

ANALISIS KADAR SENYAWA POLIFENOL DARI TEH DAUN TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Nilma Sri Desi¹, St.Maryam^{1*}, Masdiana Tahir¹

¹ Program 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 secondary metabolites such as polyphenolic compounds, flavonoids, saponins and tannins which are the largest group of phenolic compounds that act as antioxidant compounds. This research aims to determine the levels of polyphenolic compounds produced from cocoa leaf tea (*Theobroma cacao* L.) based on a comparison of growing places, namely the Wajo, Jeneponto and Malino areas with quantitative analysis using the UV-Vis spectrophotometric method. Based on qualitative analysis using the Thin Layer Chromatography method using the mobile phase n-hexane: ethyl acetate: methanol in the ratio (2: 7:2). The results of the research showed that the preparation of cocoa leaf tea (*Theobroma cacao* L.) with quantitative analysis measured at a maximum wavelength of 768 nm with a gallic acid comparison standard, the tea sample contained polyphenolic compounds based on an Rf value that was equivalent to the gallic acid comparison, namely 0.6. The results of the content analysis from the Wajo area were 16,238 mgGAE/g, the Jeneponto area 18,102 mg/GAE/g, and the Malino area 6,752 mgGAE/g and the Rf value from the gallic acid comparison was 0.630; Rf value for samples from the Jeneponto area 0.6; Wajo 0.6 and Malino 0.615. From the results above, it can be concluded that there are polyphenolic compounds in tea samples from each region and the highest levels of polyphenols are found in the Jeneponto area.

Keywords : Cocoa leaf (*Theobroma cacao* L.); polyphenols; Tea Preparation; UV-Vis Spectrophotometry.

ABSTRAK

Daun kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki kandungan metabolit sekunder seperti senyawa polifenol, flavanoid, saponin dan tanin yang merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang berperan sebagai senyawa antioksidan. Penelitian ini bertujuan yaitu untuk mengetahui berapa kadar senyawa polifenol yang dihasilkan dari sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) Berdasarkan perbandingan tempat tumbuh yaitu daerah Wajo, Jeneponto dan Malino dengan analisis kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan analisis kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak n- heksan: etil asetat: metanol dengan perbandingan (2 : 7 :2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan analisis kuantitatif yang diukur pada panjang gelombang maksimum 768 nm dengan baku pembanding asam galat, sampel

teh mengandung senyawa polifenol berdasarkan nilai Rf yang setara dengan pembandingan asam galat yaitu 0,6. Hasil analisis kadar dari daerah Wajo sebesar 16,238mgGAE/g, daerah Jeneponto 18,102 mg/GAE/g, dan daerah Malino 6,752 mgGAE/g dan nilai Rf dari pembandingan asam galat 0,630; nilai Rf sampel dari daerah Jeneponto 0,6; Wajo 0,6 dan Malino 0,615. Dari hasil diatas, dapat disimpulkan bahwa terdapat senyawa polifenol pada sampel teh dari masing-masing daerah dan kadar polifenol terbesar terdapat pada daerah Jeneponto.

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

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan jenis tanaman beragam yang bisa tumbuh. Salah satu komoditi tumbuhan yang telah dibudidayakan dalam bentuk perkebunan dengan luas lahan yang besar di Indonesia adalah tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) yang dapat diolah menjadi produk kakao dan coklat yang mengandung antioksidan alami [1].

Daun kakao mengandung senyawa bioaktif berupa senyawa fenolat dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan, daun kakao mengandung theobromine, kafein, anthocianin, leucoanthochianin, dan catechol yang jumlahnya bervariasi yang dipengaruhi oleh umur daun dan umur tanaman. Daun kakao memiliki komponen yang sama dengan daun teh berupa senyawa polifenol 3,60% [2]. Dengan kandungan nutrisi yang dimiliki daun kakao tersebut, maka daun kakao mempunyai peluang untuk dimanfaatkan sebagai minuman penyegar atau teh.

Berdasarkan penelitian Mauizatul (2017) menunjukkan hasil bahwa polifenol yang terkandung di dalam daun kakao terdiri atas *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin gallate* (ECG), dan *epicatechin* (EC), dengan jumlah dari masing-masing senyawa tersebut dipengaruhi oleh umur daun. Daun muda mengandung total polifenol 19,0% dan kafein 2,24% dari ekstrak daun kakao, total katekin 9,75% dari total polifenol. Pada daun tua mengandung total polifenol 28,4%, dan kafein 1,33% dari ekstrak daun kakao, total katekin 5,25% dari total polifenol [3].

Berdasarkan kajian di atas maka akan dilakukan analisis kadar polifenol daun muda dari tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis berdasarkan perbandingan tempat tumbuh di wilayah Sulawesi Selatan yaitu daerah Malino, Jeneponto dan Wajo dengan iklim, suhu, pH dan letak geografis yang berbeda-beda

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu penggilingan (blender Philips), inkubator (Mettler IN55), pipet tetes, pipet volume, oven (Mettler UN-30), seperangkat alat gelas kimia (Pyrex), mikro pipet (Dragon lab), timbangan analitik (Kern ABT 220-5DM) dan spektrofotometri UV-Vis (Genesys 10S) dan Chamber.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun muda tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.), Aquades, Asam galat, larutan Follin-Ciocalteu 10%, dan natrium karbonat (Na_2CO_3) 7%, FeCl_3 1%, N-Heksan, Etil Asetat, Metanol, Kertas saring dan Lempeng KLT.

Tahap Penelitian

Pengolahan Sampel dan Pembuatan Serbuk Teh

Daun kakao yang diperoleh dari tiga daerah dibersihkan menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang melekat pada sampel, kemudian dilayukan menggunakan oven dengan suhu 90-100°C, setelah itu di giling menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk daun kakao yang sudah digiling dikeringkan menggunakan oven pada suhu 90-100°C selama 4 jam, setelah serbuk kering masukkan kedalam kantong teh kemudian siap dibuat air seduhan sediaan teh [4].

Pembuatan Air Rebusan Teh Daun kakao

Bubuk daun kakao kering ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan kedalam kantong teh, di celup ke dalam air baru mendidih sebanyak 200 ml hingga diperoleh larutan teh daun kakao [4].

Analisis Kualitatif Polifenol Sediaan Teh Daun Kakao Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Siapkan sampel sediaan teh daun kakao dari 3 daerah dan pembanding asam galat, ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler pada jarak 0,5 cm dari garis bawah. Plat KLT yang digunakan terbuat dari silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran 4 x 8 cm. Selanjutnya dielusi menggunakan fasa gerak yaitu n-heksan: etil asetat: metanol dengan perbandingan 2: 7: 2. Setelah terelusi lempeng diangkat dan dikeringkan, diamati bercak pada lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm dengan penampakan bercak FeCl₃. Hasil positif fenol jika noda berwarna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat [5].

Analisis Kuantitatif Polifenol Pada Sediaan Teh Daun Kakao

Pembuatan Reagen Natrium Karbonat 7%

Natrium karbonat ditimbang sebanyak 1,75 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest hingga 25 mL [5].

Penentuan Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum

Sebanyak 1 mL larutan asam galat konsentrasi 14 ppm ditambah 1 mL reagen Folin Ciocalteu 10%, kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1 mL larutan Na₂CO₃ 7%, dikocok hingga homogen, dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dan di dapatkan panjang gelombang 768 nm [6].

Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Asam galat ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam 10 mL aquadest sehingga diperoleh larutan asam galat dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan stok asam

galat dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan aquadest hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan tersebut dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm, 18 ppm, dan 22 ppm, dari masing-masing konsentrasi dipipet 0,5 mL larutan asam galat, 1 mL reagen folin ciocalteu 10% setelah itu campuran tersebut didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 7%. Blanko disiapkan bersamaan, 1 mL reagen Folin Ciocalteu 10%, dan 1 mL Na_2CO_3 7%. Setelah itu diinkubasi pada suhu 45°C selama 15 menit. Absorbansi ditentukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 768 nm [6].

Penentuan Kadar Polifenol Sediaan Teh Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Larutan teh dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam vial, ditambahkan 1 mL reagen folin ciocalteu 10% setelah itu campuran tersebut didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan larutan Na_2CO_3 7% sebanyak 1 mL. Campuran diinkubasi pada suhu 45°C selama 15 menit. Absorbansi sediaan teh dibaca pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dilakukan 3 kali pengulangan. Hasilnya dinyatakan sebagai mg asam galat/mL larutan sampel [6].

Analisis Data

Pengolahan data yang dihasilkan terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linear $y = a + bx$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

HASIL DAN DISKUSI

Kandungan senyawa yang terdapat pada daun kakao salah satunya adalah senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Daun kakao juga memiliki komponen yang sama dengan daun teh yaitu polifenol. Senyawa polifenol adalah salah satu senyawa yang mampu menyumbangkan atom hidroksilnya kepada radikal bebas. senyawa polifenol yang termasuk didalamnya yaitu flavonoid, teofilin, tanin, vitamin E, katekin [7].

Pada penelitian ini dilakukan pengujian kualitatif terlebih dahulu pada sediaan teh yang telah dibuat dari tiga daerah dan larutan pembanding asam galat untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa polifenol menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan hasil positif terbentuknya noda berwarna hitam (**Tabel 1**).

Berdasarkan hasil uji kualitatif senyawa polifenol metode KLT pada Tabel 1, menunjukkan bahwa setelah dielusi dan visualisasi pada lampu UV 254 dan UV 366 terdapat bercak hitam pada pembanding asam galat dan sampel, diperoleh nilai r_f asam galat 0,630; nilai r_f untuk sampel dari daerah Jeneponto nilai r_f 0,6; daerah wajo nilai r_f 0,6 dan daerah malino nilai r_f 0,615. Berdasarkan hasil profil kromatogram tersebut dapat disimpulkan

bahwa sampel sediaan teh dari daerah Jeneponto, Wajo dan Malino memiliki kandungan senyawa polifenol.

Pada pengujian asam galat dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan larutan asam galat 14 ppm pada daerah visible 400-800 nm. Dan diperoleh panjang gelombang maksimum asam galat yaitu 768 nm yang akan digunakan pada pengukuran sampel uji.

Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum untuk asam galat, selanjutnya dibuat seri konsentrasi asam galat yaitu 6, 10, 14, 18, dan 22 ppm. Setelah itu ditambahkan pereaksi Folin-Ciocalteu 10% yang akan menghasilkan warna kuning menunjukkan adanya senyawa fenol dan ditambahkan Na_2CO_3 7%. Larutan di inkubasi selama 30 menit bertujuan agar reaksi dapat berjalan sempurna sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal. Kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum 768 nm sehingga diperoleh nilai absorbansi larutan standar asam galat untuk masing-masing variasi konsentrasi (**Tabel 2**).

Hasil pengukuran variasi konsentrasi dari larutan baku asam galat dibuat kurva baku antara konsentrasi dengan absorban dan diperoleh persamaan linearitas $y = 0,0295x + 0,0493$ dengan $R^2 = 0,994$ serta nilai koefisien korelasi = 0,997 menunjukkan linearitas yang memenuhi syarat analisis. Dapat diterima dengan range 0,996 – 1. Sehingga persamaan regresi dari asam galat yang diperoleh dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan kadar senyawa polifenol pada teh daun tanaman kakao (**Gambar 2**).

Analisis kadar polifenol teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dari daerah Wajo diperoleh rata-rata kandungan polifenol 16,238 mgGAE/g (**Tabel 3**). Kadar polifenol teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dari daerah Jeneponto diperoleh rata-rata kandungan polifenol total yakni 18,102 mgGAE/g (**Tabel 4**). Hasil pengukuran kadar polifenol teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dari daerah Malino diperoleh rata-rata kandungan polifenol total yakni 6,752 mgGAE/G (**Tabel 5**).

Dari hasil analisis kadar polifenol dari sampel teh daun kakao (*Theobroma cacao* L.) berdasarkan perbedaan tempat tumbuh di tiga daerah, kadar polifenol dari daerah Malino lebih rendah dibandingkan daerah Jeneponto dan Wajo. Perbedaan kadar dari masing-masing daerah kemungkinan adanya perbedaan pH tanah dan suhu setiap daerah yang bisa mempengaruhi hasil kadar polifenol. Data yang diperoleh daerah Malino memiliki pH tanah 4.5 – 5.5 dan suhu mulai dari 10°C sampai 26°C, daerah Jeneponto memiliki pH tanah 6.58 – 6.85 mendekati netral dan suhu 21- 34°C, daerah Wajo pH tanah 5.85 – 6.16 dengan suhu 29 – 31°C, dimana syarat tumbuh tanaman kakao dapat tumbuh dengan baik berdasarkan suhu yang ideal untuk pertumbuhan 30°C- 32°C (maksimum) dan 18°C- 21°C (minimum) kakao

juga dapat tumbuh dengan baik pada suhu minimum 15°C dengan pH tanah yang ideal 6 – 7 tidak lebih tinggi dari 8serta tidak lebih rendah dari 4. Berdasarkan syarat suhu dan pH tanah yang ideal daerah Wajo dan Jeneponto memenuhi syarat tumbuh yang baik dengan suhu dan pH yang ideal. Sedangkan daerah Malino memiliki suhu yang lebih rendah dan tidak memenuhi syarat tumbuh dari pH tanah dan suhu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa teh dari daun tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) mengandung metabolit sekunder polifenol dengan kadar yang berbeda tiap daerah yaitu kadar daerah Wajo 16,238 mgGAE/g, kadar daerah Jeneponto 18,102 mgGAE/g, dan kadar daerah Malino 6,752 mgGAE/g.

REFERENSI

- [1] P. Sari, E. Utari, Y. Praptiningsih, and Maryanto, “Karakteristik Kimia-Sensori dan Stabilitas Polifenol Minuman Cokelat-Rempah,” *J. Agroteknologi*, vol. 09, no. 01, pp. 54–66, 2015.
- [2] K. K. Li *et al.*, “Cocoa tea (*Camellia ptilophylla*) water extract inhibits adipocyte differentiation in mouse 3T3-L1 preadipocytes,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. June 2015, pp. 1–11, 2016, doi: 10.1038/srep20172.
- [3] M. Hasanah, S. Amaliani, and Y. Rikmasari, “Analisis Antioksidan dari Berbagai Fraksi Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.),” *J. Ilm. Bakti Farm.*, vol. 2, no. 1, pp. 33–40, 2017, [Online]. Available: <http://ejournal.stifibp.ac.id/index.php/jibf/article/view/16>
- [4] S. Supriyanto, P. Darmadji, and I. Susanti, “STUDI PEMBUATAN TEH DAUN TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L) SEBAGAI MINUMAN PENYEGAR (Production of Tea from Cocoa Leaves (*Theobroma cacao* L) as Refreshment Beverage),” *J. Agritech*, vol. 34, no. 04, p. 422, 2015, doi: 10.22146/agritech.9437.
- [5] S. I. Ayu, L. Pratiwi, and S. N. Nurbaeti, “Uji Kualitatif Senyawa Fenol dan Flavonoid Dalam Ekstrak N-Heksan Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis,” *J. Mhs. Farm. Fak. Kedokt. UNTAN*, vol. 4, no. 1, pp. 1–6, 2019.
- [6] I. P. Sari, Z. Abidin, and S. Maryam, “ANALISIS KADAR FENOLIK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala*) (Lam.) de Wit) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis,” *J. Ilm. As-Syifaa*, vol. 12, no. 2, pp. 136–143, 2021, doi: 10.33096/jifa.v12i2.681.
- [7] A. M. M. Jalil and A. Ismail, “Polyphenols in cocoa and cocoa products: Is there a link between antioxidant properties and health?,” *Molecules*, vol. 13, no. 9, pp. 2190–2219, 2008, doi: 10.3390/molecules13092190.

TABEL

Tabel 1. Hasil analisis kualitatif senyawa polifenol dengan KLT menggunakan Asam Galat sebagai pembanding

Kode	Warna noda
AG	Hitam (+)
A	Hitam (+)
B	Hitam (+)
C	Hitam (+)

Keterangan :

- AG : Asam galat
- A : Jenepono
- B : Wajo
- C : Malino

Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Asam Galat Pada Panjang Gelombang (λ_{max}) 768 nm.

Konsentrasi (ppm)	Absorban
6	0,225
10	0,336
14	0,464
18	0,602
22	0,681

Tabel 3. Hasil penetapan kadar polifenol teh daun tanaman kakao (*Thebroma cacao* L.) dari daerah Wajo.

Replikasi	Berat sampel (gram)	Absorban Sampel	Kandungan Fenol total (mgGAE/g)	Rata-rata kandungan polifenol total (mgGAE/g)
1	2,0000	0,528	16,227	16,238
2	2,0000	0,528	16,227	
3	2,0000	0,529	16,261	

Tabel 4. Hasil penetapan kadar polifenol teh daun tanaman kakao (*Thebroma cacao* L.) dari daerah JenePonto.

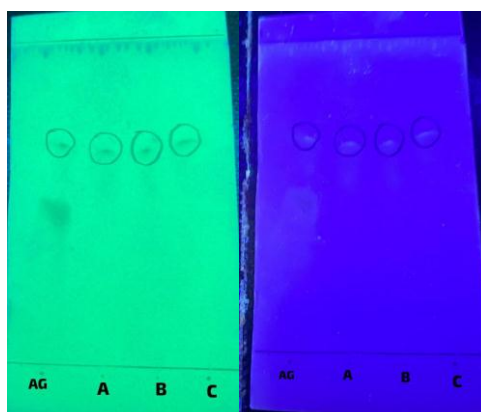
Replikasi	Berat sampel (gram)	Absorban Sampel	Kandungan Fenol total (mgGAE/g)	Rata-rata kandungan polifenol total (mgGAE/g)
1	2,0000	0,585	18,159	18,102
2	2,0000	0,582	18,057	
3	2,0000	0,583	18,091	

Tabel 5. Hasil penetapan kadar polifenol teh daun tanaman kakao (*Thebroma cacao* L.) dari daerah Malino

Replikasi	Berat sampel (gram)	Absorban Sampel	Kandungan Fenol total (mgGAE/g)	Rata-rata kandungan polifenol total (mgGAE/g)
1	2	0,262	7,210	6,752
2	2	0,256	7,006	
3	2	0,228	6,057	

GAMBAR

Gambar 1. Hasil analisis kualitatif senyawa polifenol dengan KLT menggunakan Asam Galat sebagai pembanding



Keterangan :
 AG : Asam Galat
 A : Sampel daerah jene ponto
 B : Sampel daerah Wajo
 C : Sampel daerah malino

Gambar 5. Hasil Kurva Kalibrasi Asam Galat Pada Panjang Gelombang Maksimum 678 nm.

