

## PENETAPAN KADAR FLAVONOID METODE $AlCl_3$ PADA EKSTRAK METANOL KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao L.*)

**Dyah Nur Azizah, Endang Kumolowati, Fahrauk Faramayuda**

Kelompok Keahlian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani  
Jl. Terusan Jenderal Sudirman PO BOX 148 Cimahi  
dna.dyahnurazizah99@gmail.com

### ABSTRAK

Kakao (*Theobroma cacao L.*) merupakan salah satu komoditas unggulan di Indonesia. Selama ini kulit buah kakao hanya merupakan limbah yang kurang dimanfaatkan. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao memiliki senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan tanin. Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa yang terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan, antikanker, dan antidepresan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi  $AlCl_3$  dari ekstrak metanol kulit buah kakao. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, polifenol, tanin, saponin, kuinon, monoterpenoid, dan seskuipterpenoid. Kadar flavonoid yang ditunjukkan dengan menggunakan metode  $AlCl_3$  adalah sebesar  $0,2371 \pm 0,0004$  %. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao memiliki kadar flavonoid sebesar  $0,2371 \pm 0,0004$  %.

**Kata kunci** : *Theobroma cacao L.*, flavonoid,  $AlCl_3$ .

### ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao L.*) is one of the leading commodity in Indonesia. During this time only the rind cocoa waste underutilized. Previous research states that the methanol extract of cocoa fruit rind has a secondary metabolites such as flavonoids and tannins. Flavonoids are a class of compounds that are proven to be used as an antioxidant, anticancer, and antidepressant. The purpose of this study was to determine the levels of flavonoids with colorimetric method using reagents  $AlCl_3$  of methanol extract of cocoa fruit. The results showed that the methanol extract of cocoa fruit rind has a secondary metabolites are alkaloids, polyphenols, tannins, saponins, quinones, monoterpenoid, and sesquiterpenoids. Level of flavonoids are indicated by using  $AlCl_3$  is equal to  $0.2371 \pm 0.0004$  %. From this study it can be concluded that the methanol extract of the fruit rind cocoa flavonoids levels of  $0.2371 \pm 0.0004$ %.

**Key word** : *Theobroma cacao L.*, flavonoid,  $AlCl_3$ .

### PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao L.*) merupakan salah satu komoditas unggulan di Indonesia. Kulit buah kakao merupakan limbah utama dari pengolahan biji kakao yaitu mencapai 70% dari keseluruhan buah, mengandung air sekitar 85%, serat kasar 27%, dan protein 8%, ada juga yang menyebutkan bahwa setiap ton biji kakao kering menghasilkan hasil ikutan 10 ton kulit buah kakao segar (Purnama, 2004). Selain buahnya yang

memiliki manfaat sebagai antidepresan, antikanker dan antioksidan, kulit buah kakao juga memiliki manfaat sebagai antioksidan karena mengandung theobromin sekitar 0,4% b/b dan kalium 3-4% b/b dalam bahan kering, campuran dari flavonoid yang terpolimerasi atau terkondensasi meliputi antosianidin, katekin, leukoantosianidin yang kadang berikatan dengan glukosa, monosakarida dan polisakarida yang meliputi pektin, gom, dan selulosa (Listyannisa, 2012).

Penelitian sebelumnya, diketahui bahwa telah dilakukan isolasi terhadap senyawa flavonoid dari kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antioksidan. Dengan demikian dapat ditentukan kadar flavonoid yang terkandung dalam kulit buah kakao tersebut (Listyannisa, 2012). Flavonoid merupakan salah satu senyawa antioksidan golongan fenolik alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan, sehingga dapat dipastikan terdapat flavonoid pada setiap telaah ekstrak tumbuhan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid pada kulit buah kakao. Metode penetapan kadar flavonoid yang digunakan adalah metode kolorimetri menggunakan pereaksi  $AlCl_3$ .

## METODE PENELITIAN

**Alat Penelitian.** Timbangan analitik (Sartorius BL 210S), mikroskop, kaca objek dan kaca penutup, krus silika, kompor pengarang (Akebono), tanur (Thermolyne), perangkat alat gelas, mortir dan stamper, *rotary evaporator* (Dragon LAB RE-10 Pro), penangas air (JEIO TECH BW-20E), alat destilasi, oven (Memmert), desikator, alat soxhlet, mikropipet, rak tabung reaksi kecil, sentrifugator, Spektrofotometri Uv-Vis (Shimadzu Uv-1700 Pharmaspec), inkubator, dan *stopwatch*. Perlengkapan perlindungan diri (sarung tangan steril, masker, jas lab).

**Bahan Uji.** Kulit buah kakao yang diperoleh dari perkebunan rakyat di Desa Rajamandala. Cipatat, Jawa Barat.

**Bahan Kimia.** Toluena, etanol, akuades, kertas saring, quersetin, metanol pro analisis, etanol pro analisis (Merk), aluminium klorida ( $AlCl_3$ ), kalium asetat ( $CH_3COOK$ ), kalium hidroksida (KOH), asam klorida (HCl), spirtus, kloralhidrat, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, ammonium hidroksida ( $NH_4OH$ ) encer, kloroform, serbuk Magnesium, amil alkohol, pereaksi besi (III) klorida, natrium sulfat ( $Na_2SO_4$ ), larutan gelatin 1%, eter, pereaksi vanillin-asam sulfat 10%, pereaksi Lieberman-Bouchard, kertas saring, kertas saring bebas abu, dan aluminium foil.

**Penyiapan Simplisia.** Buah kakao yang sudah masak dipanen yang ditandai dengan

mulai menguningnya buah saat dipetik. Sebelum dilakukan pengolahan, buah dideterminasi terlebih dahulu di Herbarium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB. Buah dicuci, lalu dibiarkan dahulu selama 5 hari untuk memudahkan pelepasan biji dari kulit buahnya. Kulit buah kakao kemudian dirajang, dikeringkan dengan cara diangin-angin selama satu minggu. Simplisia kemudian digiling dan disimpan dalam wadah plastik yang bersih dan diberi silika.

**Karakteristik Simplisia.** Dilakukan pemeriksaan karakteristik simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik simplisia, kadar sari, kadar abu dan kadar air dari simplisia.

**Penapisan Fitokimia.** Penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak meliputi pemeriksaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin dan polifenol, saponin, steroid dan triterpenoid, serta monoterpenoid dan seskuiterpenoid.

**Ekstraksi.** Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan alat soxhlet dengan melarutkan 300 g simplisia dengan 1,2 L – 1,5 L pelarut metanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan penguap hampa putar (*rotavapor*) sampai diperoleh ekstrak pekat lalu diuapkan diatas penangas air sehingga menjadi ekstrak kental.

## Penetapan Kadar Flavonoid Metode Kolorimetri – $AlCl_3$ .

### 1. Pembuatan Kurva Standar Quersetin

Quersetin ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml, kemudian ditambahkan etanol 80% sampai 25 ml (larutan induk 1000  $\mu g/ml$ ). Kemudian dibuat serangkaian larutan standar 20  $\mu g/ml$ , 40  $\mu g/ml$ , 60  $\mu g/ml$ , 80  $\mu g/ml$  dan 100  $\mu g/ml$ . Dipipet masing-masing sejumlah 0,5 ml dari larutan standar ditambah dengan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M dan ditambahkan akuades 2,8 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C. Serapannya diukur pada  $\lambda$  434,2 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan

menghubungkan nilai serapan sebagai koordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (X).

## 2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Metanol

Ekstrak metanol kulit buah kakao diambil 5,0 g kemudian ditambah 25 ml metanol. Kemudian diaduk selama 24 jam menggunakan alat pengaduk pada kecepatan 200 rpm, kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh ditambah metanol sampai 25 ml.

## 3. Penentuan Kadar Flavonoid

Larutan blanko dibuat dengan mengganti larutan standar dengan etanol 0,5 ml. Ditambah dengan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M dan ditambahkan akuades 2,8 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C. Setiap pengukuran serapan dibandingkan terhadap blanko.

Larutan uji berisi 1,0 ml ekstrak metanol dipipet, kemudian ditambah etanol sampai 10 ml dalam labu ukur. Sejumlah 0,5 ml larutan kemudian ditambah dengan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M dan ditambahkan akuades 2,8 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C. Serapannya diukur pada  $\lambda$  434,2 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Pengujian dilakukan secara triplo. Kadar flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus :

$$F = \frac{c \times V \times f \times 10^{-6}}{m} \times 100\%$$

Keterangan :

F : jumlah flavonoid metode  $AlCl_3$

c : kesetaraan Quersetin ( $\mu\text{m/ml}$ )

V : volume total ekstrak

f : faktor pengenceran

m : berat sampel (g)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

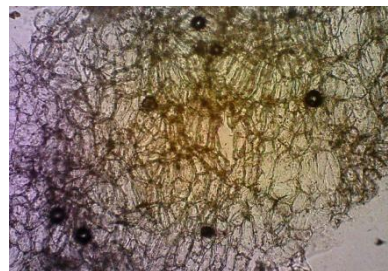
**Karakteristik Simplisia.** Pemeriksaan karakteristik simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penetapan kadar abu, kadar sari dan kadar air dari

simplisia. Pemeriksaan makroskopik merupakan pemeriksaan organoleptik (Tabel 1).

Tabel 1. Pemeriksaan Makroskopik Kulit Buah dan Simplisia Kakao

Jenis Pemeriksaan	Keterangan
Warna	Kulit Buah : kuning kecoklatan Simplisia : coklat kehitaman
Bau	Bau khas
Rasa	Pahit
Ukuran Buah	Panjang : $\pm 18$ cm Lebar : $\pm 9$ cm

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan bantuan mikroskop *binocular* menggunakan pelarut kloralhidrat dengan perbesaran 100 kali. Hasil pemeriksaan mikroskopik pada kulit buah kakao segar menunjukkan bagian epikarp yang terdiri dari sel-sel batu (Gambar 1). Sedangkan hasil pemeriksaan mikroskopik pada serbuk simplisia kulit buah kakao menunjukkan fragmen pengenal lainnya yaitu rambut penutup (Gambar 2).



Gambar 1. Kumpulan sel batu



Gambar 2. Rambut penutup

Karakteristik simplisia yang meliputi penetapan kadar abu, kadar sari dan kadar air dilakukan untuk mengetahui kualitas simplisia sehingga kriteria umum kualitas simplisia yang digunakan untuk penelitian ini dapat terpenuhi (Tabel 2). Berdasarkan hasil penetapan kadar abu, kadar abu larut air lebih besar dibanding kadar abu tak larut asam. Kadar abu larut air menunjukkan adanya abu

fisiologis seperti alkali dan alkali tanah seperti magnesium, natrium dan kalsium dalam bentuk trioksida yang terdapat dalam simplisia. Sedangkan kadar abu tak larut asam menunjukkan banyaknya abu non fisiologis seperti silika, tanah dan pasir dalam simplisia. Berdasarkan hasil penetapan kadar sari diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia lebih banyak tersari ke dalam pelarut air dibandingkan dengan pelarut etanol. Seangkan berdasarkan hasil penetapan kadar air diketahui bahwa simplisia memenuhi persyaratan kadar air dibawah 10% (Depkes RI, 1985).

Tabel 2. Karakterisasi Simplisia

Jenis Karakterisasi	Keterangan
Penetapan Kadar Abu :	
Kadar Abu Total	7,4109±0,1030% v/b
Kadar Abu Larut Air	4,8542±0,1177% b/b
Kadar Abu Tak Larut Asam	0,454 ±0,0420 % b/b
Penetapan Kadar Sari :	
Kadar Sari Larut Air	22,6917±0,3883% b/b
Kadar Sari Larut Etanol	5,206 ±0,2649% b/b
Penetapan Kadar Air	5,2068±0,2649% v/b

**Penapisan Fitokimia.** Hasil penapisan fitokimia dari simplisia menunjukkan hasil yang sama dengan ekstrak metanol kulit buah kakao. Keduanya mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tannin, polifenol, saponin, monoterpenoid dan seskuiterpenoid juga senyawa kuinon (Tabel 3).

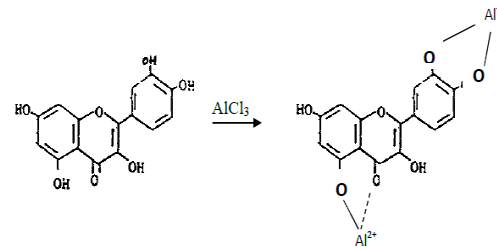
Tabel 3. Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak Metanol
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Polifenol	+	+
Saponin	+	+
Kuinon	+	+
Steroid dan Triterpenoid	-	-
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	+	+

**Penetapan Kadar Flavonoid Metode Kolorimetri – AlCl<sub>3</sub>.** Prinsip penetapan kadar flavonoid metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks

antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol.

Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah quersetin, karena quersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga.



Gambar 3. Pembentukan senyawa kompleks quersetin-aluminium klorida

Pengukuran serapan panjang gelombang maksimum dilakukan pada rentang sekitar 400-800 nm. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan adalah 434,5 nm pada konsentrasi 60 µg/ml, panjang gelombang maksimum tersebut kemudian digunakan untuk mengukur serapan kurva kalibrasi dan sampel ekstrak metanol kulit buah kakao. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier yaitu  $y = 0,0056x + 0,0068$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9993. Nilai  $r$  yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan quersetin dengan nilai serapan.

Pada penetapan kadar flavonoid, penambahan kalium asetat adalah untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil sedangkan perlakuan inkubasi selama 30 menit yang dilakukan sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Penetapan kadar flavonoid dari ekstrak metanol kulit buah kakao dilakukan secara troplo dan didapatkan adalah sebesar 0,2371±0,0004 % (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil pengukuran kadar flavonoid metode  $AlCl_3$ 

Serapan	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Kadar Flavonoid
0.2749	47.8750	0.2368
0.2756	48.0000	0.2374
0.2753	47.9464	0.2372
Rerata Kadar Flavonoid		0.2371
SD		0.0004
% SD		0.1276

## KESIMPULAN

Karakteristik dari simplisia kulit buah kakao, yaitu kadar abu total sebesar  $7,4109 \pm 0,1030$  % b/b, kadar sari laurt air sebesar  $22,6917 \pm 0,3883$  % b/b, kadar sari larut etanol sebesar  $5,2068 \pm 0,2649$  % b/b dan kadar air sebesar  $5,2068 \pm 0,2649$  % v/b.

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak metanol kulit buah kakao mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin katekat, tanin galat, saponin, kuinon, monoterpenoid, dan seskuioterpenoid.

Kadar flavonoid golongan flavon dan flavonol pada ekstrak metanol kulit buah kakao yang ditunjukkan dengan metode aluminium klorida adalah sebesar  $0,2371 \pm 0,0004$  %.

## DAFTAR PUSTAKA

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., dan Chernn J.C., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*. 178-182.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978, *Materia Medika Indonesia Jilid IV*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. 327.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. 10-11.

Listyannisa, A., 2012, Isolasi Senyawa Antioksidan dari Kulit Buah Coklat (*Theobroma cacao L.*), Skripsi, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi.

Purnama, I.N., 2004, Kajian Potensi Isolat Kapang Pemecah Ikatan Tanin Pada Kulit Buah Kakao (*Theobromti cacao L.*), Skripsi, Program Studi Nutrisi dan Makanan Ternak, Departemmen Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H.Y., 2011, *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta. 4,26-27.

Sudiarto, Soeharto, S., Febrina, Shinta., 2010, Efek Quercetin terhadap Kadar Adipocyte-Fatty Acid Binding Protein, *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*, Malang.