

Analisis Kuantitatif Kadar Kuersetin Pada Fraksi *n*-Butanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri

Quantitative Analysis of Quercetin Content in *n*-Butanol Fraction of Cocoa Bean (*Theobroma cacao* L.) Using Thin-Layer Chromatography (TLC) Densitometric Method

I Putu Gede Sapsana Arbi^{a,1}, Agung Ari Chandra Wibawa^{a,2*}, Dewa Ayu Ika Pramitha^{a,3}

^a Fakultas Farmasi, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Jalan Kamboja No.11a Denpasar, 80233 Indonesia

¹ tude.arbi@gmail.com ; ² agungarichandra@unmas.ac.id * ; ³ ika.pramitha@unmas.ac.id

* Corresponding author

Abstrak

Biji kakao (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan, antidiare, antibakteri, antiinflamasi, dan antidiabetes. Kuersetin merupakan salah satu senyawa penanda yang umum digunakan dalam kuantifikasi senyawa flavonoid pada suatu bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar kuersetin pada fraksi *n*-butanol ekstrak biji kakao menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 118 g, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-butanol dan diperoleh fraksi kental sebanyak 7 g. Fase gerak yang digunakan terdiri atas toluena:etil asetat:asam format (4:3:0,4). Berdasarkan kurva standar kuersetin didapatkan persamaan regresi $y = 0,000016x + 0,0014$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9882. Kadar kuersetin pada fraksi *n*-butanol biji kakao diperoleh sebesar $0,115 \pm 0,039$ mg/100 g. Nilai R_f rata-rata sebesar 0,55 menunjukkan kesesuaian dengan standar kuersetin. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-butanol biji kakao mengandung senyawa kuersetin yang merupakan senyawa flavonoid biji kakao dalam mendukung potensi penggunaannya sebagai sumber antioksidan alami dalam formulasi obat tradisional.

Kata kunci: biji kakao, densitometri, KLT, kuersetin

Abstract

Cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) are rich in flavonoids that exhibit antioxidant, antidiarrheal, antibacterial, anti-inflammatory, and antidiabetic activities. Quercetin is one of the marker compounds commonly used in the quantification of flavonoid compounds in natural materials. This study aimed to determine the quercetin content in the *n*-butanol fraction of cocoa bean extract using the thin-layer chromatography (TLC) - densitometric method. Extraction was performed by maceration with 96% ethanol, yielding 118 g, followed by fractionation using *n*-butanol to obtain 7 g. The mobile phase consisted of toluene:ethyl acetate:formic acid (4:3:0.4). Based on curve calibration of quercetin standard produced a regression equation of $y = 0.000016x + 0.0014$ with a correlation coefficient (r) of 0.9882. The mean quercetin content in the *n*-butanol fraction was 0.115 ± 0.039 mg/100 g with a relative standard deviation. The TLC spots exhibited R_f values averaging 0.55, consistent with the quercetin standard. These findings indicate that the *n*-butanol fraction of cocoa bean extract contains quercetin. The presence indicate *n*-buthanol fraction contain of quercetin as flavonoid composition of cocoa beans, supporting their potential use as a natural antioxidant source in traditional medicine formulations.

Keywords: cocoa beans, densitometry, TLC, quercetin

² email korespondensi : agungarichandara@unmas.ac.id

PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang banyak ditemukan pada sebagian besar tumbuhan hijau. Senyawa ini umumnya terkonsentrasi pada biji, buah, kulit buah, kulit kayu, daun, dan bunga. Flavonoid diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain sebagai antimutagenik, antikarsinogenik, antioksidan, antiinflamasi, dan antialergi, serta mampu menghambat proses oksidasi [1].

Salah satu flavonoid yang paling banyak digunakan sebagai senyawa penanda dalam sediaan bahan alam adalah kuersetin [2]. Kuersetin memiliki berbagai aktivitas farmakologis, di antaranya sebagai antidiare, relaksan otot polos usus, serta mampu menghambat kontraksi usus dan menurunkan permeabilitas pembuluh darah. Beberapa metode dapat digunakan untuk menetapkan kadar kuersetin pada suatu bahan alam [1].

Dalam studi mengenai bahan alam, proses ekstraksi dan fraksinasi dengan berbagai jenis pelarut dilakukan untuk menyari kandungan metabolit aktif pada suatu bahan alam. Dalam proses fraksinasi, pelarut n-butanol sering menghasilkan rendemen tertinggi karena sifat kepolarannya yang semi-polar hingga mendekati polar. Karakteristik ini memungkinkan pelarut tersebut mengekstraksi berbagai senyawa aktif dari tanaman, termasuk kelompok flavonoid. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-butanol banyak digunakan untuk memperoleh senyawa bioaktif dari berbagai jenis tanaman, salah satunya adalah kakao (*Theobroma cacao* L.) [2].

Kakao merupakan tanaman dari keluarga Bromeliaceae yang berasal dari hutan tropis di Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Dua subspecies utama yang banyak dibudidayakan yaitu *Theobroma cacao* L. subsp. *sphaerocarpum* (*calabacillo*) dari Amerika Selatan dan *Theobroma cacao* L. subsp. *cacao* (*criollo*) dari Meksiko [3]. Hampir seluruh bagian tanaman kakao mengandung flavonoid, mulai dari akar, batang, daun, bunga, kulit buah hingga bijinya. Biji kakao diketahui

mengandung senyawa polifenol dari golongan flavonoid seperti proantosianidin, flavanol, antosianidin, dan flavonol glikosida [4]. Kulit buah kakao juga memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung theobromin (sekitar 0,4% b/b), kalium (3–4%), katekin, dan epikatekin [5]. Selain itu, ditemukan pula metabolit sekunder lain seperti saponin, tanin, fenolat, kafein, antosianin, leukoantosianin, dan katekol [6]. Pada akar rambut kakao dilaporkan terdapat senyawa flavonoid berupa katekin atau “cyanidol-3” (prosianidin) sebesar 0,87% [7]. Secara umum, kakao diketahui mengandung flavonoid seperti katekin, antosianin, kuersetin, serta tanin jenis proantosianidin [8]. Biji kakao mempunyai potensi yang kuat sebagai antioksidan. Penelitian yang dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada biji kakao melalui parameter *antioxidant activity index* (AAI) menunjukkan bahwa nilai AAI pada fraksi n-butanol lebih tinggi (AAI= 2,63) dibandingkan dengan ekstrak metanol (AAI= 1,35) [9].

Salah satu metode yang diterapkan untuk pemisahan dan analisis senyawa fitokimia adalah metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan interaksi antara fase diam dan fase gerak. Penelitian sebelumnya yang dilakukan untuk menetapkan kadar kuersetin menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri (KLT-Densitometri) menunjukkan pada ekstrak etanol daun kelor (EEDK) memiliki kadar kuersetin sebesar 0,0045 mg/mg ekstrak, yang dikonversi menjadi 0,45 g/100 g atau 0,45% (b/b) [10]. Untuk penetapan kadar senyawa aktif, metode KLT-Densitometri sering digunakan karena memiliki kelebihan seperti spesifisitas tinggi, prosedur sederhana, waktu analisis cepat, serta biaya relatif rendah. Selain itu, metode ini memungkinkan fleksibilitas tinggi dalam pemilihan fase gerak dan optimasi pemisahan [11].

Beberapa penelitian telah melaporkan kandungan flavonoid pada berbagai bagian tanaman kakao. Meskipun demikian, sebagian besar studi hanya berfokus pada biji utuh atau kulit buah kakao secara

umum, tanpa melakukan analisis kuantitatif spesifik terhadap kandungan kuersetin pada fraksi hasil pemisahan tertentu, terutama fraksi n-butanol. Dengan mempertimbangkan kemampuan penyarian yang dihasilkan oleh penggunaan n-butanol dalam proses fraksinasi, penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri (KLT). Selain itu, penetapan kadar kuersetin pada beberapa penelitian melaporkan penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini, penetapan dilakukan dengan metode KLT-Densitometri dengan kemampuan pemisahan senyawa kompleks yang lebih baik.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dimana seluruh variabel bebas yang tidak relevan telah dikendalikan untuk memastikan bahwa hasil dipengaruhi secara spesifik oleh variabel yang diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital (AciS BC-6000®), *waterbath*, kompor, *beaker glass* (Pyrex®), cawan porselen (Pyrex®), batang pengaduk (Pyrex®), pipet volume (Pyrex®), labu ukur (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), corong kaca (Pyrex®), corong pisah Pyrex®, neraca analitik (Sartorius BL 210 S), labu takar, pipet mikro (Eppendorf), bejana kromatografi 20 x 20 x 6 cm³, oven, *ball filler*, spatula, pipet tetes, kain flanel, *tissue*, kertas saring, *aluminium foil*, *blender*. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (Buchi/Rotavapor R11®), densitometer CAMAG™, *automatic TLC sampler 4* Linomat CAMAG™, Plat KLT (Silika gel GF₂₅₄), UV Lamp CAMAG™.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diperoleh dari Desa

Gumbrih, Kec. Pekutatan, Kab. Jembrana, Prov. Bali. Bahan kimia yang digunakan yaitu aquadest, etanol 96% (Brataco), toluena (Merck), n-butanol (Merck), etil asetat (Merck), kuersetin standar (Sigma), asam format (Merck).

Ekstraksi Biji Kakao

Ekstraksi etanol biji kakao dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dengan rasio 1:10 selama 24 jam dengan pengadukan berkala selama 5 menit setiap 6 jam. Residu yang dipisahkan melalui filtrasi kemudian diremaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan rasio yang sama selama 2 x 24 jam. Proses remaserasi diulangi kembali hingga pelarut tidak berwarna yang menunjukkan bahwa senyawa telah habis diekstraksi oleh pelarut. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditampung dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi Biji Kakao

Fraksinasi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pelarut n-butanol. Sebanyak 12,5 g ekstrak biji kakao pekat dicampurkan dengan 150 mL pelarut campuran yang terdiri dari aquadest dan etanol dengan perbandingan 7:3. Larutan kemudian ditempatkan dalam corong pisah dengan katup tertutup, lalu diambahkan 50 mL n-butanol ke dalam ekstrak dan dikocok homogen. Fraksi n-butanol dipisahkan dari fraksi air dan ditampung dalam labu Erlenmeyer. Proses fraksinasi diulangi hingga pelarut tidak berwarna yang menunjukkan bahwa senyawa telah habis terambil oleh pelarut. Filtrat kemudian dipekatkan pada suhu 50°C menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan fraksi n-butanol yang kental.

Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

Sebanyak 2mL fraksi n-butanol dimasukkan masing-masing ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai larutan blanko. Pada tabung kedua dimasukkan serbuk Mg kemudian ditambahkan 1 mL alkohol hidrogen klorida (campuran HCl 37% dan etanol 95%), kemudian

ditambahkan 2 mL amil alkohol, lalu kocok kuat-kuat untuk membuatnya terpisah. Perkembangan warna pentanol (merah, jingga, atau kuning) menunjukkan hasil yang positif.

Uji Kualitatif Keberadaan Senyawa Kuersetin dengan Metode KLT

Fraksi n-butanol dan standar kuersetin ditotolkan sebanyak 2 μ L pada plat KLT silika GF₂₅₄ menggunakan *automatic TLC sampler* 4 Linomat, kemudian dielusi menggunakan fase gerak campuran toluena, etil asetat dan asam format (5:4:0,4). Noda diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Ditandai spot yang mengandung kuersetin dan dihitung nilai Rf (*Retention factor*).

Preparasi Standar

Standar kuersetin ditimbang sebanyak 20 mg dengan neraca analitik (*Sartorius* BL 210 S), kemudian dilarutkan dengan etanol pada labu ukur 20 mL sehingga didapatkan larutan standar dengan konsentrasi 1000 μ g/mL (0,1 μ g/ μ L).

Larutan standar diencerkan hingga diperoleh larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 μ g/mL. Masing-masing sebanyak 2 μ L larutan baku ditotolkan pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak toluena : etil asetat :asam formiat (5:4:0,4). Noda pemisahan yang diperoleh kemudian diamati dengan densitometer dan dihitung nilai persamaan regresinya $y = bx + a$ serta koefisien korelasi (r).

Penentuan Panjang Gelombang

Sebanyak 2 μ L larutan standar ditotolkan plat KLT silika GF₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak toluena : etil asetat :asam formiat (5:4:0,4). Noda yang dihasilkan diamati dengan densitometer. Panjang gelombang yang dipilih adalah yang memberikan puncak tertinggi.

Penentuan Nilai *Retention Factor* (Rf)

Sebanyak 2 μ L larutan sampel ditotolkan ditotolkan pada plat KLT silika GF₂₅₄ kemudian dielusi

dan dihitung nilai Rf. Nilai Rf dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh substansi}}{\text{jarak yang di tempuh oleh pelarut}}$$

Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin

Larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 μ g/mL diencerkan dalam labu ukur 10mL untuk memperoleh seri konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 μ g/mL. Masing-masing sebanyak 2 μ L. seri larutan standar kemudian ditotolkan pada plat KLT Silika GF₂₅₄. Setelah itu, plat KLT dielusi dengan fase gerak toluena : etil asetat :asam formiat (5:4:0,4) dan diamati noda yang diperoleh dengan densitometri dan dihitung nilai persamaan regresinya $y = bx + a$, koefisien korelasi (r). Luas area sampel yang didapatkan dari hasil scan pada alat densitometer kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis kurva baku untuk didapatkan persentase kadar kuersetin pada biji kakao.

Analisis Kadar Kuersetin

Sebanyak 2 μ L larutan sampel ditotolkan pada plat KLT Silika GF₂₅₄, lalu dielusi dengan fase gerak. Noda kuersetin diamati menggunakan alat densitometer untuk memperoleh luas area sampel melalui pemindaian. Nilai luas area tersebut kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier untuk menghitung kadar kuersetin yang terkandung dalam sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.). Ekstraksi biji kakao dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol. Etanol merupakan salah satu pelarut organik yang bersifat polar yang mampu mengekstraksi cukup banyak jenis senyawa metabolit tumbuhan termasuk senyawa flavonoid [12]. Hasil maserasi diperoleh ekstrak sebanyak 118 g. Ekstrak kemudian difraksinasi hingga diperoleh fraksi n-butanol sebanyak 7 g. Fraksinasi merupakan metode pemisahan kandungan senyawa berdasarkan

kepolarannya. Senyawa-senyawa bersifat polar akan masuk dalam pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non-polar akan masuk kepelarut non-polar [2]. Fraksi n-butanol dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar yang terkandung pada beberapa tanaman, salah satunya pada kakao [13].

Skrining senyawa flavonoid pada fraksi menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid pada fraksi dengan ditunjukkannya hasil positif melalui pembentukan warna merah kecoklatan pada bagian amil alkohol (Gambar 1.). Pekatnya warna yang dihasilkan pada pengujian ini dapat memberikan gambaran tingginya kandungan flavonoid pada sampel. Skrining fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan senyawa kimia dalam bagian tumbuhan, terutama metabolit sekunder yang diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, terpenoid dan sebagainya. Skrining fitokimianya dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam fraksi n-butanol pada biji kakao [12].



Gambar 1. Hasil Skrining Senyawa flavonoid

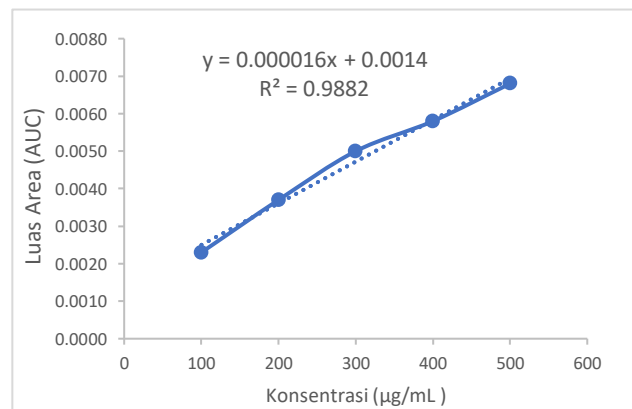
Pada penelitian ini hasil uji fase gerak menunjukkan bahwa fase gerak toluena, etil asetat dan asam format (4 : 3 : 0,4) merupakan fase gerak yang memberikan pemisahan yang baik [14]. Hasil nilai Rf pada sampel fraksi n-butanol biji kakao didapatkan dengan rata-rata 0,553 hampir sama dengan nilai Rf standar 0,541. Sehingga dapat dikatakan bahwa bercak hasil elusi sampel fraksi n-butanol biji kakao mengandung senyawa kuersetin.

Pada penelitian ini, penetapan kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao dilakukan dengan menggunakan metode KLT-densitometri. Densitometri memiliki kelebihan yaitu spesifikasi

yang tinggi, sederhana, waktu pengerjaan relatif cepat serta biaya relatif murah, fase gerak yang dipilih dapat menghasilkan fleksibilitas besar, optimasi pemisahan dapat dilakukan dengan beragam teknik [11].

Pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan pada rentang panjang gelombang 254-400 nm dan diperoleh panjang gelombang maksimum pada penelitian ini adalah pada 376 nm, dimana umumnya kuersetin menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 380 nm.

Hasil uji linieritas pada penelitian ini diperoleh dari data *area under cuve* (AUC) pada baku standar kuersetin dengan area yang terbaca pada densitometer. Persamaan yang diperoleh dari kurva linearitas adalah $y = 0,000016x + 0,0014$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9882 (Gambar 2). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan mendekati persyaratan linearitas yaitu dengan nilai $r \geq 0,99$ [14].



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin

Hasil nilai Rf pada sampel fraksi n-butanol biji kakao didapatkan rata-rata 0,55 mendekati dengan nilai Rf standar 0,54 ;0,55; 0,54; 0,53; 0,536. Sehingga dapat dikatakan bahwa bercak hasil elusi sampel fraksi n-butanol biji kakao terdapat kandungan senyawa kuersetin [14]

Hasil rata-rata penetapan kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao yaitu $0.115 \text{ mg/g} \pm 0.039\% \text{ b/b}$. Hasil penetapan kadar kuersetin dalam sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Penetapan Kadar Kuersetin Fraksi n-butanol Biji Kakao

Sampel	Volume Sampel (mL)	Berat Sampel (mg)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar (%)	Kadar (mg/100g)
R1	10	500	0,044	0,000088	0,088
R2	10	500	0,048	0,000096	0,096
R3	10	500	0,08	0,00016	0,16
(Rata – rata \pm SD) mg/100g					0,115 \pm 0,039

Hasil tersebut menunjukkan kadar kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao adalah sebesar 0,115%. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menetapkan kadar kuerstein pada biji kakao. Penelitian oleh Wardana et al. (2024) menunjukkan bahwa fraksi n-butanol dari ekstrak biji kakao memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, dengan kadar flavonoid total sebesar 4,12 mg QE/g ekstrak berdasarkan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan kuersetin sebagai standar[15]. Sementara itu, Ahyani et al. (2025) melaporkan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol biji kakao sebesar 2,35 mg QE/g ekstrak, dengan aktivitas antioksidan yang tergolong sedang[16]. Penelitian lain oleh Risna et al. (2023) mencatat kadar flavonoid total sebesar 3,67 mg QE/g ekstrak pada biji kakao yang diekstraksi dengan metode maserasi dan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis [17].

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, senyawa kuersetin terdeteksi yang dibuktikan dengan nilai Rf sampel mendekati standar kuersetin. Kadar rata-rata kuersetin pada fraksi n-butanol biji kakao diperoleh $0,115 \pm 0,039$ mg/100 g. Hasil analisis menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki linieritas yang cukup tinggi ($R^2 = 0,9882$)

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar dan semua pihak yang telah berperan serta mendukung dan membantu dalam penelitian ini, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah* 2018; 6: 21–29.
- [2] Pratiwi L, Fudholi A, Martien R, et al. Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 2016; 1: 71.
- [3] Purnamasari DA, Munadzirah E, Yogiartono RM. Konsentrasi ekstrak biji kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Pdgi* 2010; 59: 14–18.
- [4] Wibawa AAC. Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*. L) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Hydrogen: Jurnal Kependidikan Kimia* 2021; 9: 30.
- [5] Azizah DN, Kumolowati E, Faramayuda F. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl_3 Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*; 2. Epub ahead of print 2014. DOI: 10.26874/kjif.v2i2.14.
- [6] Mandhaki N, Huda C, Putri AE. Aktivitas ANTibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2021; 3: 188–193.

- [7] Syukur S. Transformasi Agrobakterium rhizogenese Dan Induksi Akar Rambut Pada Tanaman Kakao (*Theobroma cacao*) Untuk Produksi Senyawa Antioksidan Secara Invitro. *JRisKim* 2009; 2: 156–168.
- [8] Hafidhah N, Hakim RF, Fakhurrazi F. Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada Berbagai Konsentrasi. *Journal Caninus Denstistry* 2017; 2: 92–96.
- [9] Wibawa AAC, Mahendra AN, Manuaba IBP, et al. Comparative Phytochemical Profile and Antioxidant Activity of Cocoa Beans Methanol Extract and its N-Butanol Fraction Obtained from Jembrana, Bali, Indonesia,. *JWS* 2024; 3: 490499.
- [10] Ihsan BRP, Rahmani PA, Shalas AF. Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis Kuersetin dalam Ekstrak dan Produk Jamu yang Mengandung Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 2019; 5: 45–51.
- [11] Savitri A, Megantara S. Metode KLT-Densitometri Sebagai Penetapan Kadar Bahan Aktif Sediaan Farmasi. *Farmaka* 2019; 17: 455–463.
- [12] Nirwana AP, Astirin OP, Widiyani T. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun benalu kersen (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.). *Digilib UNS* 2016; 3: 4.
- [13] Sandra D, Argueta E, Wachter NH, et al. Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Butanol Tanaman Libo (*Ficus variegata* Blume). *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2016; 152: 28.
- [14] Adelima S, Darmawati A. Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Sirup Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.). *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* 2016; 5: 15–19.
- [15] Wardana IMW, Pramitha DAI, Wibawa AAC, et al. Penentuan Jenis Senyawa Flavonoid pada Isolat Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam Fraksi N-butanol dengan Aktivitas Antioksidan Tertinggi menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Chimica et Natura Acta*; 12. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.24198/cna.v12.n2.48577.
- [16] Ahyani IN, Mahbub F, Trifena A, et al. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Coklat dengan Metode DPPH dan FRAP. *Majalah Farmaseutik* 2025; 21: 2025.
- [17] Risna K, Musa KAE, Ardianti R, et al. Analisis Kandungan Flavonoid Pada Ekstrak Tanaman dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *INNOVATIVE: Journal Of Social Science Research*; 3.