

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L)

2.1.1 Klasifikasi, morfologi dan jenis tanaman kakao

Dalam van Steenis (1975) dapat diketahui bahwa tanaman kakao mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Malvales
Famili : Sterculiaceae
Genus : *Theobroma*
Spesies : *Theobroma cacao* L.

Untuk mengetahui lebih jelas tentang gambaran tanaman kakao, maka berikut ini dijelaskan morfologi tanaman tersebut. Kakao merupakan pohon kecil yang kadang-kadang rendah sudah bercabang dan tingginya 3-8 m. Daunnya bertangkai, berbentuk bulat telur terbalik memanjang, meruncing, 10-48 kali 4-20 cm. Bunga berkelamin 2, berbilangan 5, dalam berkas di ketiak atau pada kayu yang tua. Daun kelopak bentuk lanset, panjang 6-8 mm, putih kadang-kadang keunguan. Daun mahkota panjang 8-9 mm, kuku dari dalam dengan 2 rusuk merah, helaiannya menggantung,

putih kuning atau kemerahan. Tabung benang sari bentuk periuk, tiap kali 2 benang sari yang seluruhnya bersatu, berseling dengan 1 staminodium. Staminodia ungu tua dengan ujung putih. Bakal buah beruang 5. Bakal biji banyak. Buah buni bentuk telur memanjang, dengan 5 pasang rusuk, ungu atau kuning, panjang 12-32 cm, dengan dinding tebal. (2)

Tanaman kakao berbuah sepanjang tahun, tapi masa berbuah yang utama pada bulan September-Januari dan masa berbuah yang lebih sedikit antara bulan Mei-Juli. Tanaman kakao mulai berbuah kira-kira umur 4-5 tahun dan berbuah berturut-turut sampai umur 25 tahun. Waktu yang diperlukan untuk membentuk buah hingga masak kurang lebih 6 bulan. Buah yang siap untuk dipanen atau dipetik adalah buah yang masak optimal. Kriteria buah masak umumnya berdasar warna luarnya. Warna ini sangat dipengaruhi oleh jenis tanaman kakao itu sendiri. Buah yang semula berwarna merah, jika masak akan berwarna oranye (sedikit oranye) dan yang semula hijau akan berwarna kuning jika masak. (5)

Tanaman kakao dibagi menjadi 2 jenis utama, yaitu: Criollo dan Forastero. Ada jenis lain yang merupakan persilangan antara Criollo dan Forastero yaitu Trinitario. (3) Biji kakao yang berasal dari jenis Criollo dan Trinitario serta hasil persilangannya disebut biji kakao mulia (edel), sedangkan biji kakao yang berasal dari jenis Forastero disebut biji kakao lindak (bulk). (4)

Biji kakao jenis Criollo rasanya enak, bentuk

bulat, warnanya putih kelabu hingga ungu muda. Warna kulit umumnya merah, agak lembut, kadang-kadang berkerut. Pucuk buah tumpul atau agak lancip. Daun lebih kecil dari jenis lain. Mudah terserang hama dan penyakit. Pada jenis Forastero, rasa bijinya kurang enak, bentuknya kurang bulat, warna ungu dan rasanya pahit. Buah lebih besar, kulit keras dan kurang berkerut. Daunnya lebih lebar. Tidak mudah terserang hama dan penyakit. (5)

2.1.2 Komposisi buah dan biji kakao

Buah kakao mempunyai bagian-bagian yaitu: kulit, plasenta, pulp dan biji. Dalam 1 buah kakao yang masak terdapat 30-40 biji yang diselubungi pulp. (6) Biji kakao terdiri atas 12,5% kulit biji; 0,8% lembaga dan 86,7% keping biji. (7) Komposisi kimia keping biji kakao Afrika Barat yang tidak terfermentasi dapat dilihat pada Tabel II.1 dan komposisi kimia pulp kakao pada Tabel II.2 serta komposisi kimia kulit buah kakao pada Tabel II.3 .

Tabel II.1 : Komposisi kimia keping biji kakao Afrika Barat yang tidak terfermentasi⁽⁸⁾

Komponen	Persentase	
	Asli	Bahan kering bebas lemak
Air	3,65	-
Lemak	53,05	-
Nitrogen		
Nitrogen protein	1,50	3,46
Nitrogen ammonia	0,028	0,065
Nitrogen amida	0,186	0,434
Theobromin	1,71	3,95
Kafein	0,085	0,196
Karbohidrat		
Glukosa	0,30	0,69
Pati	6,10	14,09
Pektin	2,25	5,20
Serat	2,09	4,83
Selulosa	1,92	4,43
Pentosan	1,27	2,93
Mucilage & gums	0,38	0,88
Tannin		
Asam tanat	2,24	5,17
Asam-asam		
Asetat (bebas)	0,014	0,032
Oksalat	0,29	0,67

Tabel II.2 : Komposisi kimia pulp kakao⁽⁶⁾

Komponen	Persentase
Air	80-90
Albuminoid	0,5-0,7
Glukosa	8-13
Sukrosa	0,4-1
Pati	Sedikit
Asam tak menguap	0,2-0,4
Besi-besi oksida	0,03
Garam-garam	0,4-0,45

Tabel II.3 : Komposisi kimia kulit buah kakao⁽⁹⁾

Komponen	Persentase
Protein kasar	5,69-9,69
Zat lemak	0,02-0,15
Glukosa	1,16-3,92
Sukrosa	0,02-0,18
Pektin	5,30-7,08
Ekstrak N bebas	44,21-51,27
Serat kasar	33,19-39,45
Theobromin	0,20-0,21
Garam-garam dari	
CaO	0,22-0,59
MgO	0,40-0,52
K ₂ O	3,85-5,27
P ₂ O ₅	0,30-0,49
SO ₂	0,06-0,14
pH	6,1-7,0

2.1.3 Manfaat tanaman kakao

Tanaman kakao merupakan satu-satunya spesies dari genus *Theobroma* yang mempunyai nilai komersial. Bijinya diolah menjadi produk makanan seperti cokelat, bubuk kakao dan lemaknya diambil untuk dibuat mentega.⁽²⁾

Selain itu bijinya dapat digunakan sebagai obat pusing, wasir, hipotensi, obat cacing dan perangsang saraf.⁽¹⁰⁾

Kulit buah kakao dapat dimanfaatkan untuk makanan ternak dan sebagai sumber pektin yang di bidang farmasi pektin tersebut digunakan untuk pembuat kapsul. Di bidang

pangan bisa digunakan sebagai pembentuk gel dalam pembuatan selai, jeli dan kembang gula. (7)

Pulp dapat untuk jus kakao (bahan minuman beralkohol dan non alkohol), bahan produksi gula, bahan pembuatan nata, bahan pembekuan biologi atau kimiawi pada lateks. (11)

2.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang berasal dari banyak tanaman dan merupakan produk metabolisme sekunder. Secara umum alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung 1 atau lebih atom nitrogen dan dalam sebagian besar alkaloid, atom nitrogen tersebut adalah bagian dari sistem siklik. (12) Tetapi tidak semua senyawa yang berbentuk heterosiklik nitrogen yang ada di alam termasuk alkaloid. Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam berkeaktifan fisiologis tertentu. (13)

Alkaloid banyak terdapat dalam tanaman tingkat tinggi terutama tanaman dikotil, tapi sangat jarang pada tanaman tingkat rendah dan fungi. Bagian biji, daun, ranting dan kulit kayu merupakan bagian dari tanaman yang sering mengandung alkaloid. Konsentrasi alkaloid tergantung pada musim, umur, dan daerah tumbuhnya. Jenis alkaloid yang berhubungan dekat biasanya terdapat bersama dalam satu tanaman, contohnya: dari opium telah diisolasi 20 alkaloid.

Tanaman dengan famili yang sama umumnya mengandung alkaloid yang sama atau yang secara struktur berhubungan. (12)

Kebanyakan alkaloid merupakan kristal tak berwarna yang tak larut atau sangat sedikit larut dalam air tapi larut dalam pelarut organik seperti kloroform, alkohol, eter, benzena dan kadang-kadang petroleum. Pada umumnya alkaloid berasa pahit. (12,14)

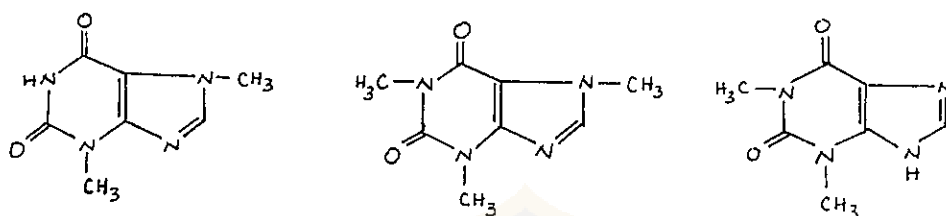
Pengelompokan alkaloid secara kimia dilakukan berdasarkan struktur dasar cincinnya. Beberapa penulis mengelompokkan beberapa senyawa yang berstruktur dasar purin sebagai alkaloid purin. Meskipun demikian, sebenarnya ada pula yang mengelompokkan senyawa-senyawa turunan purin sebagai suatu kelompok tersendiri. Dalam Harborne (1985) disebutkan bahwa secara khusus, purin yang terdapat dalam tanaman dibagi menjadi beberapa kelompok, antara lain: basa dari asam nukleat, seperti: adenin dan guanin ; purin termetilasi, seperti: kafein dan theobromin ; sitokinin, seperti: kinetin dan zeatin.

2.3 Theobromin, Suatu Alkaloid Purin dalam Kakao

Dalam biji kakao terdapat senyawa theobromin, kafein dan sedikit theofilin. Ketiga senyawa itu umumnya dapat digolongkan dalam alkaloid purin. Di antara ketiganya theobromin merupakan komponen terbesar. Theobromin baik

sendiri atau bersama dengan kafein yang terdapat dalam jumlah yang lebih sedikit sering dihubungkan dengan timbulnya rasa pahit pada kakao. Lebih lanjut diketahui bahwa rasa pahit kakao yang khas terjadi karena interaksi theobromin dan diketopiperazin yang terbentuk selama penyangraian biji kakao. (15)

Struktur theobromin, kafein dan theofilin :



Kandungan theobromin dalam biji kakao dipengaruhi oleh jenis, kematangan buah dan proses fermentasi. Biji kakao jenis Forastero mengandung theobromin dengan kadar yang lebih tinggi daripada jenis Criollo. Pada biji sendiri theobromin lebih banyak terdapat dalam keping biji dibandingkan dalam kulitnya. Theobromin mulai disintesis secara aktif selama tahap akhir pertumbuhan buah dan tahap awal pemasakannya. (1) Bila biji mengalami fermentasi, maka pada hari pertama fermentasi terjadi kenaikan kandungan theobromin dalam keping biji dan penurunan dalam kulit biji. Pada hari selanjutnya ada penurunan kandungan theobromin dalam keping biji yang diikuti peningkatannya dalam kulit biji. Pada fermentasi hari keenam, kandungan theobromin dalam keping dan kulit biji relatif sama. (1)

Untuk keperluan farmasi, theobromin digunakan sebagai diuretik, perangsang jantung, otak dan otot kerangka (skeletal).⁽¹⁶⁾

2.4 Metode Isolasi dan Pemurnian

Sebelum suatu senyawa dapat diidentifikasi, maka senyawa tersebut harus diisolasi hingga diperoleh senyawa yang murni. Hal ini mutlak dilakukan terutama bila senyawa yang diinginkan terdapat dalam tanaman karena senyawa yang terdapat di dalamnya cukup banyak. Metode isolasi yang sesuai diperlukan untuk mendapatkan senyawa tertentu.

Pemilihan metode isolasi tergantung pada senyawa yang diinginkan. Langkah awal dalam isolasi senyawa dari jaringan tanaman umumnya dilakukan dengan cara maserasi atau sokletasi dengan pelarut tertentu. Maserasi dilakukan dengan merendam sampel yang akan diekstrak dalam pelarut dengan jangka waktu tertentu hingga senyawa yang diinginkan terekstrak. Sokletasi dilakukan dengan perangkat soklet yang terdiri atas labu tempat pelarut, tabung tempat sampel dan kondensor. Pelarut dalam labu dipanaskan dan setelah uapnya mencapai kondensor akan terkondensasi dan jatuh ke tabung sampel sehingga lama kelamaan sampel terendam pelarut yang akhirnya pelarut tersebut akan turun kembali ke dalam labu melalui pipa kapiler.

Pada tahap awal isolasi tersebut, senyawa lain yang tidak diharapkan dapat ikut terambil. Karena itu untuk

memperoleh senyawa tertentu, campuran perlu dipisahkan. Pemisahan umumnya dilakukan dengan cara kromatografi seperti: kromatografi kertas (Kkt), kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi gas cair (KGC), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Pemilihan teknik kromatografi sebagian besar tergantung pada sifat kelarutan dan keatsirian senyawa yang akan dipisahkan. Teknik-teknik kromatografi tersebut biasanya digunakan untuk memisahkan campuran dengan jumlah relatif kecil (kurang dari 1 gram). Untuk memisahkan campuran dengan jumlah yang lebih besar sering digunakan kromatografi kolom.⁽¹⁷⁾ Campuran yang telah dipisahkan dengan kromatografi kolom diharapkan terpisah menjadi senyawa murni yang dikehendaki. Tetapi kadang-kadang masih perlu dimurnikan lagi.

Pemurnian yang dilakukan adalah dengan rekristalisasi. Senyawa (berupa padatan) yang belum murni dilarutkan dalam pelarut secukupnya yang hanya melarutkan senyawa tersebut dalam keadaan panas. Kemudian larutan ini disaring panas-panas sehingga pengotor yang tak larut dapat dipisahkan. Filtrat yang mengandung senyawa yang diinginkan serta pengotor yang larut didinginkan perlahan sehingga terjadi kristalisasi. Kristal yang terjadi disaring sedangkan pengotor tetap dalam filtrat. Proses ini diulang beberapa kali hingga diperoleh kristal yang murni. Proses di atas menggunakan pelarut tunggal. Bila pelarut tunggal tidak ada yang sesuai untuk rekristalisasi, maka dapat

dilakukan dengan pasangan pelarut. Kedua pelarut harus bercampur dan pelarut yang satu (A) melarutkan senyawa dengan baik sedangkan dalam pelarut yang lain (B) senyawa tidak larut. Senyawa dilarutkan dalam sedikit pelarut A dalam keadaan panas dan pelarut B ditambahkan sedikit-sedikit hingga larutan menjadi keruh. Kemudian larutan didiamkan sehingga terjadi kristalisasi. (18)

2.4.1 Kromatografi lapis tipis (KLT)

KLT hampir selalu dipakai dalam proses isolasi hingga identifikasi suatu senyawa. KLT dapat digunakan untuk memperoleh hasil kualitatif atau kuantitatif.

Fase diam pada KLT umumnya menggunakan silika gel, alumina, selulosa. Fase diam perlu diaktifkan pada 100-110°C sebelum digunakan. Fase gerak atau pelarut pengembang dapat dipilih dari pustaka atau dengan mencoba-coba. Sering terjadi pemisahan yang baik menggunakan campuran pelarut. (19)

Campuran yang akan dikromatografi dilarutkan dalam pelarut yang mudah menguap dari plat KLT. Penotolan larutan tersebut pada plat memakai pipet mikro atau dengan kapiler halus dan diusahakan luas totolan sekecil mungkin. Penotolan bisa dilakukan beberapa kali pada tempat yang sama asal dilakukan sesudah penotolan sebelumnya mengering. Sebelum pengembangan dilakukan, pelarut pada penotolan harus benar-benar hilang dari plat. Plat dikembangkan dalam

bejana berisi fase gerak (pelarut pengembang) dan bejana ditutup rapat. (19)

Penampakan bercak tak berwarna pada plat sesudah plat dikembangkan dapat dilakukan menggunakan sinar uv pada plat berindikator fluoresensi atau dengan uap iodium. Metode khusus untuk penampakan bercak tak berwarna menggunakan pereaksi yang dapat bereaksi dengan senyawa tertentu menghasilkan warna yang khas. (19)

2.4.2 Kromatografi kolom

Pada kromatografi kolom, umumnya fase diam yang diperlukan sama seperti pada KLT tapi ukuran partikelnya lebih besar. Sebelum digunakan, fase diam tersebut juga perlu diaktifkan. Fase gerak (pelarut pengelusi) yang sesuai dapat dipilih melalui penelusuran pustaka, penerapan data KLT atau dengan elusi memakai pelarut dari yang kepolarannya rendah hingga pelarut yang lebih polar. (19)

Campuran yang akan dipisahkan, diisikan pada bagian atas kolom yang telah diisi dengan fase diam. Selama elusi, fase gerak dibiarkan mengalir melalui kolom dan senyawa-senyawa yang terdapat dalam campuran bergerak bersamanya dengan laju yang berbeda-beda. Fase gerak yang keluar dari kolom bersama senyawa-senyawa dalam campuran ditampung tiap beberapa mililiter sehingga didapatkan fraksi-fraksi. Dari banyak fraksi tersebut, fraksi yang mengandung senyawa yang sama dikumpulkan sehingga hanya

diperoleh beberapa fraksi. Fraksi yang berisi senyawa yang dikehendaki diuji kemurniannya dan bila diperlukan bisa dilakukan proses pemurnian.

2.5 Metode Identifikasi

Pada identifikasi kandungan suatu senyawa dalam tanaman, senyawa hasil isolasi perlu diuji lagi kemurniannya. Bila senyawa tersebut benar-benar murni, maka akan menghasilkan bercak tunggal dengan beberapa sistem KLT. (17)

Identifikasi lengkap suatu senyawa tergantung pada pengukuran sifat atau ciri lain yang kemudian dibandingkan dengan data dari pustaka. Sifat yang diukur misalnya: titik leleh (untuk padatan), titik didih (untuk cairan), putaran optik (untuk senyawa optis aktif), harga R_f (pada kondisi baku). Selain itu, data mengenai senyawa yang sama ialah ciri spektrumnya, yang meliputi spektrum ultra violet (uv), infra merah, resonansi magnet inti dan spektrum massa. Biasanya senyawa yang pernah diketahui dapat diidentifikasi dengan data-data tersebut. Untuk pemastian dilakukan perbandingan dengan senyawa standar. Bila senyawa standar tidak ada, perbandingan dengan data pustaka sudah cukup untuk identifikasi. (17)

Secara umum, spektroskopi ultra violet digunakan untuk memperkirakan golongan senyawa tertentu melalui letak serapan maksimum pada panjang gelombang tertentu.

Penyerapan sinar ultra violet oleh suatu molekul akan menghasilkan transisi elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Radiasi ultra violet mempunyai panjang gelombang sekitar 100-400 nm. Penyerapan radiasi ini oleh suatu sampel diukur pada berbagai panjang gelombang dan dialirkan oleh suatu perekam sehingga terjadi spektrum. Panjang gelombang absorpsi biasanya disebut λ_{\max} yaitu panjang gelombang pada titik tertinggi kurva (spektrum). (17,20)

Spektroskopi infra merah untuk mengetahui jenis gugus fungsi dalam suatu molekul, seperti -OH, -NH, -C=O melalui pita-pita serapan karakteristiknya. Bila suatu molekul menyerap radiasi infra merah, maka energi tersebut hanya menyebabkan perubahan amplitudo getaran dari atom-atom yang terikat dalam molekul tersebut. Tipe ikatan tertentu menyerap radiasi infra merah pada panjang gelombang karakteristik yang tertentu dan tergantung macam getaran dari ikatan itu. Karena suatu ikatan dalam suatu molekul dapat melakukan berbagai vibrasi, maka suatu ikatan tertentu dapat menyerap pada lebih dari satu panjang gelombang. (21) Penggunaan spektroskopi infra merah untuk penentuan struktur senyawa organik biasanya pada daerah $650-4000 \text{ cm}^{-1}$. (22) Daerah antara $1400-4000 \text{ cm}^{-1}$ berguna untuk identifikasi gugus-gugus fungsi, sedangkan daerah di

bawah 1400 cm^{-1} menunjukkan serapan yang unik dari tiap senyawa sehingga daerah ini disebut daerah sidik jari. (21)

Dengan spektroskopi infra merah dapat diketahui gugus-gugus fungsi dalam suatu molekul, tetapi tidak banyak petunjuk tentang bagian hidrokarbon molekul tersebut. Dalam hal ini, spektroskopi resonansi magnet inti ^1H dapat digunakan dalam memperkirakan jumlah jenis lingkungan hidrogen yang ada dalam molekul dan jumlah atom hidrogen pada atom karbon tetangga. Dalam alat untuk spektroskopi jenis ini, molekul yang diletakkan dalam medan magnet dikenai gelombang radio. (21)

Dalam spektrometer massa, suatu sampel dalam keadaan gas diubah menjadi ion positif dengan membombardirnya menggunakan elektron berenergi tinggi sehingga terjadi pelepasan sebuah elektron dari molekul dan terbentuk ion molekul yang dilambangkan M^+ . Ion molekul ini dapat mengalami pemecahan menjadi fragmen kecil yang dapat berupa radikal bebas atau ion-ion lain. Dengan spektrometer massa yang khas, hanya fragmen bermuatan positif yang dideteksi. Pemecahan molekul ini tergantung pada kerangka karbon dan gugus fungsi molekul induknya. Karena itulah struktur dan massa fragmen dapat memberi petunjuk tentang struktur molekul induknya. Seringkali spektrum massa dipakai dalam penentuan bobot molekul suatu senyawa. Spektrum massa berupa puncak-puncak dan

masing-masing puncak menunjukkan suatu fragmen molekul. Puncak tertinggi dalam spektrum massa disebut puncak dasar dan diberi nilai 100%. Puncak dengan harga m/e terbesar disebut puncak ion molekul dan menyatakan berat molekul senyawa. (20)

