

ANALISIS KADAR SENYAWA FLAVONOID DARI EKSTRAK ETANOL DAUN KAKAO (*Theobroma cacao L.*) DENGAN PERBANDINGAN DAERAH TEMPAT TUMBUH

Nurul Faiza Mahmud¹, St.Maryam^{1*}, Asriani Suhaenah¹

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

*Corresponding author:

¹*Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan
Email: st.maryam@umi.ac.id

ABSTRACT

Cocoa leaves (*Theobroma cacao L.*) contain active compounds that have many health benefits. Flavonoids are one of the active compounds contained therein that can prevent the formation of free radicals and reduce tissue damage due to inflammation. This study aims to determine the flavonoid content of ethanol extract of cocoa leaves (*Theobroma cacao L.*) based on the comparison of growing regions using the UV-Vis spectrophotometric method. Samples were taken from three regions namely Jeneponto, Wajo and Malino. This research method begins with the preparation of samples by maceration with 96% ethanol solvent, then qualitative analysis is carried out by Thin Layer Chromatography (KLT) method and quantitative analysis is carried out measuring quercetin standards and determining flavonoid levels with a UV-Vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 430 nm. The results showed that the ethanol extract of cocoa leaves (*Theobroma cacao L.*) positively contained flavonoids and had flavonoid levels in the Jeneponto, Wajo, Malino regions of 45.812 mgQE/g extract; 41.556 mgQE/g extract, and; 38.343 mgQE/g extract, respectively. Where the ethanol extract of cocoa leaves (*Theobroma cacao L.*) from the Jeneponto region has higher flavonoid levels than the other two regions.

Keywords: Cocoa leaf (*Theobroma cacao L.*); Flavonoids; UV-Vis spectrophotometry.

ABSTRAK

Daun kakao (*Theobroma cacao L.*) mengandung senyawa aktif yang memiliki banyak manfaat terhadap kesehatan. Flavonoid adalah salah satu senyawa aktif yang terkandung didalamnya yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas dan mengurangi kerusakan jaringan akibat peradangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) berdasarkan perbandingan daerah tempat tumbuh dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Sampel diambil dari tiga daerah yaitu Jeneponto, Wajo dan Malino. Metode penelitian ini diawali dengan penyiapan sampel dengan cara dimerasi dengan pelarut etanol 96%, lalu dilakukan analisis kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan analisis kuantitatif dilakukan pengukuran standar kuersetin dan penetapan kadar flavonoid dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) positif mengandung flavonoid dan memiliki kadar flavonoid berturut-turut daerah Jeneponto, Wajo, Malino sebesar 45,812 mgQE/g ekstrak; 41,556 mgQE/g ekstrak, dan; 38,343 mgQE/g ekstrak. Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari daerah Jeneponto memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dari dua daerah lainnya.

Kata kunci: Daun kakao (*Theobroma cacao L.*); Flavonoid; Spektrofotometri UV-Vis.

PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan yaitu tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan jenis tanaman asli hutan hujan tropis Amerika Selatan dan telah lama dibudidayakan di Indonesia yaitu sejak zaman tanam paksa “culturstelsel” tahun 1826. Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan komoditas perkebunan yang memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia. Sulawesi selatan merupakan daerah sentra produksi kakao dan telah berkembang berbagai varian klon kakao local[1].

Daun kakao belum dimanfaatkan secara maksimal yaitu hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Selain itu pengolahan kakao sejauh ini masih berfokus pada buah dan kulit buahnya saja. Padahal, jika dilihat dari kandungan daun kakao, daun kakao memiliki potensi untuk diolah menjadi produk yang memiliki manfaat lain dan bernilai ekonomi tinggi salah satunya yaitu menjadi produk pangan, seperti obat tradisional.

Daun kakao mengandung golongan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan glikosida[2]. Komponen tersebut memiliki efek menguntungkannya pada kesehatan, dan sangat diperlukan dalam berbagai aplikasi nutraceutical, farmasi, obat dan kosmetik. Hal tersebut terkait dengan sifat antioksidatif, antiinflamasi, antimutagenik dan antikarsinogeni[3]. Flavonoid merupakan golongan bahan alami dengan struktur penyusun utama fenolik variable. Senyawa flavonoid dapat mencegah pembentukan radikal bebas dan mengurangi kerusakan jaringan akibat peradangan [4].

Suatu kadar flavonoid pada setiap tanaman memiliki kadar yang berbeda-beda. Adapun faktor yang mempengaruhi hal tersebut yaitu faktor internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal diantaranya seperti cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara didalam tanah dan ketinggian tempat[5]. Perbedaan suhu setiap rentang ketinggian menyebabkan proses metabolisme pada suatu tanaman berbeda, sehingga produksi metabolisme sekunderpun berbeda (Fatchurrozzak et al., 2013).

Pada penelitian Setyo Utomo, 2020 terhadap pengaruh lokasi tumbuh kadar flavonoid dengan sampel daun pecut kuda menghasilkan kadar yang berbeda dari dua perbandingan tempat tumbuh, dimana daerah tumbuh dengan suhu yang lebih tinggi memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempat tumbuh dengan suhu yang rendah. Kondisi lingkungan dengan suhu yang tinggi akan terjadi peningkatan radikal bebas yang berupa reactive oxygen species (ROS) pada tumbuhan yang reaktif dalam jaringan tumbuhan akibatnya memicu kerusakan sel [6]. Sebagai bentuk adaptasi terhadap suhu lingkungan yang tinggi, tumbuhan akan memproduksi senyawa yang bersifat antioksidan [7]. Sehingga pada suhu yang lebih tinggi tumbuhan akan menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi sebagai ekstra sinergi pertahanan terhadap cekaman pada lingkungan [8].

Oleh karena itu, untuk lebih membuktikan tempat tumbuh mempengaruhi kadar flavonoid suatu tumbuhan, maka dilakukan penelitian penetapan kadar flavonoid daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dari tiga tempat tumbuh yang berbeda yaitu malino, jeneponto dan wajo, dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender (Philips), timbangan analitik (Kern ABT 220-50M), botol coklat, Alabu takar, beker gelas (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), corong, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, sonikator (Krisbow), vortex (ika® vortex 3) rotary vacuum evaporator (Ika® RV basic), Waterbath (Memmert), spektrofotometer UV-Vis (Genesis 10S), toples dan vial.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aluminium kloria (AlCl_3), ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*), etanol 96 %, kalium asetat, dan kuersetin.

Prosedur Kerja

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel daun kakao (*Theobroma cacao L.*) yang akan digunakan berasal dari Makassar Sulawesi Selatan yang di ambil dari tiga daerah tempat tumbuh yaitu Malino, Jeneponto dan Wajo. Sampel daun kakao segar yang diambil dari tiga daerah masing-masing dicuci lalu ditiriskan kemudian disortasi basah dan ditimbang beratnya. Rajang daun dengan ketebalan kurang lebih 3-4 mm lalu dijemur hingga kering dan timbang simplisia sebagai berat kering. Simplisia yang sudah kering dihaluskan dengan cara diblender dan ditimbang sebagai berat serbuk simplisia kering, masukkan serbuk simplisia ke dalam kantong plastic atau wadah yang tertutup dan simpan di tempat kering[9].

Proses ekstraksi daun kakao (*Theobroma cacao L.*)

Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Serbuk simplisia daun kakao dari tiga daerah masing-masing sebanyak 300 gram direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 mL. Merasasi dilakukan 3x 24 jam dengan pengadukan beberapa kali dan hasil maserasi disaring. Residu dari penyaringan dimerasasi kembali dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 1000 mL selama 1 x 24 jam dan disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental[10].

Analisis Kualitatif Kandungan Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid dilakukan dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Ekstrak etanol daun kakao dari masing-masing daerah dilarutkan dalam pelarut etanol, kemudian ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari garis bawah. Plat KLT yang digunakan terbuat dari silika gel GF254 dengan ukuran 8 cm x 4 cm. Selanjutnya dielusi menggunakan fasa gerak yaitu n-heksan: etil asetat: metanol dengan perbandingan 4:5:1. Setelah terelusi lempeng diangkat dan dikeringkan, diamati bercak pada lampu UV254 nm dan UV366 dengan penampak bercak aluminium (II) klorida (AlCl_3). Hasil positif flavonoid jika noda berwarna kuning kehijauan. Analisis KLT menggunakan kuersetin sebagai pembanding.

Analisis Kuantitatif kandungan flavonoid

Penentuan Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) kuersetin

Pengukuran Panjang gelombang maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Salah satu konsentrasi larutan standar kuersetin yang digunakan akan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm untuk melihat gelombang maksimum absorbansi. Hasil running menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 430 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun cacao (*Theobroma cacao L.*) dari ketiga daerah.

Pembuatan kurva standar kuersetin

Bahan baku standar kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, dan kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol sebagai konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan etanol sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm tersebut dibuat beberapa konsentrasi yaitu 12, 16, 20, 24, dan 28 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm[11].

Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari masing-masing daerah ditimbang Sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% sebagai konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat konsentrasi 500 ppm dengan memipet 2,5 mL dan dicukupkan dengan etanol 96% dalam 5 mL. Lalu dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml aluminium (III) klorida 1,2 %, 1 ml kalium asetat 120 mM. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Larutan sampel masing-masing dibuat dalam tiga kali replikasi[12].

Analisis Data

Analisis hasil perhitungan kurva baku diperoleh persamaan regresi linear Y=bx+a. dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = Variabel dependen (nilai yang diprediksikan)

a = Konsentrasi (nilai Y apabila X=0)

x = Variabel independen

b = Koefesien regresi (nilai peningkatan ataupun penurunan)

Kadar kandungan metabolit dalam sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\frac{X \cdot V \cdot F_p}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

X = Konsentrasi sampel

V = volume sampel

Fp = Faktor pengenceran

W = Bobot sampel

HASIL DAN DISKUSI

Pengolahan tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) sejauh ini masih berfokus pada buah dan kulit buahnya saja. Padahal, jika dilihat dari kandungan daun kakao, daun kakao memiliki senyawa yang bermanfaat salah satunya senyawa flavonoid yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas dan mengurangi kerusakan jaringan akibat peradangan[4].

Flavonoid merupakan suatu zat alami dengan struktur fenolik variable. Flavonoid memiliki berbagai efek biokimia dan antioksidan menguntungkan yang terkait dengan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit Alzheimer (AD), osis aterosklerosis. Flavonoid dikaitkan dengan spektrum yang luas dari efek mempromosikan kesehatan dan merupakan komponen yang sangat diperlukan dalam berbagai aplikasi nutraceutical, farmasi, obat dan kosmetik. Ini karena sifat antioksidan, antiinflamasi, anti-mutagenik, dan anti-karsinogeniknya digabungkan dengan kapasitasnya untuk memodulasi fungsi enzim seluler utama.

Ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dari masing-masing daerah dilakukan analisis kualitatif untuk menentukan ada tidaknya senyawa flavonoid dalam ekstrak dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Digunakan metode KLT karena memiliki kelebihan yaitu kecepatan dan kepekaannya[13]. Data yang diperoleh adalah berupa nilai R_f dan warna noda pada kromatogram sebagai hasil dari elusi lempeng KLT yang akan memberikan informasi mengenai senyawa yang diduga terkandung pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L.). Senyawa yang mempunyai nilai R_f lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah. Pemisahan pada KLT terjadi karena persaingan antara fase diam dan fase gerak untuk mengikat komponen yang tedapat pada campuran yang akan dipisahkan. Persaingan tersebut disebabkan oleh polaritas yang dimiliki oleh fase diam dan komponen cairan. Komponen yang memiliki polaritas yang sama dengan fase diam akan berinteraksi lebih kuat dan akibatnya komponen tersebut akan terjerap oleh fase diam[14].

Deteksi bercak dilakukan dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm sebagai penampak noda digunakan larutan asam sulfat (AlCl₃) 2%. Pengamatan pada lampu UV didasarkan pada prinsip dimana pada gelombang pendek 254 nm, lempeng memberikan fluoresensi sedangkan sampel berwarna gelap, noda yang tampak timbul karena adanya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng KLT. Gelombang panjang 366 nm memberikan keadaan yang sebaliknya dimana noda memberikan fluoresensi dan lempeng berwarna gelap, noda yang tampak timbul karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aksokrom yang ada pada noda[14]. Penggunaan penampak noda AlCl₃ didasarkan AlCl₃ dapat

membentuk reaksi dengan senyawa golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga. AlCl_3 akan bereaksi dengan keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning[15]. Hasil dapat dilihat pada **Gambar 1** dan untuk nilai Rf dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Untuk analisis kuantitatif dilakukan dengan pengukuran Panjang gelombang maksimum larutan standar kuersetin menggunakan spektrofotometri UV-Vis Panjang gelombang 400-800 nm. Digunakan larutan standar kuersetin karena kuersetin termasuk dalam golongan senyawa flavonoid[16]. Konsentrasi larutan standar kuersetin yang digunakan 14 ppm, dan didapatkan nilai absorbansinya 0,218 dengan panjang gelombang maksimum 430 nm. Selanjutnya pembuatan seri konsentrasi larutan standar kuersetin. Seri konsentrasi larutan standar kuersetin yang digunakan yaitu 12, 16, 20, 24, dan 28 ppm. Pada seri konsentrasi tersebut di pipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. AlCl_3 dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning, dan penambahan kalium asetat yang bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak)[17]. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, yang dimaksudkan agar reaksi antara larutan standar kuersetin dengan pereaksi dapat berlangsung dengan baik.

Hasil absorbansi dari seri konsentrasi disajikan pada **Tabel 2**. diplotkan dengan konsentrasi untuk menghasilkan kurva kalibrasi kuersetin. Pada pembuatan kurva baku ini digunakan persamaan garis yang diperoleh dari kuadrat terkecil yaitu $y=bx+a$, persamaan ini akan menghasilkan koefisien korelasi (r). Dari hasil penelitian didapatkan $y = 0,0264x - 0,0917$ dengan $R^2 = 0,9996$ dan $r = 0,9997$ (**Gambar 2**). Dimana memenuhi syarat kelayakan koefisien korelasi dalam metode analisis yaitu $r > 0,995$ [18].

Pada pengukuran absorbansi sampel, ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari masing-masing daerah ditimbang Sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% sebagai konsentrasi 1000 ppm kemudian dibuat pengenceran ke 500 ppm dalam 5 mL. Lalu dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml aluminium (III) klorida 1,2 %, 1 ml kalium asetat 120 mM. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit, Ketiga sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 430 nm. Larutan sampel masing-masing dibuat dalam tiga kali replikasi. Setelah didapatkan nilai absorbansinya selanjutnya dihitung kadar flavonoid ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) Hasil yang di dapatkan disajikan pada **Tabel 3, 4 dan 5**.

Hasil analisis kuantitatif, didapatkan jumlah kadar flavonoid ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari jeneponto wajo dan malino adalah 45,812 mgQE/g, 41,556 mgQE/g, dan 38,343 mgQE/g. Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari jeneponto memiliki kadar flavonoid tertinggi yaitu 45,812 mgQE/g ekstrak, sedangkan kadar flavonoid paling rendah adalah ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari malino yaitu 38,343 mgQE/g ekstrak. Perbedaan jumlah kadar senyawa flavonoid disetiap daerah dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang berbeda, seperti perbedaan suhu dan pH tanah. Dimana Jeneponto memiliki suhu yang lebih tinggi daripada wajo dan Malino, yang berarti pada daerah dengan suhu yang lebih tinggi juga menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan daerah dengan suhu yang lebih rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian Setyo Utomo, 2020 terhadap pengaruh lokasi tumbuh kadar flavonoid dengan sampel daun pecut kuda menghasilkan kadar yang berbeda dari dua perbandingan tempat tumbuh, dimana daerah

tumbuh dengan suhu yang lebih tinggi memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan daerah tempat tumbuh dengan suhu yang lebih rendah .

Perbedaan pH pada tanah juga mempengaruhi kadar senyawa metabolit sekunder tanaman. Apabila tanah dan air memiliki pH yang tinggi, maka kadar senyawa bioaktifnya juga tinggi[19]. Dimana daerah Jeneponto memiliki pH tanah yang paling tinggi, sedangkan Malino memiliki pH tanah paling rendah. Sehingga ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Jeneponto menghasilkan kadar senyawa flavonoid yang lebih tinggi dari dua daerah lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari daerah Jeneponto, Wajo, dan Malino mengandung senyawa flavonoid dengan kadar yang berbeda-beda yaitu 45,812 mgQE/g ekstrak, 41,556 mgQE/g ekstrak, dan 38,343 mgQE/g ekstrak. Jumlah kadar senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dari daerah Jeneponto memiliki kadar yang paling tinggi dari dua daerah lainnya.

REFERENSI

- [1] Sahardi, Fadjry Djufry. 2015. Keragaman Karakteristik Morfologis Dan Agronomis Plasma Nutfah Klon Harapan Kakao Lokal Sulawesi Selatan. *Jurnal Littri* 21 (3), 145-252.
- [2] Rani, Z., Ridwanto, R., Miswanda, D., Yuniarti, R., Sutiani, A., Syahputra, R. A., & Irma, R. (2022). Cytotoxicity Test of Cocoa Leaf Ethanol Extract (*Theobroma Cacao L.*) With Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST)*, 5(2), 80.
- [3] Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5.
- [4] Husna, P. A. U., Kairupan, C. F., & Lintong, P. M. (2022). Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *EBiomedik*, 10(1), 76–83.
- [5] Sholekah, F. F. (2017). Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. 75–82.
- [6] Setyo Utomo, D., Kristiani, E. B. E., & Mahardika, A. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil,Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda(*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma*, 22(2), 143–149.
- [7] Abdillah, Dede, Raden Soedradjad, and Tri Agus Siswoyo. 2015. “Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Kandungan Fenolik Dan Antioksidan Tanaman Sorgum (*Sorghum Bicolor L. Moench*) Pada Fase Awal Vegetatif.” *Berkala Ilmiah Pertanian* 1 (1): 1–4.
- [8] Shamloo, Maryam, Elizabeth A. Babawale, Robert J. Agnelo Furtodo, Peter K. Eck Henry, and Peter J. H. Jones. 2017. “Effect of Genotype and Temperature on Accumulation of Plant Secondary Metabolites in Canadian and Australian Wheat Grown Under Controlled Enviroments. University of Manitoba.” *Scientific Report* 7 (9133): 1–13.
- [9] Sari, A. K., Ayuchecaria, N., & Febrianti, D. R. (2019). Analisis Kuantitatif Kadar

- Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Di Banjarmasin Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 7–17.
- [10] Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83–91.
- [11] Stankovic, M.S., 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 33(2011), pp.63-72.
- [12] Asmoro Bangun, P. P. (2021). Analisis kadar total flavonoid pada daun dan biji pepaya (*Carica Papaya* L.) Menggunakan metode spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru*, 2(1), 1–5.
- [13] Nurul Aulia K, Abd. Malik, Andi Amaliah D, 2023. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Dengen (*Dillenia serrata* Thunb.).1 [2] (9), 77.
- [14] Dyera Forestryana, Arnida, 2020. Phytochemical Screenings And Thin Layer Chromatography Analysis Of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydroleia spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 11 (2), 120.
- [15] Fitrah Azzahrah, Abd. Malik, Andi Amaliah D, 2023. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Buah Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims). 1 [2] (8), 62-63.
- [16] Erma Yunita, Zihan Khodijah, 2020. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) secara Spektrofotometri UV-Vis. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*. 17 (02), 287
- [17] Aminah, Nurhayati Tomayahu, Zainal Abidin, 2017. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4 (2), 229.
- [18] Mayerhöfer, Thomas Günter; Jürgen Popp. 2018. Why Absorbance Depends (Almost) Linearly on Concentration. *ChemPhysChem* Vol. 20 Hal. 511 – 515.
- [19] Kusbiantoro, D. Y. P. 2018. Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder pada tanaman kunyit dalam mendukung peningkatan pendapatan masyarakat Utilization of secondary metabolite in the turmeric plant to increase community income. 17(1), 544–549

TABEL

Tabel 1. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*)

Sampel	Jarak Noda	Rf
Ekstrak etanol daun kakao daerah Malino	4,4	0,676
Ekstrak etanol daun kakao daerah Wajo	4,5	0,692
Ekstrak etanol daun kakao daerah Jeneponto	4,4	0,676
Quersetin	4,2	0,646

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
12	0,226
16	0,327
20	0,440
24	0,546
28	0,645

Tabel 3. Hasil penentapan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Jeneponto

Replikasi	Abs (Y)	Kandungan flavanoid awal	Kandungan total flavonoid (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata kandungan total flavonoid (mgQE/g ekstrak)
1	0,503	22,526	42,906	
2	0,543	24,041	46,232	45,812
3	0,565	24,875	48,300	

Tabel 4. Hasil penentapan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Wajo

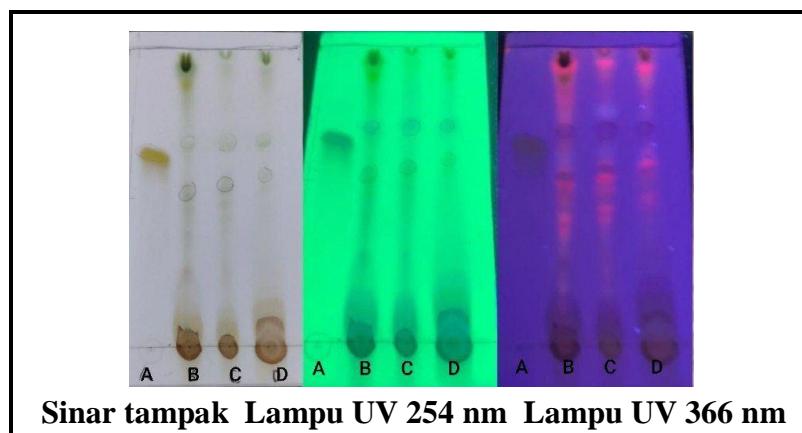
Replikasi	Abs (Y)	Kandungan flavanoid awal	Kandungan total flavonoid (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata kandungan total flavonoid (mgQE/g ekstrak)
1	0,470	21,276	40,915	
2	0,465	21,087	40,551	41,556
3	0,490	22,034	43,203	

Tabel 5. Hasil penentapan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Malino

Replikasi	Abs (Y)	Kandungan flavanoid awal	Kandungan total flavonoid (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata kandungan total flavonoid (mgQE/g ekstrak)
1	0,441	20,178	38,803	
2	0,433	19,875	38,592	38,343
3	0,425	19,571	37,636	

GAMBAR

Gambar 1. Profil KLT dari identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan fase gerak n- Heksan: Etil Asetat: Metanol (4:5:1).



Keterangan:

A = kuersetin

B = ekstrak etanol daun kakao dari daerah Jeneponto

C = ekstrak etanol daun kakao dari daerah Malino

D = ekstrak etanol daun kakao dari daerah Wajo

Gambar 2. Kurva Baku Kuersetin