

Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut dan Ukuran Partikel
*The Characteristic of the Extract of Pod Husk of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) as a Source of Antioxidants on Solvent Concentration and Particle Size*

Praycelia Marissa Miranda, G.P. Ganda Putra*, Lutfi Suhendra

PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801.

Diterima 12 Agustus 2019 / Disetujui 28 Agustus 2019

ABSTRACT

Cocoa pod husk is the highest waste of the cocoa fruit processing and has not been used optimally. The waste pod husk of cocoa contain polyphenol that can be used for antioxidants. Polyphenol on pod husk of cocoa can be extract using extraction method. This study aims were to determine the effect of the solvent concentration and particle size on the extract of pod husk of cocoa as a source of antioxidants and to determine the best of solvent concentration and particle size to produce extract of pod husk of cocoa as a source of antioxidant. The study was the experimental research which designed by using randomized block desain (RBD) with two factors. The first factor was solvent concentration that consists of 70, 80 and 90 percent of ethanol. The second factor was particle size that that consists of 40, 60 and 80 mesh. The data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued with the Tukey test. The results showed that the solvent concentration and particle size had very significant effect while the interaction did not affect significantly of the yield, total phenolics and antioxidant capacity of the extract of pod husk of cocoa. 90 percent of ethanol concentration and 80 mesh of particle size was the best treatment for extracting pod husk of cocoa as a source of antioxidants with characteristic 10.78±0.61 percent of yields, 110.65±0.80 mg GAE/g of total phenolics and 55.08±0.78 mg GAEAC/g of antioxidant capacity.

Keywords : *pod husk cocoa, solvent concentration, particle size, antioxidants.*

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

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara penghasil kakao terbesar nomor 3 diseluruh dunia sehingga produksi kakao di Indonesia terbilang cukup tinggi yaitu mencapai 657.050 ton pada tahun 2017 (Badan Pusat Statistika, 2017). Bagian tanaman kakao yang paling sering dimanfaatkan adalah biji buahnya sedangkan kulit buah kakao menjadi limbah terbesar dari proses produksi kakao yaitu sebesar 75 persen (Sartini *et al.*, 2012). Limbah kulit buah kakao ini hanya dimanfaatkan sebagai pupuk dan pakan ternak namun tetap memiliki kelemahan karena kandungan lignin yang tinggi (Suparjo *et al.*, 2011).

Kulit buah kakao mengandung komponen kimia berupa lignin, polifenol dan teobromin (Sartini *et al.*, 2012). Polifenol sendiri merupakan bahan antioksidan alami yang memiliki manfaat untuk kesehatan manusia. Kandungan polifenol bisa dijadikan patokan dalam melihat karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan. Antioksidan berfungsi untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi baik dalam makanan maupun dalam tubuh. f dan Santoso (2014) menyatakan jenis antioksidan alami diantaranya vitamin C, flavonoid, vitamin E, dan polifenol. Komponen fenolik kakao, utamanya flavonoid mempunyai potensi bahan antioksidan alami (Sartini *et al.*, 2017). Hasil penelitian Nofitahesti (2014) menyatakan bahwa kulit luar buah kakao memiliki kadar polifenol total tertinggi pada kadar air kulit buah segar 80 persen yaitu sebesar 321,95 ppm.

Senyawa polifenol dalam kulit buah kakao dapat diambil dengan cara ekstraksi diantaranya adalah maserasi. Maserasi memiliki beberapa kelebihan dibandingkan metode ekstraksi yang lain diantaranya prosedur pelaksanaan yang mudah, biaya operasional relatif rendah dan penggunaan alat yang sederhana. Kelemahan maserasi

diantaranya yaitu membutuhkan waktu yang lebih lama.

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain waktu, suhu, jenis dan konsentrasi pelarut, ukuran partikel serta perbandingan bahan dan pelarut. Konsentrasi pelarut berdampak pada kepolaritasan pelarut tersebut. Penetapan konsentrasi pelarut yang berbeda-beda ditujukan untuk mendapatkan pelarut dengan kepolaran mendekati senyawa fenolik pada kulit buah kakao. Diantika *et al.* (2014) menyatakan perlakuan konsentrasi pelarut etanol 80 persen menghasilkan ekstrak biji kakao dengan aktivitas antioksidan IC₅₀ terbaik yaitu sebesar 82 ppm. Penelitian Suhendra *et al.* (2019) menyatakan perlakuan etanol 70 persen menghasilkan ekstrak rimpang ilalang terbaik dengan total fenolik 129,57 mg GAE/g ekstrak. Oleh sebab itu diperlukan konsentrasi pelarut yang tepat untuk mengekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan. Porbowaseso (2005) menyatakan penggunaan pelarut etanol menunjukkan hasil terbaik pada ekstraksi senyawa polifenol biji kakao. Etanol baik digunakan sebagai pelarut karena mampu mendegradasi dinding sel sehingga senyawa bioaktif lebih mudah keluar dari sel tanaman (Suhendra *et al.*, 2019).

Faktor lain yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi yaitu ukuran partikel bahan. Perbedaan ukuran partikel dihasilkan dari proses pengecilan ukuran bahan yang bertujuan merusak membran sel pada bahan sehingga senyawa dalam sel mudah larut dalam pelarutnya. Penggunaan ukuran partikel yang kecil juga membutuhkan biaya yang tinggi dan proses pemisahan senyawa yang sulit sehingga tidak mudah mendapatkan hasil ekstrak yang murni (Bustan *et al.*, 2008). Penelitian Norra *et al.* (2017) menyatakan penggunaan ukuran partikel 0,25 mm atau 60 mesh menunjukkan total fenol dan aktivitas antioksidan terbesar pada pada ekstrak rumput laut (*Sargassum*

sp) yaitu 1,1972 mg GAE/g ekstrak dengan persen inhibisi 60,65 persen. Makanjuola (2017) menunjukkan bahwa penggunaan ukuran partikel 0,425 mm atau 40 mesh merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak cair dari teh, jahe dan teh jahe dengan kandungan senyawa fenolik tertinggi yaitu 685,44±175, 283,58±19, dan 483,02±176 mg GAE/L. Oleh sebab itu diperlukan ukuran partikel yang tepat untuk mengekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.

Berdasarkan pemaparan tersebut, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut dan ukuran partikel terhadap karakteristik ekstrak kulit buah kakao, serta untuk menentukan kombinasi perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel terbaik untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengendalian Mutu, Laboratorium Analisis Pangan dan Laboratorium Biokimia dan Nutrisi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dilakukan pada April hingga Juni 2019.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah spektrofotometer (Geneyes 10S UV –Vis), *rotary evaporator* (Janke & Kunkel RV 06 – ML), sentrifugator, timbangan analitik (*Shimadzu*), mikropipet (*Socorex*), ayakan 40, 60 dan 80 mesh (*Retsch*), blender (*Philips*), gelas ukur (*Iwaki*), labu pengencer (*Iwaki*), tabung reaksi (*Iwaki*), gelas beker (*Pyrex*), kertas saring Whatman No. 1, kertas saring kasar, pipet volume, pisau, aluminium foil.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao jenis Lindak yang berasal dari PT. Cau Coklat Internasional (*Cau Chocolate*), Dusun Cau, Desa Tua, Kecamatan Marga, Kabupaten Tabanan, Bali. Bahan kimia yang digunakan antara lain: etanol teknis 96% (*Bratachem*), reagen Folin-Ciocalteu (*Merck*), Na_2CO_3 (*Merck*), akuades (*One Med*), asam galat (*Sigma-aldrich*), metanol PA (*Merck*) dan larutan DPPH (*Himedia*).

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi etanol sebagai pelarut (E) yang terdiri dari 3 taraf yaitu E1: 70%, E2: 80%, E3: 90%. Faktor kedua yaitu ukuran partikel (U) yang terdiri dari 3 taraf yaitu U1: 40 mesh, U2: 60 mesh, U3: 80 mesh. Berdasarkan kedua faktor di atas diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan dikelompokkan menjadi 2 kelompok berdasarkan waktu persiapan bahan baku, sehingga diperoleh 18 unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan nilai tertinggi hasil uji indeks efektifitas (de Garmo *et al.*, 1984).

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan Bahan Baku (Wasmun *et al.*, 2015 modifikasi)

Tahapan pertama yaitu kulit buah kakao dicuci bersih dan diparut kemudian dikeringkan dengan sinar matahari pada suhu 30±1°C selama ± 7 hari dan ditutup dengan kain hitam. Kulit buah kakao yang telah kering ditandai dengan mudah dipatahkan. Kulit buah kakao yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender kemudian diayak dengan menggunakan

ayakan sesuai dengan perlakuan untuk memperoleh bubuk kulit buah kakao. Kadar air dari bubuk kulit buah kakao adalah 11,32 persen.

Prosedur pembuatan krim ini mengacu pada penelitian Wasmun *et al.*, 2015 dengan modifikasi pada penggunaan ukuran ayakan sesuai perlakuan. Proses pengayakan dilakukan dengan mengayak bubuk kulit buah kakao pada ayakan 80 mesh. Bubuk kulit buah kakao yang tidak lolos pada ayakan 80 mesh kemudian diayak kembali pada ayakan 60 mesh. Bubuk kulit buah kakao yang tidak lolos pada ayakan 60 mesh kemudian diayak kembali pada ayakan 40 mesh sehingga didapati bubuk kulit buah kakao dengan ukuran partikel sesuai perlakuan.

Tahap ekstraksi (Suryani *et al.*, 2016 modifikasi)

Bubuk kulit buah kakao yang telah diayak sesuai perlakuan (40, 60 dan 80 mesh) kemudian ditimbang masing-masing 30 g. Ditambahkan pelarut etanol sebanyak 300 mL sesuai dengan perlakuan (etanol 70, 80 dan 90 persen) sehingga perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:10 (Suryani *et al.*, 2016). Bubuk kulit buah kakao diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi selama 48 jam (Yulianingtyas *et al.*, 2016). Proses maserasi dilakukan pada suhu ruang ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) sambil diaduk manual setiap 6 jam sekali selama 5 menit sehingga diperoleh ekstrak bercampur pelarut.

Setelah maserasi 48 jam, ekstrak bercampur pelarut disaring menggunakan kertas saring kasar, kemudian filtratnya disaring kembali menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* suhu 40°C , tekanan 100 mBar dan kecepatan 100 rpm untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga didapati hasil berupa ekstrak kental. Proses evaporasi dihentikan jika tidak ada lagi pelarut yang menetes.

Prosedur ekstraksi didasarkan pada penelitian Suryani *et al.* (2016) dengan modifikasi penggunaan pelarut dan konsentrasi sesuai perlakuan.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah rendemen ekstrak, total fenolik dan kapasitas antioksidan dengan metode DPPH.

Rendemen Ekstrak (Hambali *et al.*, 2014)

Rendemen adalah perbandingan jumlah produk akhir yang diperoleh terhadap jumlah bahan baku kemudian dikalikan dengan 100 persen. Rumus yang digunakan untuk menghitung nilai rendemen adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{berat bubuk kulit buah kakao (g)}} \times 100\%$$

Total Fenolik (Sakanaka *et al.*, 2013)

Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Kurva standar dibuat dengan menimbang 0,01 g asam galat kemudian diencerkan menjadi 100 mL dengan aquades, dibuat seri pengenceran masing-masing sebanyak 5 mL dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100 ppm. Masing-masing standar dipipet sebanyak 400 μL dan ditempatkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,4 reagen *Folin–Ciocalteu*, divortek dan diinkubasi selama 6 menit kemudian ditambahkan 4,2 mL larutan sodium karbonat 5 persen. Sampel divortek dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang kemudian dibaca nilai absorbansi pada panjang gelombang 760 nm.

Pengujian Sampel

Sebanyak $\pm 0,1$ g sampel, dimasukan ke dalam labu pengencer 5 mL kemudian ditambahkan metanol sampai tanda tera, dihomogenkan dan disentrifus 3000 rpm selama 15 menit. Filtrat dipipet 10 μL

kemudian ditambahkan 390 μ L metanol, 400 μ L reagen *Folin– Ciocalteu*, divortek hingga homogen dan diinkubasi selama 6 menit kemudian ditambahkan 4,2 mL larutan sodium karbonat 5 persen. Sampel diinkubasi 30 menit pada suhu ruang sebelum dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm.

Total kandungan fenolik pada ekstrak ditunjukkan sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel. Total fenol dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Total Fenol} \left(\frac{\text{mg GAE}}{\text{g}} \right) = \frac{X \times \text{Volume Larutan (mL)}}{\text{sampel (g)}} \times \text{Faktor pengencer}$$

Keterangan :

X = Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi linier kurva standar asam galat (mg/mL)

Kapasitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Blois, 1958)

Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Sebanyak 0,01 g asam galat diencerkan dengan aquades 100 mL kemudian dibuat seri pengenceran masing-masing sebanyak 5 mL dengan konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 25 ppm. Masing-masing standar dipipet 500 μ L, ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 3,5 mL DPPH, 0,04 M (0,004 g dalam pelarut metanol 100 mL) kemudian divortek. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dan dibaca nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm.

Pengujian sampel

Sampel ditimbang $\pm 0,1$ g kemudian diencerkan dalam labu pengencer 5 mL dengan menggunakan metanol sampai tanda tera, divortek dan disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit, hingga diperoleh supernatan. Supernatan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipipet 15 μ L ditempatkan pada tabung reaksi, kemudianditambahkan 485 μ L dan 3,5 mL

DPPH 0,04 M (0,004 gram dalam pelarut methanol PA 100 mL) kemudian divortek. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Kapasitas antioksidan dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kapasitas Antioksidan} \left(\frac{\text{mg GAEAC}}{\text{g}} \right) = \frac{X \times \text{Volume Larutan (mL)}}{\text{sampel (g)}} \times \text{Faktor pengencer}$$

Keterangan :

X = Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi linier kurva standar asam galat (mg/mL)

Uji Indeks Efektivitas (de Garmo *et al.*, 1984)

Uji indeks efektivitas dilakukan untuk menentukan perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel terbaik untuk mengekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan dengan menggunakan semua parameter yang diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol dan ukuran partikel berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$) sedangkan interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan. Rendemen ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi etanol 70 persen menghasilkan rendemen ekstrak kulit buah kakao tertinggi sebesar $9,81 \pm 2,64$ persen sedangkan yang terendah dihasilkan oleh penggunaan konsentrasi etanol 90 persen sebesar $8,36 \pm 1,92$ persen. Data tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin sedikit rendemen ekstrak yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi pelarut maka tingkat

kepolarannya semakin berkurang. Etanol 70 persen memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan etanol 80 dan 90 persen karena mengandung lebih banyak air. Hasil menunjukkan bahwa senyawa yang terekstrak memiliki kepolaran yang cenderung mendekati kepolaran etanol 70 persen. Harborne (1973) menyatakan bahwa prinsip dasar dari ekstraksi ialah *like*

dissolves like yaitu kelarutan suatu senyawa pada pelarut didasari dari kesamaan polaritas antara pelarut dengan senyawa yang diekstrak. Jenis senyawa non-fenolik dalam kulit buah kakao yang diduga terekstrak adalah lemak kakao dengan kepolaran yang mendekati etanol 70% sehingga menyebabkan rendemen lebih banyak pada pelarut dengan konsentrasi rendah.

Tabel 1. Rendemen (%) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel

Konsentrasi Pelarut Etanol (%)	Ukuran Partikel (mesh)			Rerata
	40	60	80	
70	7,99±0,28	8,24±0,71	13,18±0,28	9,81±2,64 ^a
80	7,36±0,03	7,65±0,09	12,29±0,41	9,10±2,48 ^b
90	6,89±0,25	7,41±0,51	10,78±0,61	8,36±1,92 ^c
Rerata	7,41±0,52 ^b	7,77±0,55 ^b	12,08±1,14 ^a	

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p \leq 0,01$).

Data pada Tabel 1 juga menunjukkan ukuran partikel 80 mesh menghasilkan rendemen ekstrak kulit buah kakao tertinggi sebesar $12,08 \pm 1,14$ persen sedangkan yang terendah dihasilkan oleh ukuran partikel 40 mesh sebesar $7,41 \pm 0,52$ persen. Data tersebut menunjukkan semakin kecil ukuran partikel bahan maka rendemen yang dihasilkan semakin besar. Hal ini disebabkan semakin kecil ukuran partikel bahan maka semakin banyak membran sel bahan yang rusak. Membran sel bahan yang rusak memudahkan pelarut untuk menarik senyawa dari dalam sel sehingga proses difusi senyawa menjadi lebih mudah. Maulida dan Guntarti (2015) juga menyatakan bahwa semakin kecil

ukuran partikel maka akan mempermudah kontak pelarut dengan padatan sehingga mempercepat senyawa berdifusi keluar sel yang menyebabkan rendemen semakin banyak.

Total Fenolik

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol dan ukuran partikel berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$), sedangkan interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) terhadap total fenolik ekstrak kulit buah kakao. Total fenolik ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Total fenolik (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel

Konsentrasi Pelarut Etanol (%)	Ukuran Partikel (mesh)			Rerata
	40	60	80	
70	45,40 ± 0,21	46,53 ± 0,96	49,87 ± 0,03	47,27 ± 2,12 ^c
80	72,85 ± 0,16	75,65 ± 1,16	80,09 ± 0,26	76,20 ± 3,31 ^b
90	103,29 ± 0,26	106,95 ± 0,85	110,65 ± 0,80	106,96 ± 3,33 ^a
Rata-rata	73,85 ± 25,9 ^c	76,38 ± 27,0 ^b	80,20 ± 27,2 ^a	

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p \leq 0,01$).

Tabel 2 menunjukkan bahwa penggunaan pelarut etanol 90 persen menghasilkan rata-rata total fenolik ekstrak kulit buah kakao tertinggi sebesar $106,96 \pm 3,33$ mg GAE/g sedangkan yang terendah dihasilkan oleh pelarut etanol 70 persen sebesar $47,27 \pm 2,12$ mg GAE/g. Hasil ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin tinggi total fenolik yang terekstrak. Konsentrasi pelarut yang lebih tinggi menandakan bahwa jumlah air dalam pelarut semakin sedikit sehingga menyebabkan kepolaritasan pelarut menurun. Hwang dan Thi (2014) juga menyatakan bahwa pelarut organik seperti etanol lebih mampu untuk memisahkan senyawa fenolik yang berikatan dengan senyawa non fenolik lainnya seperti pada polisakarida dan protein sehingga pada proses ekstraksi penggunaan pelarut organik menghasilkan komponen polifenol yang lebih tinggi daripada air. Hasil menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang terekstrak memiliki tingkat kepolaran yang mendekati etanol 90 persen. Hasil ini berbanding terbalik dengan rendemen ekstrak diduga disebabkan oleh senyawa non fenolik pada kulit buah kakao seperti lemak kakao yang lebih banyak terekstrak dibandingkan senyawa fenoliknya.

Data pada Tabel 2 juga menunjukkan ukuran partikel bahan 80 mesh menghasilkan

rata-rata total fenolik tertinggi sebesar $80,20 \pm 27,2$ mgGAE/g dan yang terendah dihasilkan oleh ukuran partikel bahan 40 mesh sebesar $73,85 \pm 25,9$ mg GAE/g. Hasil tersebut menunjukkan semakin kecil ukuran partikel bahan maka total fenoliknya semakin tinggi. Hal ini terjadi karena kontak bahan dengan pelarut yang lebih mudah dan banyaknya membran sel bahan yang rusak atau pecah akibat pengecilan ukuran. Membran sel yang rusak pada bahan mempermudah pelarut untuk menarik senyawa fenolik pada sel serta mempermudah proses difusi senyawa fenolik ke pelarut sehingga dapat terekstrak lebih banyak. Darma *et al.* (1991) melaporkan bahwa ukuran partikel yang semakin kecil akan mempermudah pelarut berdifusi ke dalam jaringan bahan sehingga proses penarikan senyawa dari bahan lebih efektif.

Kapasitas Antioksidan

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi etanol dan ukuran partikel berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$), sedangkan interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel

Konsentrasi Pelarut Etanol (%)	Ukuran Partikel (mesh)			Rerata
	40	60	80	
70	$45,77 \pm 0,94$	$45,96 \pm 0,89$	$46,63 \pm 0,50$	$46,12 \pm 0,76^c$
80	$49,50 \pm 0,56$	$51,31 \pm 0,22$	$52,99 \pm 0,94$	$51,27 \pm 2,11^b$
90	$51,94 \pm 0,22$	$53,66 \pm 0,22$	$55,08 \pm 0,78$	$53,56 \pm 1,57^a$
Rata-rata	$49,07 \pm 3,53^c$	$50,31 \pm 4,47^b$	$51,57 \pm 4,67^a$	

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($p \leq 0,01$).

Tabel 3 menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan tertinggi dihasilkan

oleh perlakuan konsentrasi pelarut etanol 90 persen sebesar $53,56 \pm 1,57$ mg GAEAC/g

dan yang terendah dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi etanol 70 persen sebesar $46,12 \pm 0,76$ mg GAEAC/g. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin tinggi kapasitas antioksidannya. Hal ini disebabkan penggunaan etanol dengan konsentrasi yang tinggi yaitu 90 persen cenderung mendekati kepolaran senyawa fenolik dari ekstrak kulit buah kakao. Senyawa fenolik memiliki peranan dalam menangkal radikal bebas DPPH, sehingga semakin banyak senyawa fenolik yang terekstrak maka kapasitas antioksidannya semakin tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian Lailliyah *et al.* (2014) tentang kapasitas antioksidan dan kandungan total senyawa fenolik ekstrak kasar alga cokelat (*Sargassum cristaefolium*) yang menyatakan bahwa sampel alga coklat menghasilkan kapasitas antioksidan yang berbanding lurus dengan total fenol yang dikandungnya.

Tabel 3 juga menunjukkan ukuran partikel bahan 80 mesh menghasilkan kapasitas antioksidan tertinggi sebesar $51,57 \pm 4,67$ mg GAEAC/g sedangkan yang terendah dihasilkan oleh ukuran partikel bahan 40 mesh sebesar $49,07 \pm 3,53$ mg

GAEAC/g. Hasil tersebut menunjukkan semakin kecil ukuran partikel bahan maka semakin tinggi kapasitas antioksidannya. Hal ini disebabkan pengecilan ukuran menyebabkan membran sel bahan rusak sehingga mempermudah pelarut dalam mengekstrak senyawa fenolik yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Nwabanne (2012) menyatakan bahwa partikel bahan yang kecil memiliki jumlah sel rusak yang besar sehingga mempermudah senyawa pada bahan naik kepermukaan bahan. Semakin banyak senyawa fenolik yang terekstrak maka kapasitas antioksidannya semakin besar. Towaha (2014) juga melaporkan bahwa kapasitas antioksidan biji kakao dan produk turunannya dengan jumlah total polifenol yang dimiliki mempunyai korelasi yang positif.

Uji Indeks Efektifitas

Uji indeks efektifitas dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dalam mengekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan. Perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan hasil yang menunjukkan nilai produk tertinggi. Hasil uji indeks efektifitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji indeks efektifitas ekstrak kulit buah kakao

Perlakuan	Variabel				Jumlah
		Rendemen	Total Fenolik	Kapasitas Antioksidan	
	(BV)	1,40	2,20	3,00	6,60
	(BN)	0,21	0,33	0,45	1,00
Etano 70%, 40 mesh	Ne	0,17	0,00	0,00	
	Nh	0,04	0,00	0,00	0,04
Etanol 70%, 60 mesh	Ne	0,21	0,01	0,02	
	Nh	0,05	0,00	0,01	0,06
Etanol 70%, 80 mesh	Ne	1,00	0,06	0,09	
	Nh	0,21	0,02	0,04	0,28
Etanol 80%, 40 mesh	Ne	0,07	0,53	0,40	
	Nh	0,02	0,18	0,18	0,34
Etanol 80%, 60 mesh	Ne	0,12	0,56	0,59	

	Nh	0,03	0,19	0,27	0,45
Etanol 80%, 80 mesh	Ne	0,86	0,62	0,78	
	Nh	0,18	0,21	0,35	0,71
Etanol 90%, 40 mesh	Ne	0,00	0,91	0,66	
	Nh	0,00	0,30	0,30	0,60
Etanol 90%, 60 mesh	Ne	0,08	0,95	0,85	
	Nh	0,02	0,32	0,39	0,72
Etanol 90%, 80 mesh	Ne	0,62	1,00	1,00	
	Nh	0,13	0,33	0,45	0,92

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi etanol 90 persen dan ukuran partikel 80 mesh memiliki nilai tertinggi yaitu 0,92 sehingga merupakan perlakuan terbaik dalam mengesktrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Konsentrasi pelarut dan ukuran partikel sangat berpengaruh sedangkan interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh terhadap rendemen, total fenol dan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.
2. Konsentrasi etanol 90 persen dan ukuran partikel 80 mesh merupakan perlakuan terbaik untuk mengekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan dengan karakteristik rendemen $10,78 \pm 0,61$ persen, total fenolik $110,65 \pm 0,80$ mg GAE/g, dan kapasitas antioksidan $55,08 \pm 0,78$ mg GAEAC/g.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan, disarankan menggunakan

pelarut etanol 90% dan ukuran partikel bahan 80 mesh.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan dengan penggunaan konsentrasi etanol yang lebih tinggi dari 90% dan lebih rendah dari 70% serta penggunaan ukuran partikel yang lebih kecil dari 80 mesh.
3. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai efektivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao pada makhluk hidup serta pengaplikasiannya sebagai bahan tambahan pangan atau sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Blois, M.S. 1985. Antioxidant determinations by the use of a stable freeradical. *Nature* 181:1199-1200.
- Bustan, M. D., R. Febriyani dan H. Pakpahan. 2008. Pengaruh waktu ekstraksi dan ukuran partikel terhadap berat oleoresin jahe yang diperoleh dalam berbagai jumlah pelarut organik (metanol). *Jurnal Teknik Kimia* 15(4):16-26.
- Darma, G., Lucyana dan H. G. Pohan. 1991. Pengaruh Jenis Pelarut serta Ukuran Partikel terhadap rendemen dan kadar piperin oleoresin limbah lada putih (*Piper nigrum* Linn). *Journal of Agro-based Industry* 5(1):24-27.

- de Garmo, E. P., W. G. Sullivan dan C. R. Canada. 1984. *Engineering Economy*. Macmilan Publisher, New York.
- Diantika, F., S. M. Sutan dan R. Yulianigsih. 2015. Pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi larutan etanol terhadap ekstraksi antioksidan biji kakao (*Theobroma cacao*L.). *Jurnal Teknologi Pertanian* 15(3): 159-164.
- Hambali, M., F. Mayasari dan F. Noermansyah. 2014. Ekstraksi antosianin dari ubi jalar dengan variasi konsentrasi solven dan lama waktu ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia* 20(2): 25-35.
- Harborne, J. B. 1973. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hwang, E. S dan N. D. Thi. 2014. Effects of extraction and processing methods on antioxidant compound contents and radical scavenging activities of laver (*Porphyra tenera*). *Preventive Nutrition and Food Science* 19(1):44-48.
- Inggrid, H. M. dan H. Santoso. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Katolik Parahyangan, Bandung.
- Lailiyah, A., T. K. Adi., A. Hakim dan E. Yusnawan. 2014. Kapasitas antioksidan dan kandungan total senyawa fenolik ekstrak kasar alga coklat *Sargassum cristaefolium* dari Pantai Sumenep Madura. *Alchemy* 3(1):18-30.
- Makanjuola, S. A. 2017. Influences of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea-ginger blend. *Food Science and Nutrition* 5:1179-1185.
- Maulida, R dan A. Guntarti. 2015. The influence of particle size of black rice (*Oryza sativa* L.) on extract yield and total anthocyanin content. *Pharmaciana* 5(1): 9-16.
- Nofitahesti, I. 2014. Kandungan Polifenol serta Potensi Kulit Buah dan Salut Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Antioksidan. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Norra, I dan A. Abdullah. 2016. Effects of drying methods, solvent extraction and particle size of malaysian brown seaweed, *Sargassum* sp. on the total phenolic and free radical scavenging activity. *International Food Research Journal* 23(4):1558-1563.
- Nwabanne, J. T. 2012. Kinetics and thermodynamics study of oil extraction from fluted pumpkin seed. *International Journal of Multidisciplinary Sciences and Engineering* 3(6):11-15.
- Porbowaseso. T.W.B. 2005. Ekstraksi Polifenol Biji Kakao Secara Kimiawi sebagai Antioksidan dan Pewarna Alami. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, Jember.
- Sakanaka, S., Y. Tachibana and O. Yuki. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of japanese persimmon leaf tea (*kakinocha-cha*). *Food Chemistry* 89:569-275.
- Sartini., M., N. Djide dan N. Duma. 2012. Pemanfaatan limbah kulit buah kakao sebagai sumber bahan aktif untuk sediaan farmasi. *Jurnal Industri Hasil*

- Perkebunan 7(2): 69-73.
- Sartini., R. M. Asri dan Ismail. 2017. Pengaruh pra perlakuan sebelum pengeringan sinar matahari dari kulit buah kakao terhadap kadar komponen fenolik dan ekstrak. *Jurnal Biologi Makasar* 2(1):15-20.
- Suhendra, C. P., I. W. R. Widarta dan A. A. I. S. Wiadnyani. 2019. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 8(1):27-35.
- Suparjo., K. G. Wiryawan., E. B. Laconi. dan D. Mangunwidjaja. 2011. Performa kambing yang diberi kulit buah kakao terfermentasi. *Jurnal Media Peternakan* 34(1):35-41.
- Suryani, N. C., D. G. M. Permana dan A. Jambe. 2016. Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 5(1):69-79.
- Towaha, J. 2014. Kandungan Senyawa Polifenol pada Biji Kakao dan Kontribusinya terhadap Kesehatan. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi.
- Wasmun, H., A. Rahim dan G. S. Hutomo. 2015. Pembuatan minuman instan fungsional dari bioaktif *pod husk* kakao. *Jurnal Agrotekbis* 3(6):697-706.
- Yulianingtyas, A. dan B. Kusmantoro. 2016. Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia* 10(2):58-64.