

CHARACTERISTIC OF THEOBROMINE EXTRACT FROM COCOA BEAN SHELL (*Theobroma cacao* L.) WITH VARIATION OF PARTICLE SIZE AND TIME OF EXTRACTION

KARAKTERISTIK EKSTRAK THEOBROMIN DARI KULIT BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DENGAN VARIASI UKURAN PARTIKEL DAN WAKTU EKSTRAKSI

Fadhilla Surya Utomo, G. P. Ganda Putra*, Luh Putu Wrasianti

Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Indonesia

Diterima 22 Januari 2024 / Disetujui 22 Februari 2024

ABSTRACT

Cocoa bean shells contain theobromine, which includes methylxanthine besides caffeine and theophylline. This study aims to know the effect of particle size and time of extraction on the characteristic of theobromine extract from cocoa bean shells and determine the best variation treatments to produce theobromine extract from cocoa bean shells. This study used a factorial Randomized Block Design (RBD) with two factors, that is particle size (40, 60, and 80 mesh) and time of extraction (24, 36, and 48 hours). The data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) and continued with the Tukey test. The results showed that particle size and time of extraction had a very significant effect on the yield, theobromine content, and color intensity (L^ , a^* , b^*). Interaction between treatments had a very significant effect on the redness level (a^*) and yellowish level (b^*) but had no significant effect on the yield, theobromine content, and brightness level (L^*). Based on the effectiveness index test, particle size 80 mesh and time of extraction 48 hours were the best treatment with the following characteristics of theobromine extract: yield 21.40 ± 1.67 percents; theobromine content 4.91 ± 0.10 percents; brightness level (L^*) 30.30 ± 1.84 ; redness level (a^*) 15.75 ± 1.48 ; and yellowish level (b^*) 17.55 ± 0.78 .*

Keywords : *Cocoa bean shell, extraction, theobromine*

ABSTRAK

Kulit biji kakao mengandung senyawa theobromin, dimana termasuk salah satu dari senyawa metilxantin selain kafein dan teofilin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ukuran partikel dan waktu ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak theobromin dari kulit biji kakao serta menentukan variasi perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak theobromin dari kulit biji kakao. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor, yaitu ukuran partikel (40, 60, dan 80 mesh) dan waktu ekstraksi (24, 36, 48 jam). Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, kadar theobromin, dan intensitas warna (L^* , a^* , b^*). Interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*), namun tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar theobromin, dan tingkat kecerahan (L^*). Berdasarkan uji indeks efektivitas, ukuran

* Korespondensi Penulis :
Email: gandaputra@unud.ac.id

partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam merupakan perlakuan terbaik dengan karakteristik ekstrak theobromin sebagai berikut: rendemen $21,40 \pm 1,67$ persen; kadar theobromin $4,91 \pm 0,10$ persen; tingkat kecerahan (L^*) $30,30 \pm 1,84$; tingkat kemerahan (a^*) $15,75 \pm 1,48$; dan tingkat kekuningan (b^*) $17,55 \pm 0,78$.

Kata kunci : Kulit biji kakao, ekstraksi, theobromin

PENDAHULUAN

Kakao menjadi salah satu komoditas perkebunan yang memiliki peran yang cukup penting di Indonesia. Produksi kakao di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 688,21 ribu ton, sehingga menjadikan Indonesia berada di peringkat ke-3 setelah Ghana dan Pantai Gading sebagai negara dengan produsen kakao terbesar di dunia (Badan Pusat Statistik, 2022). Banyaknya produksi kakao berbanding lurus dengan jumlah produk sampingan yang dihasilkan, dimana hanya 10 persen dari total berat buah kakao yang diproduksi, sedangkan 90 persen sisanya sebagai produk sampingan (Batteazzore et al., 2014).

Salah satu produk sampingan yang dihasilkan pada produksi biji kakao yaitu kulit biji kakao yang terdiri dari 10-17 persen dari total berat biji kakao (Hashimoto et al., 2018). Meskipun termasuk produk sampingan, kulit biji kakao memiliki kandungan yang tidak berbeda jauh dengan biji kakao seperti protein, lemak, karbohidrat, senyawa polifenol, flavonoid, serta metilxantin (Rojo-Poveda et al., 2020). Kulit biji kakao mengandung metilxantin, yaitu senyawa turunan (derivat) xantin dan termasuk golongan senyawa alkaloid. Theobromin merupakan salah satu metilxantin pada kakao selain kafein pada kopi dan teofilin pada teh (Safitri dan Kusbandri, 2022).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat dalam bahan, dimana dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, metode ekstraksi, jenis bahan, dan jenis pelarut. Pada ukuran partikel, semakin kecil ukuran partikel maka jalur difusi untuk pelarut menjadi lebih kecil (Miranda et al., 2020). Hasil penelitian Dewi (2022) menyatakan ukuran partikel 80 mesh menghasilkan rendemen lebih tinggi sebesar $11,75 \pm 0,21$ persen pada ekstraksi rumput teki menggunakan pelarut etanol 96 persen. Namun, hasil penelitian Antari et al. (2015) menyatakan ukuran partikel 60 mesh merupakan perlakuan terbaik dengan rendemen 4,8 persen, tingkat kecerahan (L^*) 6,29; tingkat kemerahan (a^*) -3,70; dan tingkat kekuningan (b^*) 28,93 pada ekstraksi warna alami buah pandan menggunakan pelarut etanol.

Pada waktu ekstraksi, semakin lama waktu ekstraksi maka kontak antar bahan dan pelarut semakin lama (Agu et al., 2022). Hasil penelitian Putra et al. (2020) menunjukkan waktu ekstraksi 48 jam merupakan perlakuan terbaik pada ekstraksi kulit biji kakao menggunakan pelarut etanol 96 persen dengan rendemen $14,49 \pm 0,19$ persen. Namun, hasil penelitian Diana et al. (2021) menunjukkan waktu ekstraksi 36 jam merupakan perlakuan terbaik pada ekstrak metanol daun mangrove dengan rendemen $33,90 \pm 1,502$ persen, tingkat kecerahan (L^*) $23,93 \pm 0,559$; tingkat kemerahan (a^*) $11,12 \pm 0,568$; dan tingkat kekuningan (b^*) $10,15 \pm 0,510$.

Berdasarkan pemaparan tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ukuran partikel dan waktu ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak theobromin kulit biji kakao, serta untuk mengetahui variasi perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak theobromin kulit biji kakao.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku

yang digunakan yaitu kulit biji kakao yang diperoleh dari PT. Bali Coklat (Junglegold Bali), Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung, Bali. Kulit biji kakao yang diperlukan memiliki kadar air ± 6 persen, serta diperoleh dari biji kakao yang telah difermentasi selama 4-5 hari, disangrai dengan suhu 200°C selama 30 menit, hingga proses pemisahan (*winnowing*) sehingga didapatkan kulit biji kakao yang diperlukan. Kemudian untuk bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 96 persen, aquades, H_2SO_4 0,1 N (merck), indikator merah fenol (arkitos), NaOH 0,1 N (merck), AgNO_3 0,1 N (merck).

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari blender (Miyako), ayakan 40, 60, dan 80 mesh (Retsch), neraca analitik (Pioneer), aluminium foil, botol maserasi, kertas saring kasar, kertas saring Whatman No. 1, *rotary evaporator* (IKA RV 10 digital), *colorimeter* (Android), gelas piala (Iwaki), erlenmeyer (Iwaki), tabung reaksi (Pyrex), pipet volume (Pyrex), labu ukur (Iwaki).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah ukuran partikel (S) yang terdiri dari 3 taraf (S1: 40 mesh, S2: 60 mesh, S3: 80 mesh). Faktor kedua adalah waktu ekstraksi (T) yang terdiri dari 3 taraf (T1: 24 jam, T2: 36 jam, T3: 48 jam). Dari kedua faktor tersebut didapatkan 9 kombinasi perlakuan, dan masing-masing perlakuan akan dikelompokkan menjadi 2 kelompok berdasarkan waktu pelaksanaannya, sehingga didapatkan 18 unit percobaan. Data hasil penelitian selanjutnya dilakukan pengujian statistik menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan pengujian BNJ (Beda Nyata Jujur) menggunakan perangkat lunak Microsoft Excel 2019. Penentuan perlakuan terbaik ditentukan menggunakan uji indeks efektivitas (De Garmo et al., 1984).

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan bubuk kulit biji kakao dilakukan menurut Rahmadhani et al. (2020). Kulit biji kakao kering dengan kadar air ± 6 persen dihaluskan menggunakan blender, setelah itu diayak sesuai dengan perlakuan. Proses pengayakan dimulai dari ayakan 80 mesh. Bubuk yang tidak lolos ayakan 80 mesh diayak kembali menggunakan ayakan 60 mesh. Bubuk yang tidak lolos ayakan 60 mesh diayak kembali menggunakan ayakan 40 mesh. Dari proses pengayakan ini didapatkan bubuk kulit biji kakao dengan ukuran partikel yang berbeda-beda sesuai perlakuan.

Ekstraksi kulit biji kakao dilakukan menurut Putra et al. (2020) dengan modifikasi. Ekstraksi sampel kulit biji kakao dilakukan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 30 gram bubuk kulit biji kakao dari masing-masing ukuran partikel yaitu 40, 60, dan 80 mesh dimasukkan ke dalam botol maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70 persen sebanyak 450 mL, sehingga didapatkan perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:15 (Putra et al., 2020). Penggunaan pelarut etanol 70 persen pada penelitian ini dikarenakan pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan 80 dan 96 persen, dimana mengandung lebih banyak air. Selain itu, theobromin termasuk senyawa alkaloid yang bersifat semi polar, yaitu dapat larut dengan pelarut polar maupun nonpolar. Proses maserasi dilakukan pada suhu ruang ($23\text{-}26^{\circ}\text{C}$) dan waktu sesuai perlakuan, yaitu selama 24, 36, dan 48 jam. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan secara manual setiap 6 jam selama 5 menit. Setelah proses maserasi, dilakukan penyaringan sebanyak dua kali. Proses penyaringan pertama menggunakan kertas saring kasar, sehingga didapatkan filtrat 1 dan ampas. Ampas dari proses penyaringan pertama kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 50 mL, dan diaduk selama 5 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring kasar, sehingga didapatkan filtrat 2. Filtrat 1 dan 2 kemudian dicampur dan disaring kembali menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Filtrat yang sudah disaring kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*

pada suhu 40°C, kecepatan 100 rpm, dan tekanan 100 mBar. Proses ini dihentikan ketika pelarut tidak lagi menetes, sehingga didapatkan ekstrak kental kulit biji kakao.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini terdiri dari rendemen ekstrak (Hambali et al., 2014), kadar theobromin (AOAC, 1990 dengan modifikasi), dan intensitas warna (Kristanoko et al., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap rendemen ekstrak theobromin kulit biji kakao. Nilai rata-rata rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata rendemen (%) ekstrak theobromin kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada perlakuan ukuran partikel dan waktu ekstraksi.

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu Ekstraksi (jam)			Rata-rata
	24	36	48	
40	15,86	16,43	17,21	16,50±0,28 ^b
60	17,37	17,94	18,56	17,96±0,91 ^b
80	19,30	19,89	21,40	20,20±1,19 ^a
Rata-rata	17,51±0,48 ^b	18,09±0,62 ^{ab}	19,06±1,22 ^a	

Keterangan : Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kesalahan 5% ($P \leq 0,05$).

Pada perlakuan ukuran partikel menunjukkan nilai rata-rata tertinggi rendemen ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh sebesar 20,20±1,19 persen. Sedangkan nilai terendah dihasilkan pada ukuran partikel 40 mesh sebesar 16,50±0,28 persen, namun tidak berbeda nyata dengan ukuran partikel 60 mesh sebesar 17,96±0,91 persen.

Kemudian pada perlakuan waktu ekstraksi menunjukkan nilai rata-rata tertinggi rendemen ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada perlakuan waktu ekstraksi 48 jam sebesar 19,06±1,22 persen, namun tidak berbeda nyata dengan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 18,09±0,62 persen. Sedangkan nilai terendah dihasilkan pada waktu ekstraksi 24 jam sebesar 17,51±0,48 persen, namun tidak berbeda nyata dengan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 18,09±0,62 persen.

Ukuran partikel yang semakin kecil dan waktu ekstraksi yang semakin lama mengakibatkan pelarut lebih mudah mengekstrak bahan, serta kontak antara bahan dan pelarut semakin lama, sehingga terjadi peningkatan nilai rendemen. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil ekstrak dengan bahan baku, dimana jumlah rendemen menunjukkan banyaknya zat yang terekstrak selama proses ekstraksi (Priamsari et al., 2016). Hasil ini menunjukkan bahwa semakin kecil ukuran partikel dan semakin lama waktu ekstraksi pada perlakuan yang dicobakan, maka nilai rendemen ekstrak yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian Ginting et al. (2020) mengenai karakteristik ekstrak pewarna alami bunga kenop pada perlakuan ukuran partikel dan lama maserasi, dimana kombinasi perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan lama maserasi 48 mesh menghasilkan nilai rendemen tertinggi. Hasil penelitian Pratyaksa et al. (2020) mengenai karakteristik ekstrak kulit buah kakao juga menyatakan bahwa nilai rendemen tertinggi dihasilkan pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu maserasi 48 jam.

Kadar Theobromin

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar theobromin ekstrak kulit biji kakao. Nilai rata-rata kadar theobromin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata kadar theobromin (%) ekstrak theobromin kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada perlakuan ukuran partikel dan waktu ekstraksi.

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu Ekstraksi (jam)			Rata-rata
	24	36	48	
40	2,62	3,02	3,41	3,01±0,18 ^c
60	3,79	3,81	4,37	3,99±0,38 ^b
80	4,55	4,75	4,91	4,74±0,08 ^a
Rata-rata	3,65±0,22 ^b	3,86±0,29 ^{ab}	4,23±0,12 ^a	

Keterangan : Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kesalahan 5% ($P \leq 0,05$).

Pada perlakuan ukuran partikel menunjukkan nilai rata-rata tertinggi kadar theobromin ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh sebesar 4,74±0,08 persen. Sedangkan nilai terendah dihasilkan pada ukuran partikel 40 mesh sebesar 3,01±0,18 persen.

Kemudian pada perlakuan waktu ekstraksi menunjukkan nilai rata-rata tertinggi kadar theobromin ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada perlakuan waktu ekstraksi 48 jam sebesar 4,23±0,12 persen, namun tidak berbeda nyata dengan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 3,86±0,29 persen. Sedangkan nilai terendah dihasilkan pada waktu ekstraksi 24 jam sebesar 3,65±0,22 persen, namun tidak berbeda nyata dengan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 3,86±0,29 persen.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar theobromin ekstrak semakin meningkat seiring dengan ukuran partikel yang semakin kecil dan waktu ekstraksi yang semakin lama. Kulit biji kakao mengandung banyak senyawa bioaktif, salah satunya theobromin (Rojo-Poveda et al., 2020). Kadar theobromin yang dihasilkan pada penelitian ini sebanyak 2,62 – 4,91 persen, atau sekitar 2,62 – 4,91 g/100 g. Jumlah ini lebih tinggi jika dibandingkan pada penelitian Purba (2023) sebesar 1,79 – 3,95 g/100 g pada produk teh herbal kulit biji kakao. Kadar theobromin yang berbeda disebabkan oleh beberapa faktor seperti jenis pelarut, metode ekstraksi, dan metode analisis. Selain itu, kadar theobromin yang berbeda disebabkan karena jenis kakao yang digunakan dan besarnya ukuran partikel bahan yang dilarutkan (Purba, 2023). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap kadar theobromin.

Hal ini didukung oleh penelitian Botella-Martínez et al. (2021) mengenai pengaruh ukuran partikel dari kulit biji kakao, dimana kadar theobromin tertinggi dihasilkan pada ukuran partikel $D_p < 417 \mu\text{m}$ (± 40 mesh) dari variasi perlakuan $D_p > 701 \mu\text{m}$ (± 28 mesh), $417 \mu\text{m} < D_p < 701 \mu\text{m}$ (± 28 mesh), dan $D_p < 417 \mu\text{m}$ (± 40 mesh). Namun, hasil penelitian Rojo-Poveda et al. (2019) mengenai pengaruh ukuran partikel dan metode penyeduhan dari minuman fungsional kulit biji kakao menunjukkan bahwa ukuran partikel 500 – 1000 μm (35 – 18 mesh) memiliki kadar theobromin lebih tinggi daripada 250 – 500 μm (60 – 35 mesh).

Intensitas Warna

Tingkat Kecerahan (L^*)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap tingkat kecerahan (L^*) ekstrak theobromin kulit biji kakao. Nilai L^* digunakan untuk menunjukkan parameter kecerahan (*lightness*) dengan rentang nilai 0 hingga 100. Nilai rata-rata tingkat kecerahan

(L*) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata tingkat kecerahan (L*) ekstrak theobromin kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada perlakuan ukuran partikel dan waktu ekstraksi.

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu Ekstraksi (jam)			Rata-rata
	24	36	48	
40	35,00	34,75	33,95	34,57±1,84 ^a
60	33,20	32,65	31,55	32,47±1,70 ^b
80	31,45	31,00	30,30	30,92±1,86 ^c
Rata-rata	33,22±1,72 ^a	32,80±1,84 ^b	31,93±1,84 ^c	

Keterangan : Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kesalahan 5% ($P \leq 0,05$).

Pada perlakuan ukuran partikel menunjukkan nilai rata-rata tertinggi tingkat kecerahan (L*) ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada perlakuan ukuran partikel 40 mesh sebesar 34,57±1,84, sedangkan nilai terendah dihasilkan pada ukuran partikel 80 mesh sebesar 30,92±1,86. Kemudian pada perlakuan waktu ekstraksi menunjukkan nilai rata-rata tertinggi tingkat kecerahan (L*) ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada perlakuan waktu ekstraksi 24 jam sebesar 33,22±1,72, sedangkan nilai terendah dihasilkan pada waktu ekstraksi 48 jam sebesar 31,93±1,84.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kecerahan berbanding terbalik dengan nilai rendemen ekstrak, dimana semakin tinggi nilai rendemen, maka tingkat kecerahan semakin menurun. Tingkat kecerahan ekstrak juga berkaitan dengan kadar theobromin, dimana Tabel 2. menunjukkan kadar theobromin yang semakin tinggi menyebabkan tingkat kecerahan semakin menurun. Hal ini disebabkan karena selama proses ekstraksi, ukuran partikel yang semakin kecil dan waktu ekstraksi yang lama menyebabkan banyaknya senyawa pada bahan yang terekstrak, sehingga tingkat kecerahan ekstrak akan semakin menurun. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap tingkat kecerahan (L*) ekstrak. Manasika dan Widjanarko (2015) juga menyatakan bahwa tingkat kecerahan semakin menurun disebabkan oleh konsentrasi pigmen yang meningkat sehingga warna menjadi lebih gelap dan tingkat kemerahan (a*) dan kekuningan (b*) yang menjadi meningkat.

Hasil penelitian Sekali et al. (2020) menunjukkan tingkat kecerahan (L*) terendah ditunjukkan pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam pada ekstrak aseton pewarna alami daun singkong. Hasil penelitian Ardyanti et al. (2020) juga menunjukkan ukuran partikel 80 mesh memiliki tingkat kecerahan terendah pada ekstrak *Virgin Coconut Oil* (VCO) wortel.

Tingkat Kemerahan (a*)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa ukuran partikel, waktu ekstraksi, dan interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap tingkat kemerahan (a*) ekstrak theobromin kulit biji kakao. Nilai a* digunakan untuk menunjukkan tingkat warna hijau hingga merah dengan rentang nilai -80 hingga 80. Nilai rata-rata tingkat kemerahan (a*) dapat dilihat pada Tabel 4. dan diagram tingkat kemerahan dapat dilihat pada Gambar 1.

Nilai rata-rata tertinggi tingkat kemerahan (a*) ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada kombinasi perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam sebesar 15,75±1,48, namun tidak berbeda nyata dengan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 15,40±1,56. Sedangkan nilai rata-rata terendah dihasilkan pada kombinasi perlakuan ukuran partikel 40 mesh dan waktu ekstraksi 24 jam sebesar 11,80±1,84, namun tidak berbeda nyata dengan ukuran partikel 40 mesh dan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 12,45±1,77.

Tabel 4. Nilai rata-rata tingkat kemerahan (a^*) ekstrak theobromin kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada perlakuan ukuran partikel dan waktu ekstraksi.

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu Ekstraksi (jam)		
	24	36	48
40	11,80±1,84 ^e	12,45±1,77 ^{de}	12,70±1,98 ^d
60	12,80±1,98 ^d	13,80±1,84 ^c	14,90±1,70 ^b
80	15,35±1,63 ^{ab}	15,40±1,56 ^{ab}	15,75±1,48 ^a

Keterangan : Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kesalahan 5% ($P \leq 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kemerahan ekstrak cenderung semakin meningkat seiring dengan ukuran partikel yang semakin kecil dan waktu ekstraksi yang semakin lama. Tingkat kemerahan yang tinggi menunjukkan adanya kandungan senyawa tanin yang pada ekstrak kulit biji kakao, dimana senyawa tanin menghasilkan warna kecoklatan. Menurut Susilawati (2007), senyawa tanin dapat berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan pada lemak dan minyak, zat pewarna, serta antidiare. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap tingkat kemerahan (a^*) ekstrak. Hasil penelitian Oktavian et al. (2020) menunjukkan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 6 jam memiliki nilai tingkat kemerahan (a^*) tertinggi jika dibandingkan dengan waktu 4 dan 8 jam, pada ekstrak *Virgin Coconut Oil* (VCO) kunyit. Hasil penelitian Shukla et al. (2022) juga menunjukkan bahwa ukuran partikel 100 μm (± 140 mesh) memiliki tingkat kemerahan (a^*) tertinggi dari variasi perlakuan 300 μm (± 50 mesh) dan 500 μm (35 mesh) pada ekstrak kulit sorgum merah menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE).

Tingkat Kekuningan (b^*)

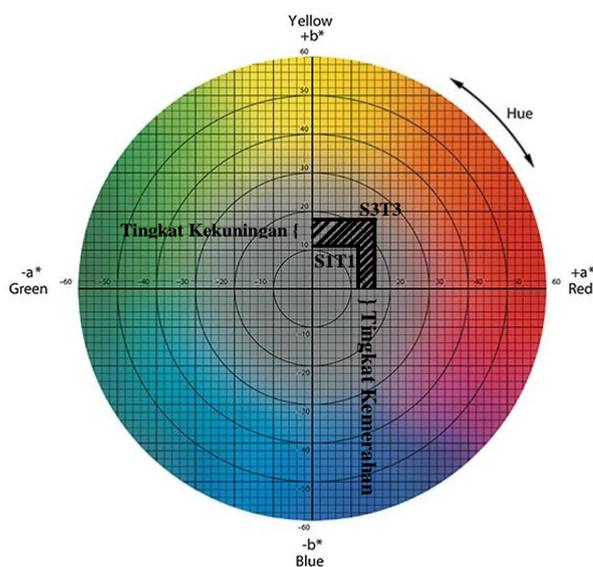
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa ukuran partikel, waktu ekstraksi, dan interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap tingkat kekuningan (b^*) ekstrak theobromin kulit biji kakao. Nilai b^* digunakan untuk menunjukkan tingkat warna biru hingga kuning dengan rentang nilai -70 hingga 70. Nilai rata-rata tingkat kekuningan (b^*) dapat dilihat pada Tabel 5. dan diagram tingkat kekuningan dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 5. Nilai rata-rata tingkat kekuningan (b^*) ekstrak theobromin kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada perlakuan ukuran partikel dan waktu ekstraksi.

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu Ekstraksi (jam)		
	24	36	48
40	11,35±1,34 ^e	11,40±1,13 ^e	12,90±1,70 ^d
60	12,95±1,48 ^d	15,30±1,27 ^c	15,55±1,06 ^c
80	15,90±1,27 ^{bc}	17,00±0,57 ^{ab}	17,55±0,78 ^a

Keterangan : Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kesalahan 5% ($P \leq 0,05$).

Nilai rata-rata tertinggi tingkat kekuningan (b^*) ekstrak theobromin kulit biji kakao dihasilkan pada kombinasi perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam sebesar 17,55±0,78, namun tidak berbeda nyata dengan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 17,00±0,57. Sedangkan nilai rata-rata terendah dihasilkan pada kombinasi perlakuan ukuran partikel 40 mesh dan waktu ekstraksi 24 jam sebesar 11,35±1,34, namun tidak berbeda nyata dengan ukuran partikel 40 mesh dan waktu ekstraksi 36 jam sebesar 11,40±1,13.



Gambar 1. Diagram tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*) ekstrak theobromin kulit biji kakao

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kekuningan ekstrak cenderung semakin meningkat seiring dengan ukuran partikel yang semakin kecil dan waktu ekstraksi yang semakin lama. Tingkat kekuningan yang tinggi berkaitan dengan tingkat kemerahan, dimana warna coklat terbentuk dari kombinasi tiga warna primer yaitu merah, kuning, dan biru sehingga warna coklat dapat berupa kemerahan atau kekuningan. Selain itu, diduga adanya kandungan karotenoid pada ekstrak kulit biji kakao, dimana karotenoid berperan dalam pigmen warna kuning pada bahan. Menurut Ayuningtyas (2014), terdapat pigmen karotenoid, polifenol, flavonoid, dan tanin pada kulit buah kakao, sehingga berpotensi sebagai zat pewarna. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap tingkat kekuningan (b^*) ekstrak.

Hasil penelitian Noviantari et al. (2017) pada ekstrak warna *Sargassum polycystum* menunjukkan ukuran partikel 60 mesh dan konsentrasi pelarut aseton 95 persen memiliki tingkat kekuningan (b^*) tertinggi dari variasi ukuran partikel 40 mesh dan <40 mesh. Namun, hasil penelitian Sayoga et al. (2020) menunjukkan ukuran partikel 60 mesh dan waktu ekstraksi 36 jam memiliki tingkat kekuningan (b^*) tertinggi pada ekstrak pewarna alami daun pandan wangi.

Uji Indeks Efektivitas

Uji indeks efektivitas dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak theobromin kulit biji kakao. Variabel yang digunakan antara lain rendemen ekstrak, kadar theobromin, dan intensitas warna (L^* , a^* , b^*). Hasil uji indeks efektivitas dapat dilihat pada Tabel 6.

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan melihat jumlah nilai hasil uji indeks efektivitas tertinggi pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan Tabel 6, perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam memiliki nilai indeks efektivitas tertinggi sebesar 1,00 sehingga merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak theobromin kulit biji kakao.

Tabel 6. Hasil uji indeks efektivitas ekstrak theobromin kulit biji kakao

Perlakuan	Variabel						Jumlah
		Rendemen Ekstrak	Kadar Theobromin	L*	a*	b*	
	BV	0,87	1,00	0,74	0,52	0,61	
	BN	0,23	0,27	0,20	0,14	0,16	
S1T1	Ne	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Nh	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
S1T2	Ne	0,10	0,17	0,05	0,16	0,01	0,11
	Nh	0,02	0,05	0,01	0,02	0,00	
S1T3	Ne	0,24	0,34	0,22	0,23	0,25	0,27
	Nh	0,06	0,09	0,04	0,03	0,04	
S2T1	Ne	0,27	0,51	0,38	0,25	0,26	0,35
	Nh	0,06	0,14	0,08	0,04	0,04	
S2T2	Ne	0,38	0,52	0,50	0,51	0,64	0,50
	Nh	0,09	0,14	0,10	0,07	0,10	
S2T3	Ne	0,49	0,76	0,73	0,78	0,68	0,68
	Nh	0,11	0,20	0,15	0,11	0,11	
S3T1	Ne	0,62	0,84	0,76	0,90	0,73	0,76
	Nh	0,14	0,23	0,15	0,13	0,12	
S3T2	Ne	0,73	0,93	0,85	0,91	0,91	0,86
	Nh	0,17	0,25	0,17	0,13	0,15	
S3T3	Ne	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	Nh	0,23	0,27	0,20	0,14	0,16	

KESIMPULAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan ukuran partikel dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen ekstrak, intensitas warna (L^* , a^* , b^*), dan kadar theobromin. Interaksi antara perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*), namun tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak, kadar theobromin, dan tingkat kecerahan (L^*). Perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak theobromin kulit biji kakao yaitu pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam dengan karakteristik rendemen 21,40±1,67 persen; kadar theobromin 4,91±0,10 persen; tingkat kecerahan (L^*) 30,30±1,84; tingkat kemerahan (a^*) 15,75±1,48; dan tingkat kekuningan (b^*) 17,55±0,78.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan untuk menggunakan perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu ekstraksi 48 jam untuk menghasilkan ekstrak theobromin kulit biji kakao. Kemudian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar theobromin pada ekstrak

theobromin kulit biji kakao dengan perlakuan diatas 80 mesh dan 48 jam, atau dengan kombinasi perlakuan lainnya, serta pengaplikasiannya dalam bidang farmasi dan kosmetika.

DAFTAR PUSTAKA

- Agu, C. M., Orakwue, C. C., Ani, K. A., Agulanna, A. C., and Dzarma, G. W. 2022. Process thermodynamic, kinetics and statistical analysis of *Gmelina arborea* seed oil extraction as clean environmental friendly industrial base-oil. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 6, 100216.
- Antari, N. M. R. O., Wartini, N. M., dan Mulyani, S. 2015. Pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak warna alami buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(4), 30–40.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis Vol 2: Food Composition; Additives; Natural Contaminants. AOAC International.
- Ardyanti, N. K. N. T., Suhendra, L., dan Putra, G. P. G. 2020. Pengaruh ukuran partikel dan lama maserasi terhadap karakteristik ekstrak *virgin coconut oil* wortel (*Daucus carota* L.) sebagai pewarna alami. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(3), 423–434.
- Ayuningtyas, I. P. 2014. Kajian kulit buah kakao sebagai pewarna alami pada tekstil. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Badan Pusat Statistik. 2022. Statistik Kakao Indonesia 2021. Badan Pusat Statistik Indonesia. Jakarta.
- Battegazzore, D., Bocchini, S., Alongi, J., and Frache, A. 2014. Plasticizers, antioxidants and reinforcement fillers from hazelnut skin and cocoa by-products: Extraction and use in PLA and PP. *Polymer Degradation and Stability*, 108, 297–306.
- Botella-Martínez, C., Lucas-Gonzalez, R., Ballester-Costa, C., Pérez-álvarez, J. Á., Fernández-López, J., Delgado-Ospina, J., Chaves-López, C., and Viuda-Martos, M. 2021. Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells coproducts: Effect of particle size on chemical composition, bioactive compound content and antioxidant activity. *Agronomy*, 11, 401.
- De Garmo, E. P., Sullivan, W. G., and Canada, J. R. 1984. Engineering Economy. Macmillan Publishing Company. New York.
- Dewi, K. P. 2022. Pengaruh jenis pelarut dan ukuran partikel terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri umbi rumput teki (*Cyperus rotundus* L.). Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Universitas Udayana. Badung.
- Diana, E. N., Wrsiati, L. P., dan Suhendra, L. 2021. Karakteristik ekstrak metanol daun mangrove (*Rhizophora mucronata*) pada perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 9(3), 300–311.
- Ginting, R. B., Wartini, N. M., dan Wrsiati, L. P. 2020. Karakteristik ekstrak pewarna alami bunga kenop (*Gomphrena globosa* L.) pada perlakuan ukuran partikel dan lama maserasi serta korelasi antar variabel. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(3), 448–459.
- Hambali, M., Mayasari, F., dan Noermansyah, F. 2014. Ekstraksi antosianin dari ubi jalar dengan variasi konsentrasi solven dan lama waktu ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(2), 25–35.
- Hashimoto, J. C., Lima, J. C., Celeghini, R. M. S., Nogueira, A. B., Efraim, P., Poppi, R. J., and Pallone, J. A. L. 2018. Quality control of commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) by near-infrared spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 11, 1510–1517.
- Kristanoko, H., Kusnandar, F., dan Herawati, D. 2021. Analisis warna berbasis *smartphone android* dan aplikasinya dalam pendugaan umur simpan konsentrat apel. *AgriTECH*, 41(3), 211–219.

- Manasika, A., dan Widjanarko, S. B. 2015. Ekstraksi pigmen karotenoid labu kabocha menggunakan metode ultrasonik (kajian rasio bahan: pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(3), 928–938.
- Miranda, P. M., Putra, G. P. G., dan Suhendra, L. 2020. Karakteristik ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai sumber antioksidan pada perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(1), 28–38.
- Noviantari, N. P., Suhendra, L., dan Wartini, N. M. 2017. Pengaruh ukuran partikel bubuk dan konsentrasi pelarut aseton terhadap karakteristik ekstrak warna *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 102–112.
- Oktavian, A., Suhendra, L., dan Wartini, N. M. 2020. Pengaruh ukuran partikel dan waktu maserasi terhadap ekstrak *virgin coconut oil* (VCO) kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai pewarna alami. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(4), 524–534.
- Pratyaksa, I. P. L., Putra, G. P. G., dan Suhendra, L. 2020. Karakteristik ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai sumber antioksidan pada perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(1), 139–149.
- Priamsari, M. R., Susanti, M. M., dan Atmajaya, A. H. 2016. Pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas dan kadar flavonoid total ekstrak etanolik daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.). *Journal of Pharmacy*, 5(1), 29–33.
- Purba, M. P. 2023. Pengaruh perbandingan kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) terhadap karakteristik teh herbal. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Universitas Udayana. Badung.
- Putra, I. K. W., Putra, G. P. G., dan Wrasiasi, L. P. 2020. Pengaruh perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi terhadap ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai sumber antioksidan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 167–176.
- Rahmadhani, R., Putra, G. P. G., dan Suhendra, L. 2020. Karakteristik ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai sumber antioksidan pada perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 246–256.
- Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Mateus-Reguengo, L., Bertolino, M., Stévigny, C., and Zeppa, G. 2019. Effects of particle size and extraction methods on cocoa bean shell functional beverage. *Nutrients*, 11, 867.
- Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Zeppa, G., and Stévigny, C. 2020. Cocoa bean shell—a by-product with nutritional properties and biofunctional potential. *Nutrients*, 12(4), 1123.
- Safitri, W., dan Kusbandri, A. 2022. Penetapan kadar teobromin pada bubuk minuman cokelat di Kecamatan Umbulharjo dengan metode HPLC. *Journal Farmasi Klinik dan Sains*, 2(1), 97–103.
- Sayoga, M. H., Wartini, N. M., dan Suhendra, L. 2020. Pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak pewarna alami daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* R.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 234–245.
- Sekali, E. E. K., Wartini, N. M., dan Suhendra, L. 2020. Karakteristik ekstrak aseton pewarna alami daun singkong (*Manihot Esculenta* C.) pada perlakuan ukuran partikel bahan dan lama maserasi. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, 5(2), 49–58.
- Shukla, S., Lohani, U. C., Shahi, N. C., and Dubey, A. 2022. Extraction of natural pigments from red sorghum (*Sorghum bicolor*) husk by ultrasound and microwave assisted extraction: A comparative study through response surface analysis. *Journal of Food Process Engineering*, 45(10), 14130.
- Susilawati, Y. 2007. Flavonoid Tanin-Polifenol. Universitas Padjadjaran. Jatinagor-Indonesia.