

Karakteristik Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber
Antioksidan pada Perlakuan Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi
*Characteristics of Beans Husk of Cocoa Extract (Theobroma cacao L.) A Source of
Antioxidant on Variation Particle Size and Time of Maceration*

Reren Rahmadhani, 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 09 Maret 2020

ABSTRACT

Cocoa beans husk is the highest waste of the cocoa fruit processing and has not been used optimally. The waste of cocoa beans husk contain polyphenol that can be used for antioxidants. Polyphenol on beans husk of cocoa can be extract using extraction method. This study aims were to determine the effect of the macerations and particle size on the extract beans husk of cocoa as a source of antioxidants and to determine the best of solvent concentration and particle size to produce extract of beans husk of cocoa 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 particle size that that consists of 40, 60 and 80 mesh. The second factor was maceration time, wich were done for 24, 36 and 48 hours. The data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued with the Tukey test. The results showed that maceration time and particle size had a very significant effect on yield, total phenolics and antioxidant capacity on the extract of beans husk of cocoa. Interactions between treatments had a very signifiacant effect on total phenolic and antioxidant capacity but significantly effect the yield on the extract of beans husk of cocoa. 80 mesh of particle size and 48 hours maceration time was thebest treatment for extracting beans husk of cocoa as a source of antioxidants with characteristic 14.28±0.7 percent of yields, 92.2±1.66 mg GAE/g of total phenolics, and 57.71±0.27 mg GAEAC/g of antioxidant capacity.
Keywords : cocoa beans husk, extraction, particle size, antioxidants.

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

PENDAHULUAN

Tanaman kakao adalah tanaman perkebunan yang populer ditanam di Indonesia. Menurut data Direktorat Jendral Perkebunan, Kementerian Pertanian (2017) kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan yang mempunyai peran cukup penting dalam kegiatan perekonomian di Indonesia. Indonesia merupakan negara produsen dan eksportir kakao terbesar ketiga di dunia. Produksi kakao terbesar di Indonesia pada tahun 2017 mencapai 657.050 ton. Provinsi Sulawesi Tengah merupakan provinsi penghasil kakao terbesar di Indonesia dengan jumlah produksi mencapai 118,35 ribu ton. Jumlah produksi kakao Indonesia pada tahun 2017 meningkat 7,72 % atau sebesar 45,8 ribu ton dibanding tahun sebelumnya.

Area perkebunan yang semakin luas akan menghasilkan produksi kakao yang semakin banyak. Hal ini juga akan mengakibatkan jumlah limbah kulit biji kakao semakin banyak. Kulit biji kakao (sekitar 15% dari berat total biji kakao) merupakan limbah dari industri pengolahan coklat (Kim *et al.*, 2004). Kulit biji kakao berpeluang untuk dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan karena mengandung senyawa polifenol dengan total fenolik sebesar 5,78% (Lecumberri *et al.*, 2007). Polifenol pada kulit biji kakao antara lain prosianidin, epikatekin, *p-hidroksibenzoic acid*, antosianin, proantosianidin dan clovamid (Arlorio *et al.*, 2005).

Buah kakao terdiri dari kulit buah dan kakao dan biji kakao. Biji kakao diolah menjadi produk coklat. Dalam pengolahan biji kakao menjadi produk coklat menghasilkan limbah kulit biji kakao yang begitu banyak. Keberadaan limbah tersebut sering kali tidak dimanfaatkan secara baik dan kadang dibiarkan begitu saja sehingga menjadi sampah industri pengolahan coklat. Kulit biji kakao mengandung senyawa aktif

yang tidak jauh berbeda dengan kandungan senyawa aktif terdapat pada kulit buah dan biji kakao itu sendiri. Hal tersebut yang mendasari untuk dilakukan penelitian mengenai potensi kulit biji kakao sebagai antioksidan.

Berdasarkan penelitian pengujian fitokimia ekstrak etanol 70% kulit buah kakao positif mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid (Kayaputri, 2014). Komponen atau senyawa utama yang terdapat pada biji kakao adalah serat kasar dan selulosa yang jumlahnya mencapai 18,6% dan 13,70%. Zat gizi kulit biji kakao mengandung lemak 3,40%, protein 6,78%, asam-asam amino (Minifie, 1984). Menurut penelitian Utami (2017), kulit biji kakao yang disangrai dengan suhu 140°C selama 4 menit memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas yaitu sebesar $21,23 \pm 0,39$ mg GAE/g ekstrak kering dan nilai IC_{50} $74,31 \pm 0,72$ μ g/mL.

Kulit biji kakao dapat dimanfaatkan dengan cara mengekstraksi senyawa polifenolnya yang digunakan sebagai antioksidan alami. Pengambilan senyawa polifenol, dapat dilakukan dengan proses ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan cara maserasi. Proses maserasi dipilih karena metode ekstraksi yang pengerjaannya sederhana bila dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi yaitu persiapan bahan baku, ukuran partikel, pelarut yang digunakan, waktu, suhu, serta proses pemisahan pelarut dari hasil ekstraksi.

Faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi yaitu waktu ekstraksi. Waktu ekstraksi dengan cara maserasi yang tepat dapat menghasilkan rendemen dan total senyawa fenolik yang tinggi. Waktu maserasi yang terlalu singkat akan mengakibatkan senyawa fenolik yang larut dalam pelarut berjumlah sedikit dan apabila

waktu maserasi terlalu lama maka akan mengakibatkan rusaknya senyawa fenolik yang diekstrak (Utami *et al.*, 2017). Penelitian Asendy (2018) mengenai waktu maserasi kulit buah jeruk lemon didapatkan hasil yang optimal dengan menggunakan volume pelarut 150 ml dengan waktu maserasi selama 36 jam yang memperoleh rendemen sebesar 26,96%, total fenol sebesar 16,73 mg GAE/g dan aktivitas antioksidan sebesar 94,08% dengan IC_{50} 793 mg/L. Selain itu penelitian Yulianingtyas dan Kusmanto (2016) mengenai waktu maserasi daun belimbing wuluh didapatkan hasil optimal dengan waktu maserasi selama 48 jam yang memperoleh berat flavonoid terekstrak sebanyak 72,31mg.

Ukuran partikel juga merupakan salah satu faktor yang dapat memengaruhi proses ekstraksi. Penelitian Utami (2017) mengenai aktivitas antioksidan kulit biji kakao dari hasil penyangraian biji kakao kering menggunakan ayakan 60 mesh. Selain itu penelitian Mujiyono (2017) menggunakan ayakan 40 mesh pada uji aktivitas antioksidan kulit biji kakao dengan berbagai metode pengeringan. Lama ekstraksi pada bahan baku akan berkaitan dengan karakteristik bahan baku yang bersangkutan seperti ukuran partikel bahan, karena semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sampai batas senyawa yang diekstrak habis dalam 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). 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). Berdasarkan pemaparan tersebut, maka dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ukuran partikel dan waktu maserasi pada ekstrak kulit biji kakao sebagai sumber antioksidan. serta untuk menentukan kombinasi perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi terbaik untuk menghasilkan ekstrak kulit biji 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 Mei hingga Juli 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 biji 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),

Na₂CO₃(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 Ukuran Partikel (P) yang terdiri dari 3 taraf yaitu P1: 40 mesh, P2: 60 mesh, P3: 80 mesh. Faktor kedua yaitu Waktu maserasi(T) yang terdiri dari 3 taraf yaitu T1: 24 jam, T2: 36 jam, T3: 48 jam. 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)

Kulit biji kakao yang digunakan yaitu kulit dari biji kakao kering yang sudah dilakukan penyangraian selama 120 menit. Kadar air kulit biji kakao yaitu $\pm 8\%$. Kulit biji kakao kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender, setelah itu diayak dengan menggunakan ayakan sesuai dengan perlakuan 40, 60, dan 80 mesh. Proses pengayakan dilakukan dengan mengayak bubuk kulit bij kakao pada ayakan 80 mesh. Bubuk kulit biji kakao yang tidak lolos pada ayakan 80 mesh kemudian diayak kembali pada ayakan 60 mesh. Bubuk kulit biji kakao yang tidak lolos pada ayakan 60 mesh kemudian diayak kembali pada ayakan 40 mesh sehingga didapati bubuk kulit biji kakao dengan ukuran partikel sesuai perlakuan yaitu 40, 60, dan 80 mesh.

Tahap ekstraksi (Suryani *et al.*, 2016 yang dimodifikasi)

Bubuk kulit biji kakao yang telah diayak sesuai perlakuan (40, 60 dan 80 mesh) kemudian ditimbang masing-masing 30 g. Ditambahkan pelarut etanol sebanyak 300 mL sehingga perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:10 (Suryani *et al.*, 2016). Bubuk kulit biji kakao diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi selama 24,36,48 jam sesuai perlakuan. Selama proses maserasi dilakukan penggojogan setiap 6 jam sekali selama 5 menit. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup rapat pada suhu ruang ($29\pm 1^\circ\text{C}$).

Setelah maserasi, 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 100mBar 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.

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:

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

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 μ L 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 μ L 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 :

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

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, kemudian ditambahkan 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 ukuran partikel dan waktu maserasi

sangat berpengaruh ($p \leq 0,01$) sedangkan interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh ($p > 0,05$) terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan. Nilai rata-rata rendemen ekstrak kulit biji kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu (Jam)		
	24	36	48
40	8,17±0,59 ^f	10,02±0,33 ^e	9,74±0,14 ^e
60	12,29±0,34 ^d	12,45±0,14 ^d	12,98±0,43 ^c
80	13,66±0,32 ^b	13,68±0,27 ^b	14,28±0,07 ^a

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

Tabel 1 menunjukkan bahwa ukuran partikel 80 mesh dan waktu maserasi 48 jam menghasilkan rendemen ekstrak kulit biji kakao tertinggi sebesar 14,28±0,07 persen sedangkan yang terendah dihasilkan pada ukuran partikel 40 mesh dan waktu maserasi 24 jam sebesar 8,17±0,59 persen. Data tersebut menunjukkan semakin kecil ukuran partikel bahan dan semakin lama waktu maserasi maka semakin banyak rendemen ekstrak yang dihasilkan. Kenaikan waktu maserasi yang digunakan akan menghasilkan nilai rendemen dengan persentase yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh 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. Hasil ini juga didukung oleh penelitian Antari *et al.* (2015) mengenai pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak alami buah pandan.

Rendemen ekstrak kulit biji kakao mengalami peningkatan dengan meningkatnya ukuran partikel. 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 ukuran partikel dan waktu maserasi serta interaksinya sangat berpengaruh ($p \leq 0,05$) terhadap total fenolik ekstrak kulit biji kakao. Nilai rata-rata total fenolik ekstrak kulit biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata total fenolik (mg GAE/g) ekstrak kulit biji kakao pada perlakuan waktu maserasi dan ukuran partikel

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu (jam)		
	24	36	48
40	57,48±0,89 ^f	61,29±0,39 ^e	76,51±0,20 ^c
60	61,03±1,28 ^e	72,69±1,60 ^c	90,60±0,13 ^b
80	64,77±1,20 ^d	73,07±0,79 ^c	92,23±1,66 ^a

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

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu maserasi 48 jam menghasilkan total fenolik ekstrak kulit biji kakao tertinggi sebesar $92,23, \pm 1,66$ mg GAE/g sedangkan yang terendah pada perlakuan ukuran partikel 40 mesh dan waktu maserasi 24 jam sebesar $57,48 \pm 0,89$ mg GAE/g. Hasil ini menunjukkan semakin lama waktu maserasi maka semakin tinggi total fenolik yang terekstrak. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu maserasi semakin banyaknya penetrasi pelarut kedalam bahan, hal ini menyebabkan senyawa fitokimia semakin larut kedalam pelarut yang digunakan sehingga jumlah fenol yang terekstrak semakin besar. Setelah mencapai waktu optimum senyawa fenolik mengalami kerusakan dan tidak akan lagi terlarut dalam pelarut yang digunakan (Asendy *et al.*, 2018).

Total fenolik ekstrak kulit biji kakao mengalami peningkatan dengan meningkatnya ukuran partikel. 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 ukuran partikel dan waktu maserasi serta interaksinya sangat berpengaruh ($p \leq 0,05$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan ekstrak kulit biji kakao dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak kulit biji kakao pada perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi

Ukuran Partikel (mesh)	Waktu (jam)		
	24	36	48
40	$39,78 \pm 0,44^h$	$42,52 \pm 0,60^f$	$51,81 \pm 0,44^c$
60	$41,13 \pm 0,38^g$	$44,22 \pm 0,71^e$	$56,94 \pm 0,38^b$
80	$41,98 \pm 0,60^f$	$48,61 \pm 0,97^d$	$57,71 \pm 0,27^a$

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

Tabel 3 menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan tertinggi dihasilkan oleh perlakuan ukuran partikel 80 mesh dan waktu maserasi 48 jam sebesar $57,71 \pm 0,27$ mg GAEAC/g dan yang terendah dihasilkan oleh perlakuan ukuran partikel 40 mesh dan waktu maserasi 24 jam $39,78 \pm 0,44$ mg GAEAC/g. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi maka semakin tinggi kapasitas antioksidannya. Hal ini terjadi dikarenakan kapasitas antioksidan yang dihasilkan dipengaruhi oleh senyawa

polifenol yang ada pada ekstrak kulit biji kakao. Semakin banyak senyawa polifenol yang dihasilkan maka kapasitas antioksidan yang didapat semakin tinggi. 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 (Utami, 2009) tentang sumber antioksidan alami dari daun alpukat yang menyatakan bahwa menghasilkan kapasitas antioksidan

yang berbanding lurus dengan total fenol yang dikandungnya.

Hasil penelitian 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 biji kakao sebagai sumber antioksidan. Variabel yang diamati pada pengujian ini adalah rendemen ekstrak, total fenolik dan kapasitas antioksidan. Hasil uji indeks efektifitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji indeks efektifitas ekstrak kulit biji kakao

Perlakuan	Variabel				Jumlah
	Rendemen	Total Fenolik	Kapasitas Antioksidan		
	BV	1,80	2,40	3,00	7,20
	BN	0,25	0,33	0,42	1,00
P1T1 (40 mesh & 24 jam)	Ne	0,00	0,00	0,00	
	Nh	0,00	0,00	0,00	0,00
P2T1 (60 mesh & 24 jam)	Ne	0,67	0,10	0,08	
	Nh	0,17	0,03	0,03	0,23
P3T1 (80 mesh & 24 jam)	Ne	0,90	0,21	0,12	
	Nh	0,22	0,07	0,05	0,35
P1T2 (40 mesh & 36 jam)	Ne	0,30	0,11	0,15	
	Nh	0,08	0,04	0,06	0,18
P2T2 (60 mesh & 36 jam)	Ne	0,70	0,44	0,25	
	Nh	0,17	0,15	0,10	0,42
P3T2 (80 mesh & 36 jam)	Ne	0,93	0,45	0,49	
	Nh	0,23	0,15	0,21	0,59
P1T3 (40 mesh & 48 jam)	Ne	0,26	0,55	0,67	
	Nh	0,06	0,18	0,28	0,53
P2T3 (60 mesh & 48 jam)	Ne	0,79	0,95	0,96	
	Nh	0,20	0,32	0,40	0,91
P3T3 (80 mesh & 48 jam)	Ne	1,00	1,00	1,00	
	Nh	0,25	0,33	0,42	1,00

Perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan hasil yang menunjukkan nilai hasil tertinggi. Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan waktu maserasi 48 jam dan ukuran partikel 80 mesh memiliki nilai hasil tertinggi yaitu 1,00 sehingga merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak kulit biji kakao sebagai sumber antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

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

1. Perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi sangat berpengaruh terhadap rendemen, total fenol dan kapasitas antioksidan ekstrak kulit biji kakao. Interaksi antar perlakuan sangat berpengaruh terhadap total fenolik dan kapasitas antioksidan namun berpengaruh terhadap rendemen.
2. Ukuran partikel 80 mesh dan waktu maserasi 48 jam merupakan perlakuan terbaik untuk mengekstrak kulit biji kakao sebagai sumber antioksidan dengan karakteristik rendemen $14,28 \pm 0,07$ persen, total fenolik $92,23 \pm 1,66$ mg GAE/g, dan kapasitas antioksidan $57,71 \pm 0,27$ mg GAEAC/g.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, untuk menghasilkan ekstrak kulit biji kakao sebagai sumber antioksidan, disarankan menggunakan ukuran partikel bahan 80 mesh dan waktu maserasi 48 jam.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai efektivitas antioksidan ekstrak kulit biji kakao pada makhluk hidup serta pengaplikasiannya sebagai bahan tambahan pangan atau sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Antari, O., N.M. Wartini dan S. Mulyani. 2015. Pengaruh Ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak alami buah pandan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 3(4):30-40.
- Asendy, D., I.W.R. Widarta dan K.A. Nocianitri. 2018. Pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah jeruk lemon. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7(3):102-109.
- 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. Yulianingsih. 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.
- Kayaputri, I.L., D.M. Sumanti, M. Djali, R. Indiarso dan D.L. Dewi. 2014. Kajian fitokimia ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Chimica et Natura Acta*. 2(1):83-90.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Utami, R. R., S. Supriyanto., S. Rahardji., R. Armunanto. 2017. Aktivitas Antioksidan Kulit Biji Kakao dari Hasil Penyangraian Biji Kakao Kering pada Derajat Ringan, Sedang dan Berat. *Jurnal Agritech*. 37(1): 88-94.
- Utami. 2009. Potensi daun alpukat (*Persea americana* Mill) Sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Teknik Kimia UPN.Jawa Timu*. Vol 2(1):58-64.
- 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.