

PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP KADAR POLIFENOL TOTAL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) KLON MCC02 ASAL SULAWESI SELATAN

Dedy Ma'ruf¹, Sartini², Subehan², Gemini Alam², Herlina Rante², Firzan Nainu²

¹ Program Magister Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

² Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu produsen kakao (*Theobroma cacao* L.) di dunia dengan berbagai genotype / klon. Salah satu klon terbesar di Sulawesi selatan adalah MCC02 (Masamba Cacao Clone 02). Klon tersebut telah ditanam di beberapa kabupaten di Sulawesi selatan. Polifenol kakao diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba. Biji kakao mengandung komponen polifenol yang tinggi, salah satu faktor yang mempengaruhi kadar polifenol dalam ekstrak adalah metode ekstraksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari metode ekstraksi terhadap kadar polifenol dari ekstrak biji kakao. Buah kakao klon MCC02 diperoleh dari tiga kabupaten yaitu Pinrang, Masamba, dan Bantaeng. Biji kakao kering non fermentasi terlebih dahulu dikeluarkan dari kulit bijinya, kemudian lemaknya dihilangkan dengan menggunakan alat press lemak. Biji kakao tersebut masing-masing diekstraksi menggunakan metode maserasi (M), Microwave Assisted Extraction (MAE), dan Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE). Hasil ekstraksi dengan menggunakan metode M, MAE dan UAE diperoleh rendemen, masing-masing: $15,29 \pm 0,66$ %, $13,13 \pm 0,28$ % dan $12,77 \pm 1,12$ % dan kandungan rata-rata polifenol total, yaitu: $(28,89 \pm 4,53)$ %, $(31,90 \pm 3,34)$ %, $(36,07 \pm 4,41)$ % dihitung ekuivalen asam gallat. Dari ketiga metode ini kadar polifenol total tertinggi ada pada metode ekstraksi menggunakan Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE).

Kata Kunci :

Theobroma cacao L., Klon MCC02, polifenol total, metode ekstraksi

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara produsen kakao terbesar ketiga setelah Pantai Gading dan Ghana, ada sekitar 26 genotype atau klon kakao di Indonesia. Biji kakao dari 10 genotype di Indonesia diketahui memiliki kadar lemak yang tinggi yaitu rata-rata sekitar 49- 52 %, selain itu mengandung senyawa polifenol sekitar 5,46 % (Febrianto & Zhu, 2019, 2022; Sari et al., 2022). Biji kakao non fermentasi mengandung senyawa polifenol sekitar 13,5 %, utamanya senyawa-senyawa flavanols, seperti: epicatechin, catechin, procyanidin B2 dan B1, dan oligomer serta polimer dari catechin dan epicatechin ((Martin & Ramos, 2021). Kandungan polifenol kakao tergantung pada faktor genetik, tempat tumbuh, dan kematangan buah (Oracz et al., 2015). Selain itu metode pengolahan pasca panen juga dapat mempengaruhi kadar polifenol dalam biji kakao (Gil et al., 2021).

Review hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa polifenol kakao memberikan efek positif terhadap kesehatan dan penyakit-penyakit kronik, seperti: menurunkan resiko penyakit jantung koroner, mencegah obesitas, menurunkan hipertensi, mencegah penuaan dini, serta mencegah karies gigi (Martin & Ramos, 2021; Montagna et al., 2019). Untuk memudahkan penggunaan jika dibuat suatu sediaan, maka biasanya dilakukan ekstraksi kandungan bioaktifnya, termasuk polifenol.

Metode ekstraksi mempengaruhi konsentrasi zat aktif yang tersari dari simplisia karena beberapa senyawa aktif bersifat relatif tidak stabil dan dapat terurai dengan pemanasan dan sinar UV. Terdapat

berbagai macam metode ekstraksi, antara lain: metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern. Metode ekstraksi konvensional terbagi dua diantaranya metode dingin yaitu maserasi, dan metode panas yaitu refluks. Sedangkan ekstraksi modern diantaranya, yaitu: Microwave Assisted Extraction (MAE), dan Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) (Biesaga, 2011).

Salah satu klon yang ada di Sulawesi Selatan adalah MCC02 (Masamba Cacao Clone 02). Kakao MCC02 termasuk salah satu klon hibrida dari Forastero, keping biji berwarna ungu (Sari et al., 2022). Kakao MCC02 banyak ditanam di beberapa kabupaten di Sulawesi Selatan, sehingga perlu dicari metode ekstraksi yang dapat optimal mengesktraksi polifenol kakao.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar total polifenol dari ekstrak biji kakao MCC02 dan menentukan dari ketiga metode ekstraksi yang manakah memberikan kadar total polifenol tertinggi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat pres lemak (Koleksi dari Balai Besar Industri Hasil Pertanian), evaporator (Buchi®), microwave (Panasonic®), pipet mikro (Mettler®), sonikator (Vwr®), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu®), timbangan analitik (Ohaus®), dan waterbath (Mettler®).

Masuk 28-07-2022

Revisi 06-08-2023

Diterima 26-09-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i3.27962

Korespondensi

Dedy Ma'ruf

himadipo@gmail.com

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

30 Desember 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah biji Kakao klon MCC02 (asal kabupaten Pinrang, Masamba, dan Bantaeng), aquadest, etanol 70%, asam gallat (Sigma-Aldrich®), metanol, reagen Folin-Ciocalteu (Merck®), dan natrium karbonat.

Preparasi Biji Kakao

Buah kakao yang diperoleh dikeluarkan bijinya dan disortasi basah. Selanjutnya dilakukan inaktivasi enzim polifenol menggunakan metode blanching (direndam dengan air panas selama 15 menit) dan lendir/pulpa kakao dilepaskan dari biji. Biji kakao dikeringkan menggunakan fruit dehydrator dan kulit bijinya dilepaskan. Keping biji diserbukkan menggunakan blender dan diayak dengan derajat halus 4/18.

Ekstraksi Biji Kakao

Masing-masing 1000 g serbuk biji kakao nonfermentasi dihilangkan kadar lemaknya menggunakan mesin pengepres lemak suhu 60°C. Kemudian di ekstraksi menggunakan cairan penyari etanol 70% dengan masing-masing yaitu metode maserasi 3x24 jam, Microwave Assisted Extraction (MAE) selama 30 menit, dan Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) selama 30 menit. Hasil ekstraksi disaring menggunakan pompa vakum. Filtrat dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing ekstrak yang diperoleh dihitung rendemennya.

Penetapan Kadar Polifenol Total Ekstrak Biji Kakao

Penetapan kadar polifenol total menggunakan metode spektrofotometri menggunakan pereaksi Folin-ciocalteu berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (Kemenkes RI, 2011), yaitu:

Penyiapan sampel uji dan baku standar

Ekstrak biji kakao ditimbang saksama lebih kurang 0,2 g, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, ditambahkan 25 mL metanol P, diaduk selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Disaring ke dalam labu tentukur 25 mL, tambahkan metanol P melalui penyaring sampai tanda batas.

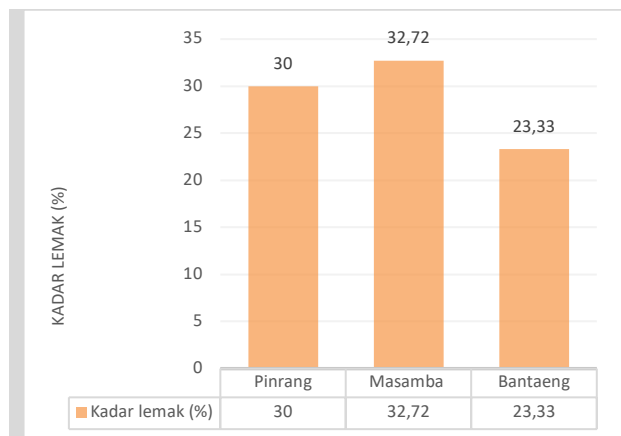
Ditimbang saksama 10 mg asam gallat, dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL, dilarutkan dengan Etanol sampai tanda batas. Dibuat seri pengenceran dengan kadar berturut-turut 100, 70, 50, 30, 15 dan 5 µg/mL.

Prosedur pengujian

Masing-masing 1,0 mL larutan uji dan seri larutan pembanding dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai, ditambahkan 5,0 mL larutan Folin-Ciocalteu LP (7,5 % dalam air). Didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4,0 mL NaOH 1%, diinkubasi selama 1 jam. Diukur serapan masing-masing larutan pada panjang gelombang serapan maksimum ± 730 nm. Dilakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama, tanpa penambahan larutan uji. Dibuat kurva kalibrasi dan dihitung kadar larutan uji.

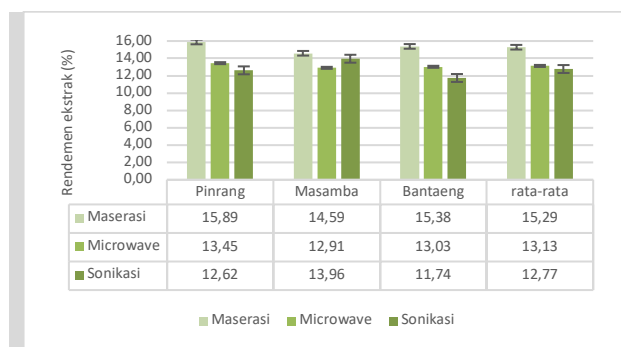
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sebelum dilakukan ekstraksi polifenol terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar lemak kakao menggunakan alat pengepresan lemak secara mekanik. Menurut penelitian sebelumnya, adanya lemak kakao dapat menurunkan kadar polifenol yang terekstraksi (Maldonado, 2023). Hasil Penimbangan lemak kakao klon MCC02 diperoleh hasil seperti terlihat pada gambar 1, dengan masing-masing kabupaten yaitu: Pinrang 30 %, Masamba 32,72 %, Bantaeng 23,33 %. Penelitian sebelumnya yang mengekstraksi lemak kakao menggunakan metode sokletasi



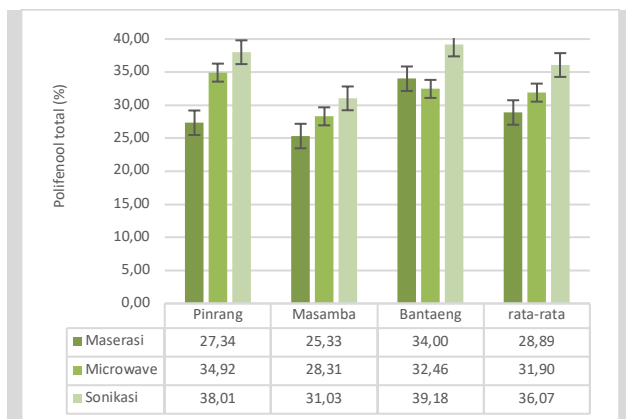
Gambar 1. Kadar Lemak biji Kakao berdasarkan asal daerah tempat tumbuh

dengan pelarut n-heksana, diperoleh hasil untuk kabupaten Bantaeng sekitar 25,65 %, kabupaten Pinrang sekitar 38,21 % (Ariyanti et al., 2021). Perbedaan ini kemungkinan karena jenis klon kakao yang berbeda dan metode ekstraksi yang berbeda.



Gambar 2. Kadar rendemen ekstrak etanol biji kakao dari tiga metode ekstraksi

Serbuk biji kakao yang telah dihilangkan lemaknya, diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70 % dengan perbandingan 1: 10 pada masing-masing metode. Adapun perlakuan tiap metode yaitu dengan metode ekstraksi maserasi selama 3 hari, ekstraksi metode MAE, dan ekstraksi metode UAE selama 30 menit diperoleh rendemen seperti terlihat pada gambar 2. Dari gambar 2 terlihat bahwa rendemen ekstrak etanol kulit buah kakao terbesar ada pada metode maserasi, kemungkinan karena waktu maserasi yang lebih lama, yaitu 3 hari, sehingga senyawa-senyawa yang mudah larut pada suhu kamar akan banyak yang terekstraksi, tetapi data ini berbanding terbalik dengan kadar polifenol yang terekstraksi. Metode maserasi memiliki rata-rata kadar polifenol total lebih kecil dibanding metode lainnya. Metode sonikasi memiliki rata-rata kadar polifenol total tertinggi, yaitu: $36,07 \pm 4,41$ %. Kelebihan metode ekstraksi UAE dengan bantuan ultrasonikasi/getaran tinggi adalah waktu ekstraksi lebih pendek, pemakaian energi yang lebih rendah dan jumlah pelarut yang dibutuhkan juga lebih sedikit serta dengan persentase kadar senyawa polifenol yang tinggi dibanding metode MAE dan konvensional seperti maserasi (Medina-Torres et al., 2017). Efek mekanis yang dihasilkan oleh UEA mengubah morfologi dinding sel, dan diperoleh permukaan yang lebih berpori, sehingga memudahkan ekstraksi. Dengan demikian, komponen-komponen dalam keadaan bebas bermigrasi dari sampel ke larutan. Selain itu ultrasonik mempercepat pergerakan molekul dalam larutan sehingga membantu penggabungan komponen dengan larutan secara cepat dan efektif (Aguilar-Hernández et al., 2019).



Gambar 3. Kadar polifenol total ekstrak etanol biji kakao dari tiga metode ekstraksi

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar fenolik total ekstrak biji kakao. Kadar polifenol total ekstrak biji kakao tertinggi ada pada metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE), yaitu: $36,07 \pm 4,41\%$ dihitung ekivalen dengan asam gallat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar-Hernández, G., De Lourdes García-Magaña, M., De los Ángeles Viver-Vera, M., Sáyago-Ayerdi, S. G., Sánchez-Burgos, J. A., Morales-Castro, J., Anaya-Esparza, L. M., & González, E. M. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *annona muricata* by-products and pulp. *Molecules*, 24(5), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules24050904>
- Ariyanti, M., Rosniati, R., Yumas, M., Wahyuni, W., & Indriana, D. (2021). Kandungan Asam Amino Dan Asam Lemak Kakao Bubuk Tidak Fermentasi Dengan Perlakuan Penyangraian Uap Panas Suhu Rendah. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 16(2), 70. <https://doi.org/10.33104/jihp.v16i2.7052>
- Biesaga, M. (2011). Influence of extraction methods on stability of flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1218(18), 2505–2512. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>
- Febrianto, N. A., & Zhu, F. (2019). Diversity in Composition of Bioactive Compounds among 26 Cocoa Genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(34), 9501–9509. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03448>
- Febrianto, N. A., & Zhu, F. (2022). Composition of methylxanthines, polyphenols, key odorant volatiles and minerals in 22 cocoa beans obtained from different geographic origins. *Lwt*, 153(August 2021), 112395. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112395>
- Gil, M., Uribe, D., Gallego, V., Bedoya, C., & Arango-Varela, S. (2021). Traceability of polyphenols in cocoa during the postharvest and industrialization processes and their biological antioxidant potential. *Heliyon*, 7(8), e07738. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07738>
- Kemenkes R.I. (2011). *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia* (Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat (ed.); Flrst Edit). Kemenkes R.I.
- Maldonado, Y. E. (2023). Drying Temperature on Catechins , Procyanidins and.
- Martin, M. Á., & Ramos, S. (2021). Impact of cocoa flavanols on human health. *Food and Chemical Toxicology*, 151(March). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112121>
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Montagna, M. T., Diella, G., Triggiano, F., Caponio, G. R., De Giglio, O., Caggiano, G., Di Ciaula, A., & Portincasa, P. (2019). Chocolate, “food of the gods”: History, science, and human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(24). <https://doi.org/10.3390/ijerph16244960>
- Oracz, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E. (2015). The Content of Polyphenolic Compounds in Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.), Depending on Variety, Growing Region, and Processing Operations: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(9), 1176–1192. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>
- Sari, I. A., Murti, R. H., Misnawi, Putra, E. T. S., & Susilo, A. W. (2022). Sensory profiles of cocoa genotypes in Indonesia. *Biodiversitas*, 23(2), 648–654. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230205>