

Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Ekstraksi menggunakan Metode
Microwave Assisted Extraction (MAE) terhadap Aktivitas Antioksidan
Ekstrak Kulit Buah Kakao

*The Effect of Ethanol Concentration and Extraction Time with Microwave Assisted Extraction
(MAE) on Antioxidant Activity of Cocoa Pod Husk Extract*

Diana Puspitaningtyas, 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 04 Agustus 2021 / Disetujui 18 Agustus 2021

ABSTRACT

This research was conducted to determine effect of ethanol concentration and extraction time on antioxidant activity of cocoa pod husk extract and to obtain ethanol concentration and extraction time using Microwave Assisted Extraction (MAE) that can produce extract with the highest antioxidant capacity. The experimental design used in this research was a factorial randomized block design, which consisted of two factors. The first factor was the concentration of ethanol which consisted of 3 level that namely ethanol 75%, 85% and 95%. The second factor was the time of extraction which consisted of 4 level namely 5, 10, 15, and 20 minutes. The data were analyzed by analysis of variance and continued with Tukey test. The results showed that the concentration and extraction time had a very significant effect on yield, total phenolic, total flavonoid and antioxidant capacity of cocoa pod husk extract. Interactions between treatments had a very significant effect on total phenolic and total flavonoid. Interaction on antioxidant capacity had a significant effect, but did not significantly effect to the yield of cocoa pod husk extract. The best treatment showed that extraction by ethanol 95% for 15 minutes using MAE which the characteristic yield was $11.85 \pm 0.84\%$ total phenol was 149.36 ± 0.92 mg GAE/g extract, total flavonoid was 91.03 ± 2.31 mgQE/g extract, antioxidant capacity was 136.69 ± 0.19 mg GAEAC/g extract.

Keyword : Ethanol concentration, time extraction, antioxidants, cocoa pod husk.

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao serta mendapatkan konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) yang dapat menghasilkan ekstrak dengan kapasitas antioksidan tertinggi. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi etanol yang terdiri dari 3 taraf yaitu etanol 75%, 85% dan 95%. Faktor kedua adalah waktu ekstraksi yang terdiri dari 4 taraf yaitu 5, 10, 15, dan 20 menit. Data dianalisis dengan analisis varian dan dilanjutkan dengan uji BNJ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, total fenolik, dan kapasitas antioksidan. Interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap total fenolik dan total

*Korespondensi Penulis:

Email: gandaputra@unud.ac.id

flavonoid. Interaksi pada kapasitas antioksidan berpengaruh nyata, namun tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak bubuk kulit buah kakao. Perlakuan terbaik menunjukkan bahwa ekstraksi dengan etanol 95% selama 15 menit menggunakan MAE dengan karakteristik rendemen tertinggi sebesar $11,85 \pm 0,84\%$ total fenol sebesar $149,36 \pm 0,92$ mg GAE/g ekstrak, total flavonoid sebesar $91,03 \pm 2,31$ mgQE/g ekstrak, dan kapasitas antioksidan $136,69 \pm 0,19$ mg GAEAC/g ekstrak

Kata kunci : Konsentrasi etanol, waktu ekstraksi, antioksidan, kulit buah kakao

PENDAHULUAN

Buah kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas pertanian yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Indonesia telah menjadi produsen kakao tertinggi dengan peringkat 3 dunia, setelah Pantai Gading dan Ghana dengan produksi tahun 2018 sebesar 779,5 ribu ton. Pada tahun 2018, kakao sebagai sumber devisa dengan volume ekspor mencapai 380,75 ribu ton atau senilai USD 1,24 milyar (BPS diolah Ditjen. Perkebunan, 2018). Data Statistik Perkebunan Indonesia yang diterbitkan pada tahun 2018 menyatakan bahwa produksi buah kakao dihasilkan oleh provinsi Bali sejumlah 4.709 ton.

Pengolahan buah kakao menjadi coklat dalam dunia industri hanya memanfaatkan bagian keping bijinya saja, sedangkan kulit buahnya sebagai hasil samping utama dari pengolahan coklat. Kulit buah kakao mencapai 75% dari total keseluruhan berat buah. Jika dilihat dari data produksi buah kakao yang mencapai 779,5 ribu ton, maka hasil samping berupa kulit kakao yaitu sebesar 584,6 ribu ton/tahun, sehingga dapat disayangkan apabila tidak dimanfaatkan secara maksimal.

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) mengandung beberapa senyawa bioaktif yang telah diuji secara invitro, diantaranya senyawa fenolik yaitu katekin, epikatekin, antosianidin, proantosianidin, asam fenolik, dan beberapa flavonoid lainnya (Arlorio *et al.*, 2005). Pada umumnya senyawa aktif pada tanaman memiliki sifat polar. Senyawa fenolik ini berfungsi sebagai antioksidan alami yang bermanfaat dalam memperbaiki sistem imun, efek kemopreventif dan dapat

menjadi pencegahan penyakit jantung koroner dan kanker (Misnawi *et al.*, 2002). Antioksidan dari kulit buah kakao dapat dihasilkan melalui proses ekstraksi. Pratyaksa *dkk.* (2020) melaporkan bahwa kulit buah kakao yang dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan karakteristik ekstrak yaitu nilai rendemen sebesar $5,22 \pm 0,05\%$, total fenolik sebesar $148,09 \pm 0,00$ mg GAE/g dan kapasitas antioksidan sebesar $118,71 \pm 0,13$ mg GAEAC/g.

Metode ekstraksi lainnya adalah dengan teknik MAE (*Microwave Assisted Extraction*). Teknik MAE merupakan teknik ekstraksi menggunakan *microwave* yang dimodifikasi yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk memanaskan pelarut dengan tujuan mempercepat ekstraksi selektif secara efisien (Jain *et al.*, 2009). Peningkatan kecepatan proses ekstraksi terletak pada pelarut atau sampel yang dipanaskan dengan interaksi langsung pada radiasi elektromagnetik. Interaksi langsung radiasi elektromagnetik dapat memanaskan hingga 20-30 kali lebih cepat dibandingkan sistem konvensional. Hal ini memungkinkan proses ekstraksi diselesaikan dalam beberapa menit sehingga menghemat waktu (Svarc-Gajic *et al.*, 2013).

Keberhasilan proses ekstraksi dengan metode MAE dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti waktu ekstraksi, jenis pelarut, konsentrasi pelarut, rasio bahan:pelarut, daya *microwave*, dan suhu *microwave*. Kesesuaian pelarut merupakan faktor yang penting karena hal mendasar dalam memperoleh hasil ekstraksi yang optimal. Pelarut etanol adalah pelarut polar sehingga pelarut ini sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa

flavonoid (Arifin *et al.*, 2006). Selain jenis pelarut, perbedaan konsentrasi juga mempengaruhi hasil ekstraksi. Perbedaan konsentrasi etanol dapat mengakibatkan perubahan polaritas pelarut sehingga mempengaruhi kelarutan senyawa bioaktif, salah satunya ialah flavonoid (Zhang *et al.*, 2009). Penetapan konsentrasi pelarut yang berbeda-beda ditujukan untuk mendapatkan pelarut dengan kepolaran mendekati senyawa fenolik pada kulit buah kakao.

Faktor lain yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu waktu ekstraksi. Ibrahim *et al.* (2015) menyatakan bahwa terlalu singkat waktu ekstraksi, menyebabkan tidak maksimal senyawa yang dapat terekstrak dari bahan. Semakin lama waktu yang dibutuhkan maka semakin besar energi radiasi gelombang mikro yang dikenakan pada bahan. Veera *et al.* (2013) melaporkan bahwa energi radiasi gelombang mikro yang dikenakan makin besar menyebabkan air yang terdistribusi di dalam sel mengalami kenaikan panas. Kenaikan panas yang terjadi menimbulkan tekanan di dalam sel sehingga sel rusak dan terjadi pecahnya dinding sel sehingga mengeluarkan zat terlarut (solute) ke dalam pelarut (solvent).

Penelitian sebelumnya oleh Yasa *dkk.* (2019) pada daun sirih merah dengan variasi konsentrasi etanol (50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%.) mendapatkan hasil terbaik total fenol sebesar 106 mgGAE/g ekstrak pada konsentrasi etanol 90% dan waktu ekstraksi 8 menit. Kemudian penelitian dari Faadhilah (2019) mengenai pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol terhadap kadar fenol sarang semut papua menghasilkan ekstrak terbaik pada konsentrasi etanol 75% memiliki kadar fenol yang paling tinggi yaitu sebesar 107,50 mgGAE/g dengan waktu 27 menit. Penelitian lainnya oleh Sasmito *dkk.* (2019), mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanolat kulit batang *avicennia* dari variasi lama ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction* dengan etanol 98% dan

variasi waktu (12, 14, dan 16 menit) diperoleh rendemen tertinggi dan aktivitas antioksidan yang kuat dari lama ekstraksi 16 menit, yaitu sebanyak 12,8126 % dengan kandungan total fenol sebesar 415,94 mgGAE/100 g.

Berbeda pada penelitian mengenai ekstraksi kulit manggis menggunakan metode MAE menunjukkan hasil terbaik pada perlakuan jumlah perbandingan sampel dengan pelarut etanol 85%- asam sitrat dan waktu 10 menit dengan rentang waktu perlakuan 10, 15, 20, 25 menit (Sa'diyah *dkk.*, 2019). Hal ini dikarenakan pada lama waktu 10 menit pelarut telah mencapai titik jenuh, sehingga pelarut berhenti menangkap senyawa antioksidan. Hal ini diperkuat oleh Chew *et al.* (2011), bahwa pada waktu tertentu, proses difusi pelarut ke komponen telah mencapai kondisi setimbang meskipun waktu ekstraksi lebih lama, dan tidak berpengaruh pada peningkatan rendemen.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian dengan tujuan mengetahui pengaruh konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi kulit buah kakao menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) terhadap karakteristik ekstrak sebagai sumber antioksidan serta menentukan perlakuan konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi kulit buah kakao menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) yang tepat dalam mendapatkan karakteristik ekstrak terbaik.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan untuk membuat bubuk kulit kakao yang diambil dari kulit buah kakao jenis lindak berwarna kuning. Kulit buah kakao diperoleh dari PT. Cau Cokelat Internasional (Cau Chocolate) Tabanan, Bali. Bahan kimia aquades, dan pelarut etanol (75%, 85%, dan 95%) (Bratachem), NaNO₂ 10% (Merck), AlCl₃ 10% (Merck), Standar

kuersetin (Sigma Aldrich), NaOH 1% (Merck), Standar asam galat (Sigma Aldrich), kristal DPPH (Sigma Aldrich), Reagen Folin-Ciocalteu (Merck), metanol PA, etanol PA (Merck) Na₂CO₃ (Merck), dan pisau.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu yaitu *microwave* oven (Samsung), timbangan analitik (Shimadzu), blender (Philips), kertas saring Whatman No.1, mikropipet (Socorex), rotary vacuum evaporator (Janke & Kunkel RV 06 – ML), Spektrofotometer Uv-Vis (Geneyes 10S UV –Vis) , tabung reaksi, vortex mixer, erlenmeyer, pipet volume 1 ml, pipet volume 5 ml, labu ukur, gelas beaker, labu Erlenmeyer, dan pisau.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi etanol (P) terdiri atas tiga taraf, yaitu P1(75%), P2(85%) dan P3 (95%). Faktor kedua yaitu waktu ekstraksi (W) terdiri atas empat taraf, yaitu W1 (5 menit), W2 (10 menit), W3 (15 menit), dan W4 (20 menit). Masing-masing perlakuan dikelompokkan menjadi 2 kelompok berdasarkan waktu pelaksanaan, terdiri dari 12 kombinasi perlakuan sehingga diperoleh 24 unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA), dan apabila perlakuan berpengaruh, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ) menggunakan *software* Minitab 17 untuk memperlihatkan perbedaan antar perlakuan yang dilambangkan dengan notasi. Penentuan perlakuan terbaik dari semua parameter yang diukur dilakukan dengan uji indeks efektivitas (De Garmo *et al.*, 1984).

Pelaksanaan Penelitian

Proses pembuatan bubuk kulit buah kakao mengikuti metode Pratyaksa *dkk.* (2020) kulit buah kakao pertama-tama

dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih. Kulit buah kakao yang sudah bersih, dipotong kecil-kecil menggunakan pisau dan dikeringkan dibawah sinar matahari (suhu 30±2°C) kemudian ditutup menggunakan kain berwarna hitam, guna untuk mengurangi reaksi oksidasi pada senyawa polifenol. Pengeringan dilakukan selama 9 hari hingga kadar air kulit buah kakao mencapai sekitar 7% dengan indikasi mudah untuk dipatahkan. Selanjutnya, dilakukan penghalusan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 80 mesh sehingga menghasilkan bubuk kulit kakao.

Proses ekstraksi kulit buah kakao mengikuti metode Kristanti (2019) dengan modifikasi. Bubuk kulit buah kakao ditimbang sebanyak 10 gram ditambahkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi sesuai perlakuan, yaitu 75%, 85%, dan 95% sebanyak 200 ml (1:20 g/ml). Kemudian dilakukan proses ekstraksi menggunakan *microwave* dengan waktu sesuai perlakuan yaitu selama 5, 10, 15, dan 20 menit dengan daya 450 Watt. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 1 sehingga menghasilkan filtrat. Filtrat tersebut dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan tekanan 100 mBar, suhu 40°C dan putaran 60 rpm untuk menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut ditimbang untuk menentukan rendemen ekstraknya dan selanjutnya dilakukan analisis.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati adalah rendemen ekstrak (Sudarmadji *et al.*, 1989), total fenolik (Sakanaka *et al.*, 2003), total flavonoid (Chang *et al.*, 2002), dan kapasitas antioksidan dengan metode DPPH (Blois, 1958).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Rendemen

Hasil analisis ragam menunjukkan

bahwa perlakuan konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$), 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 rata-rata rendemen (%) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi

| Konsentrasi Etanol (%) | Waktu (menit) | | | | Rata-rata |
|------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| | W1(5) | W2(10) | W3(15) | W4(20) | |
| P1(75) | 9,02 | 9,92 | 10,20 | 8,03 | 9,29±0,98 ^b |
| P2 (85) | 9,34 | 10,76 | 11,58 | 9,32 | 10,25±1,11 ^{ab} |
| P3 (95) | 10,01 | 10,75 | 11,85 | 10,75 | 10,84±0,75 ^a |
| Rata-Rata | 9,46±0,51 ^b | 10,48±0,48 ^{ab} | 11,21±0,88 ^a | 9,37±1,36 ^b | |

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai pada baris atau kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$)

Tabel 1. menunjukkan bahwa nilai rata-rata rendemen ekstrak kulit buah kakao dengan perlakuan konsentrasi etanol 95% menghasilkan rendemen tertinggi, yaitu 10,84±0,75%, tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi etanol 85%, yaitu 10,25±1,11% dan rendemen terendah pada etanol 75% dengan hasil yaitu 9,29±0,98%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol akan meningkatkan rendemen ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh. Besarnya rendemen yang diperoleh pada ekstrak kulit buah kakao menggunakan konsentrasi pelarut etanol 95% sebagai pelarut pengekstraksi, memperlihatkan bahwa pelarut etanol 95% pada ekstrak kulit buah kakao memiliki kemampuan untuk mengekstrak senyawa lebih baik karena kepolaran mendekati senyawa pada kulit buah kakao. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin besar kadar yang dapat terekstrak (Diem *et al.*, 2014). Hasil tersebut juga dilaporkan oleh Luginda *dkk.*, (2018) bahwa rata-rata rendemen tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96% sebesar 38,2167% pada daun beluntas.

Perlakuan waktu ekstraksi menunjukkan adanya perbedaan hasil rendemen ekstrak kulit buah kakao. Nilai

rata-rata rendemen kulit buah kakao tertinggi diperoleh pada waktu ekstraksi 15 menit, yaitu 11,21±0,88% tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu 10 menit yaitu 10,48±0,48% dan terendah pada waktu 20 menit, yaitu 9,37±1,36% tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu 5 menit yaitu 9,46±0,51% . Pada awal waktu ekstraksi akan mengalami peningkatan nilai rendemen, kemudian setelah melewati waktu optimumnya mengalami penurunan nilai rendemen. Pada penelitian Yulistiani *dkk.* (2020) tentang ekstraksi minyak daun Spearmint menggunakan metode MAE dimana penelitian ini mengkaji variasi waktu ekstraksi 5, 10, 15 dan 20 menit. Dari penelitian ini didapat hasil serupa bahwa peningkatan nilai rendemen tertinggi diperoleh pada waktu ke-15 menit dan terjadi penurunan pada menit ke-20. Hal ini terjadi karena semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak dinding sel pada kulit buah kakao yang pecah dan pelarut memiliki waktu yang optimal untuk mengambil senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Setelah terjadi peningkatan, kemudian terjadi penurunan hasil rendemen pada waktu 20 menit. Waktu ekstraksi yang lebih lama dari 15 menit akan mengakibatkan akumulasi energi panas pada bahan sehingga dapat meningkatkan reaksi dekomposisi

komponen penyusun bahan. Semakin lama rentang waktu ekstraksi maka akan berpengaruh pada bahan yang digunakan karena semakin lama waktu ekstraksi, akan terjadi akumulasi panas yang ditimbulkan dari gelombang mikro (Shi *et al.*, 2007)

2. Total Fenolik

Tabel 2. Nilai rata-rata total fenolik (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi

| Konsentrasi Etanol (%) | Waktu (menit) | | | |
|------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | W1 (5) | W2 (10) | W3 (15) | W4 (20) |
| P1 (75) | 119,22±1,52 ^f | 123,19±1,49 ^{def} | 125,71±1,28 ^{de} | 121,64±0,15 ^{ef} |
| P2 (85) | 126,00±0,63 ^{de} | 127,26±0,14 ^d | 138,66±1,75 ^b | 124,07±0,04 ^{de} |
| P3 (95) | 132,83±1,39 ^c | 136,13±1,54 ^{bc} | 149,36±0,92 ^a | 139,15±0,33 ^b |

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNT dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$)

Tabel 2. menunjukkan hasil total fenolik ekstrak kulit buah kakao tertinggi diperoleh dari konsentrasi pelarut etanol 95% dengan waktu ekstraksi selama 15 menit yaitu sebesar 149,36±0,92 mg GAE/g berbeda dengan semua perlakuan dan total fenolik terendah diperoleh dari konsentrasi etanol 75% selama 5 menit yaitu sebesar 119,22±1,52 mg GAE/g tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi etanol 75% selama 10 menit dan 20 menit, yaitu 123,19±1,49 mg GAE/g dan 121,64±0,15 mg GAE/g. Semakin tinggi konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi hingga titik optimum mengalami peningkatan jumlah total fenol pada kulit buah kakao. Pada konsentrasi etanol yang semakin tinggi meningkatkan jumlah nilai total fenol akibat penurunan polaritas pelarut. Handayani *et al.* (2014) menyatakan bahwa kesesuaian polaritas pelarut dengan bahan akan meningkatkan proses ekstraksi bahan. Hal ini diperkuat dengan penelitian Tambun *et al.* (2016) pada lengkuas merah, dimana pelarut etanol 96% terbukti memiliki kandungan total fenol tertinggi seiring dengan semakin lama waktu ekstraksi sampai titik optimum. Semakin lama waktu ekstraksi maka akan menaikkan jumlah analit yang

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$) terhadap total fenolik ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata total fenolik (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2.

terekstrak karena kontak antara pelarut dengan zat terlarut akan semakin lama sehingga proses pelarutan senyawa fenolik akan terus berlangsung dan berhenti sampai pelarut jenuh. Namun, ketika waktu optimum telah tercapai, penambahan waktu ekstraksi tidak lagi dapat meningkatkan kandungan senyawa fenolik yang terekstrak (Ince *et al.*, 2013). Jenuh berarti pelarut telah seimbang dengan zat terlarutnya, atau jika larutan tidak kuasa lagi melarutkan zat terlarut yang ditambahkan. Artinya konsentrasi larutan sudah maksimal (Pudjaatmaka dan Handayana.1984).

Waktu ekstraksi merupakan salah satu faktor penting yang perlu dipertimbangkan dalam metode Microwave Assisted Extraction. Waktu ekstraksi berperan dalam kemampuan kontak antara gelombang mikro dengan bahan yang diekstrak. Energi dari pemanasan gelombang mikro menyebabkan dinding sel hancur dan senyawa target akan terekstrak keluar dan berdifusi ke pelarut. Pada ekstraksi konvensional seperti maserasi semakin lama proses ekstraksi, maka kontak antara pelarut dan zat terlarut akan semakin lama sehingga proses pelarutan analit akan terus berlangsung dan berhenti sampai

pelarut jenuh terhadap analit. akan tetapi pada ekstraksi menggunakan metode MAE waktu ekstraksi tersebut cenderung lebih cepat dibandingkan metode konvensional. Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya degradasi senyawa termolabil (Chemat dan Giancarlo, 2013).

3. Total Flavonoid

Tabel 3. Nilai rata-rata total flavonoid (mgQE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi

| Konsentrasi Etanol(%) | Waktu (menit) | | | |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | W1 (5) | W2 (10) | W3 (15) | W4 (20) |
| P1 (75) | 63,73±0,90 ^h | 74,81±0,21 ^{fg} | 79,78±2,48 ^{cde} | 73,21±1,03 ^g |
| P2 (85) | 75,92±0,81 ^{efg} | 81,96±1,71 ^{bcd} | 84,53±1,76 ^{bc} | 79,39±0,15 ^{defg} |
| P3 (95) | 79,39±0,15 ^{def} | 85,16±0,06 ^b | 91,03±2,31 ^a | 81,40±1,79 ^{bcd} |

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNT dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$)

Tabel 3. menunjukkan hasil total flavonoid ekstrak kulit buah kakao tertinggi diperoleh dari konsentrasi etanol 95% dengan waktu ekstraksi selama 15 menit yaitu sebesar 91,03±2,31 mgQE/g berbeda dengan semua perlakuan dan total flavonoid terendah diperoleh dari konsentrasi etanol 75% dengan waktu ekstraksi 5 menit yaitu sebesar 63,73±0,90 mgQE/g berbeda dengan semua perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi sampai titik optimumnya akan mempengaruhi jumlah nilai total flavonoid. Pada penelitian ini, konsentrasi etanol yang meningkat menghasilkan total flavonoid yang tinggi. Pelarut dengan polaritas yang mirip dengan zat terlarut akan mudah digunakan untuk melarutkan senyawa yang menjadi target (Altemimi *et al.*, 2017).

Peningkatan lama waktu proses ekstraksi akan menaikkan jumlah nilai total flavonoid yang terekstrak. Hal tersebut karena waktu ekstraksi yang terlalu singkat menyebabkan tidak semua senyawa aktif terekstrak (Ibrahim *et al.*, 2015). Namun lama waktu ekstraksi yang melebihi waktu optimal akan menyebabkan penurunan total flavonoid. Hal ini disebabkan oleh pecahnya

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$) terhadap total flavonoid ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata total flavonoid (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3.

dinding sel secara terus menerus pada molekul kulit buah kakao karena terjadi inisiasi dan difusi antara bahan dengan pelarut. Hal ini sesuai dengan pendapat Budiyanto dan Yulianingsih (2008) bahwa waktu ekstraksi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal.

4. Kapasitas Antioksidan

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi sangat nyata ($p \leq 0,01$) serta interaksinya berpengaruh nyata ($p \leq 0,05$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi etanol 95% dengan waktu ekstraksi selama 15 menit yaitu 136,69±0,19 mg GAEAC/g berbeda dengan semua perlakuan, tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi etanol 95% selama 10 menit yaitu 134,36±1,23 mg GAEAC/g dan kapasitas antioksidan terendah diperoleh pada konsentrasi etanol 75% dengan waktu

ekstraksi 5 menit yaitu $113,49 \pm 0,43$ mg GAEAC/g berbeda dengan semua perlakuan. Semakin tinggi konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi hingga titik optimum mengalami peningkatan jumlah kapasitas antioksidan pada kulit buah kakao. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan dan lama waktu ekstraksi selama 15 menit akan memaksimalkan pelarut dalam merusak dinding sel, tetapi proses ekstraksi senyawa antioksidan yang

terdapat pada ekstrak kulit buah kakao memberikan penurunan pada waktu ekstraksi menit ke-20. Setelah mencapai waktu optimumnya senyawa fenolik dan flavonoid akan mengalami kerusakan dan tidak lagi terlarut ke dalam pelarut yang digunakan. Menurut Al-Farsi *et al.* (2007) komponen fenolik ataupun flavonoid merupakan senyawa utama dalam peranan sebagai antioksidan

Tabel 4. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi

| Konsentrasi Etanol (%) | Waktu (menit) | | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | W1 (5) | W2 (10) | W3 (15) | W4 (20) |
| P1 (75) | $113,49 \pm 0,43^g$ | $120,88 \pm 1,55^f$ | $122,85 \pm 0,86^{ef}$ | $120,02 \pm 0,37^f$ |
| P2 (85) | $119,64 \pm 2,34^f$ | $126,49 \pm 1,83^{de}$ | $128,52 \pm 0,42^{cd}$ | $122,76 \pm 1,05^{ef}$ |
| P3 (95) | $132,12 \pm 0,69^{bc}$ | $134,36 \pm 1,23^{ab}$ | $136,69 \pm 0,19^a$ | $131,60 \pm 1,62^{bc}$ |

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai pada baris atau kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$)

Kapasitas antioksidan yang dihasilkan dipengaruhi oleh senyawa polifenol dan flavonoid yang ada pada ekstrak kulit buah kakao. Semakin tinggi nilai total fenol dan flavonoid maka semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam mendonorkan elektronnya dalam hal menekan perkembangan radikal bebas. Pada penelitian ini didapatkan nilai total fenolik, total flavonoid dan kapasitas antioksidan tertinggi sama-sama dihasilkan dari perlakuan konsentrasi 95% dengan waktu ekstraksi selama 15 menit dengan nilai total fenolik yaitu $149,36 \pm 0,92$ mg GAE/g, total flavonoid yaitu $91,03 \pm 2,31$ mgQE/g dan kapasitas antioksidan yaitu $136,69 \pm 0,19$ mg GAEAC/g dan nilai terendah sama-sama dihasilkan dari perlakuan konsentrasi 75% dan waktu ekstraksi 5 menit dengan nilai total fenolik yaitu $119,22 \pm 1,52$ mg GAE/g, total flavonoid yaitu $63,73 \pm 0,90$ mgQE/g dan kapasitas antioksidan yaitu $113,49 \pm 0,43$ mg GAEAC/g.

Hasil penelitian ini relative lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi

menggunakan metode maserasi mengenai ekstraksi kulit buah kakao yang dilakukan oleh Pratyaksa *dkk.* (2020) menunjukkan hasil tertinggi pada konsentrasi 96% dan waktu maserasi 48 jam menghasilkan kapasitas antioksidan yaitu $118,71 \pm 0,13$ mg GAEAC/g. Kristanti *dkk.* (2019) menyatakan bahwa kandungan total fenolik dan total flavonoid memiliki korelasi kuat dengan kandungan antioksidan. Sehingga semakin tinggi kandungan polifenol dan flavonoid maka akan semakin tinggi pula nilai kapasitas antioksidannya. Selain itu, penurunan kapasitas antioksidan juga berhubungan dengan waktu yang telah mencapai optimalnya dan pelarut yang telah mencapai titik jenuhnya sehingga proses ekstraksi senyawa antioksidan tidak mengalami peningkatan.

5. 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, total flavonoid dan kapasitas antioksidan. Hasil uji indeks efektivitas ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada Tabel 5.

Perlakuan terbaik ditunjukkan dengan jumlah nilai hasil tertinggi. Pada Tabel 5

menunjukkan bahwa perlakuan menggunakan konsentrasi 95% dan waktu 15 menit memiliki nilai tertinggi yaitu 1,00 sehingga merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan.

Tabel 5. Hasil uji indeks efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik dari ekstrak kulit buah kakao

| Perlakuan | Variabel | | | | Jumlah |
|-----------|----------|-------------|-----------------|-----------------------|--------|
| | Rendemen | Total Fenol | Total Flavonoid | Kapasitas Antioksidan | |
| | BV | 1,8 | 3,2 | 2,2 | 3,8 |
| | BN | 0,16 | 0,29 | 0,20 | 0,35 |
| P1W1 | Ne | 0,26 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | Nh | 0,04 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| P1W2 | Ne | 0,50 | 0,13 | 0,41 | 0,32 |
| | Nh | 0,08 | 0,04 | 0,08 | 0,11 |
| P1W3 | Ne | 0,57 | 0,22 | 0,59 | 0,40 |
| | Nh | 0,09 | 0,06 | 0,12 | 0,14 |
| P1W4 | Ne | 0,00 | 0,08 | 0,35 | 0,28 |
| | Nh | 0,00 | 0,02 | 0,07 | 0,10 |
| P2W1 | Ne | 0,34 | 0,23 | 0,45 | 0,27 |
| | Nh | 0,06 | 0,07 | 0,09 | 0,09 |
| P2W2 | Ne | 0,72 | 0,27 | 0,67 | 0,56 |
| | Nh | 0,12 | 0,08 | 0,13 | 0,19 |
| P2W3 | Ne | 0,93 | 0,65 | 0,76 | 0,65 |
| | Nh | 0,15 | 0,19 | 0,15 | 0,22 |
| P2W4 | Ne | 0,34 | 0,16 | 0,51 | 0,40 |
| | Nh | 0,06 | 0,05 | 0,10 | 0,14 |
| P3W1 | Ne | 0,52 | 0,45 | 0,57 | 0,80 |
| | Nh | 0,08 | 0,13 | 0,11 | 0,28 |
| P3W2 | Ne | 0,71 | 0,56 | 0,79 | 0,90 |
| | Nh | 0,12 | 0,16 | 0,16 | 0,31 |
| P3W3 | Ne | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| | Nh | 0,16 | 0,29 | 0,20 | 0,35 |
| P3W4 | Ne | 0,71 | 0,66 | 0,65 | 0,78 |
| | Nh | 0,12 | 0,19 | 0,13 | 0,27 |

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan sebelumnya, maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen, total fenolik, total flavonoid, dan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Interaksi antar perlakuan berpengaruh terhadap total fenolik, total flavonoid, 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 menggunakan konsentrasi pelarut etanol 95% dan waktu ekstraksi selama 15 menit, dengan karakteristik rendemen $11,85 \pm 0,84\%$, total fenolik sebesar $149,36 \pm 0,92$ mg GAE/g, total flavonoid sebesar $91,03 \pm 2,31$ mgQE/g dan kapasitas antioksidan sebesar $136,69 \pm 0,19$ mg GAEAC/g

Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, untuk menghasilkan ekstrak kulit buah kakao sebagai sumber antioksidan, disarankan menggunakan konsentrasi etanol 95% dan waktu ekstraksi MAE 15 menit
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti enkapsulasi agar mendapatkan ekstrak yang dapat diaplikasikan pada produk kosmetik maupun produk makanan..

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M. and Al-Rawahy, F. 2007. Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*. 104:943-947
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun *Eugenia cumini Merr.* *Jurnal Sains Tek. Farmasi* 11(2):88-93
- Arlorio, M., Coisson, J. D., Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., and Martelli, A. 2005. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. *International Food Research Journal*. 38(8-9): 1009-1014.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., and Watson, D. G. 2017. Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*. 6(42): 1–23.
- Badan Pusat Statistik. 2019. Statistik Kakao Indonesia 2018. Badan Pusat Statistik Indonesia, Jakarta.
- Budiyanto, A., dan Yulianingsih. 2008. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap karakter pektin dari ampas jeruk siam (*Citrus nobilis* L.). *Jurnal Pasca Panen Universitas Brawijaya*. 5(2): 37-44
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* 10:178-182.
- Chemat, F., and Giancarlo, C. 2013. *Microwave Assisted Extraction For Bioactive Compound*. Springer US Publisher, USA
- Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Aida, W. W., and Ho, C. W. 2011. Effect of ethanol concentration extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of centella asiatica extracts. *International Food Research Journal*. 18(4) : 571-578
- De Garmo, E. P., Sullivan, W. G, and Canada,

- C. R. 1984. *Engineering Economy*. Macmillan Publisher, New York.
- Diem Do, Q. Artik, E., and Phoung, L. 2014, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *limnophilia arimatica*. *Journal Of Food And Drug Analisis*. 22:296-302
- Faadhilah, A. 2019. Optimasi Microwave Assisted Extraction terhadap Senyawa Bioaktif Antioksidan dari Sarang Semut Papua (*Myrmecodia pendans*) dengan Variasi Konsentrasi Etanol, Suhu dan Lama Ekstraksi. Doctoral Dissertation. Universitas Brawijaya, Malang
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., dan Yunianta, Y. 2015. Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan: pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 262-272.
- Ibrahim, D. S., and Abd E., M., A. 2015. Effect of strawberry (*Fragaria ananassa*) leaf extract on diabetic nephropathy in rats. *International Journal of Experimental Pathology*. 96(2):87-93.
- Ince, A.E., Sahin, S., dan Servet, G.S. 2013. Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 37(1):69-75.
- Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., and Shukla, S. S. 2009. *Microwave assisted extraction* for phytoconstituents—an overview. *Asian Journal of Research in Chemistry*. 2(1): 19-25.
- Kristanti, Y., Widarta, I. W. R., dan Permana, I. D. G. M. 2019. Pengaruh waktu ekstraksi dan konsentrasi etanol menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rambut jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 8(1): 94-103.
- Luginda, R. A., Sari, B. L., dan Indriani, L. 2018. Pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol terhadap kadar flavonoid total daun beluntas (*Pluchea indica L.*) dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*. 1(1):1-9
- Mandal, V., Mohan, Y., and Hemalatha, S. 2007. *Microwave Assisted Extraction* an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*. 1(1): 7-18.
- Misnawi, Jinap., S., Jamilah., B., and Nazamid., S. 2004. Fermentation sensory properties of cocoa liquor as affected by polyphenol concentration and duration of roasting. *Journal of Plantation Based Industry*. 4(2):52-64
- Pratyaksa, I.P.L., Ganda-Putra, G.P., dan Suhendra, L. 2020. Karakteristik ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai sumber antioksidan pada perlakuan ukuran partikel dan waktu maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 8(1): 139-149
- Pudjaatmaka. A., dan Hadayana. 1984. *Kimia Untuk Universitas* Penerbit Erlangga, Jakarta
- Sa'diyah, N., Aminudin, M. F., Prihastuti, P., dan Kurniasari, L. 2019. Ekstraksi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) menggunakan *Microwave Assisted Extraction*. *Prosiding SNST Fakultas Teknik*. 1(1): 40-45.
- Sasmito, B. B., dan Pusparani, I. T. 2019. Aktivitas antioksidan ekstrak etanolat

- kulit batang avicennia dari variasi lama ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction*. In Prosiding Seminar Nasional Tahunan Hasil Perikanan dan Kelautan.16:356-361.
- Shi, J., Yeoh, S., dan Langrish, TAG. 2007. Comparison between different techniques for water-based extraction of pectin from oranges peel. *Desalination*. 218(1-3):229-237
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Švarc-Gajić, J., Stojanović, Z., Carretero, A. S., Román, D. A., Borrás, I., and Vasiljević, I. 2013. Development of a *Microwave Assisted Extraction* for the analysis of phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Food Engineering*.119(3):525-532.
- Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem, C., dan Manurung, E. 2016. Pengaruh ukuran partikel, waktu dan suhu pada ekstraksi fenol dari lengkuas merah. *Jurnal Teknik Kimia USU*.5(4): 53-56.
- Veera, G.G, Patil, P., Gueera, E.M., Dheng, S., dan Nirmalakhandan, N. 2013. Microwave energy potential for biodiesel production. *Sustainable Chemical Process*. 1(1):1-31
- Yulistiani, F., Azzahra, R. K., dan Nurhafshah, Y. A. 2020. Pengaruh daya dan waktu terhadap yield hasil ekstraksi minyak daun spearmint menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction*. *Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*. 4(1):1-6.
- Zhang, L., Shan, Y., Tang, K., Putheti, R. 2009. Ultrasound-assited extraction flavonoid of lotus (*Nelumbo nuficera Gaertn*) leaf and evaluation of its anti-fatigue activity. *International Journal of Phisical Science*. 4(8):418-422.