

Analisis Golongan Senyawa Kimia dan Uji Potensi Antioksidan dari Ekstrak Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) Hasil Ekstraksi Maserasi

Mauizatul Hasanah

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang
Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan
e-mail : mauizatulhasanah@gmail.com

ABSTRAK

Analisis golongan senyawa kimia dan uji potensi antioksidan dari ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) bisa memberikan pengetahuan tambahan sebagai referensi peningkatan pemanfaatan terhadap daun tanaman cokelat di Indonesia. Sampel daun cokelat dipersiapkan dengan dirajang, ditimbang 500 g, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman) menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi didapatkan ekstrak kental, dengan % rendemen 10,74 (%b/b). Ekstrak dianalisis golongan senyawa kimia, dan golongan senyawa kimia yang terdeteksi terdapat pada ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) adalah golongan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid dan saponin. Potensi antioksidan diuji dengan metode penghambatan radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) terhadap berbagai konsentrasi ekstrak (20, 40, 60, 80 dan 100 µg/ml), dengan pembanding vitamin C, menggunakan instrument Spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji potensi antioksidan ekstrak daun cokelat, diperoleh nilai % inhibisi untuk masing – masing konsentrasi ekstrak, yang ketika dibuat grafik dan dihitung nilai IC₅₀-nya, diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak kental daun cokelat sebesar 42,11 µg/ml.

Kata kunci: antioksidan, ekstrak daun cokelat, *Theobroma cacao* L.

PENDAHULUAN

Acne vulgaris yang dikenal awam dengan Reaksi oksidasi dapat memicu terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif dan memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Reaktivitas pada radikal bebas ditandai dengan sangat agressifnya radikal bebas dalam menarik elektron di sekitarnya, hingga bisa membentuk radikal baru, seterusnya menjadi suatu reaksi berantai. Radikal bebas dapat diredam aktivitasnya dengan menggunakan antioksidan (Winarsi, 2007).

Antioksidan meredam radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen ke radikal hidroksil sehingga terbentuk molekul air. Antioksidan alami berasal dari berbagai bahan makanan, dalam bentuk Vitamin E dan Vitamin C, antioksidan juga ada yang dihasilkan di dalam tubuh, seperti enzim antioksidan yang dikenal sebagai enzim distumase superoksida (SOD) (Youngson, 2003).

Tanaman memiliki potensi dimanfaatkan sebagai antioksidan, salah satu tanaman asal Indonesia yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah tanaman kakao. Biji Kakao mengandung senyawa fenolik, antara lain, katekin, epikatekin, proantosianidin, asam fenolat, tanin, dan flavonoid. Kakao memiliki kandungan polifenol golongan flavonoid terutama katekin dan epikatekin yang berperan sebagai antioksidan (Osakabe dkk, 1998).

Daun kakao mengandung senyawa bioaktif berupa senyawa fenolat dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Hasil penelitian Osman dkk, (2004) menyatakan bahwa daun kakao mengandung polifenol dengan jumlah dari masing-masing jenis senyawa polifenol yang dipengaruhi oleh umur daun. Daun muda mengandung total polifenol 19,0% sedangkan daun tua mengandung total polifenol 28,4%.

METODE PENELITIAN

Alat

Maserator, Alat Destilasi, *rotary evaporator*, corong pisah, pipet mikron 0,2 ml (Socorex), vial, alat-alat gelas kuantitatif, Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu -1700).

Bahan

Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.), pereaksi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sygma Aldrich), etanol *absolute* (Merck), aquadest, metanol (Merck), aluminium foil, kapas, kertas saring, kloroform, kloroform amoniak, asam sulfat 2N, pereaksi mayer, logam Mg, HCl pekat, FeCl₃, CHCl₃, norit, asam asetat anhidrat 10%, H₂SO₄ pekat, dan pasir bersih.

Sampel

Sampel berupa daun cokelat (*Theobroma cacao* L.), yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Talang Ratu, Palembang, Sumatera Selatan. Karakteristik fisik sampel yang diambil adalah daun cokelat yang berwarna hijau tua. Herbarium tanaman dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Unand, Padang, Sumatera Barat.

PROSEDUR

Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Sampel segar daun cokelat (*Theobroma cacao* L), 500 g yang telah di preparasi sebelumnya kemudian dirajang, dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan pelarut etanol 70%, di maserasi selama 5 hari, dengan pengulangan sebanyak 3 kali, hingga diperoleh maserat.

Penguapan Pelarut dan Pemekatan Ekstrak

Maserat diuapkan pelarutnya dengan destilasi vakum diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair dipekatkan, digunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun cokelat (*Theobroma cacao* L.).

Penghitungan Perolehan Ekstrak (Rendemen)

Perolehan ekstrak atau rendemen ekstrak dihitung sesuai dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat total ekstrak}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\%$$

Analisis Golongan Senyawa Kimia terhadap Ekstrak Kental

1. *Golongan senyawa Alkaloid*

Dilakukan dengan metode Culvenor dan Fitzgerald (1963). Sampel ekstrak ditambahkan kloroform, digerus, ditambahkan kloroform amoniak 0,05 N, disaring diperoleh filtrat. Filtrat ditambahkan dengan H₂SO₄ 2 N, hingga terbentuk dua lapisan. Salah satu lapisan ditetesi dengan pereaksi Mayer. Hasil pengamatan positif jika terbentuk kabut putih.

2. *Golongan senyawa Flavonoid*

Dilakukan dengan metode Simes, dkk (1959). Ekstrak direaksikan dengan asam klorida pekat dan serbuk Mg. Hasil pengamatan berupa perubahan warna setelah reaksi.

3. *Golongan senyawa Terpenoid, Steroid, Saponin, dan Fenol*

Dilakukan dengan metode Simes, dkk (1959). Dilakukan dengan terlebih dahulu dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak dengan dilarutkan di dalam etanol, kemudian difraksinasi dengan kloroform : air suling (1 : 1), hingga terbentuk lapisan kloroform dan lapisan air. Analisis golongan senyawa Saponin dilakukan terhadap lapisan air dengan dilakukan pengocokan pada tabung reaksi hingga terbentuk busa. Analisis golongan senyawa Fenolik dilakukan dengan penambahan FeCl₃ pada lapisan air, dengan pengamatan terjadi perubahan warna menjadi biru atau hitam. Analisis golongan Senyawa terpenoid dan steroid dilakukan terhadap lapisan kloroform dengan pereaksi *Liebermann-Bouchard*, dengan pengamatan terjadi perubahan

warna merah untuk terpenoid dan warna biru-hijau untuk steroid.

Uji Potensi Antioksidan

Uji potensi antioksidan menggunakan metode dengan penghambatan radikal bebas DPPH (Molyneux, 2003). Uji potensi antioksidan dilakukan terhadap ekstrak daun cokelat berbagai konsentrasi larutan uji, yaitu konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/ml. Potensi antioksidan ekstrak daun cokelat dibandingkan dengan potensi antioksidan Vitamin C yang dibuat dengan konsentrasi larutan uji Vitamin C yaitu 5, 10, 15, 20 dan 25 µg/ml.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{DPPH sebelum reaksi}} - A_{\text{DPPH setelah reaksi}}}{A_{\text{DPPH sebelum reaksi}}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Nilai persentase inhibisi diplot terhadap konsentrasi sampel, diperoleh kurva garis lurus, kemudian digunakan untuk memperoleh nilai IC₅₀, dari nilai konsentrasi pada saat %inhibisi mencapai nilai 50 pada kurva (Blois, 1958).

Analisis Data

Data terdiri dari data hasil pengamatan analisis golongan senyawa kimia dan data potensi antioksidan ekstrak daun cokelat. Hasil pengamatan analisis golongan senyawa kimia berupa gambar uji identifikasi dengan keterangan positif terdeteksi golongan senyawa kimia tertentu. Data persentase inhibisi terhadap konsentrasi dibuat kurva, dihitung nilai IC₅₀ sebagai ukuran intensitas potensi antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi sampel bahan alam dilakukan dengan berbagai metode ekstraksi, salah satunya adalah proses ekstraksi dengan metode maserasi. Ekstrak sampel segar daun cokelat dengan pelarut etanol 70%, dengan sampel sebanyak 500 g sampel daun cokelat segar, menghasilkan ekstrak kental 53,74 gram, dengan hitungan hasil % rendemen

Larutan uji ekstrak daun cokelat dan larutan uji Vitamin C berbagai konsentrasi direaksikan sebanyak masing-masing 0,2 mL dengan larutan pereaksi DPPH 0,05 mM sebanyak 3,8 mL, dengan pengamatan absorbansi DPPH sebelum dan setelah reaksi dilakukan pada Spektrofotometri UV-Vis, pada panjang gelombang maksimum DPPH, yaitu 516,2 nm.

Potensi antioksidan sampel ditentukan dengan dihitung besarnya hambatan serapan (A) radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan persamaan berikut (1):

diperoleh 10,74 % b/b. Hasil pengamatan terhadap organoleptis ekstrak, diketahui ekstrak berwarna hijau pekat.

Hasil analisis terhadap golongan senyawa kimia ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) dengan pereaksi kimia menunjukkan bahwa pada tanaman positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, dan saponin, dengan hasil pengamatan sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 1.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian formulasi krim clindamycin dan uji daya hambat terhadap *Propionibacterium acne* yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Clindamycin dapat diformulasi menjadi sediaan krim dan yang memenuhi stabilitas mutu fisik krim adalah F II. Krim Clindamycin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acne* penyebab terjadinya jerawat. Clindamycin yang diformulasi dalam bentuk krim digunakan untuk obat anti jerawat. Krim dengan konsentrasi 1,2 % menunjukkan efek anti jerawat lebih besar daripada pembanding Medi-klin dengan konsentrasi 1,2 % setelah pengujian terhadap bakteri *Propionibacterium acne* dengan metode sumuran.

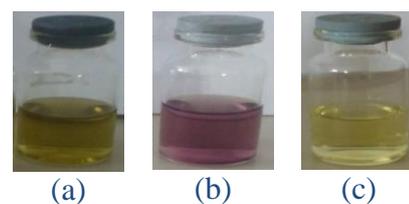
Tabel 1. Hasil pengamatan analisis golongan senyawa kimia ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Golongan Senyawa Kimia	Hasil Analisis*	Hasil dan Gambar Pengamatan
Alkaloid	(+)	 kabut/endapan putih
Flavonoid	(+)	 Warna merah/oranye
Fenolik	(+)	 Warna biru/biru kehitaman
Saponin	(+)	 Terbentuk busa
Terpenoid	(-)	-
Steroid	(-)	-

* (+) = terdeteksi atau (-) = tidak terdeteksi

Potensi antioksidan suatu sampel dapat diketahui dengan berbagai metode uji, salah satu metode uji potensi antioksidan adalah dengan menganalisis penghambatan radikal bebas oleh antioksidan, pereaksi yang digunakan sebagai radikal bebas adalah larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Reaksi penghambatan DPPH diamati dengan mengukur absorbansi DPPH pada instrument Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 516,2 nm. Pengamatan absorbansi DPPH dilakukan sebelum dan setelah direaksikan dengan sampel berpotensi antioksidan, selama waktu reaksi 30 menit. Potensi antioksidan secara kualitatif juga bisa diamati dengan pengamatan warna larutan DPPH sebelum dan setelah reaksi dengan sampel larutan ekstrak daun cokelat yang berpotensi antioksidan, pada penelitian ini, pengamatan warna menunjukkan penurunan intensitas

warna ungu DPPH menjadi kekuningan (Molyneux, 2003), seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengamatan identifikasi potensi antioksidan

Keterangan:

- (a) larutan ekstrak sampel uji ekstrak daun cokelat
- (b) larutan DPPH 0,05 mM
- (c) larutan hasil reaksi ekstrak sampel uji dengan larutan DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan dari ekstrak kental daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) ini pada beberapa konsentrasi yaitu 100, 80, 60, 40 dan 20 µg/ml, diperoleh % inhibisi berturut-turut adalah 91,43%,

79,17%, 63,08%, 48,71%, dan 33,31%. Selanjutnya dari perhitungan persen inhibisi ekstrak kental, diplot kurva kalibrasi untuk menentukan nilai IC_{50} dari ekstrak kental.

IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan proses oksidasi sebesar 50% suatu konsentrasi sampel, nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Penentuan nilai IC_{50} dilakukan dengan memasukkan nilai hasil perhitungan ke dalam persamaan linier, konsentrasi (X) ($\mu\text{g/ml}$) sebagai absis dan nilai persentase inhibisi sebagai (Y) ordinat, nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50, dengan persamaan $Y = aX + b$. Nilai IC_{50} ekstrak daun cokelat terhadap ekstrak kental diperoleh sebesar 42,11 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan IC_{50} diperoleh sebesar 25,07 $\mu\text{g/ml}$.

Aktivitas antioksidan pada ekstrak daun cokelat, salah satunya dipengaruhi oleh adanya senyawa flavonoid dan fenolik. Senyawa flavonoid dan fenolik, merupakan golongan polifenol yang diketahui bersifat sebagai antioksidan dikarenakan gugus hidroksil yang terikat pada struktur, (Majewska dkk, 2011).

SIMPULAN

Ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) mengandung golongan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin. Ekstrak daun cokelat juga memiliki potensi sebagai antioksidan, dengan intensitas potensinya sebagai antioksidan (IC_{50}) sebesar 42,11 $\mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Blois, MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*.
- Culvenor, C.C.J. dan J.S. Fitzgerald. 1963. A field method for alkaloid screening of plant. *Journal Pharmacy Science*.
- Majewska, M. Skrzycki, M. Podsiad, M. And Czczot, H. 2011. Evaluation of antioxidant potential of flavonoids an in vitro study. *Acta poloniae pharmaceutica – drug research*, (68), (4).
- Molyneux. 2003. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal. Science Technology*. 26: 211-219.
- Osakabe, N, C.Sanbongi, M. Natsume, T.Takaziwa, S.Gomi, and T.Osawa, 1998. Antioxidative polyphenols isolated from theobroma cacao. *Journal Agriculture Food Chemistry*.
- Osman, H., Nassarudin, R. dan Lee, S.L 2004. Extracts of cacao (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidant potential.
- Simes, J.J.H., Tracey, J.G. Webb, I.G. and Dunstan, W.J. 1959. *An australia phytochemical survey saponins and esters australian flowering plant*. Australia : Commonwealth Scintific and Industrial Research Organization.
- Winarsi, Hery. 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas: potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Youngson, Robert. 2003. Antioksidan: manfaat Vitamin C dan E bagi kesehatan. Jakarta: Penerbit Arcan.

