

Tinjauan Pustaka

Potensi Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Antioksidan dalam Mengatasi Stres Oksidatif

Ni Putu Arista Dewi^{1*}, Ni Made Pitri Susanti²

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana,
aristaadewi04@gmail.com

² Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana,
dekpitsusanti@unud.ac.id

* Penulis Korespondensi

Abstrak— Indonesia menghadapi tantangan dalam permasalahan kesehatan akibat penyakit degeneratif yang sering dikaitkan dengan stres oksidatif. Radikal bebas yang berperan dalam kerusakan seluler dan berbagai penyakit seperti kanker dan diabetes, sehingga diperlukan antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Kajian literatur ini bertujuan untuk dapat mengetahui potensi kakao sebagai agen antioksidan. Data tinjauan diperoleh melalui *search engine* seperti Google Scholar dan PubMed yang diterbitkan dalam 5 tahun terakhir baik artikel dari nasional maupun internasional berupa *research article* dengan kata kunci yakni “*Theobroma cacao*”, “Kakao”, “Antioksidan”, dan “*Antioxidant*”. Berdasarkan hasil literatur yang telah dikaji sebanyak 17 artikel yang memenuhi kriteria inklusi, kakao memiliki potensi sebagai agen antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan ini didukung dengan adanya senyawa fenolik dalam kakao. Potensi kakao sebagai sumber antioksidan alami dapat dimanfaatkan dalam suplemen kesehatan yang bertujuan untuk mencegah atau mengurangi dampak stres oksidatif yang berkontribusi terhadap penyakit degeneratif.

Kata Kunci— Antioksidan, Kakao, *Theobroma cacao*.

1. PENDAHULUAN

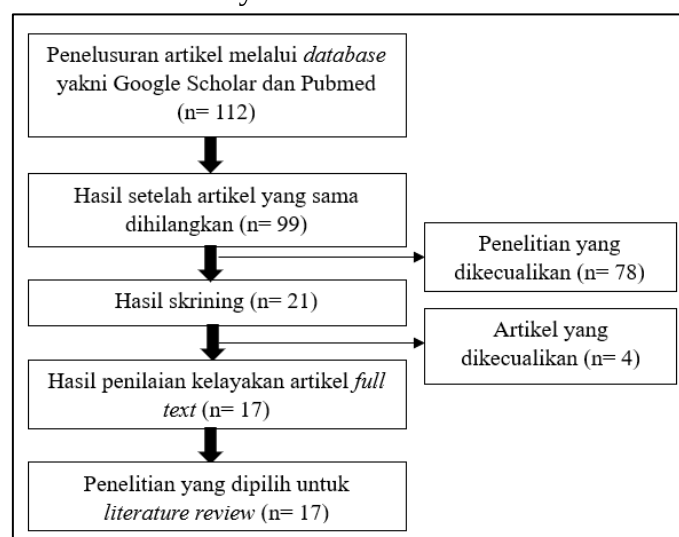
Indonesia sebagai negara berkembang, pada saat ini menghadapi tantangan dalam permasalahan kesehatan. Penyakit degeneratif berperan signifikan dalam tingginya angka kematian di Indonesia. Peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh berpotensi memicu berbagai penyakit degeneratif yakni diabetes melitus, kanker, aterosklerosis. Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang memiliki elektron tunggal yang tidak berpasangan pada lapisan terluarnya, membuatnya reaktif dan cenderung mencari pasangan dengan mengambilnya dari molekul lain yakni protein, lipid, DNA, karbohidrat. Proses ini menyebabkan radikal bebas menjadi beracun bagi molekul biologis atau sel. Ketika radikal bebas menarik elektron dari DNA, hal ini dapat mengubah struktur DNA, yang berpotensi memicu perkembangan sel kanker bila mutasi berlangsung lama. Selain itu, radikal bebas juga berkontribusi pada proses penuaan. Reaksi radikal bebas yang dimulai di mitokondria akan merangsang produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang sangat reaktif. Penumpukan ROS yang berkelanjutan dapat mengakibatkan stres oksidatif, yakni ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan, dimana produksi ROS melebihi kapasitas sistem pertahanan antioksidan tubuh. Aktivitas fisik yang intens dan stres psikologis dapat memicu stres oksidatif, sehingga mengganggu mekanisme pertahanan antioksidan tubuh (Mulianto, 2020).

Radikal bebas juga terlibat dalam proses degenerasi, yang menyebabkan penurunan kemampuan jaringan untuk memperbaiki dan mempertahankan fungsinya. Untuk melindungi diri dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas, tubuh mensintesis senyawa

antioksidan yang berperan dalam menghambat atau menghentikan reaksi oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas. Antioksidan cenderung lebih mudah teroksidasi, sehingga radikal bebas akan lebih dulu menyerang antioksidan daripada molekul biologis lainnya, sehingga antioksidan berfungsi sebagai pelindung terhadap kerusakan oksidatif pada sel. Meskipun tubuh secara alami memproduksi antioksidan, jumlahnya sering kali tidak mencukupi untuk melawan radikal bebas yang dihasilkan tubuh sendiri. Oleh karena itu, diperlukan suplementasi antioksidan dari sumber eksternal. Meskipun antioksidan sintetik seperti *Butylated Hydroxy Toluene* (BHT) efektif, tetapi penggunaannya dapat menimbulkan risiko kesehatan. Hal ini karena BHT diketahui bersifat karsinogenik pada hewan uji. Oleh karena itu, diperlukan alternatif antioksidan yang lebih aman dari sumber alami, salah satunya yakni kakao (*Theobroma cacao* L.) (Asih dkk., 2022). *Theobroma cacao* telah terbukti memiliki sifat antikarsinogenik, antiinflamasi, antiaterogenik, antimikroba, analgesik, vasodilatasi, dan antioksidan. Oleh karena itu, tujuan *literature review* ini adalah untuk mengeksplorasi potensi kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai antioksidan dalam mengatasi stres oksidatif.

2. METODE

Metode penulisan dilakukan dengan menggunakan kajian literatur (*literature review*). Data diperoleh dengan *search engine* seperti Google Scholar dan PubMed yang diterbitkan dalam 5 tahun terakhir baik artikel dari nasional ataupun internasional berupa *research article*. Kata kunci yang digunakan dalam pencarian meliputi “*Theobroma cacao*”, “Kakao”, “Antioksidan”, dan “*Antioxidant*”. Kriteria inklusi yang digunakan yakni artikel yang membahas aktivitas antioksidan dari *Theobroma cacao* L.. Kriteria eksklusi diterapkan pada artikel yang tidak memuat informasi tentang aktivitas antioksidan. Berdasarkan kriteria tersebut, terpilihlah 17 artikel yang sesuai. Artikel yang memenuhi kriteria inklusi akan dianalisis secara mendalam dan hasilnya disusun dalam *literature review*.



Gambar 1. Diagram Alir Penelusuran Artikel untuk *Literature Review*

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) yang tergolong ke dalam famili Sterculiaceae merupakan tanaman perkebunan yang kaya akan polifenol dan flavonoid, senyawa yang memiliki sifat antioksidan (Chan dkk., 2024). Antioksidan merupakan molekul yang dapat mengatasi dampak

negatif dari radikal bebas. Fungsi utamanya adalah menghentikan atau memperlambat reaksi berantai oksidasi dengan menetralkan radikal bebas atau menghambat reaksi oksidasi yang lainnya. Stres oksidatif yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan kapasitas sistem antioksidan tubuh, merupakan pemicu utama berbagai penyakit kronis dan inflamasi. ROS termasuk radikal hidroksil ($\text{OH}^\cdot$), anion superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$), dan hidrogen peroksida (H_2O_2), yang merupakan molekul turunan oksigen yang dihasilkan selama proses oksidasi dan memiliki peran sentral dalam munculnya penyakit yang disebabkan oleh akumulasi radikal bebas. Ketika produksi radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan tubuh, maka pertahanan tubuh berupaya untuk menghambat produksi radikal bebas guna mencegah terjadinya stres oksidatif (Wibawa, 2020). Kandungan kimia dalam tanaman kakao berperan dalam aktivitas antioksidannya. Sifat antioksidan pada senyawa ini dapat membantu mencegah ketidakseimbangan produksi radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Sari, 2023). Hasil dari studi literatur terkait potensi kakao sebagai antioksidan ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Data Studi Literatur Aktivitas Antioksidan dari Kakao (*Theobroma cacao* L.)

No	Bagian Tumbuhan	Metode	Hasil Penelitian	Referensi
1	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak kulit buah kakao memiliki nilai IC_{50} sebesar 62 ppm dibandingkan dengan vitamin C sebesar 5,31 ppm.	Rahayu <i>et al.</i> , 2023
2	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak aseton:air kulit buah kakao memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi (63,230 mg/L) dibandingkan dengan ekstrak etanol 70% (58,014 mg/L).	Mu'nisa & Pagarra, 2019
3	Biji kakao	FRAP	Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada ekstrak biji kakao UTGC01 dengan nilai 56,17 mmolTE/g.	Fajardo <i>et al.</i> , 2022
4	Kulit buah kakao	DPPH	Fraksi etil asetat kulit buah kakao (TCE8) menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan IC_{50} sebesar 6,089 ppm.	Umri <i>et al.</i> , 2019
5	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak diklorometana kulit buah kakao memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50}	Febrina <i>et al.</i> , 2024

No	Bagian Tumbuhan	Metode	Hasil Penelitian	Referensi
			sebesar 14,59 ppm.	
6	Biji kakao	DPPH	Ekstrak biji kakao fermentasi edel memperoleh nilai IC ₅₀ sebesar 33,97 ppm, sedangkan pada ekstrak biji kakao non fermentasi edel memperoleh nilai sebesar 9,56 ppm.	Sutjiati <i>et al.</i> , 2022
7	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak etanol kulit buah kakao menunjukkan kemampuan penangkapan radikal DPPH sebesar 66,6% dengan nilai IC ₅₀ 35,26 µg/mL, sedangkan ekstrak diklorometana kulit buah kakao mencapai 82,7% dengan nilai IC ₅₀ 23,88 µg/mL.	El-Lateef <i>et al.</i> , 2024
8	Kulit biji kakao	DPPH, ABTS, FRAP	Diujikan aktivitas antioksidan dari tepung yang dihasilkan dari kulit biji kakao dengan ukuran partikel yang berbeda. Dengan metode DPPH diperoleh nilai kapasitas antioksidan berkisar antara 2,35-5,53 mg Trolox ekuivalen/g sampel. Pada metode ABTS diperoleh nilai aktivitas antioksidan berkisar antara 3,39-11,55 mg Trolox ekuivalen/g sampel. Pada metode FRAP diperoleh nilai kapasitas reduksi antara 3,84-7,62 mg Trolox ekuivalen/g sampel.	Botella-Martínez <i>et al.</i> , 2021
9	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak metanol kulit buah kakao menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan	Sariyanto, 2023

No	Bagian Tumbuhan	Metode	Hasil Penelitian	Referensi
			nilai IC ₅₀ sebesar 0,0736 µg/mL.	
10	Biji kakao	DPPH	Ekstrak aseton biji kakao menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH mencapai 42,16% dibandingkan ekstrak air biji kakao hanya 4,90%.	Dogbey <i>et al.</i> , 2020
11	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak kasar dari varian kuning dan ungu pada kakao memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC ₅₀ masing-masing 35,7 dan 42,0 µg/mL.	Indrianingsih <i>et al.</i> , 2021
12	Kulit buah kakao	DPPH	Ekstrak air kulit buah kakao yang diekstraksi dengan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai EC ₅₀ terendah sebesar 9,61 ± 0,64 µg/mL dibandingkan sampel lainnya.	Yahya <i>et al.</i> , 2021
13	Kulit batang kakao	<i>In vivo</i>	Pemberian ekstrak air kulit batang kakao pada tikus menunjukkan hasil signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan yakni Katalase (CAT), Superoxide Dismutase (SOD), dan Glutathione Peroxidase (GPx).	Okwori <i>et al.</i> , 2021
14	Biji kakao	Voltametri hidrodinamik	Biji kakao mentah memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, diikuti dengan biji kakao dipanggang, dan produk samping yang dihilangkan kulitnya memiliki aktivitas antioksidan terendah.	Ye <i>et al.</i> , 2021
15	Biji kakao	Spektrofotometri	Hasil pengukuran total kapasitas ekstrak metanol biji	Wibawa, 2021

No	Bagian Tumbuhan	Metode	Hasil Penelitian	Referensi
			kakao diperoleh sebesar 27,730 mg/mL.	
16	Kulit batang kakao	DPPH dan FRAP	Uji DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol kasar kulit batang kakao memiliki nilai IC_{50} sebesar 191,75 μ g/mL dan pada fraksi eter petrol menunjukkan aktivitas terbaik dengan nilai IC_{50} terendah (134,67 μ g/mL), sedangkan fraksi kloroform memiliki IC_{50} tertinggi (220,61 μ g/mL). Uji FRAP juga menunjukkan hasil yang serupa, di mana fraksi eter petrol memiliki kemampuan reduksi tertinggi (421,5 μ M Fe(II)/g), lebih tinggi daripada ekstrak kasar (337,2 μ M Fe(II)/g), dan fraksi etil asetat (254,1 μ M Fe(II)/g), sementara fraksi kloroform memiliki potensi terendah (52,0 μ M Fe(II)/g).	Oriakhi <i>and</i> Oikeh, 2020
17	Kulit biji kakao	DPPH dan FRAP	Hasil menunjukkan bahwa ekstrak yang menggunakan pelarut eutetik berbasis kolin klorida terutama yang dicampur dengan air sebanyak 50% memberikan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan kontrol yang menggunakan pelarut etanol 70%.	Benítez-Correa <i>et al.</i> , 2023

Kakao berpotensi sebagai sumber antioksidan bagi tubuh manusia. Berdasarkan hasil yang tercantum pada Tabel 1, aktivitas antioksidan kakao telah terbukti. Salah satu metode pengujian untuk mengukur aktivitas antioksidan kakao yakni *Diphenyl Picryl Hydrazyl* (DPPH). DPPH adalah radikal bebas yang relatif stabil dibandingkan dengan jenis radikal bebas lainnya, mudah diperoleh di pasaran, dan mudah bereaksi dengan larutan uji. Prinsip kerja dari metode DPPH yakni reaksi oksidasi-reduksi. Prinsip pengujian antioksidan dengan menggunakan DPPH melibatkan reaksi antara senyawa antioksidan dan radikal DPPH melalui donasi atom hidrogen. Reaksi ini mengakibatkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning, kemudian diukur pada panjang gelombang cahaya tampak antara 380-780 nm.

Aktivitas antioksidan dinilai berdasarkan *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}). IC_{50} mengacu pada konsentrasi substrat atau sampel yang dibutuhkan untuk mengurangi aktivitas DPPH sebesar 50%, atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang mampu mengurangi karakter radikal DPPH sebesar 50. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dari suatu zat. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan rumus dari persamaan regresi linier, dimana sumbu x menggambarkan hubungan antara fraksi antioksidan dalam persentase, sementara sumbu y mewakili hasil pengukuran replikasi (Laksono, 2023).

Tabel 2. Tingkat Intensitas Antioksidan

Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Intensitas Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-250	Sedang
250-500	Lemah
>500	Tidak aktif

Sumber: Laksono, 2023

Metode uji lainnya yakni ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)). Uji ABTS adalah metode yang digunakan untuk mengukur kapasitas total antioksidan dengan cara mengukur senyawa untuk menetralkan radikal kation $ABTS^{*+}$. Radikal ini memiliki warna biru hijau dengan puncak absorbansi pada 734 nm dan warnanya akan memudar saat berinteraksi dengan antioksidan, hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan. $ABTS^{*+}$ dihasilkan dari ABTS melalui oksidasi dengan agen seperti kalium persulfat. Uji ini dapat diadaptasi untuk penggunaan otomatis, mikro pelat, teknik injeksi aliran, dan dikombinasikan dengan HPLC untuk analisis senyawa bioaktif. Uji ABTS efektif untuk menilai antioksidan dalam berbagai senyawa, baik hidrofobik maupun hidrofilik, dan telah diperluas untuk aplikasi praktis seperti perangkat berbasis kertas untuk analisis simultan aktivitas antioksidan dan total fenolik dalam sampel. Selain itu, terdapat metode uji *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Uji FRAP adalah metode untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan menilai kemampuan senyawa dalam mereduksi ion besi ferrik (Fe^{3+}) menjadi ion ferrous (Fe^{2+}) dalam kondisi pH asam. Aktivitas antioksidan ditentukan dari peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm, yang menunjukkan pengurangan kompleks ion besi. Uji ini dapat menggunakan berbagai ligan, seperti tripiridiltriazina (TPTZ) atau ferrisianida. Uji ini dapat dilakukan dengan metode elektrokimia untuk meningkatkan sensitivitas. Meskipun sederhana, murah, dan tidak memerlukan peralatan khusus, tetapi uji FRAP memiliki kekurangan seperti variasi hasil tergantung pada waktu analisis dan reaksi dengan antioksidan (Munteanu, 2021). Voltametri hidrodinamik adalah metode yang juga digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan pemanfaatan reaksi redoks yang terjadi pada permukaan elektroda, penggunaan volume sampel yang kecil dan sensitivitas tinggi (Ye *et al.*, 2021).

Pada penelitian oleh Rahayu *et al.* (2023), dilakukan uji kuantitatif aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah kakao menggunakan uji DPPH dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak kulit buah kakao sebesar 62 ppm, mengindikasikan aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,31 ppm. Analisis KLT juga mengidentifikasi senyawa fenolik dalam ekstrak kulit buah kakao yang berperan sebagai antioksidan.

Pada penelitian oleh Mu'nisa & Pagarra (2019), menguji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao menggunakan metode DPPH. Ekstrak diperoleh dengan pelarut aseton:air dan etanol 70%. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut aseton:air (63,230 mg/L) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70% (58,014 mg/L). Ekstrak kulit buah kakao memiliki senyawa fenolik seperti catechins dan proanthocyanidins yang berperan dalam aktivitas antioksidannya. Ekstrak aseton cenderung lebih efektif dalam menangkap radikal DPPH karena senyawa fenolik dalam kakao lebih larut dalam aseton dibandingkan dengan etanol.

Pada penelitian oleh Fajardo *et al.* (2022), dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao menggunakan metode FRAP yang dimodifikasi dari Benzie dan Strain (1996). Metode ini melibatkan penambahan 0,28 mL ekstrak terlarut ke dalam 2,1 mL larutan FRAP, yang kemudian diinkubasi selama 4 menit pada suhu 37°C. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm menggunakan sel quartz. Hasil uji menunjukkan bahwa klon UTGC01 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yakni 56,17 mmolTE/g. Aktivitas ini mengindikasikan kemampuan yang signifikan dalam mereduksi ion ferrik menjadi ion ferrous, yang menunjukkan kapasitas antioksidan yang kuat dari ekstrak tersebut.

Pada penelitian oleh Umri *et al.* (2019), menguji uji aktivitas antioksidan pada ekstrak dan fraksi etil asetat kulit buah kakao menggunakan metode DPPH. Vitamin C sebagai kontrol positif dan DPPH sebagai kontrol negatif. Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang relatif lemah dengan IC_{50} sebesar 163,35 ppm. Fraksi TCE₁-TCE₆ memiliki aktivitas lemah dengan IC_{50} diatas 150 ppm, sementara fraksi TCE₇-TCE₉ menunjukkan aktivitas yang relatif kuat dengan IC_{50} antara 62 - 75 ppm. Fraksi TCE₈ memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan IC_{50} sebesar 6,089 ppm. Aktivitas antioksidan ini tidak terlepas dengan keberadaan senyawa polifenolik pada kulit buah kakao.

Pada penelitian oleh Febrina *et al.* (2024), menguji uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi pada kulit buah kakao menggunakan metode DPPH. Ekstrak diklorometana kulit buah kakao menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} $14,59 \pm 0,54$ ppm. Sebaliknya, ekstrak metanol kulit dan n-heksan kulit buah kakao menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih lemah dengan nilai IC_{50} masing-masing $280,22 \pm 0,32$ ppm dan $155,76 \pm 1,10$ ppm. Fraksi dari ekstrak diklorometana diuji lebih lanjut. Pada fraksi ekstrak diklorometana ke-5 dan 6 menunjukkan aktivitas antioksidan sedang, sementara fraksi ke-1 hingga 5 menunjukkan aktivitas lemah. Subfraksi 4.4 dari ekstrak diklorometana memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC_{50} $38,66 \pm 0,96$ ppm. Aktivitas antioksidan ini terkait dengan kandungan senyawa polifenolik dalam ekstrak yang berperan dalam menetralkan radikal bebas.

Pada penelitian oleh Sutjiati *et al.* (2022), dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao edel yang difermentasi dan tidak difermentasi. Biji kakao diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan larutan etanol 96%, lalu

diuji dengan metode DPPH untuk mengukur aktivitas antioksidannya. Vitamin C digunakan sebagai standar kontrol positif. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak biji kakao yang tidak difermentasi memiliki nilai IC_{50} 9,56 ppm, sedangkan ekstrak yang difermentasi memiliki IC_{50} 33,97 ppm, yang mana keduanya dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat. Kandungan flavonoid yakni epikatekin dan katekin, merupakan senyawa utama yang mempengaruhi aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kakao, dimana kadar flavonoid yang lebih tinggi meningkatkan kemampuan menangkap radikal bebas. Penurunan kandungan polifenol selama fermentasi menyebabkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah pada ekstrak yang difermentasi.

Pada penelitian oleh El-Lateef *et al.* (2024), dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah kakao menggunakan 80% etanol dan diklorometana menggunakan metode DPPH. Ekstrak etanol menunjukkan IC_{50} sebesar 35,26 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak diklorometana memiliki IC_{50} lebih rendah sebesar 23,88 $\mu\text{g/mL}$, menunjukkan potensi antioksidan yang sangat kuat. Kandungan fenolik seperti senyawa fenol pada kulit buah kakao berperan dalam aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Pada penelitian oleh Botella-Martínez *et al.* (2021), dilakukan uji aktivitas antioksidan dari tepung kulit biji kakao menggunakan ukuran partikel berbeda dengan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. Pada uji DPPH, kapasitas antioksidan berkisar antara 2,35-5,53 mg Trolox ekuivalen/g sampel. Pada metode ABTS aktivitas antioksidan berada di rentang 3,39-11,55 mg Trolox ekuivalen/g sampel. Metode FRAP menunjukkan kapasitas reduksi antara 3,84-7,62 mg Trolox ekuivalen/g sampel. Hasil ini menunjukkan bahwa ukuran partikel kulit biji kakao mempengaruhi aktivitas antioksidan, yang mana partikel lebih kecil memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Senyawa kimia utama yang berperan terhadap aktivitas antioksidan adalah flavan-3-ol (katekin dan epikatekin) serta metilxantin (teobromin dan kafein). Epikatekin menunjukkan korelasi yang kuat dengan aktivitas antioksidan di semua uji, sementara teobromin dan kafein juga berperan penting dalam uji ABTS.

Pada penelitian oleh Sariyanto (2023), menguji aktivitas pada ekstrak kulit buah kakao menggunakan DPPH. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC_{50} 0,0736 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan fraksi aseton dan etil asetat. Aktivitas antioksidan ini tidak terlepas dengan keberadaan senyawa polifenol dalam kulit buah kakao.

Pada penelitian oleh Dogbey *et al.* (2020), dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak air dan aseton kulit biji kakao menggunakan metode DPPH. Ekstrak aseton menunjukkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan ekstrak air, dengan kemampuan *scavenging* mencapai 42,16% pada konsentrasi 400 $\mu\text{g/mL}$, sementara ekstrak air hanya 4,90% pada konsentrasi yang sama. Ekstrak aseton mengandung total fenolik lebih tinggi (108,97 mg/g) dibandingkan ekstrak air (75,70 mg/g). Kandungan fenolik seperti polifenol, terutama flavonoid dan tanin, berperan penting dalam aktivitas antioksidan.

Pada penelitian oleh Indrianingsih *et al.* (2021), dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi pada kulit buah kakao menggunakan metode DPPH. Hasil menunjukkan kapasitas *scavenging* berkisar antara 35,7 hingga lebih dari 800 $\mu\text{g/mL}$. Asam askorbat sebagai standar kontrol positif memiliki nilai IC_{50} sebesar 22,6 $\mu\text{g/mL}$. Diantara ekstrak tanaman kakao, ekstrak kakao varian kuning dan ungu menunjukkan kapasitas *scavenging* DPPH tertinggi dengan nilai IC_{50} masing-masing 41,3 dan 44,5 $\mu\text{g/mL}$. Pada fraksi yang larut dalam metanol,

varian kuning dan ungu tanaman kakao juga memiliki kapasitas *scavenging* DPPH tertinggi dengan IC_{50} masing-masing 35,7 dan 42,0 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak dan fraksi ini dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenolik dan flavonoid, yang dikenal efektif dalam mendonorkan atom hidrogen untuk menangkap radikal bebas. Perbedaan dalam nilai IC_{50} antara ekstrak dan fraksi dapat dikaitkan dengan perbedaan kandungan flavonoid atau fenolik dalam ekstrak.

Pada penelitian oleh Yahya *et al.* (2021), dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit biji kakao menggunakan metode DPPH. Asam askorbat digunakan sebagai standar kontrol positif. Ekstrak air dari kulit biji kakao yang diekstraksi dengan etil asetat memiliki nilai EC_{50} terendah sebesar $9,61 \pm 0,64 \mu\text{g/mL}$ yang menandakan aktivitas antioksidan tertinggi di antara sampel lainnya. Perbandingan menunjukkan bahwa ekstrak air dari kulit biji kakao memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan ekstrak biji kakao yang diperoleh menggunakan pelarut n-heksan serta campuran air-metanol.

Pada penelitian oleh Okwori *et al.* (2021), dilakukan evaluasi aktivitas antioksidan secara *in vivo* pada ekstrak air kulit batang kakao dengan mengukur aktivitas enzim antioksidan yakni Katalase (CAT), Superoxide Dismutase (SOD), dan Glutathione Peroxidase (GPx) serta biomarker stres oksidatif *Malondialdehyde* (MDA). Tikus Wistar dibagi menjadi empat kelompok dan diberi perlakuan ekstrak dengan dosis bervariasi selama 28 hari. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak meningkatkan aktivitas SOD dan Katalase secara signifikan pada dosis 1000 mg/kg, 3000 mg/kg, dan 5000 mg/kg, tetapi tidak mempengaruhi GPx secara signifikan. Peningkatan MDA di semua kelompok perlakuan menunjukkan peroksidasi lipid yang lebih tinggi pada dosis yang lebih tinggi. Parameter hematologi seperti jumlah sel darah putih, sel darah merah, hematokrit, dan hemoglobin meningkat signifikan pada dosis 1000 mg/kg dan 3000 mg/kg. Kandungan kimia ekstrak, termasuk flavonoid dan polifenol berperan pada efek antioksidan. Ekstrak kulit batang kakao dapat menurunkan stres oksidatif dengan meningkatkan aktivitas beberapa enzim antioksidan. Namun, penggunaan dosis yang lebih tinggi mungkin menyebabkan efek samping seperti peningkatan peroksidasi lipid.

Pada penelitian oleh Ye *et al.* (2021), dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dari biji kakao mentah memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Setelah biji kakao mentah, biji kakao yang telah dipanggang menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Sementara kulit biji kakao hasil proses *winnowing* memiliki aktivitas paling rendah. Senyawa fenolik pada biji kakao berperan dalam aktivitas antioksidan.

Pada penelitian oleh Wibawa (2021), dilakukan uji pengukuran total kapasitas antioksidan pada biji kakao dengan metode spektrofotometri. Hasil menunjukkan bahwa kapasitas ekstrak metanol biji kakao diperoleh sebesar 27,730 mg/mL.

Pada penelitian oleh Oriakhi and Oikeh (2020), dilakukan uji aktivitas antioksidan dari kulit batang kakao dengan DPPH dan FRAP. Pada uji DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol kasar memiliki nilai IC_{50} sebesar 191,75 $\mu\text{g/mL}$ yang hampir sama dengan standar asam askorbat (191,02 $\mu\text{g/mL}$). Fraksi eter petrol menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} terendah (134,67 $\mu\text{g/mL}$), sedangkan fraksi kloroform memiliki IC_{50} tertinggi (220,61 $\mu\text{g/mL}$), menandakan efektivitas terendah dalam menangkal radikal bebas. Pada uji FRAP menunjukkan hasil yang serupa, raksi ether petrol memiliki kemampuan reduksi tertinggi (421,5 $\mu\text{M Fe(II)/g}$), lebih tinggi daripada ekstrak kasar (337,2 $\mu\text{M Fe(II)/g}$) dan fraksi etil asetat (254,1 $\mu\text{M Fe(II)/g}$), sementara fraksi kloroform memiliki potensi terendah (52,0 μM

Fe(II)/g). Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi eter petrol dari kulit batang kakao memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Pada penelitian oleh Benítez-Correa *et al.* (2023), dilakukan uji aktivitas antioksidan kulit biji kakao dengan DPPH dan FRAP. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak kulit biji kakao bervariasi tergantung pada pelarut yang digunakan. Ekstrak yang menggunakan pelarut eutetik berbasis kolin klorida terutama yang dicampur dengan air sebanyak 50% memberikan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan kontrol yang menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut eutetik berbasis kolin klorida ini menghasilkan kapasitas penangkapan radikal bebas DPPH dan FRAP tertinggi yang sejalan dengan tingginya kandungan total fenol pada ekstrak tersebut.

4. KESIMPULAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) kaya akan polifenol dan flavonoid yang memiliki sifat antioksidan, membantu mengatasi dampak radikal bebas dan stres oksidatif. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kakao, baik dari kulit buah maupun biji memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan. Ekstrak kakao yang menggunakan pelarut seperti diklorometana dan aseton, memiliki kemampuan tinggi dalam menetralkan radikal bebas dan mereduksi ion ferrik. Ekstrak kakao yang tidak difermentasi lebih efektif dibandingkan yang difermentasi karena kandungan flavonoid yang lebih tinggi. Ekstrak kulit batang kakao juga meningkatkan aktivitas enzim antioksidan pada dosis tertentu, meskipun dosis tinggi dapat meningkatkan peroksidasi lipid. Temuan ini memperkuat potensi kakao sebagai sumber antioksidan alami yang bermanfaat dalam mencegah dan mengatasi stres oksidatif. Penelitian lebih lanjut dapat memanfaatkan ekstrak kakao dalam formulasi suplemen untuk meningkatkan kesehatan masyarakat. Penggunaan pelarut yang tepat dan kondisi ekstraksi yang optimal perlu diperhatikan untuk mendapatkan aktivitas antioksidan yang maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Asih, D. J., Warditiani, N. K., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review artikel: Aktivitas antioksidan ekstrak amla (*Phyllanthus emblica/Embllica officinalis*). *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(6), 674-687.
- Benítez-Correa, E., Bastías-Montes, J. M., Acuña-Nelson, S., & Muñoz-Fariña, O. (2023). Effect of choline chloride-based deep eutectic solvents on polyphenols extraction from cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells and antioxidant activity of extracts. *Current Research in Food Science*, 7, 100614.
- Botella-Martínez, C., Lucas-Gonzalez, R., Ballester-Costa, C., Pérez-Álvarez, J. Á., Fernández-López, J., Delgado-Ospina, J., & Viuda-Martos, M. (2021). Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells coproducts: effect of particle size on chemical composition, bioactive compound content and antioxidant activity. *Agronomy*, 11(2), 401.
- Chan, A., Leny, L., Diana, V. E., & Syahputri, S. (2024). Formulasi dan uji efektivitas sediaan lulur krim dari ekstrak etanol limbah kulit buah coklat (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Pembaruan Kesehatan Indonesia*, 1(2), 229-238.

- Dogbey, B. F., Ibrahim, S., & Abohe, J. A. E. (2020). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of acetone and water extracts of *Theobroma cacao* Beans. *Advances in Microbiology*, 10(09), 478.
- El-Lateef, H. M. A., Khalaf, M. M., Taleb, M. F. A., & Gouda, M. (2024). Chromatographic fingerprinting of cacao pod husk extracts (*Theobroma cacao* L.): exploring antibacterial, antioxidant, and antidiabetic properties with in silico molecular docking analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-29.
- Fajardo, J. G. B., Tellez, H. B. H., Atuesta, G. C. P., Aldana, A. P. S., & Arteaga, J. J. M. (2022). Antioxidant activity, total polyphenol content and methylxanthine ratio in four materials of *Theobroma cacao* L. from Tolima, Colombia. *Heliyon*, 8(5).
- Febrina, R. V., Yahya, M., Ginting, B., & Saidi, N. (2024). Antioxidant activity of dichloromethane extract from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Natural*, 24(2), 82-86.
- Indrianingsih, A. W., Wulanjati, M. P., Windarsih, A., Bhattacharjya, D. K., Suzuki, T., & Katayama, T. (2021). In vitro studies of antioxidant, antidiabetic, and antibacterial activities of *Theobroma cacao*, *Annona muricata* and *Clitoria ternatea*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101995.
- Laksono, B. A., Rif'at, N. A., Arsyah, T. A., Hanifah, E. A., & Wiela, E. (2023). Evaluation of oral preparations of vitamin e as antioxidant using dpph method (diphenyl picrylhydrazyl), *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 10(1), 12–16.
- Mu'nisa, A., & Pagarra, H. (2019). Analysis of phenolic content and antioxidant activity of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *In Journal of Physics: Conference Series*, 1317(1), 012087.
- Mulianto, N. (2020). Malondialdehid sebagai penanda stres oksidatif pada berbagai penyakit kulit. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(1), 39-44.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.
- Okwori, A. E. J., Olayanju, O. A., Wali, C. C., Kolawole, T. A., & Oluwatayo, B. O. (2021). Possible antioxidant and haematinic properties of the stem bark of *Theobroma cacao* L. in wistar rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 18-26.
- Oriakhi, K., & Oikeh, E. I. (2020). Secondary metabolites and antioxidant activity of *Theobroma cacao* (cocoa) stem bark. *Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, 1(2), 50-60.
- Rahayu, Y. C., Setiawatie, E. M., Rahayu, R. P., & Ramadan, D. E. (2023). Analysis of antioxidant and antibacterial activity of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao* L.). *Dental Journal*, 56(4), 220-225.
- Sari, W., Masykur, M., Adhilla, F., Maisarah, R., & Fauziah, F. (2023). Nephroprotective of ethanol extract of *Annona muricata* L. bark on paracetamol-induced nephrotoxicity in rats. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, 11(1), 66-75.
- Sariyanto, I. (2023). Comparative analysis of total flavonoid, total phenolic content, and antioxidant activity of *Theobroma cacao* pod husk extract and its derived fractions. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 25(3), 159-166.
- Sutjiati, R., Devi, L. S., Prijatmoko, D., Joealijanto, R., Sulistyani, E., Safitri, B. P., & Fitriyani, N. (2022). Bioactive potential of edel cocoa bean (*Theobroma cacao* L) from kedaton

- jember: cytotoxicity and antioxidants evaluation. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 7(1).
- Umri, R. J., Maulana, I., & Ginting, B. (2019). Antioxidant and cytotoxic activity of ethyl asetat extracts of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 364(1), 012026.
- Wibawa, A. A. C. (2021). Kapasitas total antioksidan ekstrak metanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Hydrogen: Jurnal Kependidikan Kimia*, 9(1), 30-37.
- Wibawa, J. C., Arifin, M. Z., & Herawati, L. (2020). Mekanisme vitamin C menurunkan stres oksidatif setelah aktivitas fisik. *Jossae (Journal of Sport Science and Education)*, 5(1), 57-63.
- Yahya, M., Ginting, B., & Saidi, N. (2021). In-vitro screenings for biological and antioxidant activities of water extract from *Theobroma cacao* L. pod husk: potential utilization in foods. *Molecules*, 26(22), 6915.
- Ye, N., Belli, S., Caruso, F., Roy, G., & Rossi, M. (2021). Antioxidant studies by hydrodynamic voltammetry and DFT, quantitative analyses by HPLC-DAD of clovamide, a natural phenolic compound found in *Theobroma cacao* L. beans. *Food Chemistry*, 341, 128260.