

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI TEH DAUN TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) BERDASARKAN TEMPAT TUMBUH DENGAN METODE PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH

Nurizzah Aulia Syam¹, St.Maryam^{1*}, Muzakkir Baits¹

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

The cocoa plant is one of the plants used by the community as traditional medicine. Cocoa plant leaves contain secondary metabolites, namely flavonoids, saponins and tannins and contain phenolic compounds, which also have a role as antioxidants. The aim of this research was to determine the antioxidant activity and analyze the IC₅₀ of cocoa plant leaf tea (*Theobroma cacao* L.) using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The samples used came from three areas, namely Jeneponto, Wajo and Malino. Based on the research results, it shows that cocoa leaf tea preparations (*Theobroma cacao* L.) have antioxidant activity. The IC₅₀ value of Jeneponto's cocoa leaf tea preparation (*Theobroma cacao* L.) was 187.946 µg/mL, Wajo 309.629 µg/mL, and Malino 314.055 µg/mL with a very weak classification category. Jeneponto regional tea preparations have better antioxidant activity than the other two regions.

Keywords: Antioxidants, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), *Theobroma cacao* L., Quercetin..

ABSTRAK

Tanaman kakao merupakan salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Daun tanaman kakao mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin dan tanin serta mengandung senyawa fenolat, yang juga memiliki peran sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan menganalisa IC₅₀ dari teh daun tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Sampel yang digunakan berasal dari tiga daerah yaitu Jeneponto, Wajo, dan Malino. Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Nilai IC₅₀ sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) Jeneponto sebesar 187,946 µg/mL, Wajo 309,629 µg/mL, dan Malino sebesar 314,055 µg/mL dengan kategori klasifikasi sangat lemah. Sediaan teh daerah Jeneponto memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari dua daerah lainnya.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Theobroma cacao* L., Kuarsetin.

PENDAHULUAN

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari famili Sterculiaceae dan merupakan salah satu tanaman Indonesia yang banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan makanan dan minuman. Tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan dan dapat mengobati penyakit degenerative[1].

Daun tanaman kakao mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin dan tanin serta mengandung senyawa fenolat, yang juga memiliki peran sebagai antioksidan. Daun tanaman kakao mengandung teobromin, kafein, antosianin, leucoantosianin dan katekol, yang jumlahnya bervariasi dipengaruhi oleh umur daun dan umur tanaman[2].

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dan memiliki kemampuan untuk mengikat elektron bebas dari radikal bebas sehingga kerusakan sel akibat stress oksidatif dapat dicegah[3]. Antioksidan terbagi menjadi antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis contohnya *buthylatedhydroxytoluene (BHT)*, *buthylated hidroksianisol (BHA)*, dan *ters-butylhydroquinone (TBHQ)*, antioksidan sintetis bersifat karsinogenik yang dalam jangka waktu panjang dapat menjadi racun dalam tubuh, sedangkan antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman yang mengandung flavonoid, isoflavonoid, antosianin dan vitamin C, vitamin E dan lain lain[4].

Aktivitas antioksidan 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 sekunder pun berbeda[6].

Oleh karena itu, untuk membuktikan tempat tumbuh mempengaruhi aktivitas antioksidan suatu tumbuhan, maka dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dari tiga tempat tumbuh yang berbeda yaitu Malino, Jenepono dan Wajo, dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah penggilingan (blender Philips), seperangkat alat gelas kimia (Pyrex), labu tentukur, mikropipet (Huawei), oven (Mettler), pipet tetes, vial, spektrofotometer UV-Vis (tipe evolution 201), timbangan analitik (Carat series), dan vortex (IKA Vortex 3).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.), etanol 96%, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), kertas saring, kuersetin, aluminium foil, tissue dan aquades.

Prosedur Kerja

Pengambilan dan pengolahan sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman kakao (*Theobroma*

cacao L.) yang berasal dari Malino, Jeneponto dan Wajo, Sulawesi Selatan. Daun kakao yang diperoleh dari tiga daerah dibersihkan menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang melekat pada sampel, kemudian dilayukan menggunakan oven dengan suhu 70-80°C, daun yang sudah layu digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk daun kakao yang sudah digiling dikeringkan menggunakan oven pada suhu 70-80°C, masing-masing serbuk kering daun kakao dari 3 daerah dimasukkan kedalam kantong teh kemudian siap dibuat air seduhan sediaan teh[7].

Pembuatan air rebusan teh daun kakao (Theobroma cacao L)

Serbuk daun kakao kering ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan kedalam kantong teh, dicelup ke dalam air mendidih sebanyak 200 mL hingga diperoleh larutan teh daun kakao[7].

Analisis Kuantitatif Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH ppm dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 5 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan 25 mL etanol 96% dalam labu tentukur menghasilkan konsentrasi 200 ppm. Konsentrasi 35 ppm dibuat dengan cara memipet 87,5 mL DPPH 200 ppm, kemudian dicukupkan volumenya hingga 50 mL. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur larutan DPPH yang telah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur pada panjang gelombang maksimum[8].

Pembuatan dan pengukuran kurva standar kuarsetin

Larutan pembanding kuarsetin 1000 ppm dibuat dengan cara ditimbang 10 mg kuarsetin kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu tentukur 10 mL, setelah itu dibuat konsentrasi 100 ppm lalu dicukupkan dalam labu tentukur 10 mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi 2 ; 4 ; 6 ; 8 dan 10 ppm. Pengujian dilakukan dengan memipet 1 mL larutan pembanding kuarsetin dari berbagai konsentrasi, kemudian masing-masing ditambahkan 3 mL DPPH 35 ppm. Campuran kemudian dihomogenkan dengan cara divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit lalu serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum.

Pengukuran Daya Antioksidan Teh Daun Kakao (Theobroma Kakao L.) dari tiga daerah

Larutan stok 10.000 ppm dibuat dengan cara menimbang teh daun kakao sebanyak 2 gram, dimasukkan kedalam kantong teh kemudian dicelupkan kedalam air mendidih sebanyak 200 mL. Selanjutnya, dibuat pengenceran 1000 ppm dalam 25 mL dari larutan stok, dari 1000 ppm dibuat pengenceran 100 ppm dalam 50 mL. Kemudian membuat beberapa variasi konsentrasi[7]. Kelima variasi konsentrasi yaitu 10 ; 20 ; 30 ; 40 dan 50 ppm. Pengujian dilakukan dengan memipet 1 mL larutan sampel dari berbagai konsentrasi, kemudian masing-masing ditambahkan 3 mL DPPH 35 ppm. Campuran kemudian dihomogenkan dengan cara divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit lalu serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum.

Analisis Data

Besarnya presentase pengikat radikal bebas dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{abs standar} - \text{abs sampel})}{\text{abs standar}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan : $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus :

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan : y = Absorbansi
x = Konsentrasi
a = Intersep
b = Slop

HASIL DAN DISKUSI

Daun kakao mengandung senyawa bioaktif berupa senyawa fenolat dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan yang dapat membantu melawan radikal bebas dalam tubuh[9]. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kakao (*Theobroma cacao* L.) yang di ambil dari tiga daerah yaitu Malino, Wajo, dan Jeneponto.

Pada penelitian ini dilakukan analisis kuantitatif sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Metode ini digunakan karena DPPH memiliki keunggulan yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil[10].

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum λ_{maks} standar kuersetin dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Digunakan larutan standar kuersetin karena kuersetin termasuk dalam golongan senyawa flavonoid, kemudian di ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan data hasil pengukuran larutan standar kuersetin dibuat kurva baku antara konsentrasi dengan absorban dan diperoleh persamaan linearitas $y = 3.8888x - 42.683$ dengan $R^2 = 0.9949$ dan nilai $r = 0.9974$, sesuai gambar 1. dan hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r > 0.995$. sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan korelasi antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar, dengan nilai IC₅₀ = 1, 8815 $\mu\text{g/mL}$ kategori sangat kuat dapat dilihat pada gambar 1.

Pada penelitian penentuan aktivitas antioksidan dari teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Jeneponto menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan sebesar 187,946 $\mu\text{g/mL}$ dan diklasifikasikan sebagai antioksidan yang sangat lemah. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan data hasil pengukuran larutan sampel teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Jeneponto dibuat kurva baku antara konsentrasi dengan %inhibisi dan diperoleh persamaan linearitas $y = 0.2564x + 1,8105$ dengan $R^2 = 0.9954$ dan nilai $r = 0.997$, sesuai gambar dan hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r > 0.995$. sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan korelasi antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar dapat dilihat pada gambar 2.

Pada penelitian penentuan aktivitas antioksidan dari teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Wajo menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan sebesar 309,629 $\mu\text{g/mL}$ dan diklasifikasikan sebagai antioksidan yang sangat lemah. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan data hasil pengukuran larutan sampel teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Wajo dibuat kurva baku antara konsentrasi dengan %inhibisi dan diperoleh persamaan linearitas $y = 0.0702x + 28.264$ dengan $R^2 = 0.9967$ dan nilai $r = 0.998$, sesuai gambar 4 dan hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r > 0.995$. Sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan korelasi antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar

dapat dilihat pada gambar 3.

Pada penelitian penentuan aktivitas antioksidan dari teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Malino menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan sebesar 314,055 µg/mL dan diklasifikasikan sebagai antioksidan yang sangat lemah. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 4. Berdasarkan data hasil pengukuran larutan sampel teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Malino dibuat kurva baku antara konsentrasi dengan absorbansi, dan diperoleh persamaan linearitas $y = 0.0702x + 28.264$ dengan $R^2 = 0.9976$ dan nilai $r = 0.998$, sesuai gambar 5 dan hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r > 0.995$. Sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan korelasi antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar dapat dilihat pada gambar 4.

Menurut Nasution et al., 2015 tingkat kekuatan IC_{50} antioksidan terdiri atas, kurang dari 50 µg/mL dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat, 50-100 µg/mL sebagai antioksidan kuat, 100-150 µg/mL sebagai antioksidan sedang dan 151-200 µg/mL dikategorikan antioksidan lemah. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kuarsetin dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat. Dari hasil penelitian uji analisis kuantitatif, Jeneponto memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dengan nilai IC_{50} 187,946 µg/mL dari ketiga daerah tersebut, sedangkan Wajo dengan nilai 309,629 µg/mL dan Malino dengan nilai 314,055 µg/mL diklasifikasikan sebagai antioksidan sangat lemah. Dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidannya, sebaliknya semakin tinggi nilai IC_{50} maka semakin lemah aktivitas antioksidannya[11].

Perbedaan aktivitas antioksidan setiap daerah tersebut dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang berbeda beda, seperti perbedaan suhu dan kelembaban. Dimana menurut Supriyono 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[12]. Sehingga pada suhu yang lebih tinggi tumbuhan akan menghasilkan kadar senyawa aktif yang lebih tinggi sebagai ekstra sinergi pertahanan terhadap cekaman pada lingkungan[13]. Dari penjelasan tersebut dimaksudkan bahwa daerah tempat tumbuh memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan pada tumbuhan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa : Sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) daerah Jeneponto sebesar 187,946 µg/mL, daerah Wajo 309,629 µg/mL, dan daerah Malino sebesar 314,055 µg/mL dengan kategori klasifikasi sangat lemah dipengaruhi oleh kondisi lingkungan setiap daerah.

REFERENSI

- [1] Wicaksana, A. P. (2022). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Keping Biji Coklat (Theobroma cacao L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)*. 52.
- [2] Mandhaki, N., Huda, C., & Putri, A. E. (2021). *Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (Theobroma cacao L.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 188–193.
- [3] Marmi. (2013). *Gizi dalam Kesehatan Reproduksi*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- [4] Prasetyono, (2012). *A-Z Daftar Tanaman Obat Ampuh di Sekitar Kita*, Yogyakarta: Flash Book.
- [5] Sholekah, F. F. (2017). *Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (Carica*

- pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. 75–82.
- [6] Fatchurrozak, Suranto, & Sugiyanto. (2013). *Pengaruh Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Vitamin C dan Zat Antioksidan Pada Buah Carica pubescens di Dataran Tinggi Dieng*. El-Vivo, 1(1), 24–3.
- [7] Supriyanto, S., Darmadji, P., & Susanti, I. (2015). *Studi Pembuatan Teh Daun Tanaman Kakao (Theobroma cacao L.) Sebagai Minuman Penyegar (Production of Tea from Cocoa Leaves (Theobroma cacao L.) as Refreshment Beverage)*. Jurnal Agritech, 34(04), 422.
- [8] Aminah, A., Maryam, S., Baits, M., & Kalsum, U. (2016). *Perbandingan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Peredaman DPPH*. Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 3(1), 146–150.
- [9] Hasanah, M., Amaliani S., Rikmasari Y. (2017). *Analisis Antioksidan dari Berbagai Fraksi Daun Cokelat (Theobroma cacao L.)*. Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi, 2017, II(1).
- [10] Dedy Satria Muhammad. (2013). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum (Cayratia trifolia) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil -1-Pikrihidrazil)*.
- [11] Hasanah, M., Amaliani, S., & Rikmasari, Y. (2017). *Analisis Antioksidan dari Berbagai Fraksi Daun Cokelat (Theobroma cacao L.)*. Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi, 2(1).
- [12] 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.
- [13] 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*.” Scientific Report 7 (9133): 1–13.

TABEL

Tabel 1. Hasil pengukuran serapan pembanding kuarsetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi
2	0.365	50,542
4	0.306	58,536
6	0.250	66,124
8	0.204	72,357
10	0.129	82,520

Tabel 2. Hasil pengukuran serapan teh daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Jeneponto

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi
10	0.787	4,374
30	0.740	10,085
50	0.710	13,730
70	0.660	19,805
90	0.616	25,151

Tabel 3. Hasil pengukuran serapan teh daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Wajo

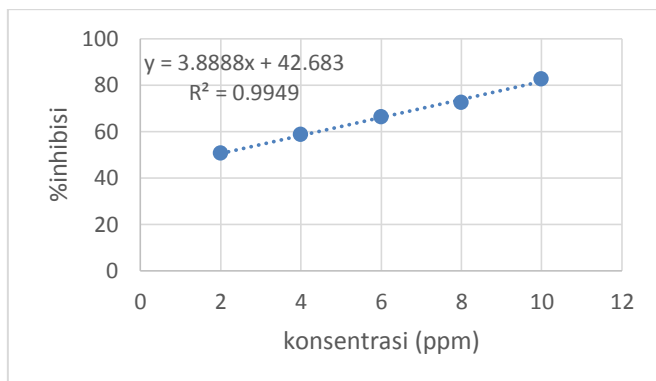
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi
10	0.672	29,113
30	0.661	30,274
50	0.648	31,645
70	0.634	33,122
90	0.619	34,704

Tabel 4. Hasil pengukuran serapan teh daun kakao (*Theobroma cacao L.*) daerah Malino

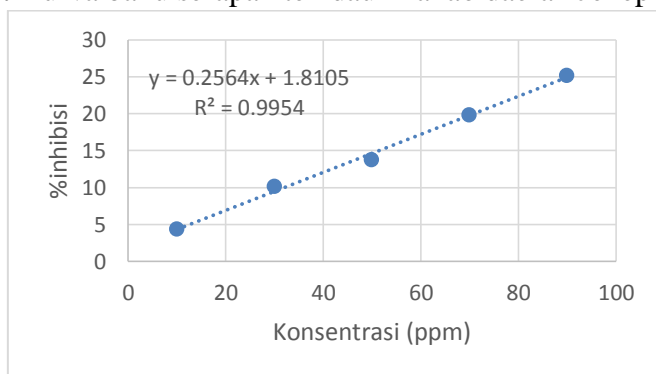
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi
10	0.683	26,162
30	0.671	27,459
50	0.656	29,081
70	0.641	30,702
90	0.625	32,432

GAMBAR

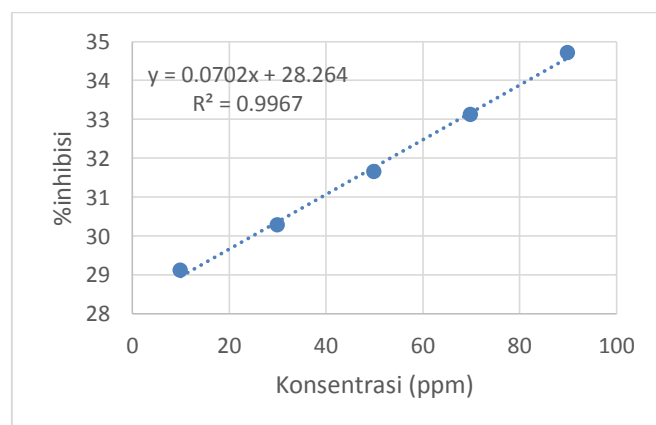
Gambar 1. Kurva baku serapan kuarsetin



Gambar 2. Kurva baku serapan teh daun kakao daerah Jeneponto



Gambar 3. Kurva baku serapan teh daun kakao daerah Wajo



Gambar 4. Kurva baku serapan teh daun kakao daerah Malino

