

## Standarisasi dan Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Maria Ulfah\*, Sri Mulyati, Nurma Yunita

Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia

Email: maria\_ulfah@yahoo.com

### ABSTRAK

Senyawa kimia dalam tanaman tidak dapat dijamin selalu konstan dan aman, sehingga diperlukan standarisasi, selain itu senyawa flavonoid dan fenolik diduga berpotensi sebagai tabir surya melindungi kulit dari radiasi sinar UV. Penelitian ini bertujuan menetapkan standarisasi dan aktivitas tabir surya ekstrak etanol daun kakao. Daun kakao diekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction* dengan etanol 70%. Hasil ekstrak diuji parameter spesifik meliputi identitas, organoleptik, kadar senyawa larut air dan etanol, skrining fitokimia, kadar flavonoid dan fenolik total, serta diuji parameter non spesifik meliputi susut pengeringan, kadar air, kadar abu total dan abu tak larut asam serta cemaran logam. Hasil dianalisis deskriptif dibandingkan dengan standar. Aktivitas tabir surya diuji dengan spektrofotometri  $\lambda$  290-320 nm, nilai SPF dihitung dengan persamaan Mansur. Hasil organoleptic ekstrak kental berwarna coklat, rasa pahit, berbau coklat mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik serta memiliki kadar flavonoid total  $9,777 \pm 0,170$  mgRE/gr ekstrak, fenolik total  $45,321 \pm 1,220$  mgGAE/gr ekstrak dan memenuhi parameter spesifik dan non spesifik meliputi senyawa larut air  $21,024 \pm 0,574\%$ , larut etanol  $18,316 \pm 1,593\%$ , susut pengeringan  $15,08 \pm 0,148\%$ , kadar air  $17,16 \pm 0,261\%$ , kadar abu total  $2,342 \pm 0,015\%$ , abu tak larut asam  $0,789 \pm 0,036\%$ , logam Pb  $< 0,622$  mg/kg, Cd  $< 0,022$  mg/kg, As  $0,025$  mg/kg serta memiliki nilai SPF konsentrasi 700  $\mu\text{g/mL}$  sebesar  $17,95 \pm 0,084$  yang termasuk dalam kategori proteksi ultra.

**Kata Kunci:** Parameter Spesifik, Parameter Non Spesifik, SPF

### ABSTRACT

*Chemical compounds in plants cannot be guaranteed to always be constant and safe, so standardization is needed, besides flavonoid and phenolic compounds are suspected to have the potential as sunscreens to protect the skin from UV radiation. This study aims to establish the standardization and activity of cocoa leaf ethanol extract sunscreens. Cocoa leaves are extracted using Microwave Assisted Extraction with 70% ethanol. The results of the extract were tested for specific parameters including identity,*

*organoleptic, levels of water soluble compounds and ethanol, phytochemical screening, total flavonoid and phenolic levels, as well as tested nonspecific parameters including drying shrinkage, moisture content, total ash content and acid insoluble ash and metal spruce. The results were analyzed descriptively compared to the standard. The activity of the sunscreen is tested with a spectrophotometry of  $\lambda$  290-320 nm, the SPF value is calculated by the Mansur equation. Organoleptic results of brown thick extract, bitter taste, smelling of chocolate contains alkaloids, flavonoids, saponins, phenolics and has a total flavonoid content of  $9,777 \pm 0.170$  mgRE/gr extract, phenolics total  $45,321 \pm 1,220$  mgGAE/gr extract and meet specific and non-specific parameters including water soluble compounds  $21,024 \pm 0.574\%$ , ethanol soluble  $18,316 \pm 1,593\%$ , drying shrink  $15.08 \pm 0.148\%$ , water content  $17.16 \pm 0.261\%$ , total ash content  $2,342 \pm 0.015\%$ , acid insoluble ash  $0.789 \pm 0.036\%$ , Pb metal  $< 0.622$  mg/kg, Cd  $< 0.022$  mg/kg, As  $0.025$  mg/kg and has a concentration value of  $700 \mu\text{g/mL}$  of  $17.95 \pm 0.084$  which belongs to the category of ultra protection.*

**Keywords:** Specific Parameters, Non-Specific Parameters, SPF

## I. PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) banyak dibudidayakan di Indonesia. Manfaat dari daun kakao sebagai antifungi (Masro'atun *et al.*, 2017), antibakteri (Lidrawati, 2017) dan antioksidan serta memiliki kandungan kimia seperti alkaloid, saponin, flavonoid jenis flavonol yaitu rutin, polifenol seperti asam galat, epigalo katekin, epi katekin galat, epigalo katekin galat, dan epi katekin (Hasanah *et al.*, 2017). Menurut Prasiddha *et al.* (2016) menyatakan bahwa, senyawa flavonoid dan fenolik diduga dapat berpotensi sebagai tabir surya yang dapat melindungi kulit terhadap radiasi sinar UV. Selain itu kandungan senyawa aktif dalam tanaman tidak dapat dijamin selalu stabil, ia dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti tempat tumbuh tanaman, pasca panen, penyimpanan dan cemaran logam

berbahaya bagi kesehatan (Saifudin *et al.*, 2011). Sehingga perlu distandarisasi.

## II. METODE

### A. Preparasi Ekstrak etanol daun kakao

Simplisia daun kakao sebanyak 50 gr dilarutkan dengan etanol 70% 500 mL dan diekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE), kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu  $40^\circ\text{C}$  sampai diperoleh ekstrak kental (Endarini, 2016).

### B. Uji Parameter Spesifik

Uji parameter spesifik (Depkes RI, 2000) meliputi:

1. Identitas ekstrak meliputi nama latin tanaman, bagian tanaman serta nama Indonesia dari tanaman yang digunakan.
2. Organoleptik meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

3. Kadar senyawa yang terlarut dalam air yaitu 5 gr ekstrak dilarutkan dalam 100 mL kloroform LP, setelah 6 jam digojok dan didiamkan 18 jam lalu disaring. Filtrat diambil 20 mL dan diuapkan sampai tersisa residu, dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Lakukan secara berulang sampai bobot tetap.
4. Kadar senyawa terlarut dalam etanol yaitu 5 gr ekstrak dilarutkan etanol 100 mL, setelah 6 jam digojok, dan didiamkan 18 jam lalu disaring. Filtrat diambil 20 mL dan diuapkan hingga diperoleh residu, lalu panaskan 15 menit suhu 105°C. Lakukan secara berulang hingga berat konstan.
5. Parameter skrining fitokimia (Harborne, 1987).
  - a. Alkaloid dengan cara 100 mg ekstrak ad etanol 70% 10 ml, lalu diambil 2 mL masukkan ke tabung reaksi satu dan dua, dan tambahkan masing-masing 10 tetes HCl 2N. Tabung ke-1 ditambah pereaksi dragendorff, hasil positif jika terbentuk endapan merah. Pada tabung ke-2 ditambah pereaksi mayer, hasil positif jika endapan berwarna putih.
  - b. Flavonoid dengan cara 100 mg ekstrak ad etanol 70% 10 ml, lalu diambil 5 mL masukkan ke tabung reaksi dan tambahkan 0,2 mg serbuk logam Mg dan 3 tetes HCl. Hasil positif jika berwarna merah kehitaman, kuning atau jingga.
  - c. Saponin dengan cara 100 mg ekstrak dilarutkan 10 mL air panas, lalu didinginkan dan dikocok 10 detik. Hasil positif jika terbentuk buih yang stabil, lalu ditambah 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.
  - d. Fenolik dengan cara 100 mg ekstrak ad etanol 70% 10 mL dan ambil 2 mL masukkan ke tabung reaksi ad 3 tetes FeCl<sub>3</sub>1%. Hasil positif jika berwarna merah, biru dan hijau kehitaman.
6. Penetapan kadar flavonoid total dengan cara 0,5 mL larutan ekstrak (10000 µg/mL), ad 1,5 mL metanol p.a, dan tambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% serta 0,1 mL kalium asetat 1 M, dan ad aquadest 5 mL dan diamkan 30 menit dan diukur pada λ 417 nm (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).
7. Penetapan kadar fenolik total dengan cara 1 ml larutan ekstrak (10000 µg/mL) ad 10 mL etanol p.a dan diambil 1 mL dan tambahkan pereaksi *Folin-ciocalteu* 0,4 mL, digojog dan diamkan 8 menit, dan tambahkan 4 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7%, ad aquadest dan diamkan 2 jam lalu

diukur pada  $\lambda$  730,80 nm (Ahmad *et al.*, 2015).

### C. Uji Parameter Non Spesifik

Uji parameter non spesifik terdiri:

1. Kadar air dengan cara 2 gr ekstrak dimasukkan ke botol timbang yang diketahui bobotnya lalu dikeringkan 3 jam suhu 105°C, kemudian ekstrak ditimbang dan dikeringkan kembali 1 jam sampai bobot tetap, uji direplikasi 3 kali (BSN, 1992).
2. Parameter susut pengeringan dengan cara 1 gr ekstrak dimasukkan ke botol timbang yang sudah ditara dan dipanaskan 30 menit suhu 105°C. Ekstrak dikeringkan 5 jam lalu botol ditimbang ulang dan keringkan 1 jam, proses ini sampai bobot botol timbang tetap.
3. Kadar abu total dengan cara 1 gr ekstrak dimasukkan dalam krus yang telah dipijar dan ditimbang, lalu ekstrak dalam krus dipijar dengan tanur dan suhu dinaikkan 600°C selama 5 jam sampai arang habis dan keringkan 1 jam suhu 105°C dan didinginkan 15 menit dalam desikator. Lakukan menimbang sampai bobotnya tetap.
4. Kadar abu tak larut asam dengan cara 1 gr ekstrak dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijar dan ditimbang, ekstrak dalam krus dipijar dengan tanur dan suhu dinaikkan 600°C sampai arang habis, lalu dikeringkan 1 jam suhu 105°C dan didinginkan 15 menit dalam desikator, lakukan menimbang sampai bobotnya tetap (Depkes RI, 2000).
5. Cemaran logam menurut Saifudin *et al.* (2011)
  - a. Preparasi sampel ekstrak dengan cara 1 gr ekstrak dimasukkan beker gelas ditambah 10 mL asam nitrat pekat panaskan dengan heating mantel sampai kental atau kering dan didinginkan, lalu ad 10 mL aquades dan 5 mL asam perkolat, panaskan hingga kental, didinginkan dan disaring. Filtrat dimasukkan ke labu takar 50 mL, ad aquades. Sampel logam Pb, Cd, As direplikasi 3 kali.
  - b. Pembuatan larutan induk 1000 ppm (Pb, Cd, dan As) dengan serbuk Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Serbuk Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, dan serbuk As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, masing-masing 100 mg dimasukkan ke labu takar 100 ml, ad aquades, aduk hingga homogen.
  - c. Pembuatan larutan baku 10 ppm (Pb, Cd, dan As) dengan cara 1 ml larutan induk 1000 ppm (Pb, Cd, As) masing-masing masukkan ke labu takar 100 mL, lalu ad aquades.
  - d. Pembuatan seri konsentrasi (Pb, Cd, dan As) dengan cara larutan baku Pb

(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10 ppm yang telah dibuat diambil 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 mL, masing-masing dimasukkan labu takar 10 mL ad aquades.

- e. Pengukuran kadar (Pb, Cd, dan As) dengan cara larutan sampel ekstrak diukur pada  $\lambda$  217 nm untuk Pb,  $\lambda$  228,8 nm untuk Cd dan  $\lambda$  193,7 nm untuk As dengan alat AAS (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil kadar dibandingkan dengan batas maksimal untuk setiap logam adalah Pb<10 mg/Kg ekstrak, Cd 0,3 mg/Kg ekstrak dan As<5 mg/kg ekstrak (BPOM, 2014)

#### D. Aktivitas tabir surya

Aktivitas tabir surya dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 3, 4, 5, 6, dan 7 mL dari larutan induk ekstrak (1000  $\mu$ g/mL) masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, ad etanol p.a lalu diukur serapan dengan Spektrofotometri

UV-Vis pada  $\lambda$  290-320 nm dan dianalisis dengan persamaan mansur (Dutra *et al.*, 2004) yaitu:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{abs}(\lambda).$$

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Preparasi Ekstrak Daun Kakao

Simplisia daun kakao diekstraksi metode MAE dengan pelarut etanol 70%, karena waktu ekstraksi singkat, energi serta pelarut yang dibutuhkan sedikit (Endarini, 2016) serta etanol 70% dapat menyari senyawa yang bersifat polar hingga non polar (Saifudin *et al.*, 2011). Hasil ekstrak diperoleh 336,1 gram dengan rendemen 33,61% dari serbuk simplisia 1000 gram.

#### B. Uji Parameter Spesifik

Hasil parameter spesifik ekstrak etanol daun kakao pada Tabel I.

**Tabel I.** Hasil Uji standarisasi parameter spesifik ekstrak etanol daun kakao

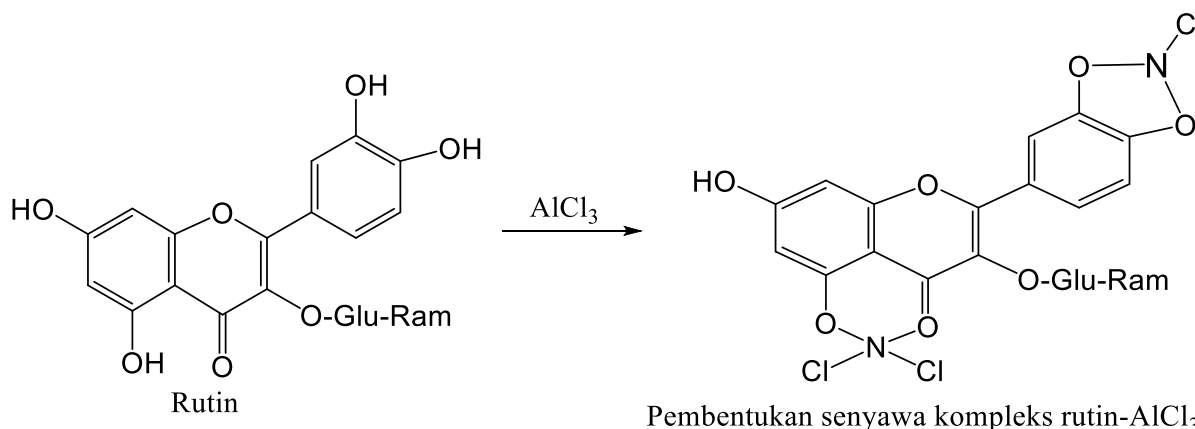
Parameter	Hasil
Identitas	Nama ekstrak: ekstrak etanol daun kakao); nama latin: <i>Theobroma cacao</i> L.; bagian tanaman: daun
Organoleptic senyawa larut air	Kental, rasa pahit, bau coklat, warna coklat kehitaman
Senyawa larut etanol	21,024 $\pm$ 0,574%
Skrining fitokimia	18,316 $\pm$ 1,593%
Kadar fenolik total	Alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik
Kadar flavonoid total	43,389 $\pm$ 1,114 mgGAE/gram ekstrak
	9,777 $\pm$ 0,170 mgRE/gr ekstrak

Pada Tabel I menunjukkan bahwa, hasil identitas ekstrak bernama ekstrak etanol daun kakao dengan nama latin

*Theobroma cacao* L. dengan bahan dari daun. Organoleptik ekstrak berbentuk kental, rasa pahit, bau coklat dan warna

coklat kehitaman. Hasil ini sama dengan penelitian Yopi (2019) juga diperoleh ekstrak etanol daun kakao berbentuk kental, rasa pahit, bau coklat dan warna coklat kehitaman.

Parameter senyawa terlarut air dan etanol bertujuan untuk menetapkan jumlah ekstrak lebih banyak terlarut dalam air (polar) atau terlarut dalam etanol (polar-non polar). Kadar senyawa ekstrak yang terlarut air sebesar  $21,024 \pm 0,574\%$  dan kadar senyawa ekstrak terlarut etanol sebesar  $18,316 \pm 1,593\%$ . Hasilnya menunjukkan lebih banyak terlarut dalam etanol daripada air, karena daun kakao memiliki senyawa polifenol terbesar dan senyawa tersebut bersifat polar (Markham, 1988). Hasil senyawa larut air dan etanol memenuhi persyaratan mutu dengan SD  $0,574\%$  dan  $1,593\%$ , dimana kedua hasil tersebut  $< 25\%$  (Saifudin *et al.*, 2011).



**Gambar 1.** Pembentukan senyawa kompleks rutin- $\text{AlCl}_3$

Berdasarkan hasil penentuan kurva baku rutin diperoleh persamaan regresi linear  $y = 0,005x + 0,113$  ( $x$ =kadar

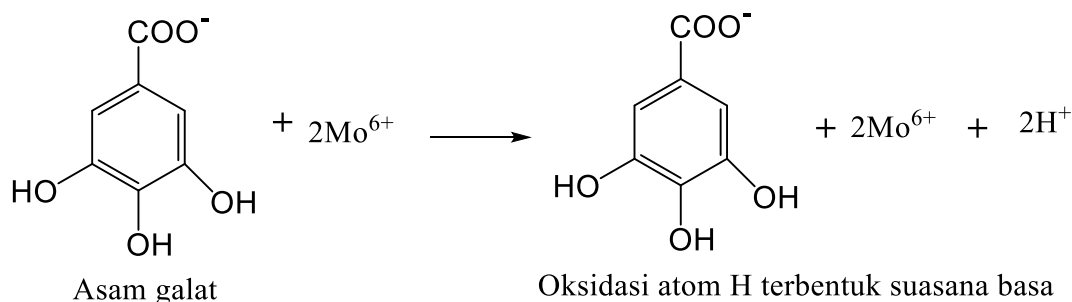
Parameter skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa yang berkhasiat terhadap aktivitas farmakologi (Depkes RI, 2000). Hasilnya terdiri senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan fenol dan menurut Hasanah (2017) juga menyatakan memiliki kandungan yang sama.

Penetapan kadar flavonoid dengan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  dan pembanding rutin (Chang *et al.*, 2002). Metode ini berdasarkan reaksi kompleks yang konstan gugus keto C-4, dengan gugus hidroksil C3 dan C5 gugus hidroksil pada flavon dan flavonol. Gugus ortohidroksil pada cincin A atau B kompleks konstan dengan penambahan  $\text{AlCl}_3$ . Reaksi senyawa kompleks rutin- $\text{AlCl}_3$  (Stankovic *et al.*, 2019) Gambar 1.

flavonoid total dalam  $\mu\text{g/mL}$ ,  $y$ =absorbansi) dengan nilai koefisien korelasi  $r=0,998$ . Kadar flavonoid total

ekstrak diperoleh sebesar  $9,777 \pm 0,170$  mgRE/gr ekstrak.

Penetapan kadar fenolik total ekstrak dengan reagen *Folin-ciocalteu*,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%, aquadest dan pembanding asam galat. Pereaksi *Folin-ciocalteu* merupakan pereaksi berwarna kuning yang akan mengoksidasi fenolik dalam sampel oleh



**Gambar 2.** Reaksi senyawa kompleks *molybdenum-tungsten*

Berdasarkan hasil penentuan kurva baku quersetin diperoleh persamaan regresi linear  $y = 0,010x + 0,110$  dengan nilai koefisien korelasi  $r = 0,998$ . Kadar fenolik total ekstrak diperoleh sebesar  $45,321 \pm 1,220$  mgGAE/gr ekstrak.

### C. Uji Parameter Non Spesifik

Hasil parameter non spesifik Table II. Pada Tabel II menunjukkan bahwa, kadar air dari ekstrak kental sebesar  $17,16 \pm 0,261\%$ . Kadar tersebut memenuhi persyaratan mutu yaitu 5-30%. Uji kadar air simplisia bertujuan sebagai batasan maksimal besarnya kandungan air dalam ekstrak, hal ini penting karena semakin tinggi kadar air maka bahan rentan ditumbuhi bakteri dan jamur sehingga

*molibdat tungstat* untuk menghasilkan warna biru. Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% sebagai pemberi suasana basa dan aquadest ditambahkan agar reaksi yang terjadi dapat berjalan sempurna. Reaksi senyawa kompleks *molybdenum-tungsten* (Nunes *et al.*, 2012) Gambar 2.

simplisia tidak dapat disimpan dalam waktu lama (Saifudin *et al.*, 2011).

**Tabel II.** Hasil parameter non spesifik ekstrak etanol daun kakao

Parameter	Hasil
Kadar Air	$17,16 \pm 0,261\%$
Susut Pengerinan	$15,08 \pm 0,148 \%$
Kadar Abu Total	$2,342 \pm 0,015\%$
Kadar Abu Tak larut	$0,789 \pm 0,036\%$
Asam	
Timbal (Pb)	0,622 mg/kg
Cadmium (Cd)	0,022 mg/kg
Arsen (As)	0,025 mg/kg

Hasil susut pengeringan ekstrak etanol daun kakao menunjukkan nilai sebesar  $15,08 \pm 0,148 \%$ . Nilai ini memenuhi syarat mutu ekstrak yaitu batas kadar air pada ekstrak kental 5-30% (Saifudin *et al.*, 2011). Susut pengeringan ekstrak bertujuan sebagai batasan

maksimum terhadap jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan dan kontaminasi dari ekstrak (Depkes RI, 2000).

Penentuan kadar abu total ekstrak dilakukan berfungsi untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal pada proses awal hingga akhir pada ekstrak etanol. Semakin tinggi kadar abu total semakin tinggi kandungan mineral ekstrak. Hasil kadar abu total sebesar  $2,342 \pm 0,015\%$  memenuhi standar mutu.

Penentuan kadar abu tak larut asam pada ekstrak berfungsi untuk mengetahui proses pencucian pada bahan tanaman tidak bersih karena mengandung pasir atau kotoran lain yang tertinggal bila tinggi kadarnya (Sudarmadji *et al.*, 1989). Hasil kadar abu tak larut asam pada ekstrak sebesar  $0,789 \pm 0,036\%$  memenuhi standar mutu.

Penetapan kadar logam dapat menjamin atau memastikan bahwa ekstrak bebas dari kandungan logam berbahaya dari kondisi tanah yang ditumbuhi tanaman, pupuk pestisida untuk tanaman serta asap kendaraan bermotor menempel pada tanaman yang akhirnya logam dapat diserap oleh tanaman (Adhani dan Husnaini, 2017). Hasil kadar logam Pb diperoleh sebesar 0,622%, cadmium 0,022 dan arsen 0,025 memenuhi standar mutu dengan batas logam Pb <10mg/kg, Cd <

0,3mg/kg, dan As <5mg/kg ekstrak (BPOM, 2014).

#### **D. Aktivitas Tabir Surya**

Prinsip uji tabir surya adalah adanya gugus kromofor (sistem aromatik terkonjugasi) yang dapat menyerap sinar UV seperti pada senyawa flavonoid dan fenolik (Parasiddha *et al.*, 2016), pada  $\lambda$  290-320 untuk mendapatkan nilai SPF. Nilai SPF menunjukkan berapa lama produk tabir surya dapat melindungi kulit dari paparan sinar matahari (Stanfiled, 2003).

Senyawa flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam daun kakao diduga dapat berpotensi sebagai tabir surya menurut Prasiddha *et al.*, (2016) menyatakan bahwa, kandungan senyawa bioaktif flavonoid dan fenolik dalam rambut jagung diduga berpotensi sebagai tabir surya karena memiliki gugus kromofor. Gugus kromofor merupakan gugus aromatik yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang mampu menyerap sinar UV-A dan UV-B, untuk mengurangi intensitasnya pada kulit. Hasil pengujian aktivitas tabir surya terhadap UV-B terdapat pada Tabel III.

Pada Tabel III menunjukkan bahwa, hasil yang diperoleh ekstrak pada konsentrasi 300  $\mu\text{g/mL}$  diperoleh nilai SPF  $6,07 \pm 0,025$  yang berada dalam rentang 6-8 termasuk kategori proteksi ekstra. Konsentrasi 400, 500, 600  $\mu\text{g/mL}$



diperoleh nilai SPF  $8,26 \pm 0,190$ ;  $11,44 \pm 0,074$ ;  $14,62 \pm 0,075$  yang berada dalam rentang 8-15 termasuk kategori proteksi maksimal, sedangkan pada konsentrasi 700  $\mu\text{g/mL}$  diperoleh nilai SPF  $17,95 \pm 0,084$ . Nilai SPF tertinggi ekstrak etanol daun kakao yaitu pada konsentrasi 700  $\mu\text{g/mL}$  sebesar  $17,95 \pm 0,084$  yang termasuk

kategori proteksi ultra. Nilai SPF tertinggi ekstrak etanol daun kakao yaitu pada konsentrasi 700  $\mu\text{g/mL}$  sebesar  $17,95 \pm 0,084$  yang termasuk kategori proteksi ultra. Hasil menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka aktivitas tabir surya juga semakin besar.

**Tabel III.** Hasil perhitungan rata-rata nilai SPF ekstrak etanol daun kakao

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Rata-rata SPF $\pm$ SD	Kategori
300	$6,07 \pm 0,025$	Proteksi ekstra
400	$8,26 \pm 0,190$	Proteksi maksimal
500	$11,44 \pm 0,074$	Proteksi maksimal
600	$14,62 \pm 0,075$	Proteksi maksimal
700	$17,95 \pm 0,084$	Proteksi ultra

#### IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kakao memenuhi parameter spesifik dan non spesifik serta memiliki aktivitas tabir surya dalam kategori proteksi ultra.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang untuk fasilitas laboratorium dan semua pihak yang telah membantu melakukan penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adhani, R., Husaini. (2017). *Logam Berat Sekitar Manusia*. Lambung Mangkurat University Press, 17-19.
- Ahmad, A.R., Juwita, Ratulangi, S.A.D., Malik, A. (2015), Penetapan kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jock) R.M.SM). *Pharm Sci Res.*, 2(1), 1-10.
- BPOM RI. (2014). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 9-10.
- BSN. (1992). *Cara Uji Makanan Dan Minuman*, Badan Standarisasi Nasional, 4.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Jurnal of food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 1, 27-35.

- Dutra, E.A., Oliveira, D.A.G.D.C.E., Kedor-Hackmann, E.R.M., Santoro, M.I.R.M. (2004). Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Sunscreens by Ultraviolet Spectrophotometry. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40(3), 381-385.
- Endarini, L.H. (2016). *Farmakognosi dan Fitokimia*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 153.
- Gandjar, I.G., Rohman A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, 298-302.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, 47-59.
- Hasanah, M., Amaliani, S., Rikmasari, Y. (2017). Analisis Antioksidan dari Berbagai Fraksi Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 2(1), 33-40.
- Lidrawati, R.W. (2017). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma caL.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara *In Vitro*. Universitas Andalas, 2-3.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Institut Teknologi Bandung, 15.
- Masro'atun, Sari, D.N.R., Hasanah, H.U. (2017). Efektivitas Ekstrak Daun Kakao Terhadap *Phytophthora palmivora*. *Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*, 2(1), 1-11.
- Nunes, X.P., Silva, F.S., Almeida, J.R.G.S., Lima, J.T., Ribeiro, L.A.A., Junior, L.J.Q., Filho, J.M.B. (2012). Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products, Dalam Phytochemicals as Nutraceuticals-Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health. *Venketeshwer Rao (Ed.) InTech*, 15.
- Prasiddha, I.J., Laeliocattleya, R.A., Estiasih, T., Maligan, J.M. (2016). Potensi Senyawa Bioaktif Rambut Jagung (*Zea mays* L.) untuk Tabir Surya Alami : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 40-45.
- Saifudin, A., Rahayu, V., Teruna, H.Y. (2011). *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu, 1-10.
- Stanfiled, J.W. (2003). *Sun protectans: Enhacing Product Functionality in sunscreen, in Schueller, R. Romanowski, P., (eds), Multifunctional Cosmetics*. Marchel Dekker, Inc., 836-900.
- Stankovic, M., Jakovljevic, D., Stojadinov, M., Stevanovic, Z.D. (2019). Halophyte Species as a Source of Secondary Metabolites with Antioxidant Activity. *Springer Nature Singapore*, 289-312.
- Sudarmaji, S., Haryono, B., Suhardi. (1989). *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, 13-14.
- Wahyulianingsih., Handayani, S., Malik, A. (2016). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 188-193.
- Yopi, R.E. (2019) Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dan Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Aktivitas Sistem Saraf Pusat pada Mencit Putih Jantan. Universitas Andalas, 39-42.