

PENETAPAN KADAR FENOLIK EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Siti Nurhaida Ramadhani¹, Aktsar Roskiana Ahmad², Rezki Amriati Syarif³

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan

*Corresponding author: 15020190105@umi.ac.id

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is a plant that has been widely cultivated. The part of the cocoa pod that is often used is the seeds. Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is usually consumed in the form of food or chocolate drinks which contain phenolic compounds and have various health benefits such as protecting the body from free radicals, reducing stress and depression, heart disease, high blood pressure, fighting cancer, reducing the risk of cholesterol and heart attack. This study aims to determine the phenolic content of ethanol extract in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). Phenolic compounds in cocoa seeds are extracted using the sonication method. Phenolic content was determined using the UV-Visible spectrophotometry method with Folin-Ciocalteu reagent and absorbance was measured at a maximum wavelength of 749 nm as a comparison using gallic acid. The results showed that the percent yield value of the viscous ethanol extract was 7.60% and the average phenolic content of the ethanol extract of cocoa seeds was 4.866 mgGAE/g extract. Based on the results of the research that has been done, it can be concluded that cocoa seeds contain total phenolic content which can be determined by the spectrophotometric method.

Keywords : Cocoa seed (*Theobroma cacao* L.); Phenolic; Ethanol Extract; UV-Vis Spectrophotometry

ABSTRAK

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu tanaman yang telah banyak dibudidayakan. Bagian buah kakao yang sering dimanfaatkan yaitu berupa bijinya. Kakao (*Theobroma cacao* L.) biasanya dikonsumsi dalam bentuk makanan ataupun minuman coklat yang mengandung senyawa fenolik serta memiliki berbagai manfaat kesehatan seperti melindungi tubuh dari radikal bebas, mengurangi stres dan depresi, penyakit jantung, tekanan darah tinggi, melawan kanker, menurunkan risiko kolesterol dan serangan jantung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik ekstrak etanol pada biji kakao (*Theobroma cacao* L.). Senyawa fenolik dalam biji kakao diekstraksi menggunakan metode sonikasi. Kadar fenolik ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dan absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 749 nm sebagai pembanding digunakan asam galat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai persen rendemen ekstrak kental etanol sebesar 7,60% dan rata-rata kadar fenolik ekstrak etanol biji kakao adalah 4,866 mgGAE/g ekstrak. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa biji kakao mengandung kadar fenolik total yang dapat ditentukan dengan metode spektrofotometri.

Kata Kunci : Biji kakao (*Theobroma cacao* L.); Fenolik; Ekstrak Etanol; Spektrofotometer UV-Vis

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu tanaman yang telah banyak dibudidayakan. Bagian buah kakao yang sering dimanfaatkan yaitu berupa bijinya. Ketertarikan pada komponen bioaktif yang ada dalam biji kakao telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir karena efeknya yang menguntungkan bagi kesehatan manusia. Kakao (*Theobroma cacao* L.) biasanya dikonsumsi dalam bentuk makanan ataupun minuman cokelat yang mengandung senyawa fenolik serta memiliki berbagai manfaat kesehatan seperti melindungi tubuh dari radikal bebas, mengurangi stres dan depresi, penyakit jantung, tekanan darah tinggi, melawan kanker, menurunkan risiko kolesterol dan serangan jantung [1].

Senyawa fenolik termasuk kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tanaman. Senyawa fenolik mempunyai satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol yaitu gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi yaitu dengan menyumbangkan atom hidrogen di radikal bebas. Senyawa fenolik alami biasanya berupa polifenol yang membentuk senyawa eter, ester atau glikosida yaitu flavonoid, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, turunan asam sinamat serta asam organik polifungsional [2].

Biji kakao (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa aktif yang cukup tinggi sebagai antioksidan diantaranya seperti katekin, leukosianidin, dan antosianin [3]. Biji kakao juga mengandung senyawa polifenol cukup besar [4]. Senyawa polifenol merupakan salah satu senyawa yang mampu menyumbangkan atom hidroksilnya kepada radikal bebas. Adapun ciri-ciri senyawa polifenol yaitu memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH). Senyawa polifenol sebagian besar cenderung bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil [5].

Berdasarkan hasil penelitian [3] biji kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain senyawa golongan fenolik, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, dan alkaloid. Salah satu senyawa tersebut yang dapat berpotensi sebagai antioksidan yaitu fenolik. Pada penelitian lainnya yang telah mengukur nilai IC_{50} dari biji kakao didapatkan aktivitas antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas yaitu sebesar $74,31 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$ [6].

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan sonikasi. Metode ekstraksi dengan sonikasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode maserasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi sonikasi adalah kecepatan ekstraksinya, dibandingkan dengan ekstraksi secara konvensional. Metode ekstraksi dengan sonikasi ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar [7].

Berdasarkan informasi tersebut dan mengingat pentingnya fungsi senyawa fenolik maka melalui penelitian ini akan diketahui kadar fenolik yang terdapat dalam ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Dengan demikian pemanfaatan tanaman kakao dapat lebih maksimal untuk dijadikan sebagai alternatif pengobatan herbal dalam penyembuhan berbagai macam penyakit.

METODE PENELITIAN

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini yaitu tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diperoleh dari Desa Lambara Harapan, Kecamatan Burau, Kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kakao (*Theobroma cacao* L.).

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: batang pengaduk, blender, chamber KLT, corong pisah, cawan porselen, gelas beaker (pyrex®), kertas saring, kuvet, labu ukur 5 mL, lampu UV 254 nm dan 366 nm, lempeng silica gel G60 F254, mikropipet 100 mL dan 1000 mL

(dragonlab®) penjepit, pipet tetes, pipet volume (pyrex®), pompa vakum, *rotary vacuum evaporator*, sonikator, spatula, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi (pyrex®), timbangan analitik dan waterbath.

Bahan

Bahan-bahan penelitian yang digunakan, antara lain: aluminium foil, aquadest, asam galat, biji kakao, etanol 70%, etil asetat, etanol p.a, FeCl₃, kloroform, methanol, Na₂CO₃, n-heksan dan reagen *Folin-Ciocalteu*.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang digunakan berasal dari Desa Lambara Harapan, Kecamatan Burau, Kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan. Sampel diambil kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir. Buah kakao yang diambil adalah buah yang sudah masak, ditandai dengan mulai menguningnya buah pada saat dipetik kemudian dibiarkan dahulu selama kurang lebih lima hari untuk memudahkan lepasnya biji dari kulit buahnya. Setelah dipisahkan biji dari kulit dan daging buah selanjutnya dibersihkan dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang melekat pada sampel. Kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Biji kakao yang telah kering kemudian dikupas kulit bijinya lalu dihaluskan hingga diperoleh serbuk biji kakao dan ditimbang [8], [9].

Tahap Ekstraksi

Biji buah kakao yang telah dihaluskan sebanyak 200 g kemudian diekstraksi melalui proses sonikasi dengan pelarut awal n-heksan selama 30 menit kemudian disaring. Proses ini dilakukan sebanyak dua kali. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan sehingga menghasilkan ekstrak kental n-heksan yang kemudian ditimbang. Selanjutnya ampas kemudian disonikasi kembali menggunakan pelarut etanol 70% selama 30 menit. Proses ini dilakukan sebanyak dua kali agar senyawa yang terdapat didalamnya terekstrak habis. Ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan kemudian ditimbang [10].

Uji Kualitatif Fenolik

Pereaksi FeCl₃. Senyawa golongan fenolik dapat dideteksi dengan menggunakan FeCl₃ 1%. Pengujiannya yaitu sebanyak 1 gram sampel dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 mL. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃. Terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat menunjukkan adanya senyawa fenolik dalam sampel [11].

Lempeng KLT. Fase gerak yang terdiri dari pelarut kloroform : metanol : air dibuat perbandingan 6 : 3 : 1, setelah itu dimasukkan ke dalam chamber dan dibiarkan sampai jenuh. Identifikasi dengan KLT digunakan plat silica gel GF₂₅₄. Pada plat KLT ditotolkan ekstrak yang telah dilarutkan dengan etanol, kemudian dimasukkan ke dalam chamber, dielusi sampai tanda batas, diambil dan dibiarkan hingga kering. Selanjutnya dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Dilakukan deteksi dengan penampak bercak FeCl₃ akan menunjukkan warna biru kehitaman [12].

Uji Kuantitatif Kadar Fenolik

Pembuatan Reagen Na₂CO₃ 7%

Sebanyak 3,5 gram Na₂CO₃ ditimbang, kemudian di larutkan dengan aquadest steril hingga 50 mL [13].

Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam galat dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume 10 mL. Dari larutan tersebut dipipet 0,02, 0,03, 0,05,

0,06, dan 0,07 mL dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga 10 mL, sehingga dihasilkan konsentrasi 2, 3, 5, 6 dan 7 ppm [13].

Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Untuk masing-masing konsentrasi 2, 3, 5, 6 dan 7 ppm ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, tambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7% kocok hingga homogen. Tambahkan aquades steril hingga 10 mL dan diamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 749 nm, lalu buat kurva kalibrasinya, hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$) dengan absorbansi [13].

Pembuatan Larutan Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Larutan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dibuat dengan cara menimbang 10 mg kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a [13].

Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Larutan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dipipet sebanyak 1 mL, ekstrak sampel ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (campuran asam fosfomolibdat dan fosfotungstat) dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, tambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7% kocok hingga homogen. Tambahkan aquadest steril hingga 10 mL dan diamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 749 nm yang akan memberikan kompleks biru. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenolik yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/100 mg sampel segar [13].

HASIL DAN DISKUSI

Pengujian ini diawali dengan mengekstraksi biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan metode sonikasi, dikarenakan sampel biji kakao mengandung lemak yang sangat tinggi sehingga dalam proses ekstraksi digunakan terlebih dahulu pelarut n-heksan yang bersifat nonpolar sehingga diharapkan bisa menarik semua senyawa-senyawa nonpolar termasuk lemak yang ada pada sampel. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik senyawa kimia yang ada dalam sampel dimana prinsip ekstraksi berdasarkan pada perpindahan massa komponen zat yang terlarut kedalam pelarut [14]. Metode sonikasi ini memiliki kelebihan yaitu lebih efisiensi dan waktu mengekstraksi lebih singkat serta biasanya laju perpindahan massa lebih cepat [15].

Hasil persen rendemen dari ekstrak kental n-heksan dan etanol 70% (dapat dilihat pada tabel 1) diperoleh masing-masing sebanyak 15,70% dan 7,60%. Dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan diperoleh 31,41 gram ekstrak kental dan pelarut etanol 70% diperoleh 15,21 gram ekstrak kental artinya jumlah persentase senyawa tersebut yang bisa terekstraksi dari 200 gram sampel dengan pelarut sebanyak 750 mL. Tujuan dilakukannya perhitungan persen rendemen untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut, namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa [11].

Penentuan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel uji dilakukan dengan uji warna (tabung reaksi) menggunakan reagen FeCl_3 dapat dilihat pada tabel 2. Terbentuknya warna dari kuning menjadi hijau pada sampel uji menunjukkan adanya senyawa fenolik pada sampel. Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan menggunakan larutan FeCl_3 . Ion Fe^{3+} akan bereaksi dengan gugus fenolik yang berada pada sampel membentuk warna hijau, biru, atau hitam, sebagai petunjuk adanya senyawa fenolik [16]. Selanjutnya dilakukan pengujian Kromatografi Lapis Tipis atau KLT (tabel 3) yang dimana sampel uji ditotolkan pada plat KLT yang dielusikan dengan fase gerak eluen kloroform : metanol : air (6:3:1). Hasil yang didapatkan dilihat di bawah sinar UV 254 nm memperlihatkan adanya dua noda dengan nilai R_f sebesar 0,63 dan 0,78. Peredaman di bawah sinar UV 254 menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki minimal dua ikatan rangkap terkonjugasi. Plat tersebut juga diamati di bawah sinar UV 366 nm

adanya noda dengan Rf sebesar 0,8. Fluoresensi di bawah sinar UV 366 nm menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih panjang atau disebut dengan kromofor dan memiliki gugus auksokrom pada strukturnya. Kemudian visualisasi setelah disemprot dengan pereaksi FeCl₃ terdapat satu noda dengan bercak Rf 0,8 menunjukkan adanya senyawa fenolik yang ditandai dengan warna noda hijau kehitaman dengan intensitas warna yang rendah [17].

Untuk uji kuantitatif dilakukan penentuan kadar fenolik total pada ekstrak etanol biji kakao menggunakan metode *Folin Ciocalteau*. Metode ini merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total dalam tanaman dengan pertimbangan bahwa dengan teknik ini pengerjaannya lebih sederhana dan reagen *Folin Ciocalteau* digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya [11].

Sebagai larutan standar atau pembanding digunakan asam galat yang merupakan salah satu fenolik alami dan stabil. Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana. Asam galat direaksikan dengan reagen *Folin Ciocalteau* menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung fenolik, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na₂CO₃ sebagai pemberi suasana basa. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi *Folin Ciocalteau*, membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolak yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolak yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna yang dihasilkan semakin pekat [11].

Untuk menentukan kadar fenolik total pada sampel digunakan asam galat sebagai larutan standar dengan deret 2, 3, 5, 6 dan 7 ppm kemudian *running* panjang gelombang larutan standar asam galat dari range 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 749 nm (dapat dilihat pada tabel 4). Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besar panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam galat untuk mencapai serapan maksimum. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang dipakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan linear yang dapat digunakan untuk menghitung persen kadar. Pengujian analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis digunakan larutan blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblank (mengkali nol-kan) senyawa yang tidak perlu dianalisis [18].

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat diolah menggunakan *microsoft excel* untuk mendapatkan kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dan diperoleh persamaan garis linear (gambar 1). Berdasarkan gambar diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0.107x + 0.0315$ dan nilai $R^2 = 0,997$ serta nilai koefisien korelasi (r) = 0,998. Nilai koefisien korelasi (r) yang didapatkan pada penelitian ini telah memenuhi syarat keberterimaan yaitu $r \geq 0,995$ [19]. Nilai y adalah absorbansi, x adalah konsentrasi, 0.107 adalah nilai b (slope), 0.0315 adalah nilai a (intercept). Nilai koefisien korelasi yang didapat menunjukkan bahwa adanya hubungan yang linear antara absorbansi dengan konsentrasi karena nilai koefisien korelasinya mendekati 1, artinya peningkatan nilai serapan analit berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasinya [20] Apabila koefisien korelasi bernilai positif dikatakan korelasi searah, dan sebaliknya jika koefisien korelasi bernilai negatif maka dikatakan korelasi

tidak searah [21] Sehingga persamaan regresi dari asam galat ini dapat digunakan untuk menentukan kadar fenolik pada ekstrak etanol biji kakao.

Pada pengukuran senyawa fenolik total dibuat sebanyak tiga replikasi untuk keperluan akurasi data. Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh kadar fenolik total ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) sebesar 4,866 mgGAE/gram ekstrak, artinya dalam setiap gram ekstrak etanol biji kakao terdapat fenolik yang setara dengan 4,866 mg asam galat (tabel 5).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar fenolik total dari ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) yaitu sebesar 4,866 mgGAE/gram ekstrak.

REFERENSI

- [1] N. F. U. Attahmid, A. Rauf, dan M. Yusuf, "Formulasi Minuman Imunomodulator dari Biji Kakao Pilihan Klon Sulawesi Barat dengan Penambahan Kayu Manis (*Cinnammomum cassia*) Formulation Immunomodulator Drinks From Selected Cocoa Beans Clone West Sulawesi With Addition Cinnamons (*Cinnammomum cassia*)," vol. 21, no. 2, 2021.
- [2] C. E. Dhurhanian dan A. Novianto, "Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*)," *J. Farm. Dan Ilmu Kefarmasian Indones.*, vol. 5, no. 2, Jul 2019.
- [3] M. A. Iflahah, N. M. Puspawati, dan N. M. Suaniti, "Aktivitas Antioksidan Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dalam Menurunkan Kadar 8-Hidroksi- 2'-Deoksiguanosin," *Indones. E-Journal Appl. Chem.*, vol. 4, no. 2, 2016.
- [4] Y. T. C. Kusuma, S. Suwasono, dan S. Yuwanti, "Pemanfaatan Biji Kakao Inferior Campuran Sebagai Sumber Antioksidan Dan Antibakteri," *Berk. Ilm. Pertan.*, vol. 1, no. 2, hal. 33–37, 2013.
- [5] Baihakki, Feliatra, dan T. Wikanta, "Extraction Of Polyphenol From *Sargassum* sp. and Its Entrapment In The Nanochitosan," *J. Online Mhs.*, vol. 2, no. 1, 2015.
- [6] R. R. Utami, S. Supriyanto, S. Rahardjo, dan R. Armunanto, "Aktivitas Antioksidan Kulit Biji Kakao dari Hasil Penyangraian Biji Kakao Kering pada Derajat Ringan, Sedang dan Berat," *Agritech*, vol. 37, no. 1, 2017.
- [7] S. Sekarsari, I. W. R. Widarta, dan A. A. G. N. A. Jambe, "Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi dengan Gelombang Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)," *J. Ilmu dan Teknol. Pangan*, vol. 8, no. 3, 2019.
- [8] N. Hafidhah, R. F. Hakim, dan F. Fakhurrrazi, "Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada Berbagai Konsentrasi," *J. Caninus Denstistry*, vol. 2, no. 2, 2017.
- [9] A. A. C. Wibawa, "Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis," *Hydrog. J. Kependidikan Kim.*, vol. 9, no. 1, 2021.
- [10] E. A. Maulana, I. A. R. A. Asih, dan M. Arsa, "Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* Linn)," *J. Kim.*, vol. 10, no. 1, 2016.
- [11] M. Tahir, A. Muflihunna, dan S. Syafrianti, "Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis," *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 4, no. 1, 2017.
- [12] I. Fajriaty, H. IH, dan R. Setyaningrum, "Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi

- Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F.),” *J. Pendidik. Inform. dan Sains*, vol. 7, no. 1, 2018.
- [13] S. Sam, A. Malik, dan S. Handayani, “Penetapan Kadar Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis,” *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 3, no. 2, 2016.
- [14] P. Riwanti, F. Izazih, dan A. Amaliyah, “Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% Sargassum polycystum dari Madura,” *J. Pharm. Anwar Med.*, vol. 2, no. 2, 2018.
- [15] M. E. Setyantoro, H. Haslina, dan S. B. Wahjuningsih, “Pengaruh Waktu Ekstraksi dengan Metode Ultrasonik terhadap Kandungan Vitamin C, Protein, dan Fitokimia Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.),” *J. Teknol. Pangan dan Has. Pertan.*, vol. 14, no. 2, 2019.
- [16] Mukhriani, R. Sugiarna, N. Farhan, M. Rusdi, dan M. Ikhlas Arsul, “Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L.),” *Ad-Dawaa J. Pharm. Sci.*, vol. 2, no. 2, 2019.
- [17] Y. Alen, F. L. Agresa, dan Y. Yuliandra, “Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan,” *J. Sains Farm. Klin.*, vol. 3, no. 2, 2017.
- [18] A. Aminah, N. Tomayahu, dan Z. Abidin, “Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis,” *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 4, no. 2, 2017.
- [19] M. R. Ariq, K. Afriani, D. Zuliandanu, dan Suhartini, “Verifikasi Metode Uji Penetapan Kadar Tembaga (Cu) dalam Air Permukaan secara Spektrofotometri Serapan Atom,” *War. Akab*, vol. 46, no. 1, 2022.
- [20] A. Adriani dan R. Safira, “Analisa Hidrokuinon Dalam Krim Dokter Secara Spektrofotometri Uv-Vis,” *Lantanida J.*, vol. 6, no. 2, 2018.
- [21] R. A. Wibowo dan A. A. Kurniawan, “Analisis Korelasi Dalam Penentuan Arah Antar Faktor Pada Pelayanan Angkutan Umum Di Kota Magelang,” *J. Electr. Eng. Comput. Inf. Technol.*, vol. 1, no. 2, 2020.

TABEL

Tabel 1. Hasil perhitungan persen rendemen ekstrak biji kakao

Pelarut	Berat awal (g)	Jumlah pelarut (mL)	Berat akhir (g)	Rendemen ekstrak (%)
N-heksan	200	750	31,41	15,70
Etanol 70%			15,21	7,60

Tabel 2. Hasil uji kualitatif senyawa fenolik dengan tabung reaksi

Sampel	Pereaksi	Warna		Hasil	Pustaka
		sebelum	sesudah		
Ekstrak etanol biji kakao	FeCl ₃	Kuning	Hijau	(+)	(Mukhriani <i>et al.</i> , 2019)

Tabel 3. Hasil uji kualitatif senyawa fenolik dengan metode KLT

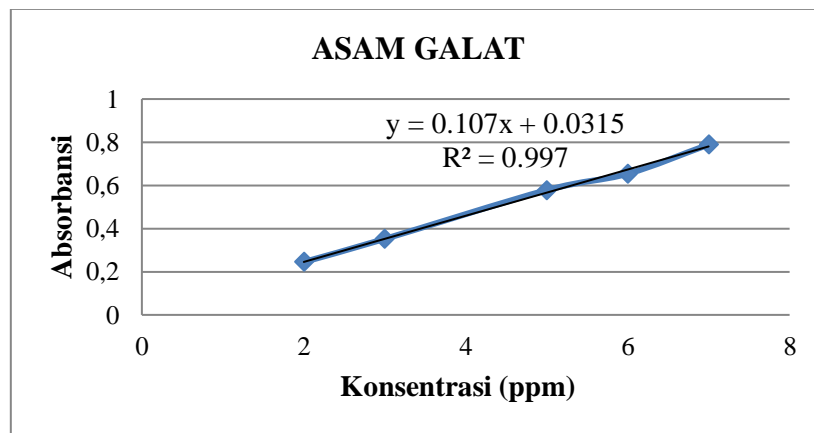
Sampel	Fase gerak	Rf			Warna
		Sebelum		Sesudah	
		UV 254	UV 366	Sinar tampak	
Ekstrak etanol biji kakao	kloroform :	0,63	0,8	0,8	Hijau kehitaman (Alen, Agresa dan Yuliandra, 2017)
	metanol : air (6 : 3 : 1)	0,78	-	-	

Tabel 4. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat pada panjang gelombang maksimum 749 nm

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)
2	0,245
3	0,352
5	0,578
6	0,654
7	0,789

Tabel 5. Hasil penentuan kadar fenolik pada ekstrak etanol biji kakao

Replikasi	Absorbansi	Kandungan fenolik total awal (mg/L)	Kandungan fenolik total (mgGAE/g)	Rata – rata Kandungan fenolik total (mgGAE/g)	% Kadar fenol
1	0,514	4,509	4,5	4,866	0,486
2	0,540	4,752	4,7		
3	0,619	5,490	5,4		

GAMBAR

Gambar 1. Kurva kalibrasi asam galat pada panjang gelombang maksimum 749 nm