



**IDENTIFIKASI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN, KANDUNGAN
PROTEIN, FENOL DAN FLAVONOID PADA JARINGAN
TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.)**

SKRIPSI

**Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk
menyelesaikan pendidikan Program Sarjana pada
Program Studi Budidaya Pertanian Agronomi
Fakultas Pertanian Universitas Jember**

**Oleh :
Wahyu Dwi Setiawan
NIM. 061510101189**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2010

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN, KANDUNGAN
PROTEIN, FENOL DAN FLAVONOID PADA JARINGAN
TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.)**

Oleh

**Wahyu Dwi Setiawan
NIM. 061510101189**

Pembimbing :

**Pembimbing Utama : Tri Agus Siswoyo, SP., M. Agr., Ph.D
Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Moch. Hoesain, MS**

PENGESAHAN

Skripsi berjudul : Identifikasi Aktifitas Antioksidan, Kandungan Protein, Fenol dan Flavonoid pada Jaringan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian pada :

Hari : Rabu
Tanggal : 27 Oktober 2010
Tempat : Fakultas Pertanian

Tim Penguji
Penguji 1,

Tri Agus Siswoyo, SP., M. Agr., Ph.D
NIP. 197008101998031001

Penguji 2

Penguji 3

Dr. Ir. Moch. Hoesain, MS
NIP. 196401071988021001

Tri Handoyo, SP., Ph.D
NIP. 197112021998021001

Mengesahkan
Dekan

Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, MP
NIP. 196111101988021001

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wahyu Dwi Setiawan

NIM : 061510101189

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: **Identifikasi Aktifitas Antioksidan, Kandungan Protein, Fenol dan Flavonoid pada Jaringan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, November 2010

Yang Menyatakan

Wahyu Dwi Setiawan
NIM. 061510101189

RINGKASAN

Identifikasi Aktifitas Antioksidan, Kandungan Protein, Fenol dan Flavonoid pada Jaringan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.). Wahyu Dwi Setiawan. 061510101189. 2010. Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Pestisida nabati merupakan teknik pengendalian hama maupun patogen penyebab penyakit yang dapat menjadi alternatif penggunaan pestisida kimiawi. Berdasarkan kandungan total fenol, total flavonoid dan aktifitas antioksidannya diketahui bahwa daun, kulit buah, pulp dan biji kakao klon ICS60 dan KW514 memiliki potensi dimanfaatkan sebagai bahan baku pestisida nabati. Selain itu juga diketahui bahwa ketahanan alami klon KW514 berasal dari kandungan total fenol pada kulit buah dan pulpnya yang lebih besar dibandingkan klon ICS60. Presipitasi total fenol dengan perlakuan pH 4 pada semua ekstrak daun, kulit buah, pulp dan biji klon ICS60 dan KW514 kecuali daun klon KW514 pada pH 2 lebih baik daripada presipitasi total fenol dengan perlakuan 50% methanol. Pelarut 0,1 M NaOH dan 0,1 M Na₂B₄O₇ merupakan pelarut yang paling optimal dalam melepaskan ikatan protein-fenol.

SUMMARY

Identification Antioxidant Activity, Protein, Phenolic and Flavonoid Contents of *Theobroma cacao* L. Tissues. Wahyu Dwi Setiawan. 061510101189. 2010. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Jember

Botanical pesticides is a technique of pest control and disease-causing pathogens that could be an alternative of chemical pesticides. The leaf, pod, pulp and seed cocoa clones ICS60 and KW514 has potential to be used as raw material for botanical pesticides based on the content of total phenol, total flavonoid and antioxidant activity. It is also known that the natural resistance clones KW514 derived from the total phenol content in pod and pulp greater than clones ICS60. Precipitation total phenol with pH 4 treatment in all extracts leaf, pod, pulp and seeds of clone ICS60 and KW514 except pH 2 on leaf clones KW514 is better than precipitation total phenol with 50% methanol treatment. Solvent 0.1 M NaOH and 0.1 M Na₂B₄O₇ is the most optimum solvent in protein-phenol untie.

KATA PENGANTAR

Tiada kata yang dapat penulis ungkapkan selain syukur Alhamdulillah, berkat rahmat serta hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini yang berjudul “Identifikasi Aktifitas Antioksidan, Kandungan Protein, Fenol dan Flavonoid pada Jaringan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)”.

Penulis sangat merasakan bahwa penyusunan Karya Tulis Ilmiah (Skripsi) ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. Ismail dan Ibu Noer Laely, S.Pd yang memberikan sinar ketika kegelapan menyelimuti hati dan pikiranku, terimakasih atas pentaruhan nyawa dalam melahirkanku wahai ibu. Adikku Moch. Syakroni yang memberikan rasa bersalah kepadaku ketika kelalaian melanda dan semua keluargaku yang selalu senantiasa memberikan doa, semangat dan kasih sayangnya.
2. Tri Agus Siswoyo, SP., M. Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama yang menjadi inspirasi terbesar bukan hanya pada penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini, tapi juga kegigihan dalam menuntut ilmu setinggi mungkin.
3. Dr. Ir. Moch. Hoesain, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan arahan dan bimbingan sampai terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini.
4. Tri Handoyo, SP., Ph.D., selaku dosen penguji yang bukan hanya memberikan arahan dan bimbingan sampai terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini, tapi juga pembelajaran menjadi sosok guru yang baik.
5. Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, M. P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
6. Ir. Sigit Supardjono, MS., Ph.D., selaku Ketua Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Uninversitas Jember.
7. Ir. Usmadi, M. P., selaku Ketua Program Studi Agronomi-Agroindustri Kopi dan Kakao (Basiswa Unggulan).

8. Ir. Niken Sulistyaningsih, M.S., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingannya.
9. Menteri Pendidikan Nasional, yang telah memberikan bantuan hingga terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini.
10. DP2M melalui Hibah Kompetensi 2010 sehingga penelitian ini dapat terlaksana.
11. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini masih belum sempurna, untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi perkembangan ilmu pertanian.

Jember, November 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN	v
RINGKASAN	vi
SUMMARY	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	4
2.2 Total Fenol	5
2.3 Antioksidan	6
2.3.1 Antioksidan Sintetik	6
2.3.2 Antioksidan Alami.....	7
BAB 3. METODOLOGI	9
3.1 Waktu dan Tempat.....	9
3.2 Bahan dan Alat	9
3.3 Metode	9
3.3.1 Ekstraksi Sampel	9

3.3.2 Presipitasi Kandungan Fenol dengan 50% Methanol.....	9
3.3.3 Presipitasi Kandungan Fenol dengan Perlakuan pH.....	10
3.3.4 Penentuan Kandungan Total Protein Terlarut (TPT).....	10
3.3.5 Penentuan Kandungan Total Fenol.....	10
3.3.6 Penentuan Kandungan Total Flavonoid.....	11
3.3.7 Penentuan Potensi Antioksidan dengan <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC)	11
3.3.8 Penentuan Aktifitas Antioksidan dengan Pemberian 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).....	11
3.3.9 Penentuan Protein Kelarutan	12
3.3.10 Analisis Data	12
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	13
4.1 Penentuan Kandungan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dan Klon KW514.....	13
4.2 Penentuan Potensi Antioksidan dengan <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC).....	16
4.3 Penentuan Aktifitas Antioksidan dengan Pemberian 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).....	17
4.4 Penentuan Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	21
4.5 Penentuan Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Perlakuan Presipitasi pH	23
4.6 Penentuan Protein Kelarutan.....	26
BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Simpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1.	Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid klon ICS60 dengan KW514	14
2.	Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	22
3.	Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH.....	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1.	Struktur Fenol	5
2.	Struktur BHT.....	7
3.	Korelasi antara Total Fenol dengan Total Flavonoid pada Ekstrak Sampel Klon ICS60 dan KW514.....	15
4.	Potensi Antioksidan dari Sampel Daun, Kulit Buah, Pulp dan Biji Kakao Klon ICS60 dengan Analisa <i>TLC-Dot Blot</i> dan <i>TLC-Running</i>	16
5.	Persentase Peredaman Radikal DPPH Sampel Daun, Kulit Buah, Pulp dan Biji Kakao Klon ICS60 dan Klon KW514 .	18
6.	Perbandingan Nilai IC_{50} Ekstrak Sample Daun, Kulit Buah, Pulp dan Biji Kakao Klon ICS60 dengan KW514	19
7.	Hubungan antara Kandungan Total Fenol (mg GAE/mL) dengan Persentase Peredaman Radikal DPPH dan Grafik Hubungan antara Kandungan Total Flavonoid (mg QE/mL) dengan Persentase Peredaman Radikal DPPH pada Seluruh Sampel Daun, Kulit Buah, Pulp dan Biji ICS60 dan KW514..	20
8.	Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Sampel Kakao Klon ICS60 dan KW514 pada Perlakuan pH 2, 4, 6, 8 dan 10.....	24
9.	Hubungan Persentase Ketidaklarutan Presipitasi pada Perlakuan pH.....	25
10.	Persentase Kelarutan Protein dari Ekstrak Sampel Daun, Kulit Buah, Pulp dan Biji Kakao Klon ICS60	26
11.	Ilustrasi Fenol sebagai Antifungi.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1.	Standart Total Protein Terlarut (TPT).....	33
2.	Standart Total Fenol.....	33
3.	Standart Total Flavonoid.....	34
4.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Protein Terlarut (TPT) ICS60 pada Tabel Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dengan KW514.....	34
5.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Protein Terlarut (TPT) KW514 pada Tabel Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dengan KW514	34
6.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Fenol ICS60 pada Tabel Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dengan KW514	35
7.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Fenol KW514 pada Tabel Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dengan KW514	35
8.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Flavonoid ICS60 pada Tabel Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dengan KW514	36
9.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Flavonoid KW514 pada Tabel Perbandingan Total Protein Terlarut, Total Fenol dan Total Flavonoid Klon ICS60 dengan KW514	36
10.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) TPT ICS60 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol	37
11.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) TPT KW514 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	37
12.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Fenol ICS60 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	38

13.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Fenol KW514 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	38
14.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Flavonoid ICS60 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	39
15.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Flavonoid KW514 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi 50% Methanol.....	39
16.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) TPT KW514 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH	40
17.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Fenol KW514 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH	40
18.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Flavonoid KW514 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH.....	41
19.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) TPT ICS60 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH.....	41
20.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Fenol ICS60 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH.....	42
21.	Anova dan Uji Duncan ($p \leq 0,05$) Total Flavonoid ICS60 pada Tabel Persentase Ketidaklarutan TPT, Total Fenol dan Total Flavonoid dengan Presipitasi pH.....	42