

Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai
Sumber Antioksidan pada Perlakuan Perbandingan Bahan dengan
Pelarut dan Waktu Maserasi
*Characteristic Of Pod Husk Extracts (Theobroma cacao L.) A Source Of Antioxidants On
Variation Comparison Of Materials With Solvent And Time Of Maceration*

Ni Kadek Yeni Dwipayanti, 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 11 Desember 2019 / Disetujui 20 Januari 2020

ABSTRACT

Cocoa pod husk is a waste of cocoa processing that is large enough and has not been used optimally. Cocoa pod husk waste can be used more optimally by extracting polyphenols compounds and used as natural antioxidants. This research aims to determine the effect of comparison of materials with solvents and maceration time against cocoa pod husk extracts as a source of antioxidants as well as to determine the material comparison with the solvent and the best maceration time for produce cocoa pod husk extract as a source of antioxidants. The study uses a random design of a group of two factors. The first factor is the comparison of materials with solvents consisting of 1:10, 1:15 and 1:20. The second factor is the maceration time consisting of 24, 36 and 48 hours. The data was analyzed its diversity and continued with the Tukey test. The results of the study showed a comparison of material with solvent and maceration time was very influential to the yield, total phenolic and antioxidant capacity of cocoa pod husk extract. The interaction between treatment is very influential on the total phenolic and antioxidant capacity but has no effect on the cocoa pod husk extract yield. The best treatment to produce cocoa pod husk extract as a source of antioxidant is the comparison of materials with solvent 1:20 and maceration time for 48 hours with a yield characteristic 3.10 ± 0.36 percent, total phenolic at 146.67 ± 5.14 mg GAE/g and antioxidant capacity 97.00 ± 2.22 mg GAEAC/g.

Keywords: *cocoa pod husk extract, comparison of materials with solvents, maceration time, antioxidant.*

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

PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu komoditas andalan perkebunan yang peranannya cukup penting bagi perekonomian nasional, khususnya sebagai penyedia lapangan kerja, sumber pendapatan dan devisa negara (Purnamawati *et al.*, 2013). Perkebunan kakao di Indonesia mengalami perkembangan pesat dalam kurun waktu 20 tahun terakhir. Pada tahun 2013 areal perkebunan kakao Indonesia tercatat seluas 1,74 juta hektar. Lahan perkebunan kakao meluas di tahun 2017 menjadi 1,724 juta hektar (Ditjenbun, 2017). Produksi kakao di Indonesia sebagian besar diekspor ke mancanegara yaitu Asia, Amerika, Eropa, Afrika dan Australia. Laporan terakhir menyebutkan bahwa produksi kakao di Indonesia pada tahun 2017 mencapai 375.000 ton (ICCO, 2017). Hasil penelitian juga mendukung bahwa industri kakao patut dikembangkan sebagai salah satu andalan, karena mempunyai koefisien keterkaitan ke depan dan lapangan pekerjaan yang relatif besar, serta efek distribusionalnya cukup baik (Zainudin *et al.*, 2004).

Industri pengolahan dari buah kakao menghasilkan limbah, salah satunya yang terbesar yaitu berasal dari kulit buah kakao sebesar 75 persen dari total buah kakao (Ashadi, 1988). Pengolahan limbah kulit buah kakao belum banyak dilakukan oleh petani kakao, namun kandungan kulit buah kakao sangat baik untuk diolah, seperti kandungan mineral kulit buah kakao cukup tinggi, khususnya kalium dan nitrogen. Kakao juga mengandung selulosa 36,23 persen, hemiselulosa 1,14 persen dan lignin 20 – 27,95 persen (Ammirroenas, 1990). Kulit buah kakao dapat dijadikan salah satu sumber polifenol yang memiliki sifat antioksidan (Sartini *et al.*, 2009). Polifenol pada kulit buah kakao diklasifikasikan sebagai polifenol jenis flavonoid (Erniati, 2007). Hasil penelitian menunjukkan bahwa

polifenol yang paling banyak terdapat dalam kulit buah kakao adalah katekin dan epikatekin (yang juga menjadi penyusun proisianidin) (Fraga, 2005). Kandungan polifenol yang dilaporkan dari berbagai literatur bervariasi dengan kisaran nilai dari 3,3-65 mg/g dalam bubuk kakao dan dalam *dark chocolate* 1,7-36,5 mg/g (Lecumburri, 2006). Limbah kulit kakao dapat dimanfaatkan lebih optimal lagi dengan cara mengekstraksi senyawa polifenolnya dan digunakan sebagai antioksidan alami (Yuswi, 2017).

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Antioksidan dapat dikatakan sebagai suatu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray, 2009). Antioksidan dari kulit buah kakao dapat dihasilkan dengan metode ekstraksi.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. *Ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi*. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak menggunakan suhu tinggi yang beresiko merusak komponen kimia bahan yang tidak tahan suhu tinggi. Metode maserasi memungkinkan banyak senyawa yang terekstraksi. Cara ini sangat baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode maserasi secara umum dilakukan dengan cara memasukkan bahan dalam bentuk kering maupun segar ke dalam wadah inert dengan ukuran bahan yang sudah diperkecil kemudian ditambahkan pelarut yang sesuai.

Proses maserasi ini akan berhenti ketika antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman terjadi kesetimbangan (Agoes, 2007). Ramadhan dan Phasa (2010) menyatakan faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi yaitu metode yang digunakan dalam ekstraksi, waktu, suhu, serta proses pemisahan pelarut dari hasil ekstraksi, penyiapan bahan sebelum ekstraksi, ukuran partikel, pelarut, perbandingan bahan dengan pelarut.

Menurut Ramadhan dan Phasa (2010) perbandingan bahan dengan pelarut berpengaruh terhadap proses ekstraksi karena semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin banyak senyawa yang dapat diekstrak, dengan batasan sampai bahan habis. Penelitian Rifai *et al.* (2018) perbandingan bahan dengan pelarut biji alpukat didapatkan hasil perlakuan yang menghasilkan rendemen, total fenolik dan aktivitas antioksidan dengan pelarut yang digunakan yaitu etanol, metanol dan alkohol, bahan yang digunakan yaitu sebanyak 15 g, perlakuan yang menghasilkan rendemen, total fenolik dan aktivitas antioksidan tertinggi adalah perlakuan jenis pelarut aseton dengan rasio bahan dengan pelarut 1:15 dengan rendemen ekstrak 41,36 persen, total fenolik 803,60 mg/100g, dan nilai IC₅₀ sebesar 540,95 ppm.

Selain perbandingan bahan dengan pelarut waktu maserasi juga berpengaruh terhadap ekstraksi. Waktu maserasi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal (Budiyanto dan Yulianingsih, 2008). Waktu maserasi yang terlalu singkat dapat mengakibatkan tidak semua senyawa terlarut dalam pelarut yang digunakan dan waktu maserasi terlalu lama maka akan mengakibatkan rusaknya senyawa fenolik yang diekstrak (Diantika, 2014). Penelitian Amelinda *et al.* (2018) mengenai pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temulawak dengan pelarut yang digunakan yaitu etanol

80 persen, dan bahan sebanyak 10 g dan pelarut sebanyak 100 mL didapatkan hasil optimal dengan waktu maserasi selama 24 jam yang memperoleh total fenolik sebesar 205,86 mg GAE/g dan aktivitas antioksidan sebesar 84,45 persen. Penelitian Suryani (2012) mengenai optimasi metode ekstraksi fenol dari rimpang jahe empurit, pelarut yang digunakan yaitu etanol dengan bahan sebanyak 25 g dan pelarut 125 mL didapatkan hasil optimal waktu ekstraksi selama 36 jam yang memperoleh ekstrak jahe dengan kadar fenol 371,12 mg/g. Penelitian Yulianingtyas dan Kusmantoro (2016) mengenai waktu maserasi daun belimbing wuluh, pelarut yang digunakan yaitu etanol dan bahan yang digunakan sebanyak 10 g didapatkan hasil optimal dengan waktu maserasi selama 48 jam yang memperoleh berat flavonoid terekstrak sebanyak 72,31 mg.

Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak kulit buah kakao, serta untuk menentukan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi terbaik untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Pelaksanaan

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

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah *rotary evaporator* (Janke & Kunkel RV 06-ML), timbangan analitik (*Shimadzu*), ayakan 60 mesh (*Retsch*), spektrofotometer UV-Vis (*Thermo*

scientific), sentrifugasi (*Damon IEC Centrifuge*), *vortex mixer (Maxi mix II)*, pipet volume (*Iwaki*), pipet tetes, gelas beker (*Iwaki*), gelas ukur (*Iwaki*), erlenmeyer (*Herma*), labu ukur (*Behrotest*), tabung reaksi (*Iwaki*), mikropipet (*Socorex*), mesin penepung (*Agrowindo 8800 rpm*), pisau, aluminium foil, kertas saring kasar, kertas saring Whatman no.1, dan tisu.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao jenis lindak dengan kriteria kulit buah berwarna kuning dan buah yang sudah berumur 4-6 bulan. Kulit buah kakao yang digunakan berasal dari Desa Sanding, Kecamatan Tampaksiring, Kabupaten Gianyar, Bali. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini antara lain: metanol pa (Merck), metanol teknis 95 persen (Bratachem), etanol teknis 96 persen (Bratachem), aseton teknis 90 persen (Bratachem), reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck), Na_2CO_3 (Merck), aquades (*One Med*), asam galat (Sigma-aldrich), dan kristal DPPH (Himedia).

Rancangan Percobaan

Percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah perbandingan bahan dengan pelarut etanol 96 persen (P) yang terdiri dari 3 taraf yaitu: P1 (1:10), P2 (1:15) dan P3 (1:20). Faktor kedua yaitu Waktu maserasi (T) yang terdiri dari 3 taraf yaitu: T1: 24 jam, T2: 36 jam dan T3: 48 jam. Berdasarkan faktor tersebut diperoleh 9 kombinasi perlakuan, dengan masing-masing perlakuan dikelompokkan berdasarkan waktu pelaksanaannya sebanyak 2 kelompok sehingga diperoleh 18 unit percobaan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) dan apabila perlakuan berpengaruh akan dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ) menggunakan *software* Minitab 19. Penentuan perlakuan terbaik dari semua variabel yang diukur

dilakukan dengan uji efektivitas (De Garmo *et al.*, 1984).

Pelaksanaan Penelitian

Tahap Persiapan Bahan Baku

Kulit buah kakao dicuci dengan air hingga bersih dan diparut kemudian dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari (suhu $\pm 30^\circ\text{C}$) dan ditutup dengan kain berwarna hitam untuk mengurangi reaksi oksidasi pada senyawa polifenol. Pengerinan kulit buah kakao dilakukan hingga berwarna kecoklatan dan mudah dipatahkan atau selama ± 7 hari. Kadar air bubuk kulit buah kakao kering sekitar $\pm 6,75$ persen Setelah kulit buah kakao kering selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan mesin penepung kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh.

Tahap Ekstraksi

Bubuk kulit buah kakao masing-masing ditimbang sebanyak 30 g dan ditambahkan pelarut etanol 96 persen sesuai dengan perbandingannya yaitu 1:10, 1:15 dan 1:20 selanjutnya dimaserasi sesuai dengan perlakuan waktu maserasi yaitu 24 jam, 36 jam dan 48 jam. Pada saat proses maserasi digojog setiap 6 jam selama 5 menit dengan cara manual sehingga didapat ekstrak bercampur pelarut. Proses maserasi dilakukan dalam kondisi botol tertutup dan pada suhu ruang sekitar $\pm 26^\circ\text{C}$. Setelah proses maserasi ekstrak bercampur pelarut disaring dengan kertas saring kasar selanjutnya disaring lagi menggunakan kertas saring Whatman No.1 kemudian filtrat yang didapatkan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C , tekanan 100 mBar dan kecepatan 100 rpm sehingga diperoleh hasil berupa ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat selanjutnya ditimbang untuk menentukan rendemen ekstraknya kemudian dimasukkan ke dalam botol, untuk selanjutnya dilakukan analisis.

Variabel yang Diamati

Variable yang diamati adalah rendemen ekstrak (Hambali *et al.*, 2014), total fenolik (Sakanaka *et al.*, 2003), dan kapasitas antioksidan dengan metode DPPH (Blois, 1958).

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

Rendemen dihitung dengan cara, berat ekstrak kulit buah kakao dibagi dengan berat bubuk kulit buah kakao yang digunakan untuk ekstraksi, kemudian dikalikan 100%. Rumus 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.*, 2003)

Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Kurva standar dibuat dengan menimbang 0,01 gram asam galat kemudian diencerkan menjadi 100 ml dengan aquades, dibuat seri pengenceran yang masing-masing sebanyak 5 ml dengan konsentrasi 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg/L, dari masing-masing standar dipipet sebanyak 0,4 ml ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 0,4 *reagen Folin– Ciocalteu*, divortek dan diinkubasi selama 6 menit sebelum ditambahkan 4,2 ml 5% larutan sodium karbonat. Sampel divortek dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang kemudian baca nilai absorbansi pada panjang gelombang 760 nm. Kurva standar dibuat dengan menimbang 0,01 g asam galat kemudian diencerkan menjadi 100

mL dengan aquades, dibuat seri pengenceran yang masing-masing sebanyak 5 mL dengan konsentrasi 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg/L, dari masing-masing standar dipipet sebanyak 0,4 mL ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 0,4 *reagen Folin– Ciocalteu*, divortek dan diinkubasi selama 6 menit sebelum ditambahkan 4,2 mL 5 persen larutan sodium karbonat. Sampel divortek dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang kemudian baca nilai absorbansi pada panjang gelombang λ 760 nm.

Analisis Sampel

Sebanyak \pm 0,01 g sampel, dilarutkan dengan metanol 85 persen menggunakan labu ukur 5 mL, dihomogenkan dan disentrifus 3000 rpm selama 15 menit, hingga diperoleh supernatan. Supernatan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipipet 50 μ L kemudian ditambahkan 350 μ L metanol 85 persen, 400 μ L *reagen Folin– Ciocalteu*, divortek sehingga homogen dan diinkubasi selama 6 menit sebelum ditambahkan 4,2 mL larutan Na_2CO_3 5 persen. Sampel diinkubasi 30 menit pada suhu ruang sebelum dibaca nilai absorbansinya pada panjang gelombang λ 760 nm.

Perhitungan total fenol menggunakan rumus persamaan regresi $y = ax + b$. dimana y menunjukkan absorbansi, x menunjukkan konsentrasi asam galat, a menunjukkan intersep dan b adalah konstanta. Total kandungan fenol pada ekstrak ditunjukkan sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel. Total fenol dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan : $X = \text{Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi linier kurva standar asam galat}$
 $\left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)$

FP = Faktor pengencer

Kapasitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Blois, 1958)

Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menimbang \pm 0,01 g asam galat diencerkan dengan aquades menjadi 100 mL

dibuat seri pengenceran yang masing-masing sebanyak 5 mL dengan konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 25 ppm dari masing-masing standar dipipet 0,5 mL ditempatkan pada tabung reaksi dan ditambahkan 3,5 mL DPPH (0.0039 g dalam pelarut metanol 99,9 persen 100 mL) kemudian divortek. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dan dibaca nilai absorbansi pada panjang gelombang λ 517 nm.

Analisis Sampel

Perlakuan pada sampel dilakukan dengan menimbang sekitar $\pm 0,01$ g sampel, diencerkan dengan metanol 99,9 persen sampai volume 5 mL dalam labu ukur, divortek dan disentrifugasi 3000 rpm selama

15 menit, hingga diperoleh supernatan. Supernatan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipipet 50 μ L kemudian ditambahkan 450 μ L metanol 99,9 persen ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 3,5 mL DPPH (0.0039 g dalam pelarut metanol 99,9 persen 100 mL) kemudian divortek. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada λ 517 nm.

Kapasitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = ax + b$ dimana y menunjukkan absorbansi, x menunjukkan konsentrasi asam galat, a menunjukkan intersep dan b adalah konstanta. Kapasitas antioksidan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan : X = Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi linier kurva standar asam galat

$$\left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)$$

FP = Faktor pengencer

Uji indeks efektivitas (De Garmo *et al.*, 1984)

Uji indeks efektivitas dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dengan menggunakan semua variabel yang diukur. Adapun langkah – langkah dari uji efektivitas adalah sebagai berikut :

1. Variabel diurutkan menurut prioritas dan kontribusi terhadap hasil oleh para ahli (orang yang sangat mengerti karakteristik produk yang di uji)
2. Masing-masing variabel ditentukan bobotnya (BV) sesuai kontribusinya, yang dikuantifikasikan antara 0 sampai dengan 1.
3. Ditentukan bobot normal (BN) masing-masing variabel dengan membagi bobot tiap variabel (BV) dengan jumlah semua bobot variabel.
4. Ditentukan nilai efektivitas (NE) masing-masing variabel, dengan rumus :

$$NE = \frac{Np - Ntj}{Ntb - Ntj}$$

Keterangan :

NE = Nilai Efektivitas

Np = Nilai perlakuan

Ntj = Nilai terjelek

Ntb = Nilai terbaik

Untuk variabel dengan nilai rata-rata semakin besar semakin baik, maka rata-rata tertinggi sebagai nilai terbaik dan terendah sebagai nilai terjelek. Sebaliknya untuk variabel dengan rata-rata semakin kecil semakin baik, maka rata-rata terendah sebagai nilai terbaik dan tertinggi sebagai nilai terjelek.

5. Ditentukan nilai hasil (NH) masing-masing variabel yang diperoleh dari perkalian antara BN dengan NE.
6. NH semua variabel untuk masing-masing alternatif perlakuan dijumlahkan. Dipilih perlakuan terbaik, yaitu alternatif perlakuan yang mendapatkan jumlah NH tertinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi berpengaruh

nyata ($P < 0,01$), sedangkan interaksinya berpengaruh tidak nyata ($P \geq 0,05$) terhadap rendemen ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata rendemen ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rendemen (%) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi.

Perbandingan Bahan dengan Pelarut	Waktu maserasi (jam)			Rata-rata
	24	36	48	
1:10	1,68	1,82	1,95	1,82± 0,17 ^c
1:15	2,12	2,28	2,47	2,29±0,17 ^b
1:20	2,80	3,03	3,45	3,10±0,36 ^a
Rata-rata	2,20±0,53 ^c	2,38±0,57 ^b	2,62±0,69 ^a	

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris dan kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0,05$)

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rata-rata rendemen ekstrak kulit buah kakao dengan perbandingan bahan dengan pelarut 1:20 menghasilkan nilai tertinggi yaitu 3,10±0,36 persen, sedangkan perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 menghasilkan nilai terendah yaitu 1,82± 0,17 persen. Nilai rata-rata rendemen memiliki peningkatan rendemen sesuai dengan peningkatan jumlah pelarut yaitu perbandingan 1:20 dengan hasil tertinggi, kemudian perbandingan 1:15 dan 1:10. Peningkatan rendemen ini diakibatkan karena semakin tinggi jumlah pelarut yang digunakan, maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal dan kejenuhan pelarut dapat dihindari (Delazar *et al.*, 2012).

Dalam perlakuan waktu maserasi, rendemen ekstrak kulit buah kakao mengalami peningkatan seiring dengan semakin lamanya waktu maserasi. Nilai rata-rata rendemen ekstrak kulit buah kakao tertinggi diperoleh pada perlakuan waktu maserasi 48 jam yaitu 2,62±0,69 persen, dan terendah diperoleh pada perlakuan waktu 24 jam yaitu 2,20±0,53 persen. Kenaikan waktu maserasi yang digunakan akan menghasilkan kenaikan nilai rendemen. Waktu maserasi yang semakin lama akan mengakibatkan

kontak antara bahan dan pelarut menjadi semakin besar sehingga ekstrak yang dihasilkan akan terus meningkat sampai pada titik jenuh dari pelarut. Hal ini sesuai dengan penelitian Kemit *et al.* (2015), nilai rendemen dari ekstrak daun alpukat mengalami peningkatan pada waktu maserasi 18 jam, 24 jam dan 30 jam.

Total Fenolik

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap total fenolik ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata total fenolik ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan hasil total fenolik ekstrak kulit buah kakao tertinggi pada perbandingan bahan dengan pelarut 1:20 dengan waktu maserasi selama 48 jam sebanyak 148,67 ± 5,14 mg GAE/g dan total fenolik terendah diperoleh perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dengan waktu maserasi 24 jam sebanyak 62,58±3,21 mg GAE/g. Perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi yang berbeda pada saat proses ekstraksi mempengaruhi nilai total

fenolik yang dihasilkan. Peningkatan total fenolik sesuai dengan peningkatan jumlah pelarut yang digunakan dan waktu maserasi,

maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal.

Tabel 2. Nilai rata-rata total fenolik (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi.

Perbandingan Bahan dengan Pelarut	Waktu maserasi (jam)		
	(24)	(36)	(48)
1:10	62,58±3,21 ^g	83,14±7,71 ^e	113,39±3,27 ^c
1:15	72,08±3,29 ^e	96,20±7,09 ^d	129,72±4,25 ^b
1:20	80,70±7,42 ^e	111,07±6,08 ^c	146,67±5,14 ^a

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0,05$)

Polifenol yang sering diidentifikasi pada kulit kakao adalah polifenol jenis flavonoid. Kakao sangat kaya akan flavonoid dan dicatat memiliki flavonoid tertinggi per sajiannya dibandingkan dengan teh dan anggur (Hii *et al.*, 2009). Sesuai dengan penelitian Kemit *et al.* (2015), mengenai ekstrak daun alpukat, bahwa pelarut etanol menghasilkan senyawa flavonoid tertinggi dibandingkan dengan pelarut aquades, aseton 90 persen dan metanol 90 persen.. Delazar *et al.* (2012), menyatakan bahwa total fenolik akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan jumlah pelarut. Peningkatan rendemen ini diakibatkan karena semakin tinggi jumlah pelarut yang digunakan, maka pengeluaran senyawa target ke dalam pelarut dapat berjalan lebih optimal dan kejenuhan pelarut dapat dihindari. (Delazar *et al.*, 2012).

Pada setiap kenaikan waktu maserasi menunjukkan peningkatan total fenol yang dihasilkan. Waktu maserasi yang semakin lama akan menyebabkan kontak bahan

dengan pelarut semakin lama, hal ini mengakibatkan dinding sel pada bahan pecah dan mengeluarkan zat terlarut ke dalam pelarut. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Kemit *et al.* (2015), waktu ekstraksi yang semakin lama maka kuantitas bahan yang terekstrak juga akan meningkat karena bahan dan pelarut memiliki kesempatan untuk bersentuhan semakin besar sehingga hasil ekstraksi akan bertambah sampai titik optimum.

Kapasitas Antioksidan

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) dan interaksinya berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi.

Perbandingan Bahan dengan Pelarut	Waktu maserasi (jam)		
	(24)	(36)	(48)
1:10	67,00±2,02 ^h	80,93±1,72 ^e	90,64±2,32 ^c
1:15	72,07±2,12 ^g	83,43±1,82 ^{de}	93,50±1,72 ^b
1:20	76,71±3,03 ^f	85,86±3,64 ^d	97,00±2,22 ^a

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan berbeda nyata ($P \leq 0,05$)

Tabel 3 menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh

pada perbandingan bahan dengan pelarut 1:20 dengan waktu maserasi selama 48 jam

sebanyak $97,00 \pm 2,22$ mg GAE/g dan total fenolik terendah diperoleh pada perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dengan waktu maserasi 24 jam sebanyak $67,00 \pm 2,02$ mg GAEAC/g. Hal ini menunjukkan bahwa semakin meningkatnya perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi pada saat proses ekstraksi, maka akan semakin tinggi pula kapasitas antioksidannya. Hal ini dikarenakan kapasitas antioksidan dipengaruhi oleh senyawa polifenol yang ada pada ekstrak kulit buah kakao. Semakin banyak senyawa polifenolnya maka kapasitas antioksidannya akan semakin besar. Dalam penelitian ini didapatkan hasil total fenolik terbaik adalah pada perbandingan bahan dengan pelarut 1:20 dan waktu maserasi selama 48 jam yaitu $97,00 \pm 2,22$ mg GAE/g.

Seperti yang dilaporkan oleh Towaha (2014) bahwa kapasitas antioksidan biji kakao dan produk turunannya dengan jumlah total polifenol yang dimiliki mempunyai korelasi yang positif. Semakin tinggi kandungan total fenol maka akan semakin tinggi pula nilai kapasitas antioksidannya.

Uji Indeks Efektivitas

Uji indeks efektivitas dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dalam menghasilkan ekstrak kulit buah kakao. Variabel yang diamati pada pengujian ini adalah rendemen ekstrak, total fenolik dan kapasitas antioksidan. Hasil uji indeks efektivitas ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji indeks efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik dari ekstrak kulit buah kakao.

Perlakuan		Variabel			Jumlah
		Rendemen	Total Fenolik	Kapasitas Antioksidan	
P1T1	(BV)	1,40	2,20	3,00	6,60
	(BN)	0,21	0,33	0,45	1,00
P1T2	Ne	0,00	0,00	0,00	0,00
	Nh	0,00	0,00	0,00	0,00
P1T3	Ne	0,07	0,24	0,46	0,31
	Nh	0,01	0,08	0,21	0,31
P2T1	Ne	0,15	0,60	0,79	0,59
	Nh	0,03	0,20	0,36	0,59
P2T2	Ne	0,24	0,11	0,17	0,16
	Nh	0,05	0,04	0,08	0,16
P2T3	Ne	0,33	0,40	0,55	0,45
	Nh	0,07	0,13	0,25	0,45
P3T1	Ne	0,44	0,80	0,88	0,76
	Nh	0,09	0,27	0,40	0,76
P3T2	Ne	0,63	0,22	0,32	0,35
	Nh	0,13	0,07	0,15	0,35
P3T3	Ne	0,78	0,58	0,63	0,64
	Nh	0,17	0,19	0,29	0,64
	Ne	1,00	1,00	1,00	
	Nh	0,21	0,33	0,45	1,00

Perlakuan terbaik ditunjukkan dengan jumlah nilai hasil tertinggi. Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan dengan

perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi 48 jam memiliki nilai tertinggi yaitu 1,00 sehingga merupakan

perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan hal-hal berikut:

1. Perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi sangat berpengaruh terhadap rendemen, total fenolik dan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Interaksi antar perlakuan sangat berpengaruh terhadap total fenolik dan kapasitas antioksidan namun tidak berpengaruh terhadap rendemen ekstrak kulit buah kakao.
2. Perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan adalah perbandingan bahan dengan pelarut 1:20 dan waktu maserasi selama 48 jam dengan karakteristik rendemen $3,10 \pm 0,36$ persen, total fenolik sebesar $146,67 \pm 5,14$ mg GAE/g dan kapasitas antioksidan $97,00 \pm 2,22$ mg GAEAC/g.

Saran

1. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao terbaik, disarankan menggunakan perbandingan bahan dengan pelarut 1:20 dan waktu maserasi selama 48 jam.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan bahan dengan pelarut dan waktu maserasi yang lebih lama serta pengaplikasian ekstrak kulit buah kakao pada produk.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. Teknologi Bahan Alam. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Anam, C. 2010. Ekstraksi oleoresin jahe (*Zingiber officinale*) kajian dari ukuran bahan, pelarut, waktu dan suhu. Jurnal Pertanian MAPETA. 12(2):72-144.
- Anonim. 2012. Identifikasi Senyawa Bahan Alam Serta Uji Antioksidan Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*). <http://chittaputri.blogspot.com/2012/01/identifikasi-senyawa-bahanalam-serta.html>. Diakses pada 27 Mei 2019.
- Ansel, H.C., 2008, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Ed IV. Alih Bahasa Ibrahim, F. UI Pres, Jakarta.
- Amelinda, E., I.W.R. Widarta, dan L.P.T. Darmayanti. 2018. Pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 7(4):165-174.
- Amirroenas, D.E. 1990. Mutu Ransum Berbentuk Pellet Dengan Bahan Serat Biomassa Pod Coklat (*Theobroma cacao* L.) Untuk Pertumbuhan Sapi Perah jantan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ashadi, R.W. 1988. Pembuatan Gula Cair dari Pod Kakao Dengan Menggunakan Asam Sulfat, Enzim, Serta Kombinasi Keduanya. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Basito. 2011. Efektivitas Penambahan etanol 95% dengan variasi asam dalam proses ekstraksi pigmen antosianin kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 4(2):84-93.
- Boelens, M.H. 1997. Production, Chemistry

- and Sensory Properties of Natural Isolates. Dalam: Swift, K.A.D. (ed.). Flavours and Fragrances. The Royal Society of Chemistry, London.
- Budiyanto, A. dan Yulianingsih. 2008. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap karakter pektin dari ampas jeruk siam (*Citrus nobilis* L.). J. Pascapanen. 5(2) : 37-44.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. nature. 181: 1199-1200.
- Cahyadi, S. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Cetakan Pertama. PT. Bumi Aksara, Jakarta.
- Cahyaningrum, K., A. Husni, S.A. Budhiyanti. 2016. Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut cokelat (*Sargassum polycystum*). Agritech. 36(2):137-144.
- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan, dan C.R. Canada. 1984. Engineering Economy. Macmilan. New York.
- Delazar, A., L. Nahar., S. Hamedeyaz, dan S.D. Setyajit. 2012. Microwave-assisted extraction in natural products isolation, Methods in Molecular Biology. Spinger Science, New York. 824(2):215-218
- Diantika, F., M.S. Sandra., dan Y. Rini. 2014. Pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi larutan etanol terhadap ekstraksi antioksidan biji kakao (*Theobroma cacao* L.). Jurnal Teknologi Pertanian. 15(3):159-164.
- Erniati. 2007. Efek Konsumsi Minuman Bubuk Kakao Bebas Lemak Terhadap Sifat Antioksidatif dan Prolifertif Limfosit Manusia. Tesis. Tidak dipublikasikan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fraga C.G., 2005. Cocoa, Diabetes and Hypertension: Should we eat more chocolate american J. of Clinical Nutrition.81(3):541-542
- Furniss, B.S., A.J. Hannaford., V. Rogers, P.W.G. Smith and A.R. Tatchell. 1980. Vogels Textbook of Practical Organic Chemistry (Fourth Ed.) The English Language Book Society and Longman.
- Hii, C. L., C. L. Law, S. Suzannah, Misnawi, & M. Cloke. 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). Asian Journal of Food and Agro-Industry 2(04):702-722
- Isroi. 2007. Pengomposan Limbah Kakao. Materi Pelatihan TOT Budidaya Kopi dan Kakao Staf BPTP di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember.
- Jauda, R.L., O.E.H. Laoh., J. Baroleh, dan J.F.J. Timban. 2016. Analisis pendapatan usaha tani kakao di desa tikong, Kecamatan Taliabu Utara, Kabupaten Kepulauan Sula. Agri-sosioekonomi. 12(2):33 – 40.
- Kemit, N., I. W. R. Widarta dan K. A. Nocianitri. 2015. Pengaruh jenis pelarut dan waktu maserasi terhadap kandungan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat (*Parsea Americana Mill*). E Jurnal Itepa 1:130-141.
- Ketaren, S dan B. Djiatmiko. 1978. The Essential Oils. Minyak Atsiri Bersumber dari Bunga Dan Buah, Departemen Teknologi Hasil Pertanian. Fatemeta. Intsitut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kiswandono, A.A. 2011. Skrining senyawa kimia dan pengaruh metode maserasi dan refluks pada biji kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan. Jurnal Sains

- Natural Universitas Nusa Bangsa. 1(2): 126-134.
- Lecumberri E., R. Mateos, M.Izquierdo-Pulido, P.Ruperez, L. Goya, L. Bravo, 2006. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physicochemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *J. Food Chem.* 104(3):948-954.
- Murray, R.K., D.K. Granner., V.W. Rodwell. 2009. *Biokimia Harper Edisi 27.* Mc Graw-Hill Companies, EGC.
- Prawoto, A. dan Sulistyowati. 2001. Sifat-Sifat Fisiko Kimia Lemak Kakao dan Faktor-Faktor yang Berpengaruh. Pusat Penelitian Perkebunan, Jember.
- Purnamawati H., Utami B. 2014. Pemanfaatan limbah kulit buah kakao (*Theobroma cocoa* L.) sebagai adsorben zat warna rhodamin b. Proeseding Seminar Nasional Fisika dan Penididkan Fisika. 5(1):12-18.
- Rifai, G., I.W.R. Widarta., K.A. Nocianitri. 2018. Pengaruh jenis pelarut dan rasio bahan dengan pelarut terhadap kandungan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan.*7(2):22 – 32.
- Roesmanto dan Joko. 1991. Kakao: Kajian Sosial Ekonomi. PT. Aditya, Yogyakarta.
- Sakanaka S., Y. Tachibana., Okada, and Yuki. 2003. Preparation and antioxiant properties of extracts of Japanese persimo leaf tea (Kakinocha-Cha). *Food Chemistry.* 89:569-575.
- 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): 69-80.
- Siregar, T.H.S., S. Riyadi, dan L. Nuraeni. 2009. Kakao (Pembudidayaan Pengolahan, Pemasaran). Penebar Swaday, Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian.* Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Suryani, L. 2012. Optimasi metode ekstraksi fenol dari rimpang jahe emprit (*Zingiber Officinalle Var. Rubrum*). *Jurnal AgriSains.* 3(4):63-70.
- Tjitrosoepomo dan Gembong. 1988. Taksonomi Tumbuhan (*Spermatophyta*). Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Towaha, J. 2014. Kandungan Senyawa Polifenol Pada Biji Kakao Dan Kontribusinya Terhadap Kesehatan. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi
- Utami. 2009. Potensi daun alpukat (*Persea Americana Mill.*) sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Teknik Kimia.* 2(1):56-64.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi.* Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Yudharini G.A.K.F., A.A.P.A. Suryawan., N.M. Wartini. 2016. Pengaruh perbandingan bahan dengan pelarut dan lama ekstraksi terhadap rendemen dan karakteristik ekstrak pewarna dari buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri.* 4(3):36-46.
- 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.