

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KULIT BUAH KAKAO MASAK DAN KULIT BUAH KAKAO MUDA

Jusmiati A*, Rolan Rusli, Laode Rijai

Laboratorium FARMAKA TROPIS, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman.
Samarinda, Kalimantan Timur

*email: mimie.siipdach@yahoo.com

ABSTRACT

Cocoa pod husk containing polyphenolic and flavanoid compounds. These compounds have antioxidant activity. Active compounds extracted from cocoa pod husk were determined antioxidant activity using DPPH method. The highest antioxidant activity of cocoa pod husk is obtained at ethyl acetate fraction with IC₅₀ value is 0.9 ppm.

Keywords: Cocoa pod husk, antioxidant activity

ABSTRAK

Kulit buah kakao mengandung senyawa polifenol dan flavanoid. Senyawa polifenol dan flavanoid ini memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa aktif yang diekstraksi dari kulit buah kakao baik dari buah yang masak maupun yang masih muda ditentukan aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan kulit buah kakao masak yang tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,9 ppm.

Kata kunci: Kulit buah kakao, aktivitas antioksidan

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*). DPPH secara luas digunakan untuk mengukur dan membandingkan aktifitas antioksidan

senyawa-senyawa fenolik, dan evaluasi aktifitas antioksidan melalui perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004).

Cokelat, kakao atau dengan sebutan ilmiah *Theobroma cacao* L merupakan tumbuhan berwujud pohon yang berasal dari hutan-hutan tropis di Amerika Tengah dan Amerika Selatan bagian utara (Erna, 1998).

Kulit buah (pod) kakao adalah bagian mesokarp atau bagian dinding buah kakao, yang mencakup kulit terluar sampai daging buah sebelum kumpulan biji. Kulit buah kakao merupakan bagian terbesar dari buah kakao (75,52 % dari buah kakao segar). Setiap tahun produksi biji kakao meningkat, ini mengakibatkan semakin meningkatnya kulit buah kakao

yang terbuang (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao). Kulit buah kakao belum dimanfaatkan secara optimal bahkan sebagian besar masih merupakan limbah perkebunan kakao karena hanya dikumpulkan pada lubang kemudian ditimbun atau dibuang di sekitar tanaman kakao. Untuk itu perlu dicari cara pemanfaatan kulit buah kakao yang lebih efisien dan memiliki nilai ekonomis yang lebih tinggi.

Kulit kakao sebagian besar terdiri dari polisakarida (selulosa dan hemiselulosa) dan lignin, serta sebagian kecil terdiri dari senyawa fenolik, tanin, alkaloid purin, dan *cocoa butter* (Byung, dkk., 2003). Berdasarkan komposisi kimia kulit buah kakao tersebut, diduga bahwa kulit buah kakao memiliki aktivitas antioksidan. Kulit buah kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao yang masak dan yang masih muda. Hal ini dilakukan untuk melihat perbedaan aktivitas antioksidan dari keduanya.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah: metanol, DPPH, vitamin C, aquades, bismut nitrat, merkuri klorida, asam nitrat, kalium iodida, asam asetat anhidrat, kloroform, feri klorida, serbuk Magnesium, asam klorida pekat. Bahan yang diteliti adalah bagian kulit buah kakao yang masak dan yang muda dari tanaman kakao yang diambil di daerah Teluk Pandan, Kabupaten KUTIM, Kalimantan Timur.

Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, seperangkat alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, desikator, timbangan analitik (Precisa XB 220A), vortex, *waterbatch* (WiseBath[®]), *rotary evaporator* (büchi *rotavapor* R-200), dan Spektrofotometer UV-Vis.

Prosedur Kerja Penelitian

Dipilih buah kakao yang segar yaitu buah kakao yang sudah masak dan buah kakao yg masih muda. Bagian yang diteliti adalah bagian kulitnya, kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan diangin-anginkan pada udara terbuka didalam ruangan. Setelah sampel kering dilanjutkan dengan pemotongan (perajangan) dan ditimbang simplisia kulit buah kakao. Selanjutnya sampel yang telah dimaserasi dengan metanol, dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikeringkan pada *water bath*. Ekstrak metanol tersebut kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol.

Diambil 2 mL larutan ekstrak kemudian ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH 40 ppm. Dibuat variasi konsentrasi sampel seperti terlihat pada Tabel 1. Campuran larutan ini dihomogenkan dengan menggunakan vorteks dan dibiarkan di tempat gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya. Dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan vitamin C

Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Tabel 1. Variasi konsentrasi sampel ekstrak dan fraksi dari kulit buah kakao yang diukur aktivitas antioksidannya

No.	Ekstrak / fraksi Kulit buah kakao masak dan muda	Konsentrasi sampel (ppm)
1.	Metanol	5
		10
		20
		40
		80
2.	<i>n</i> -butanol	10
		20
		30
		40
		50
3.	Etil asetat	0,5
		1
		5
		10
		15
4.	<i>n</i> -heksan	50
		100
		150
		200
		250
5.	Vitamin C	2
		4
		6
		8
		10

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kakao mempunyai potensi sebagai antioksidan alami. Kakao mengandung golongan senyawa lignin, fenolik, tanin, dan alkaloid purin (Byung, dkk., 2003), yang merupakan komponen senyawa antoksidan. Penelitian aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak metanol dan fraksinasi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L) baik pada buah yang masak

maupun pada buah yang masih muda. Kulit buah kakao yang digunakan adalah kulit kakao jenis *Criollo* yaitu ketika muda berwarna merah tua (ungu), setelah masak berwarna jingga (oranye).

Aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak dan fraksi kedua kulit buah kakao ini diukur dengan spektrofotometer menggunakan metode DPPH. Penggunaan metode DPPH karena metode ini merupakan yang sederhana, mudah, dan menggunakan

jumlah sampel yang sedikit, serta waktu pengukuran yang singkat.

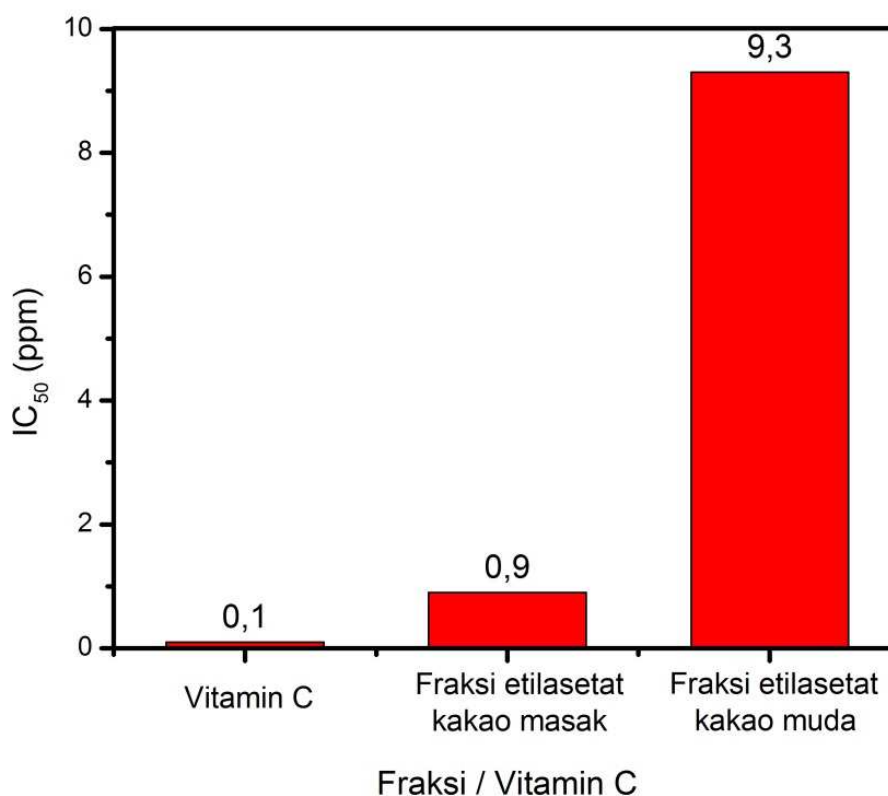
Kemampuan penangkapan radikal DPPH oleh suatu antioksidan dinyatakan dengan nilai persen penangkapan radikal. Nilai yang semakin tinggi menunjukkan bahwa sampel senyawa yang digunakan memang berpotensi sebagai antioksidan (Ridwana, 2008). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penambahan larutan DPPH pada sampel ditandai dengan berubahnya warna ungu menjadi warna kuning yang berarti adanya proses penangkapan radikal bebas.

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Penghambatan 50% tersebut diperoleh dari kurva antara persen inhibisi terhadap konsentrasi sampel dari persamaan regresi linear. Nilai IC_{50} kulit buah kakao yang masak untuk ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi *n*-butanol berturut-turut adalah sebesar 44,4 ppm, 126,2 ppm, 0,9 ppm, dan 31,0 ppm. Sedangkan Nilai IC_{50} kulit buah kakao yang muda untuk ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi *n*-butanol berturut-turut adalah sebesar 46,7 ppm, 209,8 ppm, 9,3 ppm, dan 46,4 ppm. Nilai IC_{50} dari kulit buah kakao masak lebih rendah dari nilai IC_{50} kulit buah kakao muda. Hal ini disebabkan karena kandungan metabolit sekunder pada kulit buah kakao masak lebih banyak dibandingkan dengan kulit buah kakao muda. Semakin tinggi konsentrasi sampel, maka semakin tinggi persentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas

yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Berdasarkan nilai IC_{50} menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat baik untuk kulit buah kakao masak maupun kulit buah kakao muda, lebih baik dibandingkan nilai IC_{50} ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, dan fraksi *n*-butanol pada semua konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan senyawa aktif pada fraksi etil asetat ekstrak kulit buah kakao masak dan kulit buah kakao muda mempunyai kemampuan mendonorkan elektron atau hidrogen lebih banyak dibandingkan senyawa aktif pada ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, dan fraksi *n*-butanol. Kekuatan antioksidan ekstrak uji dari yang tertinggi hingga terendah berturut-turut adalah: fraksi etil asetat kulit buah kakao masak, fraksi etil asetat kulit buah kakao muda, fraksi *n*-butanol kulit buah kakao masak, ekstrak metanol kulit buah kakao masak, fraksi *n*-butanol kulit buah kakao muda, ekstrak metanol kulit buah kakao muda, fraksi *n*-heksan kulit buah kakao masak, dan fraksi *n*-heksan kulit buah kakao muda. Hal ini diduga disebabkan karena kandungan senyawa polifenol dan flavanoid yang terdapat pada fraksi etil asetat yang mampu berperan sebagai senyawa antioksidan.

Hasil yang diperoleh memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya (Sartini, dkk., 2012), dimana aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak aseton kulit buah kakao segar sebesar 0,008 mg/mL. Perbedaan hasil ini diduga disebabkan karena perbedaan sampel yang digunakan yang dipengaruhi oleh lokasi atau tempat tumbuh sampel, serta penggunaan pelarut dalam ekstraksi yang dilakukan.



Gambar 1. Nilai IC₅₀ Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Kakao Masak dan Kulit Buah Kakao Muda, serta Vitamin C. nilai IC₅₀ yang semakin kecil berarti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Berdasarkan Gambar 1., Nilai IC₅₀ dari Fraksi etil asetat kulit buah kakao masak 0,9 ppm dan kulit buah kakao muda 9,3 ppm tersebut masih jauh lebih rendah dibanding nilai IC₅₀ vitamin C sebagai kontrol positif yaitu 0,1 ppm. Ini berarti vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik untuk menghambat 50 % radikal bebas dibandingkan ekstrak dan fraksi kulit buah kakao. Aktivitas antioksidan Vitamin C yang baik ini dikarenakan vitamin C yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini merupakan senyawa murni hasil isolasi sedangkan ekstrak dan fraksi masih dalam bentuk campuran senyawa yang dikelompokkan berdasarkan tingkat kepolaran dan kelarutannya pada pelarut yang digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kekuatan antioksidan ekstrak/ fraksi kulit buah kakao dari yang tertinggi hingga terendah berturut-turut adalah: fraksi etil asetat, fraksi *n*-butanol, ekstrak methanol, dan fraksi *n*-heksan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Pak Jusman yang telah menyediakan Sampel buah kakao untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Byung, Y.C., Kenji, I., and Kang-Wan, H., 2003. Compositional Characterization of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Hull. 113-8657. 561-756.
2. Erna, R.M., 1998. *Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.)*. Skripsi: Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
3. Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology Songklanakarin*. **26**. (2). 211-219.
4. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2004. Panduan Lengkap Budidaya Kakao. *PT. Agromedia Pustaka*. Jakarta.
5. Ridwana, G., 2008. Perbandingan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Minyak Atsiri Lempuyang Gajah. Skripsi. *FMIPA IPB*. Bogor.
6. Sartini, Djide, M. N., Alam, G., 2012. Ekstraksi Komponen Bioaktif dari Limbah Kulit Buah Kakao dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba.
7. Winarsi, H., 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan. *Kanisius*. Yogyakarta.