel dibuat dalam tiga kali pengulangan (triplo) untuk meningkatkan validitas hasil pengukuran.

Ke dalam masing-masing sumur ditambahkan larutan vanilin 4% dan larutan asam sulfat 32% dengan perbandingan volume yang sama. Campuran kemudian dihomogenkan secara perlahan dan diinkubasi pada suhu ruang selama waktu yang telah ditentukan hingga terbentuk warna merah yang stabil sebagai hasil reaksi antara tanin dan pereaksi vanilin-asam sulfat.

Setelah proses inkubasi selesai, absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 492 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dari larutan standar digunakan untuk membuat kurva

baku katekin dan memperoleh persamaan regresi linear. Selanjutnya, nilai absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi tersebut untuk menentukan konsentrasi tanin total dalam ekstrak. Hasil pengukuran dinyatakan sebagai mg Catechin Equivalent per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak).



3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa nilai absorbansi larutan standar katekin dan larutan sampel ekstrak etanol biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link yang disangrai dan tanpa disangrai menggunakan metode vanilin-asam sulfat dengan instrumen microplate reader pada panjang gelombang 492 nm.

3.8.1 Pembuatan Kurva Baku Katekin

Larutan standar katekin dengan berbagai konsentrasi (14,71; 29,43; 58,85; 117,70; 235,40; 470,80; dan 941,60 ppm) diukur nilai absorbansinya menggunakan

microplate reader pada panjang gelombang 492 nm. Nilai konsentrasi standar (x) dan absorbansi (y) kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism untuk memperoleh kurva baku dan persamaan regresi linear.

Persamaan regresi linear dinyatakan sebagai berikut:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

- y = absorbansi
- x = konsentrasi katekin (ppm)
- a = intersep (titik potong terhadap sumbu y)
- b = slope atau kemiringan garis regresi

Nilai koefisien determinasi (R^2) digunakan untuk menilai linearitas hubungan antara konsentrasi dan absorbansi. Semakin mendekati nilai 1, maka semakin baik linearitas kurva baku yang diperoleh.

3.8.2 Penentuan Kadar Tanin Total

Nilai absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear untuk memperoleh konsentrasi tanin (C). Konsentrasi sampel dihitung menggunakan rumus:

Kadar tanin total dihitung menggunakan rumus:

$$x = \frac{y - a}{b}$$

Keterangan:

x = konsentrasi sampel (mg/L)

y = absorbansi sampel

a = intersep

b = slope

Selanjutnya kadar tanin total dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Tanin Total (mg CE/g ekstrak)} = \frac{C \times V \times FP}{W}$$

Keterangan:

- C = konsentrasi hasil perhitungan dari kurva baku (mg/L)
- V = volume larutan sampel (L)
- FP = faktor pengenceran
- W = berat ekstrak yang digunakan (g)

Hasil perhitungan dinyatakan sebagai *miligram Catechin Equivalent* per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak). Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan diinterpretasikan secara deskriptif untuk menggambarkan kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung (ITB) menunjukkan bahwa sampel digunakan adalah biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link dan hasil dapat dilihat pada lampiran 1

4.1.2 Hasil Simplisia dan Serbuk

Biji kewer *Senna occidentalis* (L) Link yang diperoleh dari Desa Wisata Saung Ciburial, Kecamatan Samarang, Kabupaten Garut. Sebelum digunakan sebagai bahan penelitian, biji kewer terlebih dahulu dilakukan proses sortasi untuk memisahkan kotoran, biji yang rusak, serta bahan asing lainnya yang dapat memengaruhi kualitas sampel. Setelah proses sortasi selesai, biji kewer dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan debu dan kotoran yang menempel pada permukaan biji.

Biji kewer yang telah bersih kemudian dibagi menjadi dua kelompok perlakuan, yaitu biji kewer yang disangrai dan biji kewer tanpa disangrai. Perlakuan penyangraian dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemanasan terhadap kandungan tanin yang terdapat dalam biji kewer. Setelah perlakuan selesai, kedua kelompok sampel dikeringkan hingga diperoleh kadar air yang rendah sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan mencegah kerusakan bahan

selama penyimpanan.

Proses pengeringan menghasilkan simplisia biji kwer yang memiliki karakteristik fisik berupa warna coklat tua hingga kehitaman, berbau khas, serta memiliki tekstur keras dan kering. Pengeringan merupakan tahap penting dalam pembuatan simplisia karena dapat memperpanjang masa simpan bahan serta menjaga kestabilan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan alat penggiling hingga diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang dihasilkan memiliki ukuran partikel yang relatif homogen, berwarna coklat kehitaman, berbau khas aromatik, dan bertekstur halus. Penghalusan simplisia menjadi serbuk bertujuan untuk memperbesar luas permukaan bahan sehingga kontak antara sampel dan pelarut selama proses ekstraksi menjadi lebih optimal. Semakin kecil ukuran partikel simplisia, maka semakin besar luas permukaan yang dapat berinteraksi dengan pelarut sehingga proses perpindahan massa senyawa aktif ke dalam pelarut berlangsung lebih efektif. Pada penelitian ini, serbuk simplisia yang diperoleh digunakan sebagai bahan baku dalam proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penggunaan serbuk simplisia yang homogen diharapkan mampu meningkatkan efisiensi ekstraksi dan menghasilkan ekstrak yang representatif untuk analisis kadar tanin menggunakan metode microplate reader.

Tabel 4. 1 karakteristik simplisia biji kwer

Parameter	Hasil
Bentuk	Biji
Warna	Coklat Kehitaman
Bau	Khas
Rasa	Sepat
Tekstur	Kering

4.1.3 Hasil Ekstraksi Biji Kewer

Hasil ekstraksi masing – masing 600 gram serbuk simplisia biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% secara bertahap. Ekstraksi sampel biji kewer yang disangrai sebanyak 18,19 gram dengan rendemen sebesar 3,03%, dan ekstrak sampel biji kewer tanpa disangrai sebanyak 36,94 gram dengan rendemen sebesar 6,15%. Hasil ekstraksi serbuk simplisia biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4. 2 Hasil ekstraksi serbuk simplisia biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai

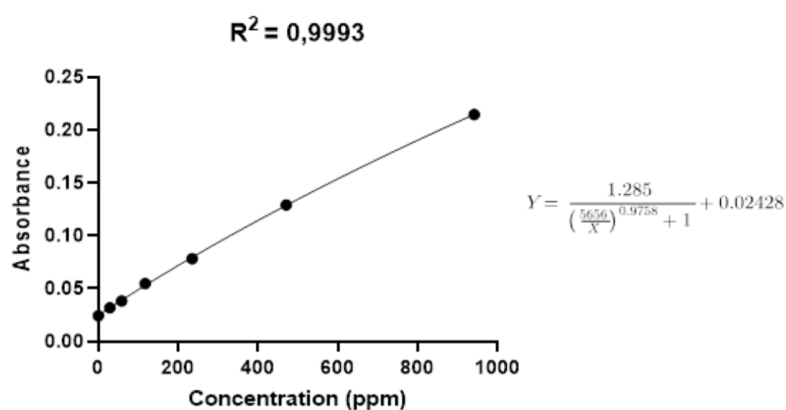
No	Sampel	Berat Sim- plisia (g)	Volume Pel- arut (L)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1.	Biji Kewer Disangrai	600	6	18,19	3,03
2.	Biji Kewer Tanpa Disangrai	600	6	36,94	6,15

4.1.4 Hasil Kurva Baku Katekin

hasil pengukuran menunjukkan bahwa setiap konsentrasi larutan standar katekin menghasilkan nilai absorbansi tertentu yang digunakan untuk membentuk kurva baku. Data tersebut menghasilkan persamaan regresi linier yang menjadi dasar dalam penentuan konsentrasi tanin total pada sampel. Persamaan regresi digunakan untuk mengonversi nilai absorbansi sampel menjadi konsentrasi ekuivalen katekin (Catechin Equivalent). Nilai koefisien determinasi (R^2) yang mendekati satu menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi memiliki linearitas yang sangat baik sehingga persamaan regresi dapat digunakan dalam proses analisis kadar tanin total.

Tabel 4. 3 Nilai hasil kurva baku katekin

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi	Standar Deviasi
		I	II	III		
Katekin	0,00	0,0243	0,0246	0,0242	0,0244	0,0002
	29,43	0,0319	0,0316	0,0317	0,0317	0,0002
	58,85	0,0374	0,0384	0,0388	0,0382	0,0007
	117,70	0,0548	0,0549	0,0546	0,0548	0,0002
	235,40	0,0755	0,0776	0,0817	0,0783	0,0032
	470,80	0,1297	0,1280	0,1295	0,1291	0,0009
	941,60	0,2123	0,2135	0,2179	0,2146	0,0029

**Gambar 4. 1** Gambar Kurva Baku Katekin

Hasil analisis kurva baku katekin menunjukkan adanya hubungan yang linear antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi yang dihasilkan. Peningkatan konsentrasi katekin diikuti oleh peningkatan nilai absorbansi secara proporsional.

4.1.5 Hasil Absorbansi Sampel

hasil pengukuran menunjukkan nilai absorbansi ekstrak etanol biji kewan yang diperoleh setelah sampel direaksikan dengan pereaksi vanilin–asam sulfat dan Campuran larutan dihomogenkan, kemudian diinkubasi hingga reaksi pembentukan warna berlangsung sempurna. Selanjutnya, absorbansi masing-masing larutan

diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 492 nm. Nilai absorbansi larutan standar digunakan untuk membuat kurva baku katekin dan memperoleh persamaan regresi linear. Persamaan regresi tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung konsentrasi ekuivalen katekin (*Catechin Equivalent*) pada setiap sampel.

Tabel 4. 4 Data Absorbansi Sampel

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi	Standar Deviasi
		I	II	III		
Ekstrak biji kewan disangrai	90,91	0,0392	0,0392	0,0393	0,0392	0,0001
Ekstrak biji kewan tanpa disangrai	90,91	0,0249	0,0250	0,0250	0,0250	0,0001

Berdasarkan Tabel 4.4 Data absorbansi yang diperoleh menunjukkan bahwa proses analisis menggunakan *microplate reader* telah menghasilkan data kuantitatif yang dapat digunakan untuk menentukan kadar tanin total dalam satuan mg *Catechin Equivalent* per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak).

4.1.6 Hasil Kadar Tanin Total

Tabel 4. 5 Hasil Kadar Tanin Total

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Ekuivalen Katekin			mg CE/g ekstrak			Rata-rata	Standar Deviasi
		I	II	III	I	II	III		
Ekstrak biji kewan disangrai	90,91	59,51	59,51	59,92	654,62	654,62	659,17	654,16	2,63

Ekstrak biji kewer tanpa disangrai	90,91	2,26	2,64	2,64	24,89	29,00	29,00	27,63	2,37
--	-------	------	------	------	-------	-------	-------	-------	------

Berdasarkan Tabel 4.5 hasil analisis menunjukkan bahwa kadar tanin total ekstrak etanol biji kewer yang disangrai sebesar 654,16 mg CE/g ekstrak, sedangkan kadar tanin total ekstrak etanol biji kewer tanpa penyangraian sebesar 27,63 mg CE/g ekstrak. Nilai tersebut diperoleh dari hasil perhitungan berdasarkan persamaan regresi kurva baku katekin dan dinyatakan dalam satuan mg *Catechin Equivalent* per gram ekstrak (mg CE/g ekstrak).

4.2 Pembahasan

Biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) mengandung metabolit sekunder golongan fenolik, terutama tanin yang memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antibakteri, dan agen astringen. Aktivitas tersebut berkaitan dengan kemampuan tanin dalam berinteraksi dengan protein dan makromolekul biologis melalui ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Fraga-Corral *et al.*, 2021; Hersila *et al.*, 2023).

Proses penyangraian pada suhu 150°C selama 15 menit memberikan pengaruh terhadap struktur fisik simplisia. Pemanasan kering menyebabkan perubahan jaringan tanaman yang tersusun atas selulosa, hemiselulosa, dan lignin sehingga meningkatkan porositas jaringan. Kondisi ini mempermudah pelepasan senyawa aktif dari matriks sel selama proses ekstraksi (Liu *et al.*, 2023). Selain itu, proses pemanasan juga dapat menonaktifkan enzim oksidatif yang berperan dalam

degradasi senyawa fenolik sehingga kestabilan senyawa dapat lebih terjaga (Putri *et al.*, 2024).

Tanin sebagai senyawa polifenol memiliki sensitivitas terhadap suhu tinggi. Paparan panas dapat memicu oksidasi gugus fenolik serta transformasi struktur kimia yang dapat menghasilkan bentuk turunan fenolik lain yang masih memiliki aktivitas reaktif terhadap pereaksi kimia (Nakitto *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2025). Kondisi ini menunjukkan bahwa perlakuan panas tidak hanya mempengaruhi struktur fisik bahan, tetapi juga dapat mempengaruhi profil kimia senyawa aktif.

Ekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi dipilih karena sesuai dengan sifat polar tanin. Etanol mampu menembus jaringan tanaman dan melarutkan senyawa fenolik melalui interaksi ikatan hidrogen, sehingga ekstraksi dapat berlangsung optimal pada suhu ruang (Bitwell & Indra, 2023). Proses maserasi selama 3×24 jam dengan pengadukan berkala memberikan kesempatan yang cukup untuk mencapai keseimbangan konsentrasi antara pelarut dan simplisia.

Hasil rendemen menunjukkan nilai 3,03% pada sampel yang melalui proses penyangraian dan 6,15% pada sampel tanpa penyangraian. Kondisi ini dipengaruhi oleh perubahan struktur jaringan serta kemungkinan hilangnya sebagian komponen yang bersifat volatil selama proses pemanasan (Liu *et al.*, 2023).

Pengukuran absorbansi menggunakan microplate reader menunjukkan nilai 0,0392 pada sampel disangrai dan 0,0250 pada sampel tanpa disangrai. Nilai ini menggambarkan intensitas pembentukan kompleks warna antara tanin dan reagen vanilin–asam sulfat yang diukur secara kuantitatif pada panjang gelombang 492 nm

(Rahayu *et al.*, 2019).

Hasil kadar tanin total menunjukkan nilai 654,16 mg CE/g ekstrak pada sampel disangrai dan 27,63 mg CE/g ekstrak pada sampel tanpa disangrai. Interpretasi hasil ini perlu mempertimbangkan bahwa metode vanilin–asam sulfat tidak sepenuhnya spesifik terhadap tanin murni, melainkan dapat memberikan respons terhadap senyawa fenolik lain seperti flavan-3-ol dan proantosianidin yang memiliki struktur serupa. Oleh karena itu, nilai yang diperoleh lebih tepat dipahami sebagai total senyawa fenolik reaktif dalam bentuk ekuivalen katekin (*catechin equivalent*) (Rahayu *et al.*, 2019; Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Selain itu, hasil analisis juga dipengaruhi oleh faktor teknis seperti homogenitas larutan, ketepatan pipetasi, kondisi inkubasi, serta kestabilan pembentukan warna kompleks selama pengukuran. Nilai koefisien determinasi kurva baku ($R^2 = 0,9969$) menunjukkan bahwa hubungan konsentrasi dan absorbansi memiliki linearitas yang baik, sehingga metode kuantifikasi dapat digunakan dengan tingkat keandalan yang tinggi.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa tahapan preparasi bahan, metode ekstraksi, serta metode analisis memiliki kontribusi terhadap hasil akhir yang diperoleh. Interaksi antara faktor fisik, kimia, dan analitik menjadi bagian penting dalam menentukan nilai kadar tanin total yang terukur. Oleh karena itu, hasil penelitian ini merepresentasikan respons kimia sistem analisis terhadap ekstrak bahan alam yang digunakan.

Metode microplate reader dengan reaksi vanilin–asam sulfat terbukti efektif untuk analisis kuantitatif senyawa fenolik karena memiliki sensitivitas tinggi,

efisiensi waktu, serta kemampuan analisis multi-sampel dengan volume kecil. Namun demikian, interpretasi hasil tetap perlu mempertimbangkan keterbatasan spesifikitas metode dalam mendeteksi tanin secara murni.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai gambaran kadar tanin total pada ekstrak etanol biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) yang disangrai dan tanpa disangrai menggunakan metode vanilin–asam sulfat dengan instrumen microplate reader, dapat disimpulkan bahwa:

1. Biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan fenolik berupa tanin yang dapat dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode vanilin–asam sulfat dengan microplate reader.
2. Proses penyangraian pada suhu 150°C selama 15 menit memberikan pengaruh terhadap karakteristik fisik simplisia serta proses ekstraksi senyawa aktif dari bahan.
3. Ekstrak etanol biji kewer yang disangrai memiliki rendemen sebesar 3,03%, sedangkan ekstrak tanpa disangrai memiliki rendemen sebesar 6,15%.
4. Nilai absorbansi pada ekstrak biji kewer yang disangrai sebesar 0,0392, sedangkan pada ekstrak tanpa disangrai sebesar 0,0250.
5. Kadar tanin total pada ekstrak biji kewer yang disangrai sebesar 654,16 mg CE/g ekstrak, sedangkan pada ekstrak tanpa disangrai sebesar 27,63 mg CE/g ekstrak.

6. Metode vanilin–asam sulfat dengan instrumen microplate reader dapat digunakan sebagai metode analisis yang efektif, sensitif, dan efisien dalam penetapan kadar tanin total pada ekstrak bahan alam.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan variasi suhu dan waktu penyangraian untuk memperoleh kondisi pengolahan yang lebih optimal terhadap kandungan senyawa fenolik pada biji kewer (*Senna occidentalis* (L.) Link).
2. Disarankan penggunaan metode analisis lain seperti Folin–Ciocalteu atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) untuk memperoleh data pendukung terkait profil senyawa fenolik secara lebih spesifik.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas biologis ekstrak seperti aktivitas antioksidan dan antibakteri untuk memperkuat potensi farmakologis biji kewer.
4. Diperlukan penelitian lanjutan mengenai standardisasi simplisia dan ekstrak sebagai dasar pengembangan bahan baku fitofarmaka.
5. Perlu dilakukan validasi metode lebih lanjut untuk meningkatkan keandalan hasil analisis kadar tanin total pada bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewuyi, A., & Ibrahim, A. (2023). Phytochemical composition and antioxidant potential of *Senna occidentalis* seeds. *Heliyon*, 9(4), e15211.
- Ahmad, K. A. (2025). Qualitative, quantitative, GCMS, and FTIR phytochemical screening of *Senna occidentalis*. *African Journal of Biochemistry and Molecular Biology Research*, 2(3), 446–465.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Kholijah, S. A. M., & Olalere, O. A. (2018). *Characterization and effect of extraction solvents on the yield and total phenolic content from Vernonia amygdalina leaves*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 311–316.
- Al-Hamoud, G. A., Alam, P., Fantoukh, O. I., & Hawwal, M. F. (2023). HPLC-UV analysis of chrysophanol in *Senna occidentalis* extract using ultrasonic extraction. *Processes*, 11(5), 1410.
- Badock, E., Niang, L., Dramé, A., Nkounkou-Loumpangou, C., Touré, O., Sokhna, O., Ayessou, N., & Cissé, M. (2024). Phytochemical screening and assays of phenolic compounds in *Senna occidentalis* L. leaf and seed extracts. *Food and Nutrition Sciences*, 15, 499–508.
- Bitwell, C., & Indra, S. S. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- Dutta, S., et al. (2023). Bioactive compounds in *Senna* species and their pharmacological relevance. *Plants*, 12(8), 1654.
- Faboro, E. O., Adekunle, D. O., Obisesan, I. A., & Oyinlola, T. A. (2023). Optimization of extraction conditions for phytochemicals from *Senna fistula*. *Discover Applied Sciences*, 5, 209.
- Fraga-Corral, M., García-Oliveira, P., Pereira, A. G., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Technological application of tannin-based extracts. *Molecules*, 26(2), 366.
- Herdayati, S. (2019). *Desain penelitian dan teknik pengumpulan data dalam penelitian*.

- Hersila, N., Chatri, M., Vauzia, & Irdawati. (2023). Senyawa metabolit sekunder (tanin) pada tanaman sebagai antifungi. *Jurnal Embrio*, 15(1), 16–22.
- Kharismawati, M., Utami, P. I., & Wahyuningrum, R. (tahun). *Penetapan kadar tanin dalam infusa daun salam (Syzygium polyanthum) secara spektrofotometri sinar tampak. PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*.
- Khatib, M. (2023). Tannins extraction and profiling by chromatographic methods. *ACS Food Science & Technology*, 3(11), 1903–1912.
- Kumar, S., Verma, S., Verma, P., & Shrivastav, A. K. (2024). HPTLC analysis of *Senna occidentalis* in methanolic leaf extract. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 17(1), 236–242.
- Leba Uron, M. (2017). *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam*. Yogyakarta: Deepublish.
- Li, X., et al. (2025). Tannin in foods: Classification, dietary sources, and processing strategies to minimize anti-nutrient effects. *Food and Bio-process Technology*, 18, 9221–9249.
- Liu, J., Liu, Y., & Wang, X. (2023). Effects of bioactive compounds and pharmacological activities in medicinal fruits and vegetables by thermal processing. *Journal of Future Foods*, 3(3), 252–262.
- Mariani, R., Martiani, I., Noviyanti, N., & Avini, F. (2024). Effect of roasting kewer (*Senna occidentalis* L.) seed extraction method on antioxidant activity and active compounds. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 7(2), 92–99.
- Mubarok, M., Azadeh, E., Akong, F. O., Dumarçay, S., Gérardin, P., & Gérardin-Charbonnier, C. (2023). Effect of tannins addition on thermal stability of furfurylated wood. *Polymers*, 15(9), 2044.
- Mukhriani, M., Nonci, F. Y., & Mumang, M. (2014). Penetapan kadar tanin total ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 2(4), 154–158.
- Nakitto, A. M. S., Byaruhanga, Y. B., Wagner, A. E., & Muyonga, J. H. (2024). Effect of thermal processing on bioactive compounds contents and antioxidant capacities of unripe and ripe *Solanum anguivi* Lam. fruit accessions. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 39, 100535.
- Naviglio, D., Scarpa, T., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019). Applications of Solid-Liquid Extraction. In *IntechOpen*.
- Ojo, M. A. (2022). Tannins in foods: Nutritional implications and processing effects. *Preventive Nutrition and Food Science*, 27(1), 14–19. <https://doi.org/10.3746/pnf.2022.27.1.14>

- Putri, A. Y. E., Nurhidayah, M., Aridha, A., Razak, R., & Abidin, Z. (2024). Penentuan kadar fenolik, tanin, flavonoid, dan saponin ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*). *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, 2(2), 344–355
- Rahayu, M., Siti, M., & Vina, I. (2019). Analisis kadar tanin total ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), 372–377.
- Srivastava, N., Singh, U. P., Pal, P., & Gupta, P. (2025). *Senna occidentalis*: Unlocking weed's phytochemicals, bioactivities, and future potential. *International Journal of Engineering Science and Generic Research*, 11(3), 62–74
- Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). Review jurnal: Klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif tanin. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(2), 130–136.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, 20.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat hasil determinasi tanaman



INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG

SEKOLAH ILMU DAN TEKNOLOGI HAYATI

Gedung Labtek XI, Jalan Ganesa No.10, Bandung 40132, Telp.: +6222 2511575, Fax.: +6222 2534107
e-mail: sith@itb.ac.id situs: www.sith.itb.ac.id

Nomor : 4428/IT1.C11.2/TA.00/2026
Perihal : Determinasi tumbuhan

3 Juni 2026

Yth. Dekan
Fakultas Ilmu Kesehatan
Institut Kesehatan Karsa Husada Garut
Jl. Nusa Indah No. 24
Garut

Menindaklanjuti surat dari Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Institut Kesehatan Karsa Husada Garut Nomor 050/IKKHG.2/TU/VI/2026 tanggal 2 Juni 2026 perihal permintaan determinasi tumbuhan, bersama ini kami informasikan bahwa setelah dilakukan proses identifikasi oleh staf kami, sampel tumbuhan yang dikirim oleh Sdr. Wafqi Naufal Fahrizal (NIM: KHGF23050), yaitu:

No	Nama sampel	Hasil determinasi	Famili
1.	Kewer (<i>Cassia occidentalis</i> L.)	<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link	Fabaceae

Referensi:

- Hou, D., Larsen, K. & Larsen, S. S. (1996). Caesalpiniaceae (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Flora Malesiana - Series 1, Spermatophyta*, 12(2), 409–730.
- POWO (2026). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet;
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:48846-2> Retrieved 03 June 2026."

Demikian yang kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama yang diberikan, kami ucapkan terima kasih.



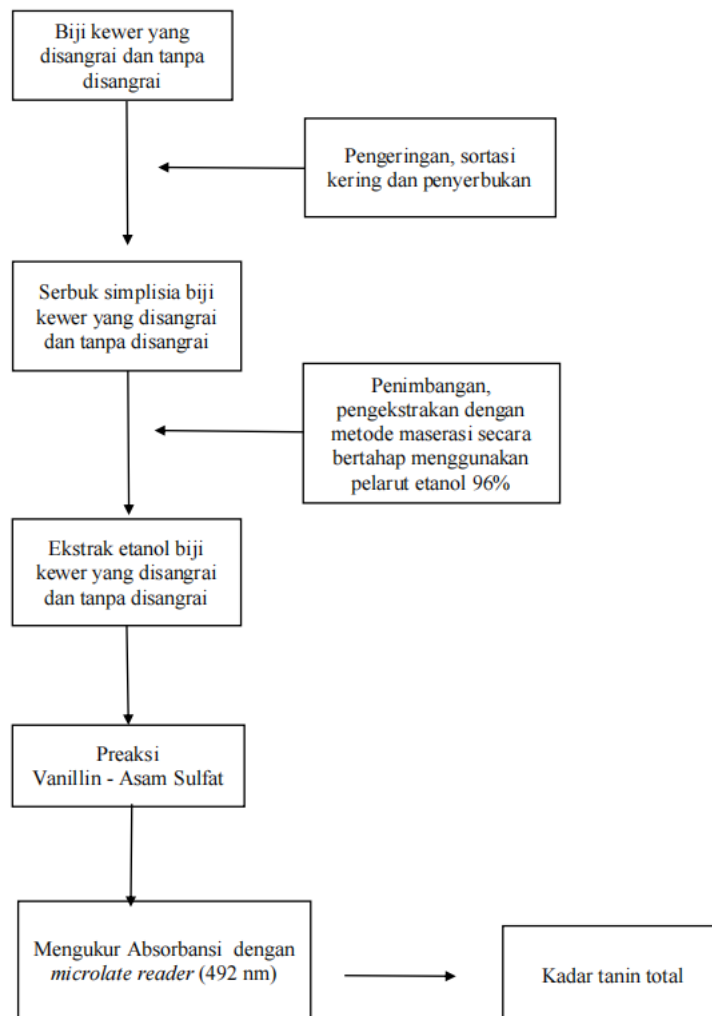
Wakil Dekan Bidang Sumber Daya,

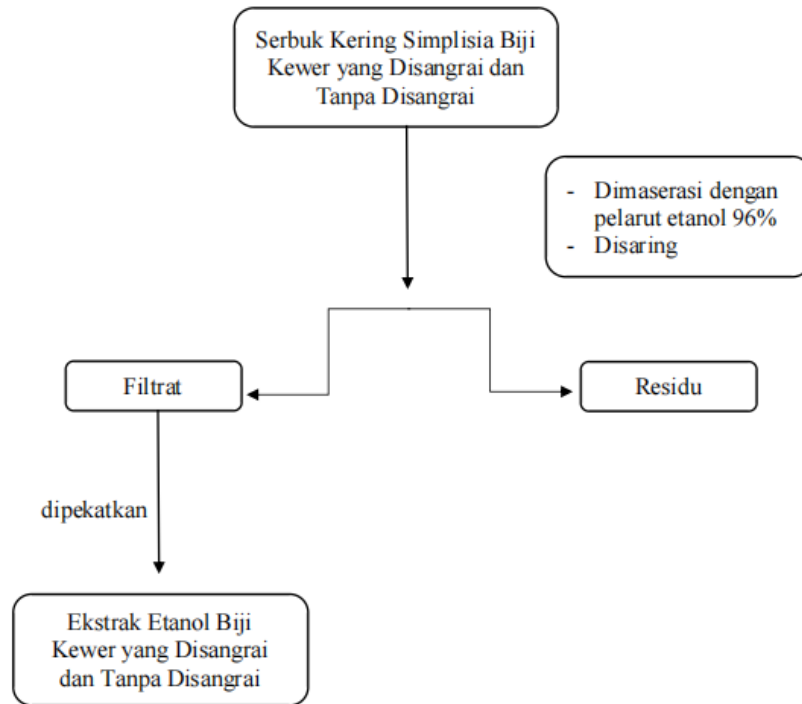
Elan Rosleine, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP 198107072010122002

Tembusan:
Dekan SITH ITB (sebagai laporan)

Terakreditasi oleh:



Lampiran 2. Diagram alir penelitian

Lampiran 3. Diagram alir pembuatan ekstrak

Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak biji kewer yang disangrai dan tanpa disangrai

- a. Ekstrak biji kewer yang disangrai

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia awal}} \times 100$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{18,19}{600} \times 100 = 3,03\%$$

- b. Ekstrak biji kewer tanpa disangrai

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia awal}} \times 100$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{36,94}{600} \times 100 = 6,15\%$$

Lampiran 5. Perhitungan kadar tanin total (CE/g ekstrak)

1. Persamaan kurva baku

Persamaan yang digunakan:

$$y = 0,000202145x + 0,0280524$$

Keterangan:

- y = absorbansi sampel
- x = konsentrasi tanin (ppm)

2. Menentukan konsentrasi sampel (x)

Rumus:

$$x = \frac{y - a}{b}$$

3. Sampel 1 (Biji kewer disangrai)

- Absorbansi (y) = 0,0392

Substitusi:

$$\begin{aligned} x &= \frac{0,0392 - 0,0280524}{0,000202145} \\ x &= \frac{0,0111476}{0,000202145} \\ x &= 55,12 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4. Sampel 2 (Biji kewer tanpa disangrai)

- Absorbansi (y) = 0,0250

Substitusi:

$$\begin{aligned} x &= \frac{0,0250 - 0,0280524}{0,000202145} \\ x &= \frac{-0,0030524}{0,000202145} \\ x &= -15,10 \text{ ppm } (\approx 0 \text{ ppm secara praktis}) \end{aligned}$$

5. Konversi ke mg CE/g ekstrak

Rumus:

$$\text{mg CE/g} = \frac{C \times V \times \text{FP}}{W}$$

Keterangan:

- C = konsentrasi hasil kurva (mg/L atau ppm)
- V = volume larutan (L)
- FP = faktor pengenceran
- W = berat ekstrak (g)

6. Hasil akhir

- Ekstrak biji kewer disangrai = 654,16 mg CE/g ekstrak
- Ekstrak biji kewer tanpa disangrai = 27,63 mg CE/g ekstrak

Lampiran 6. Perhitungan kurva baku katekin

a. Data Absorbansi Rata-rata

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0,00	0,0244
29,43	0,0317
58,85	0,0382
117,70	0,0548
235,40	0,0783
470,80	0,1291
941,60	0,2146

b. Hasil Perhitungan Regresi Linear

Persamaan regresi: $y = 0,000202145x + 0,0280524$

Koefisien determinasi (R^2) = 0,9969475

c. Tabel Perhitungan x^2 dan xy

x	y	x^2	xy
0,00	0,0244	0,0000	0,000000
29,43	0,0317	866,1249	0,932931
58,85	0,0382	3463,3225	2,248070
117,70	0,0548	13853,2900	6,449960
235,40	0,0783	55413,1600	18,431820
470,80	0,1291	221652,6400	60,780280
941,60	0,2146	886610,5600	202,067360

d. Rekapitulasi

- $\Sigma x = 1853,78$
- $\Sigma y = 0,5711$
- $\Sigma x^2 = 1.181.859,0979$

- $\Sigma xy = 290,910421$

e. Persamaan Regresi Linear

Slope (b):

$$b = 0,000202145$$

Intercept (a):

$$a = 0,0280524$$

f. Persamaan Kurva Baku

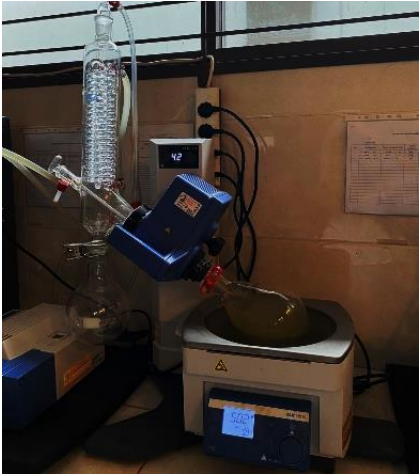
$$y = 0,000202145x + 0,0280524$$

g. Koefisien Determinasi

$$R^2 = 0,9969475 \approx 0,9969$$

Lampiran 7. Dokumentasi penelitian

	
Pengeringan	Serbuk simplisia
	
Penimbangan	

	
Perendaman simplisia (Maserasi)	Penyaringan
	
Proses pemekatan	Ekstrak Biji kewer
	
Penimbangan ekstrak kental	Pembuatan larutan katekin

Lampiran 8. Lembar bimbingan karya tulis ilmiah



YAYASAN DHARMA HUSADA INSANI GARUT
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Karsa Husada
 SK Mendiknas RI No. : 129 / D / O / 2007
 Kampus I : Jl. Subyadinata No. 07 Tlp./Fax. 0262 - 235946 Garut - Jawa Barat
 Kampus II : Jl. Nusa Indah No. 24 Tlp. 0262 - 4704803, 0262 - 235860 Garut - Jawa Barat

KARTU BIMBINGAN KARYA TULIS ILMIAH
PROGRAM STUDI D-3 FARMASI

Nama : Tina Lestari

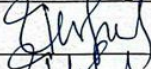
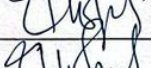
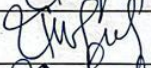
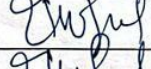
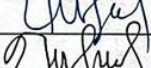
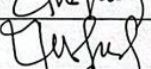
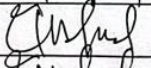
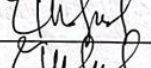
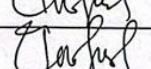
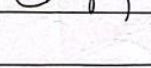
NIM : KHGF23002

Peminatan Penelitian : ☐ Profil ☐ Survey ☒ Eksperimen

Kelompok Keilmuan : ☐ Farmasi Umum ☐ Farmakologi & Farmasi Klinik ☐ Biologi Farmasi
☒ Analisis Farmasi & Kimia Medisinal ☐ Farmasetika & Teknologi Farmasi

Judul Penelitian : Gambaran Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol pada biji kewer (Cassia occidentalis Linn) yang disangrai dan tanpa disangrai dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis

Pembimbing : Dadang Muhammad Hasyim, M.Si.

No	Tanggal	Komponen Penelitian	Catatan Bimbingan	Tanda Tangan Pembimbing
1.	31/10 - 2025	Judul	Penetapan judul	
2.	7/11 - 2025	Bab 1	Revisi bab 1 : Latar belakang, Rumusan masalah, dll	
3.	20/11 - 2025	Bab II & Bab III	Revisi bab II : Kelengkapan Pijuan Pustaka	
4.	17/12 - 2025	Bab II & Bab III	Revisi bab II ; Lanjutan Bab III	
5.	19/12 - 2025	Revisi Bab III	Lengkapi Bab III Mengenai definisi Operasional + Sampel dll	
6.	22/01 - 2026	Daftar Pustaka & Lampiran	Revisi (kelengkapan proposal)	
7.	25/01 - 2026	Review III	Acc Bab 1, Bab II, Bab III, Daftar pustaka	
8.	12/05 - 2026	Revisi BAB 1	Penambahan latar belakang	
9.	20/05 - 2026	Revisi BAB 3	Kerangka Pemikiran	
10.	25/05 - 2026	Revisi BAB 4. Hasil	Revisi Hasil & Pembahasan	
11.	26/05 - 2026	Lampiran	Mencantumkan Lampiran	
12.	4/06 - 2026	Review All	Merapikan format	
13.	1/07 - 2026		Bab 1 - Bab V	

Lampiran 9. Lembar persetujuan dan matriks seminar hasil penelitian**LEMBAR PERSETUJUAN
PERBAIKAN SEMINAR HASIL PENELITIAN**

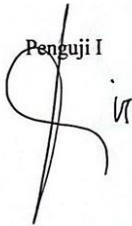
JUDUL : GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL PADA EKSTRAK
ETANOL BIJI KEWER *SENNA OCCIDENTALIS* (L).
LINK DENGAN METODE MIKROPLATE READER
NAMA : TINA LESTARI
NIM : KHGF23002

Telah melaksanakan perbaikan sesuai dengan saran tim penguji
seminar hasil penelitian

Garut, 21 Juli 2026

Menyetujui,

Penguji I



apt.Dina Nirwana Suwinda, S.Si., M.Farm

Penguji II



Dr. H. Dian Roslan H, S.Kep., M.Kep.

Pembimbing



Dr. Dadang Muhammad Hasyim, M. Si.



YAYASAN DHARMA HUSADA INSANI GARUT

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Karsa Husada

SK Mendiknas RI No. : 129 / D / O / 2007

Kampus I : Jl. Subyadinata No. 07 Tlp./Fax. 0262 - 235946 Garut - Jawa Barat

Kampus II : Jl. Nusa Indah No. 24 Tlp. 0262 - 4704803, 0262 - 235860 Garut - Jawa Barat

**MATRIKS MASUKAN DAN PERBAIKAN
SEMINAR USULAN PENELITIAN**

Nama : TINA LESTARI

NIM : KHGF23002

Judul Penelitian : GAMBARAN KADAR TANIN TOTAL PADA EKSTRAK ETANOL BIJI
KEWER *SENNA OCCIDENTALIS* (L). LINK DENGAN METODE
MIKROPLATE READER

Pembimbing : Dr. Dadang Muhammad Hasyim, M. Si

No	Nama Dosen Penguji	Komentar/Masukan/ Saran	Hasil Perbaikan	Tanda Tangan
1.	apt.Dina Nirwana Suwinda, S.Si., M.Farm.	Menambahkan karakteristik biji kewer di Bab 11	Terlampir pada halaman 8	
2.	Dr. H. Dian Roslan Hidayat, S.Kep., M.Kep.			

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Garut pada tanggal 21 April 2005 sebagai anak kedua dari dua bersaudara yang dilahirkan dari pasang Bapak Usep Permana dan Ibu Neni Sumarni yang beralamat di Kp. Cikopo munjul Kecamatan Pameungpeuk Kabupaten Garut. Penulis telah diberikan nama yang begitu bermakna dan dengan penuh rasa kasih sayang yaitu Tina Lestari. Penulis menempuh pendidikan di SDN PAAS 1 Pameungpeuk (2012 – 2017), MTs Al-Barokah (2018 – 2020), dan MA Al-Jauhari (2021 – 2023). Pada tahun 2023, penulis diterima sebagai mahasiswa program diploma tiga (D3) Farmasi di Fakultas Ilmu Kesehatan Institut Kesehatan Karsa Husada Garut. Penulis melaksanakan praktek kerja lapangan di Klinik Jantung Hasna Medika 2025, di Puskesmas Guntur dan di RSUD Pameungpeuk Garut pada Tahun 2026. Sampai dengan pembuatan karya tulis ilmiah ini, penulis masih terdaftar sebagai Mahasiswa Program Studi D3 Farmasi di Institut Kesehatan Karsa Husada Garut.