

HUBUNGAN KADAR TANIN DENGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.) YANG TUMBUH DI DATARAN RENDAH DAN DATARAN TINGGI

Linda Safitri, Nofita*, Tutik

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati

* Korespondensi Penulis Email: nofita@malahayati.ac.id

ABSTRACT

*Tannins are active compounds of secondary metabolites with a molecular weight of more than 400, which contain phenolic compounds that are difficult to separate and difficult to crystallize, which precipitate proteins from the solution. The purpose of this study was to determine whether there were differences in tannin levels that could affect the IC₅₀ value (antioxidant activity) in the skin of cocoa pods (*Theobroma cacao* L.) growing in the lowlands and highlands. The method used in this study is the maceration extraction method using 96 % ethanol as solvent. Extract 1 cocoa pods yielded value % of 12.79 and extract 2 cocoa pods yielded value % of 12.92. The results of the tannin content obtained from the extract of 1 cocoa pod growing in the lowlands was 0,1142 % and the extract of 2 cocoa pods growing in the highlands was 0,1801 %. Tannin compounds have antioxidant activity the more tannin content obtained IC₅₀ value, in extract 1 of 37.042 and of extract 2 of 32.543 so that it can be classified as an antioxidant with a very strong category. The statistical results of the effect of tannin levels on the IC₅₀ value (antioxidant activity) were different from sig (>0,05) which indicated a significant difference, this could be due to tannin compounds which have an important role in antioxidant activity.*

*Keywords: Cocoa fruit peel extract (*Theobroma cacao* L.) ,Tannins, Maceration, Antioxidant.*

ABSTRAK

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder dengan berat molekul lebih dari 400, yang terdapat senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal, yang mengendapkan protein dari larutannya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar tanin yang dapat mempengaruhi nilai IC₅₀ (aktivitas antioksidan) pada kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang tumbuh di dataran rendah dan dataran tinggi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 %. Ekstrak 1 kulit buah kakao diperoleh nilai rendemen % sebesar 12,79 dan pada ekstrak 2 kulit buah kakao diperoleh nilai rendemen % sebesar 12,92. Hasil kadar tanin yang diperoleh dari ekstrak 1 kulit buah kakao yang tumbuh di dataran rendah yaitu sebesar 0,1142 % dan pada ekstrak 2 kulit buah kakao yang tumbuh di dataran tinggi sebesar 0,1801 %. Senyawa tanin memiliki aktivitas antioksidan, maka semakin banyak kandungan tanin yang diperoleh, semakin besar juga aktivitas antioksidannya. Untuk hasil antioksidan didapatkan nilai IC₅₀, pada ekstrak 1 sebesar 37,042, dan pada ekstrak 2 sebesar 32,543 sehingga dapat digolongkan sebagai antioksidan dengan kategori sangat kuat. Hasil statistik pengaruh kadar tanin terhadap nilai IC₅₀ (aktivitas antioksidan) terdapat

perbedaan dengan sig ($<0,05$) yang dinyatakan adanya perbedaan signifikan, hal ini dapat disebabkan pada senyawa tanin yang memiliki peran penting pada aktivitas antioksidan.

Kata Kunci: Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*), Tanin, Maserasi, Antioksidan.

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao L.*) merupakan hasil perkebunan Indonesia yang bisa di jadikan produk kakao dan coklat yang mengandung antioksidan alami (Sari *et al.*, 2015). Pada kulit kakao sebagian besar terdapat senyawa polisakarida (selulosa dan hemiselulosa) dan lignin, serta sebagian kecil terdiri dari senyawa fenolik, tanin, alkaloid purin, dan *cocoa butter*. Dari komposisi kimia tersebut, diduga bahwa kulit buah kakao mempunyai aktivitas antioksidan (Jusmiati *et al.*, 2015). Beberapa penelitian lainnya melaporkan bahwa kulit buah kakao mengandung senyawa aktif yang bisa dikembangkan seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Pappa *et al.*, 2019).

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder dengan berat molekul lebih dari 400, yang terdapat senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal, yang mengendapkan protein dari larutannya. Tanin juga senyawa polifenol memiliki beberapa manfaat seperti anti diare, anti bakteri, dan

antioksidan (Aryantini, 2021). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki fungsi yaitu sebagai antioksidan (Malangngi *et al.*, 2012).

Kadar tanin yang pada tanaman dipengaruhi dari tempat tumbuhnya, contohnya pada dataran tinggi dan dataran rendah. Adapun penelitian yang telah dilakukan oleh Pappa *et al* (2019) pada kulit buah kakao yang terdapat didataran rendah dengan kadar tanin 4,981% dan pada dataran tinggi, dengan diperoleh kadar tanin 12,679%. Karena pada tanah memiliki unsur hara makro N, K, bahan organik (BO) dan C organik memiliki aktivitas pada kadar senyawa aktif. Salah satu aktivitasnya adalah antioksidan.

Antioksidan didefinisikan inhibitor yang dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif dengan membentuk radikal bebas tak reaktif yang stabil. Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terjadinya proses oksidasi atau

Linda Safitri, Nofita*, Tutik
Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati
*Korespondensi Penulis Email: nofita@malahayati.ac.id

dengan mentralisir radikal bebas (Sembiring *et al.*, 2016). Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang mendonorkan elektronnya dengan cara kerjanya yaitu mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal, dan aktivitas radikal tersebut bisa terhambat. ketidakstabilan radikal bebas dapat distabilkan oleh senyawa antioksidan dengan cara melengkapi kekurangan elektron di senyawa radikal bebas. Antioksidan sangat diperlukan untuk menangkal radikal bebas yang ada dikehidupan sehari-hari (Rani dan Milanda, 2016).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang terdapat kandungan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan sangat reaktif sehingga dapat menjadi stabil. Radikal cenderung akan mengambil dari elektron lain yang dapat menimbulkan ketidaknormalan molekul lain. Radikal bebas secara terus-menerus terbentuk di dalam tubuh, yang dapat diperkirakan terlibat dalam berbagai proses penyakit degeneratif (Jami'ah *et al.*, 2018). Radikal bebas dapat dicegah dengan senyawa antioksidan.

Salah satu cara untuk menentukan aktivitas antioksidan

menangkap radikal bebas dengan menggunakan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*). Metode DPPH secara luas digunakan untuk mengukur dan membandingkan aktivitas antioksidan senyawa-senyawa fenolik, dan evaluasi aktivitas antioksidan dengan mengetahui perubahan warna DPPH dari ungu hingga menjadi kuning (Jusmiati *et al.*, 2015). Menurut hasil penelitian (Jusmiati *et al.*, 2015) didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 0,9 ppm. Dan pada uji kadar tanin pada kulit buah kakao menggunakan metode spektrofotometer UV-VIS. Untuk menentukan dan mengukur kadar tanin dilakukan dengan menggunakan kurva standar tanin. Standar kadar tanin yang digunakan adalah menggunakan Asam tanat. dikarenakan asam tanat merupakan golongan tanin yang terhidrolisis, sehingga asam tanat dapat digunakan sebagai pembanding pengukur kadar tanin (Pratama *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai hubungan kadar tanin dengan aktivitas antioksidan pada kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang tumbuh di dataran rendah dan dataran tinggi.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: timbangan analitik, kertas saring, *rotary vacuum evaporator*, timbangan analitik, spektrofotometer UV-Vis, *Ultrasonik bath*, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung, *beaker glass*, gelas ukur, erlenmeyer, labu ukur, *blender*, oven dan kuvet.

Adapun bahan-bahan yang digunakan Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah yaitu kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). Bahan kimia yang digunakan terdiri dari akuades, etanol, reagen *folin denis*, Na_2CO_3 , metanol, asam tanat, asam askorbat, FeCl_3 dan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil).

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*. *Purposive sampling* merupakan metode pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu seperti sifat-sifat populasi. Pengambilan sampel berdasarkan kriteria : Kulit buah kakao sudah berubah warna secara sempurna, dengan warna kuning atau kecoklatan, tangkai buah yang mengering, buah kakao mengeluarkan bunyi jika digoncangkan atau dikocok, kulit buah kakao diperoleh di dataran rendah dan dataran tinggi.

Proses Pengelolaan Simplisia

Kulit buah kakao dicuci terlebih dahulu kemudian dipotong kecil-kecil, lalu kulit buah kakao yang sudah dipotong dikeringkan dengan cara di angin-anginkan sampai kering. Setelah sampel kering lalu sampel dihaluskan menggunakan blender.

Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kakako

Kulit buah kakao masing-masing sebanyak 500 g, dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L perendaman dilakukan selama 24 jam selama 3 hari. Filtrat pertama dan kedua disaring menggunakan kertas saring. Pergantian pelarut sebanyak 2 kali dengan suhu ruang menggunakan pelarut baru. Selanjutnya kedua filtrat hasil penyaringan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga terbentuk ekstrak kental/pasta.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia masing-masing ekstrak kental kulit buah kakao diambil sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam 15 mL metanol dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan FeCl_3 10% dan jika

Linda Safitri, Nofita*, Tutik
Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati
*Korespondensi Penulis Email: nofita@malahayati.ac.id

menghasilkan warna biru tua atau hitam kehijauan maka menunjukkan adanya senyawa tanin.

Penetapan Kadar Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak kulit buah kakao lalu dilarutkan dengan aquades sampai 10 mL, Larutan sampel ekstrak kulit buah kakao 1000 mg/mL dipipet sebanyak 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 2 tetes reagen folin-ciocalteu, 4 mL NaCO₃ 1M, dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan akuades untuk menghasilkan konsentrasi 100 mg/mL. Sampel dibuat triplo.

Pembuatan Larutan *Operating Time*

Larutan asam tanat 100 mg/L dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 2 pereaksi *folin denis* dan Na₂CO₃ 1 M. Kemudian absorbansi larutan asam tanat diamati setiap 1 menit pada panjang gelombang 400-800 nm selama 15 menit (Sari, 2021).

Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan Uji

Sampel masing-masing ekstrak kental kulit buah kakao hasil maserasi ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan standar yang

diperoleh tersebut mempunyai konsentrasi sebesar 1000 mg/L. Larutan standar dipipet sebanyak 2,5 mL dan dilarutkan menggunakan metanol sampai batas labu ukur 25 mL, kemudian larutan standar dibuat larutan seri dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 mg/L.

2. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan DPPH. Pada larutan seri ekstraksi masing-masing diambil sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan larutan DPPH 4 mL. Kemudian dikocok sampai homogen dan diinkubasikan selama 30 menit dengan suhu ruang. Kemudian campuran dimasukkan ke dalam kuvet (sel) dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Dilakukan ditempat ruangan gelap (Tapalina, 2021).

Analisis Data

Hubungan kadar tanin dengan aktivitas antioksidan yaitu dianalisis dengan menggunakan uji *Repeated Measures ANOVA* untuk dapat mengetahui pengaruh perbedaan kadar tanin pada aktivitas antioksidan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Hasil deteminasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Lampung menunjukkan bahwasannya sampel yang digunakan adalah benar

tanaman kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.).

Hasil Ekstraksi Kulit Buah Kakao

Hasil ekstrak kulit buah kakao dengan metode maserasi pelarut etanol 96% dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Ekstraksi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Sampel	Bobot Kering (gr)	Bobot Ekstrak (gr)	% Rendemen
Ekstrak 1	500 gram	63,7	12,74
Ekstrak 2	500 gram	64,6	12,92

Keterangan :

Ekstrak 1 : Ekstrak Kulit Buah Kakao Yang Tumbuh Di Dataran Rendah

Ekstrak 2 : Ekstrak Kulit Buah Kakao Yang Tumbuh Di Dataran Tinggi

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang larut, sehingga dapat terpisah dari bahan yang tidak larut pada pelarut cair. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang paling sederhana diantara teknik ekstraksi yang lain. Dasar maserasi yaitu melarutnya bahan yang terdapat pada kandungan simplisia yang telah rusak, dan terbentuk pada proses penghalusan (Sirait, 2021). Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96%, karena pelarut etanol 96% dapat menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar

maupun non polar (Puspitasari dan Prayogo, 2017). Pada pemekatan ekstrak menggunakan alat *vacum rotary evaporator*, yang menghasilkan gel berwarna coklat kehitaman. % rendemen pada ekstrak 1 diperoleh hasil sebesar 12,74 % dan pada ekstrak 2 diperoleh hasil 12,92 %, dari hasil % rendemen dua tersebut memiliki hasil yang sedikit berbeda, dikarenakan metode ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen ekstrak (Garini,2020).

Skrining Fitokimia

Tabel 2. Kandungan Ekstrak Kulit Buah Kakao

Sampel	Identifikasi	Hasil pengamatan	Ket
Ekstrak 1	Tanin	Biru Kehitaman	Positif
Ekstrak 2	Tanin	Biru Kehitaman	Positif

Linda Safitri, Nofita*, Tutik
 Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati
 *Korespondensi Penulis Email: nofita@malahayati.ac.id

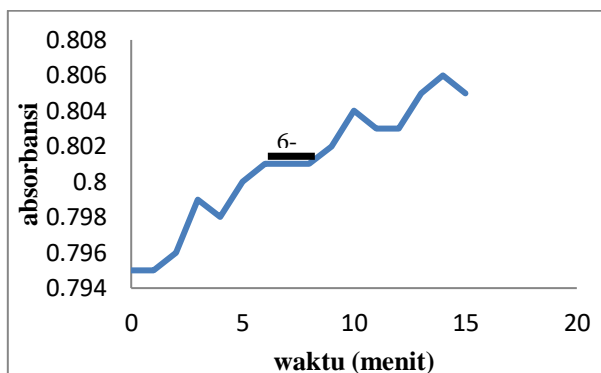
Keterangan :

Ekstrak 1 : Ekstrak Kulit Buah Kakao Yang Tumbuh Di Dataran Rendah

Ekstrak 2 : Ekstrak Kulit Buah Kakao Yang Tumbuh Di Dataran Tinggi

Uji fitokimia dari penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak kulit buah kakao. Pada uji fitokimia tersebut dilakukan pada golongan senyawa tanin. Hasil yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao dengan menggunakan teknik ekstraksi maserasi mengandung senyawa tanin. Uji tanin menggunakan $FeCl_3$ 1% yang untuk mengidentifikasi gugus fenol. Menurut Budini (1980) tanin merupakan salah satu senyawa fenol yang tergolong dari senyawa polifenol. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak yang setelah diberi $FeCl_3$, karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} .

Operating Time Asam Tanat



Gambar 1. Grafik Operating Time Waktu Optimum Asam Tanat.

Hasil dari operating time yaitu menunjukkan dimana waktu optimum sampel bereaksi pada menit ke 6-8. Pengukuran operating time dilakukan untuk meminimalkan apabila terjadinya kesalahan saat pengukuran. Hal ini dapat disebabkan oleh suatu senyawa yang akan diukur absorbansinya saat penelitian . apabila pengukuran dilakukan saat sebelum waktu operating time, kemungkinan akan terjadi reaksi yang terbentuk belum sempurna (Suharyanto et al.,2020).

Uji Antioksidan

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan

Bahan	Kosentrasi (mg/L)	Absorbansi	% Inhibisi	Rata-rata % Inhibisi	IC ₅₀ (mg/L)	keterangan
Asam Askorbat	4	0,440	45,05	63,076	4,57	Sangat Kuat
	6	0,371	55,35			

Linda Safitri, Nofita*, Tutik
 Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati
 *Korespondensi Penulis Email: nofita@malahayati.ac.id

	8	0,313	62,33			
	10	0,230	71,35			
	12	0,172	79,30			
Ekstrak 1	10	0,665	19,97	42,618	37,04	Sangat Kuat
	20	0,552	33,57			
	30	0,466	43,92			
	40	0,395	52,46			
	50	0,306	63,17			
Ekstrak 2	10	19,37	19,37	42,25	32,54	Sangat Kuat
	20	31,16	31,16			
	30	45,00	45,00			
	40	53,91	53,91			
	50	61,65	61,65			

Keterangan :

Ekstrak 1 : Ekstrak Kulit Buah Kakao Yang Tumbuh Di Dataran Rendah

Ekstrak 2 : Ekstrak Kulit Buah Kakao Yang Tumbuh Di Dataran Tinggi

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 dengan menggunakan DPPH yang selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Sebelum pengujian aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan pada panjang gelombang 515 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur nilai absorbansi senyawa DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum ditentukan oleh puncak kurva, puncak kurva memiliki sensitifitas paling tinggi (Mulangsri *et.,al* 2017).

Pengujian aktivitas antioksidan kemudian dilakukan pada ekstrak 1 kulit buah kakao didapatkan nilai IC50 sebesar 37,42 ppm yang menunjukkan antioksidannya bersifat sangat kuat.

Pesedangkan pada ekstrak 2 kulit buah kakao didapatkan nilai IC50 sebesar 32,45 yang dinyatakan aktivitas antioksidannya bersifat sangat kuat. Nilai IC50 pada kedua ekstrak kulit buah kakao yang didapat dari dataran rendah dan dataran tinggi memiliki perbedaan karena pada aktivitas antioksidan yang memiliki peran besar adalah tanin.

Nilai IC50 pada kedua ekstrak kulit buah kakao yang didapat dari dataran rendah dan dataran tinggi memiliki perbedaan karena pada aktivitas antioksidan yang memiliki peran besar adalah tanin. Senyawa tanin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena dapat dipengaruhi oleh kestabilan strukturnya.

Analisis data

Tabel 5. Data Normalitas

Tests of Normality			
	PERLAKUAN	Shapiro-Wilk	
		Statistic	Sig.
HASIL TANIN	TANIN 1	,961	5,200*
TANIN	TANIN 2	,803	5,200*
DAN % INHIBISI	IC50 1	,993	5,200*
	IC50 2	,968	5,200*

Hasil analisa data yang digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar tanin pada kulit buah kakao yang tumbuh didataran rendah dan dataran tinggi dengan menggunakan uji *Repeated Measures* ANOVA. Pada langkah pertama menggunakan uji normalitas, pada uji normalitas yang dilihat pada tabel *saphiro-wilk* karena sampel yang digunakan berjumlah sedikit (<100). Pada uji normalitas didapatkan hasil yaitu 0,200 sig (>0,05) dapat diartikan bahwa H₀ diterima yang berarti bahwa semua data terdistribusi normal.

Tabel 6. Hasil Data Uji *Repeated Measure ANOVA*

Variabel	P-Value
Tanin 1 - IC ₅₀ 1	0,000
Tanin 2 - IC ₅₀ 2	0,024

Kemudian dilanjutkan uji menggunakan *Repeated Measures ANOVA* dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh kadar tanin terhadap nilai IC₅₀. Hasil yang

diperoleh pada semua data sig (p<0,05), hal ini menunjukkan bahwa H₀ ditolak H_a diterima sehingga dapat dinyatakan terdapat pengaruh kadar tanin terhadap nilai IC₅₀ (aktivitas antioksidan) adanya perbedaan nyata (signifikan) dari semua data tersebut.

KESIMPULAN

Ekstrak 1 dan ekstrak 2 kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang tumbuh didataran rendah dan dataran tinggi memiliki aktivitas antioksidan yang termasuk kategori. Terdapat pengaruh kadar tanin terhadap nilai IC₅₀ (aktivitas antioksidan) kedua ekstrak tersebut memiliki perbedaan yang signifikan, oleh karena itu disebabkan pada senyawa tanin yang memiliki peran penting pada aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

Alfiani, R. (2017). *Jurnal Praktikum Analitik Iii Spektroskopi Uv-Vis.* 2-6.
<https://www.mendeley.com/reference-manager/reader/82bdf46e-efab-3416-aa04-81c86fe45976/6026f158-1940-9195-07bc-2e5a6c461349>

Blois, M.S. 1958. Antioxidant Determinations by The Use of a Stabel Free Radical. *Nature* 181: 1199-1200.

Hasanah. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. *Jurnal Pena*

Linda Safitri, Nofita*, Tutik
 Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati
 *Korespondensi Penulis Email: nofita@malahayati.ac.id

Medika, 5(1), 55–59.

<https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44750>

- Haryoto dan Frista, 2019. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar Dan Non Polar Dari Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Dengan Metode DPPH dan FRAP. *Jurnal sains dan kesehatan*, 2(2), 131-138.
- Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds (Tannin and Saponin) to Reduce Methane Emissions from Ruminant Livestock. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 89.
- Hilyatunnisa ihda. (2013). pengaruh adenin (6-amino purine) terhadap keberhasilan embriogenesis somatik bunga kakao (*Theobroma cacao* L.) *Skripsi* universitas muhammadiyah purwokerto. <http://repository.ump.ac.id/162/>
- Huda, et al., 2022. Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Pendidikan*, 7(1), 163-170.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1.
- Jusmiati A., Rolan R., Laode R. 2015. Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Kakao Masak dan Kulit Buah Kakao Muda. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1 (2): 34 – 38.
- Jami'ah et al., 2018. Uji Aktivitas Anthioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) dengan Metode DPPH (2-2-Difenil-1-Pikrihidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*.
- Malanggi et al., 2012. Penentuan Kandungan Tanin Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* MILL.). *Jurnal MIPA*, 1(5).
- Mulangsri Et Al., 2017. Aktivitas Antioksidan Fraksi Dietileter Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmasciense*, 4(1), 85-93.
- Nisa et al., 2014. Ekstraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dengan Metode Microwave Assisted, *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* 2(1), 72-78.
- Noviyanty et al., 2020. Identifikasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Tanin Pada Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis Gigantea*) Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 57-64.
- Pappa, S et al., 2019 .Kadar Tanin pada Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Kabupaten Paliwalimandar dan Toraja Utara. *Journal of Applied Chemistry*.
- Pramiastuti et al., 2021. Aktivitas

Antioksidan Fraksi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Bulbosa* (Mill.) Urb) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil), *Jurnal Wiyata*, 8(1), 55-66.

Rahmawati, R., Muflihunna, A., & Sarif, L. M. (2016). Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 97-101. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.175-10>

Rahmi, H. (2017). Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(1), 34-38. <https://doi.org/10.33661/jai.v2i1.721>

Simanjuntak kristina. (2012). peran antioksidan flavonoid dalam meningkatkan kesehatan. *Majalah Ilmiah*, 23(3), 135-140. http://library.upnvj.ac.id/pdf/artikel/Majalah_Ilmiah_UPN/bw-vol23-no3-apr2012/135-140.pdf

Sirait, R, R. (2021). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Heruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dan Kulit Bawang Dayak (*Eleutherine Bulbosa*) Sebagai Foot Spray Anti Bau Kaki. *Skripsi Universitas Muhammdiyah Sumatera Utara Medan*