Jurnal Kimia Andalas, ISSN 0853-8018
Volume 3, Nomor 2, Tahun 1997 (93–100)

PENENTUAN TANIN DALAM TEH SECARA SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM TIDAK LANGSUNG

Hamzar Suyani

Laboratorium Kimia Analisis Terapan, Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Andalas, Padang 25163

(Diterima 7 Juli 1997, disetujui 10 Juli 1997)

INTISARI

Penentuan kadar tanin secara spektrofotometri serapan atom tidak langsung sudah dikembangkan. Tanin dalam larutan sampel diendapkan dengan kompleks tembaga-asetat, dan tembaga yang tidak terendapkan ditentukan dengan spektrofotometer serapan atom setelah endapan dipisahkan dengan menyentrifuse. Kurva kalibrasi pada konsentrasi tanin dari 1 sampai 25 ppm memberikan koefisien determinasi (r^2) 0.9996. Batas deteksi pada 3σ didapatkan 0,7 ppm tanin. Standar deviasi relatif pada konsentrasi tanin 10 ppm dengan 6 kali ulangan adalah 3,1 % dan perolehan kembali adalah 100,5 %.

ABSTRACT

A method for determination of tannin by indirect atomic absorption spectrophotometry has been developed. Tannins in the sample solutions were precipitated by copper-acetate complex, and the unprecipitated copper was determined by atomic absorption spectrophotometer after separation by centrifugation. Calibration curve at tannin concentrations of 1 to 25 ppm showed a determination coefficient of 0.9996. Detection limit at 3σ was found to be 0.7 ppm. Relative standard deviation at 10 ppm tannin for 6 replications was 3,1 % and recovery was 100.5 %.

Key words : Indirect-atomic absorption spectrofotometry, tannin in tea

PENDAHULUAN

Tanin merupakan campuran heterogen dari senyawa-senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan dengan masa molekul relatif (M_r) antara 500 sampai 300 dan bersifat menguning-coklatkan (*taming*) kulit. Aroma spesifik dari teh salah satunya diberikan oleh senyawa tanin[1].

Penentuan kandungan tanin dalam makanan dan minuman yang umum digunakan dan direkomendasi oleh Association of Official Analytical Chemists (AOAC) adalah dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu[2], yang berdasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Adanya senyawa pereduksi lain dalam sampel, seperti asam askorbat dan gula pereduksi, akan mengganggu dalam penentuan. Metoda lain yang telah dikembangkan adalah berdasarkan pengendapan dengan logam berat[3,4], pengendapan dengan protein[5], pembentukan senyawa bewarna yang diukur dengan spektrofotometer[6] dan kromatografi[7].

Yebra, *et al*[8], telah melakukan penentuan tanin dalam anggur dan teh secara injeksi alir-spektrometri serapan atom tidak langsung. Larutan sampel tanin dialirkan secara kontinyu kedalam nyala asetilen-udara melalui sebuah filter. Kedalam aliran ini diinjeksikan larutan tembaga asetat sehingga terjadi pengendapan tembaga-tanin yang selanjutnya akan tertahan pada filter. Sisa tembaga yang tidak terendapkan diteruskan kedalam nyala dan absorbannya terekam pada rekorder berupa signal transien (bentuk puncak). Penurunan absorban dari larutan blanko sebanding dengan konsentrasi tanin.

Pada makalah ini dilaporkan metoda penentuan tanin secara spektrofotometri serapan atom tidak langsung dengan pengendapan secara batch. Pemisahan endapan dilakukan dengan cara sentrifus. Metoda ini berdasarkan reaksi pengendapan sehingga bebas dari gangguan adanya senyawa pereduksi dalam sampel.

METODOLOGI

Peralatan

Spektrofotometer serapan atom (SSA) yang digunakan adalah Alpha Model 4 (ChemTech Analytical Ltd, Kempston, Inggris). Peralatan diset pada panjang gelombang 324,7 nm dan lebar celah 0,050 mm (pada skala 2) dengan menggunakan lampu katoda Cu pada kuat arus 3 mA. Nyala asetilen-udara diatur dengan laju aliran udara 12 L/min (skala 6) pada tekanan 36 psi dan laju aliran asetilen 2 L/min (skala 2) pada tekanan 7,5 psi. Pembacaan data absorban dilakukan secara manual.

Reagen

Larutan standar induk Cu (1.000 ppm) dibuat dengan melarutkan 1,00 g bubuk tembaga dengan 50 ml HNO_3 (1 : 1) dan diencerkan sampai 1 L dengan HNO_3 1 % (v/v). Larutan standar asam tanat 500 ppm dibuat dengan melarutkan 0,50 g asam tanat dengan air suling dan diencerkan sampai 1 L dengan air suling. Larutan pengendap Cu-asetat yang mengandung Cu 200 ppm dalam amonium asetat 0,1 M dibuat dengan dengan mencampurkan 0,77 g amonium asetat dengan 20,00 ml larutan standar induk Cu 1.000 ppm, kemudian diencerkan sampai 100 ml.

Penentuan kondisi optimumum

Untuk mendapatkan kondisi pengendapan optimum (Δ Absorban terbesar) dipelajari pengaruh perbandingan volume larutan pengendap dengan larutan sampel, konsentrasi Cu dalam larutan pengendap, pH dan konsentrasi amonium sulfat dalam larutan pengendap, dan pH larutan sampel. Pada semua perlakuan ini 5 mL larutan standar asam tanat 5 ppm dicampur dengan larutan pengendap Cu-asetat dalam tabung sentrifus. Endapan Cu-tanat dipisahkan dengan cara menyentrifus pada 5.000 rpm selama lebih kurang 5 menit. 1 mL larutan jernihnya dipipet dengan hati-hati, dan dimasukkan kedalam botol filem kering. Larutan ini selanjutnya diencerkan dengan HNO_3 1 % (v/v) sampai konsentrasi Cu akhir (bila dianggap tidak terjadi pengendapan) adalah 5 ppm, untuk pengukuran dengan SSA. Besaran yang diambil adalah beda absorban yaitu selisih antara absorban blanko (larutan Cu-asetat tanpa penambahan asam tanat) dengan absorban larutan setelah pengendapan Cu-tannat.

Persiapan Sampel

Dalam penelitian ini dilakukan penentuan tanin dalam 2 macam sampel yaitu teh minuman dan teh bubuk. Untuk minuman, 1 mL sampel diencerkan, diatur pH menjadi 5,5 dengan penambahan amoniak encer kemudian encerkan sampai 100 mL. Untuk sampel bubuk, 1,5 g sampel direbus dengan 50 mL air selama 10 menit. Setelah dingin disaring dan residu dicuci. Air cucian dan filtrat diencerkan menjadi 100 mL. Selanjutnya 1 mL larutan ini diencerkan, diatur pH menjadi 5,5 dan dijadikan volumenya 50 mL.

Prosedur

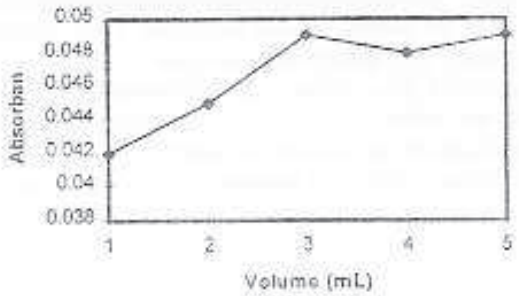
5,0 mL larutan sampel yang sudah dipersiapkan menjadi pH 5,5 dimasukkan kedalam tabung sentrifus kering, kemudian tambahkan 3,0 ml larutan pengendap Cu-asetat 200 ppm pH 5,2. Campuran diaduk dan selanjutnya disentrifus untuk memisahkan endapan Cu-tanat. 1,0 mL larutan jernihnya dimasukkan kedalam botol filem kering, ditambahkan 14,0 ml HNO_3 1 % (v/v) dan diaduk sampai merata. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometer serapan atom.

Kurva kalibrasi dibuat dengan menyediakan larutan standar asam tanat dengan konsentrasi dari 1 sampai 25 ppm pada pH 5,5. 5,0 mL masing-masing larutan standar tanat ini ditambahkan 3,0 mL larutan pengendap Cu-asetat 200 ppm. Setelah diaduk dan disentrifus, 1,0 mL larutan jernihnya ditambahkan 14,0 mL HNO_3 1 % (v/v) dalam botol filem kering, selanjutnya diukur dengan spektrofotometer serapan atom.

HASIL DAN PEMBAHASAN

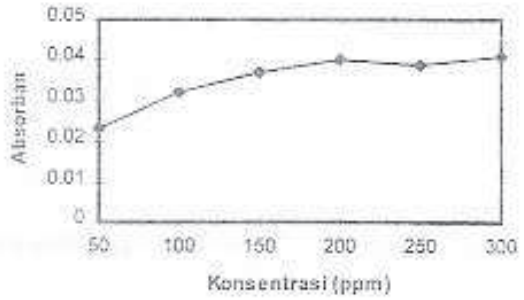
Penentuan Kondisi Optimum

Perbandingan volume larutan asam tanat dengan volume larutan pengendap Cu-asetat untuk mendapatkan signal optimum dipelajari dengan menggunakan 5 mL larutan asam tanat 15 ppm dengan pH 5,5 dan volume larutan pengendap divariasikan dari 1 sampai 5 mL pada konsentrasi 200 ppm Cu, kemudian volume total dijadikan 10 ml. Untuk pengukuran dengan SSA, filtrat setelah pengendapan masing-masing larutan diencerkan 4 kali volume Cu-asetat, sehingga konsentrasi Cu maksimum (tanpa terjadi pengendapan Cu-tanat) dalam larutan diukur adalah 5 ppm. Hasil beda absorban dengan blanko diperlihatkan dalam Gambar 1. Dari Gambar 1 terlihat bahwa beda absorban menaik sampai volume Cu-asetat 3 mL dan selanjutnya relatif mendatar. Ini menunjukkan bahwa volume Cu-asetat 3 mL sudah cukup untuk mengendapkan tanin dalam larutan sampel, dan untuk selanjutnya dipakai volume Cu-asetat 3 mL.



Gambar 1. Hubungan antara beda absoban dengan volume Cu-asetat 200 ppm Cu pada pemakaian 5 mL asam tanat 15 ppm.

Pengaruh konsentrasi Cu dalam Cu-asetat dipelajari dengan memvariasikan konsentrasi Cu dari 50 sampai 300 ppm Cu dengan volume tetap 3 ml. Volume asam tanat digunakan adalah 5 mL dengan konsentrasi 15 ppm pada pH 5,5. Pengenceran larutan sebelum pengukuran dilakukan masing-masing dari 3 sampai 18 kali untuk mendapatkan konsentrasi Cu maksimum akhir 5 ppm. Hasil yang didapatkan diperlihatkan pada Gambar 2. Gambar 2 memperlihatkan bahwa konsentrasi Cu optimum untuk pengendapan asam tanat adalah pada 200 ppm, dan pada konsentrasi diatasnya tidak memperlihatkan kenaikan signal yang berarti.

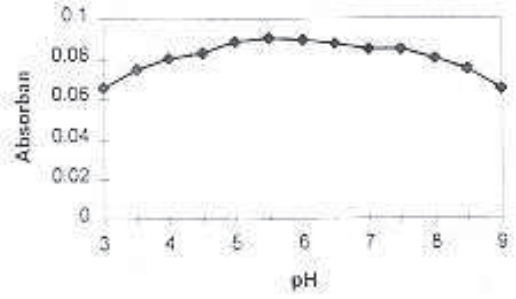


Gambar 2. Hubungan antara beda absorban dengan konsentrasi Cu dalam larutan Cu-asetat pengendap.

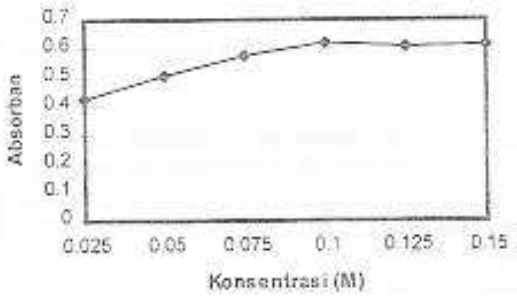
Pengendapan Cu-tanat akan dipengaruhi oleh pH karena berlangsung dalam medium asetat. Pengaruh pH asam tanat dipelajari dari pH 3 sampai 9 dengan mengatur pH larutan asam tanat menggunakan asam nitrat atau amoniak encer. 5 mL asam tanat 15 ppm yang sudah diatur pH-nya dicampur dengan 3 mL larutan pengendap Cu-asetat 200 ppm Cu. Setelah pemisahan endapan, larutan diencerkan 15 kali untuk pengukuran dengan SSA. Hasilnya diperlihatkan pada Gambar 3. Dari Gambar 3 terlihat bahwa beda absorban menurun dibawah pH 4,5 dan diatas pH 7,5 dan tertinggi pada pH 5,5. Dibawah pH 4,5 terjadi asosiasi asetat dari kompleks Cu-asetat dengan ion H^+, sedangkan diatas pH 7,5 terjadi penggantian kompleks Cu-asetat menjadi kompleks Cu-amoniak yang lebih stabil.

Pengaruh konsentrasi amonium asetat dalam reagen pengendap dipelajari dengan memvariasikan konsentrasi amonium asetat dari 0,025 sampai 0,150 M, dengan pH dari 2,5 sampai 5,5, pada konsentrasi Cu tetap 200 ppm. Hasilnya diperlihatkan dalam Gambar 4. Dari Gambar 4. terlihat

bahwa beda absorban menaik dengan naiknya konsentrasi amonium asetat sampai 0,1 M (pH larutan adalah 5,2). Diatas konsentrasi amonium asetat 0,1 M tidak terjadi lagi beda absorban.



Gambar 3. Hubungan antara beda absorban dengan pH larutan asam tanat.



Gambar 4. Hubungan antara beda absorban dengan konsentrasi amonium asetat dalam larutan pengendap.

Pada semua kondisi optimum yang didapatkan, yaitu pada volume Cu-asetat 3 mL, konsentrasi Cu 200 ppm, konsentrasi amonium asetat 0,10 M dengan pH 5,2 dan pH larutan asam tanat 5,5, disusun kurva kalibrasi dengan konsentrasi asam tanat dari 1 sampai 25 ppm. Persamaan regresi

yang didapatkan adalah Y = -0.00027 + 0,0013 X, dimana X adalah konsentrasi asam tanat dalam ppm dan Y adalah beda absorban. Nilai koefisien determinasi (r^2) didapatkan adalah 0,9996, menunjukkan kelinieran yang baik antara beda absorban dengan konsentrasi asam tanat. Konsentrasi asam tanat diatas 25 ppm belum dicobakan. Batas deteksi dievaluasi dengan menghitung 3 kali standar deviasi regresi dibagi dengan gradien kurva kalibrasi. Batas deteksi didapatkan adalah 0.7 ppm asam tanat. Hasil ini sama dengan yang dilaporkan Yebra *et al*[5], dengan menggunakan metoda analisis alir. Standar deviasi relatif dari beda absorban pada konsentrasi asam tanat 10 ppm dengan 6 kali ulangan adalah 3,1 %.

Penentuan Tanin dalam Teh Minuman dan Teh Bubuk

Penentuan kandungan tanin dalam 2 macam sampel, yaitu teh minuman Sosro dalam kotak dan teh bubuk Cap Bendera dilakukan pada penelitian ini untuk memperlihatkan aplikasi dari metoda yang dikembangkan. Dalam teh minuman Sosro didapatkan kandungan tanin 2,3 ± 0.07 mg/mL minuman dan dalam teh bubuk Cap Bendera ditemui kandungan tanin 45,8 ± 0,1 mg/g bubuk. Nilai perolehan kembali dari asam tanat 10 ppm yang ditambahkan kedalam larutan sampel minuman adalah 100,1 % dan kedalam sampel teh bubuk adalah 100,5 %.

KESIMPULAN

Tanin dapat ditentukan secara spektrofotometer serapan atom tidak langsung dengan pengendapan dengan tembaga asetat dan mengukur kelebihan tembaga. Kurva kalibrasi menunjukkan kelinieran yang baik dengan r^2 0,9996. Metoda yang dikembangkan memperlihatkan ketelitian dan ketepatan yang baik dimana standar deviasi relatif untuk tanin 10 ppm adalah 3,1 % dan perolehan kembali mencapai 100,5 %.

DAFTAR PUSTAKA

1. Coultate, T.P., *Food – The Chemistry of its Components*. The Royal Society of Chemistry, London, 1984.
2. *Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists*, 12th ed., Washington, DC. pp 164-165.

3. Coomans, D., Silberklang, J., Michotte, Y., Dryon, L. and Massart, D.L., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 1979, 294, 140-144.
4. Reed, J.D., Horvath, P.J., Allen, M.S. and Van Soest, P.J., *J. Sci., Food Agric., 1985, 36, 255-261.*
5. Makkar, H.P.S., *J. Agric. Food Chem.*, 1989, 37, 1197-1202.
6. Suara-Calixto, F., Goni, I., Manas, E. and Abia, R., *J. Agric. Food Chem.*, 1991, 39, 299-309.
7. Oszmianski, J. and Sapis, J.C., *J. Agric. Food Chem.*, 1989, 37, 1293-1297.
8. Yebra, M. C., Gallego, M. and Valcarcel, M., *Anal. Chim. Acta*, 1995, 308, 357-363.