

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CACAO POD HUSK EXTRACT (*Theobroma cacao L.*)
AT TEMPERATURE AND STORAGE TIME TREATMENT**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao L.*)
PADA PERLAKUAN SUHU DAN LAMA PENYIMPANAN**

Putri Cininta Giskha, G. P. Ganda Putra^{*}, Nyoman Semadi Antara

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

Diterima 12 September 2022 / Disetujui 4 November 2022

ABSTRACT

*This research was conducted to determine the effect of temperature and time of storage on antioxidant activity of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao L.*) and to obtain the best combination of storage temperature and storage time that could maintain the antioxidant activity of the extract. The experimental design used in this research was a factorial randomized block design, which were grouped into 2 groups based on the time of experiment conducted and consisted of two factors. The first factor was the storage temperature which consisted of 3 level that namely room temperature (27 ± 2)°C, cold temperature (5 ± 2)°C and frozen temperature (-10 ± 2)°C. The second factor was the storage time which consisted of 4 level namely 1, 2, 3, and 4 weeks. The data were analyzed by analysis of variance and continued with Tukey test. The results showed that the temperature and time of storage had a very significant effect on total phenol, total flavonoid, and antioxidant capacity of cocoa pod husk extract. Interactions between treatments had a very significant effect on total phenol, total flavonoid, and antioxidant capacity of cocoa pod husk extract. From the index effectiveness test, the best treatment combination was the frozen storage (-10 ± 2)°C for a week with characteristic total phenol was 12.32 ± 0.08 mg GAE/g extract, total flavonoid was 4.07 ± 0.09 mg QE/g extract, antioxidant capacity was 6.50 ± 0.02 mg GAEAC/g extract.*

Keywords: *Temperature, storage time, antioxidant, extraction, cocoa pod husk*

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) serta mendapatkan kombinasi perlakuan suhu penyimpanan dan lama penyimpanan terbaik yang dapat mempertahankan aktivitas antioksidan ekstrak. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok faktorial dan terdiri dari dua faktor yang dikelompokkan menjadi 2 kelompok berdasarkan waktu pelaksanaan. Faktor pertama adalah suhu penyimpanan yang terdiri dari 3 taraf yaitu suhu ruang (27 ± 2)°C, suhu dingin (5 ± 2)°C, dan suhu beku (-10 ± 2)°C. Faktor kedua adalah lama penyimpanan yang terdiri dari 4 taraf yaitu 1, 2, 3, dan 4 minggu. Data dianalisis dengan analisis

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

varian dan dilanjutkan dengan uji BNJ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu dan lama penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap total fenol, total flavonoid dan kapasitas antioksidan. Interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap total fenol, total flavonoid dan kapasitas antioksidan. Dari uji indeks efektivitas diperoleh kombinasi perlakuan terbaik adalah penyimpanan pada suhu beku (-10 ± 2)°C dan lama penyimpanan satu minggu dengan karakteristik total fenol sebesar $12,32 \pm 0,08$ mg GAE/g ekstrak, total flavonoid sebesar $4,07 \pm 0,09$ mg QE/g ekstrak dan kapasitas antioksidan sebesar $6,50 \pm 0,02$ mg GAEAC/g ekstrak.

Kata kunci : Suhu penyimpanan, waktu penyimpanan, antioksidan, ekstraksi, kulit buah kakao

PENDAHULUAN

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah salah satu komoditi ekspor unggulan ketiga subsektor perkebunan setelah kelapa sawit dan karet di Indonesia. Menurut data *International Cocoa Organization*, permintaan kakao dunia selama tahun 2020-2021 meningkat hampir 3% (ICCO, 2022). Badan Pusat Statistik (BPS) melaporkan bahwa pada tahun 2020 produksi kakao menurut status perusahaan mencapai 716,6 ribu ton pada perkebunan besar rakyat, 3,08 ribu ton pada perkebunan swasta dan 0,98 ribu ton pada perkebunan besar negara. Bila ditotalkan produksi kakao di Indonesia pada tahun 2020 mencapai 720,66 ribu ton (BPS Statistik, 2021).

Menurut Campos-Vega *et al.* (2018), dari pengolahan biji kakao diperoleh hasil samping limbah kulit buah kakao mencapai 76% b/b atau dilihat dari data produksi buah kakao tahun 2020 yang mencapai 720,66 ribu ton, maka hasil samping berupa kulit kakao yaitu sebanyak 547,7 ribu ton/tahun. Pada umumnya kulit buah kakao diolah menjadi pupuk organik atau pakan ternak saja. Hal ini sangat disayangkan mengingat ketersediaan kulit buah kakao yang berlimpah, namun belum dimanfaatkan secara maksimal.

Kulit buah kakao sendiri mengandung beberapa senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Menurut Sartini *et al.* (2012), kulit buah kakao mengandung komponen kimia berupa lignin, polifenol dan teobromin. Polifenol adalah senyawa yang berperan dalam memberikan warna pada tumbuhan dan dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid oleh radikal bebas penyebab berbagai penyakit. Senyawa bioaktif seperti antioksidan pada kulit buah kakao dapat diperoleh melalui proses ekstraksi.

Senyawa bioaktif yang terkandung dalam kulit buah kakao sangat berpotensi sebagai sumber antioksidan, namun sampai saat ini belum ada penelitian mengenai penyimpanan ideal ekstrak kulit buah kakao yang dapat mempertahankan aktivitas antioksidannya. Senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan sangat sensitif terhadap suhu dan cahaya. Penelitian sebelumnya oleh Wulansari *et al.* (2020), menunjukkan bahwa total fenolik dan kapasitas antioksidan ekstrak daun asam yang disimpan pada suhu ruang (27 ± 2)°C, suhu dingin (5 ± 2)°C, dan suhu beku (-10 ± 2)°C selama 4 minggu mengalami trend penurunan secara signifikan dibandingkan dengan penyimpanan minggu pertama sampai minggu ketiga. Trend penurunan total fenol tertinggi terjadi pada suhu ruang dan trend penurunan kapasitas antioksidan tertinggi terjadi pada suhu beku. Penyimpanan dengan suhu dingin dapat mempertahankan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun asam selama penyimpanan empat minggu.

Berbeda pada penelitian Afgatiani *et al.* (2019), penyimpanan dengan suhu beku dapat mempertahankan aktivitas antioksidan pada ekstrak bubuk *Sargassum hystrix*. Perlakuan yang diberikan adalah ekstrak bubuk *Sargassum hystrix* disimpan pada suhu kamar (17-33 °C), *refrigerator* (4 °C), dan *freezer* (-18,2 °C) selama 8 minggu. Hasilnya dapat diketahui bahwa semakin lama waktu penyimpanan, total fenol menurun. Penurunan yang terjadi yaitu sebesar

170,27 mg GAE/g ekstrak dari sebelum disimpan hingga penyimpanan minggu kedelapan pada suhu kamar, sedangkan pada suhu pendinginan hanya sebesar 162,63 mg GAE/g ekstrak dan suhu pembekuan sebesar 151,66 mg GAE/g ekstrak. Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak bubuk *Sargassum hystrix* didapatkan bahwa terjadi peningkatan nilai IC_{50} pada semua perlakuan suhu seiring dengan semakin lama waktu penyimpanan. Peningkatan nilai IC_{50} ketiga suhu penyimpanan tidak berbeda nyata sampai penyimpanan minggu keenam, setelah ekstrak disimpan hingga minggu kedelapan terlihat bahwa peningkatan nilai IC_{50} berbeda nyata.

Dari paparan tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh antara suhu dan lama penyimpanan dengan aktivitas antioksidan. Oleh sebab itu, suhu dan waktu penyimpanan ekstrak kulit buah kakao perlu dikontrol dengan baik agar antioksidan dapat dipertahankan aktivitasnya. Penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.), sehingga akan diketahui kombinasi suhu dan lama penyimpanan untuk menyimpan ekstrak kulit buah kakao secara optimal.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao jenis forastero/lindak dengan kriteria kulit berwarna kuning dan buah yang sudah berumur 4,5-6 bulan, berasal dari PT. Cau Cokelat Internasional, Tabanan, Bali. Bahan kimia yang akan digunakan antara lain etanol teknis 96 persen, metanol pa 85 persen, folin-ciocalteu, Na_2CO_3 , $AlCl_3$ 10%, $NaNO_2$ 10%, NaOH 1%, aquades, asam galat, kristal DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) dan kuersetin.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ayakan 80 mesh, pamarut, pisau, kertas label, botol sampel, mesin giling, timbangan analitik, aluminium foil, kertas saring kasar, kertas saring Whatman No. 1, rotary vacuum evaporator (Janke & Kukul RV 06 – ML), oven (Blue M), sentrifugasi (Damon IEC Centrifuge), spektrofotometer UV-Vis (Thermo scientific), pipet volume, pipet tetes, pipet mikro, gelas beker, gelas ukur, labu ukur, corong kaca, erlenmeyer, tabung reaksi, vortex mixer, kulkas dan freezer.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan bubuk kulit kakao dalam penelitian ini mengacu pada prosedur yang dilakukan Pratyaksa *et al.* (2020) dengan sedikit modifikasi pada proses pengeringan. Kulit buah kakao dicuci bersih dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil menggunakan pisau kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu $55^{\circ}C$ sampai kadar air kulit buah kakao mencapai sekitar 7% dengan indikasi mudah untuk dipatahkan. Selanjutnya kulit buah kakao kering dihancurkan dengan menggunakan mesin giling sampai menjadi bubuk dan diayak. Pengayakan dilakukan dengan mengayak bubuk kulit buah kakao dengan ayakan 80 mesh.

Proses ekstraksi dalam penelitian ini mengacu pada prosedur yang dilakukan Pratyaksa *et al.* (2020). Bubuk kulit buah kakao ukuran partikel 80 mesh ditimbang sebanyak 30 g dan ditambahkan larutan etanol 96 % sebanyak 300 ml (perbandingan bahan dengan pelarut 1:10). Bubuk kulit buah kakao diekstrak menggunakan metode maserasi selama 48 jam dan dilakukan penggojogan setiap 6 jam selama 5 menit dengan cara manual. Proses maserasi dilakukan pada botol berwarna gelap dengan kondisi tertutup rapat pada suhu ruang. Hasil ekstraksi lalu disaring dengan menggunakan kertas saring kasar kemudian dilanjutkan dengan kertas saring Whatman No. 1, selanjutnya filtrat diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu $40^{\circ}C$, tekanan 100 mBar

dan kecepatan 100 rpm sampai tidak ada pelarut yang menetes sehingga diperoleh hasil berupa ekstrak kental.

Ekstrak kental kulit buah kakao ditimbang sebanyak 0,05 gram lalu dibagi sesuai dengan jumlah unit percobaan yang digunakan. Sampel dituang pada 24 botol sampel dan diberi label sesuai dengan perlakuan. Perlakuan suhu yang digunakan, yaitu suhu ruang (27 ± 2)°C, suhu dingin (5 ± 2)°C, dan suhu beku (-10 ± 2)°C. Setelah itu wadah yang berisi ekstrak disimpan di tempat gelap pada 3 kondisi suhu yang berbeda, yaitu perlakuan suhu ruang (27 ± 2)°C ekstrak akan disimpan di dalam ruangan yang dijaga suhunya agar tetap dalam batas normal, perlakuan suhu dingin (5 ± 2)°C ekstrak akan disimpan di dalam kulkas, dan perlakuan suhu beku (-10 ± 2)°C ekstrak akan disimpan di dalam freezer. Penyimpanan dilakukan selama 4 minggu dan setiap minggu dilakukan analisis terhadap sampel pada masing-masing suhu penyimpanan.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini untuk mempresentasikan aktivitas antioksidan adalah dengan total fenol (Sakanaka *et al.*, 2003), total flavonoid (Chia-Chi *et al.*, 2002) dan kapasitas antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) (Blois, 1958).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Fenol

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama penyimpanan dan suhu penyimpanan serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$) terhadap total fenol ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata total fenol (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata total fenol (mg GAE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan suhu dan lama penyimpanan

Suhu Penyimpanan (°C)	Lama Penyimpanan (Minggu)			
	L1 (1)	L2 (2)	L3 (3)	L4 (4)
S1 (27 ± 2)	$11,79 \pm 0,01^b$	$8,03 \pm 0,03^e$	$6,26 \pm 0,03^{gh}$	$4,59 \pm 0,01^j$
S2 (5 ± 2)	$11,87 \pm 0,04^b$	$8,38 \pm 0,07^d$	$6,54 \pm 0,06^g$	$5,97 \pm 0,06^i$
S3 (-10 ± 2)	$12,32 \pm 0,08^a$	$11,12 \pm 0,13^c$	$6,97 \pm 0,13^f$	$6,59 \pm 0,13^{hi}$

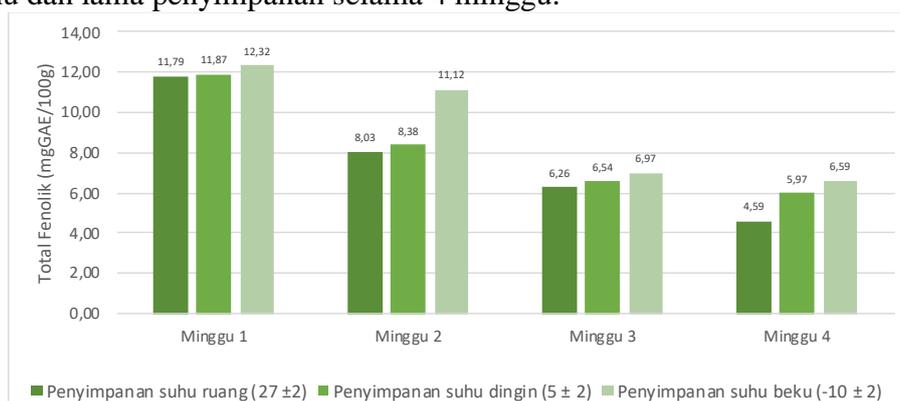
Keterangan: Huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji BNJ dengan taraf kesalahan 5% ($p \leq 0,05$)

Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil rata-rata total fenol ekstrak kulit buah kakao tertinggi diperoleh dari perlakuan penyimpanan pada suhu beku (-10 ± 2)°C dengan lama penyimpanan selama 1 minggu yaitu sebesar $12,32 \pm 0,08$ (mg GAE/g) berbeda nyata dengan semua perlakuan dan rata-rata total fenol terendah diperoleh dari perlakuan penyimpanan pada suhu ruang (27 ± 2)°C dengan lama penyimpanan selama 4 minggu yaitu sebesar $4,59 \pm 0,01$ (mg GAE/g) berbeda nyata dengan semua perlakuan.

Penurunan nilai ini disebabkan karena senyawa fenolik termasuk senyawa bioaktif yang mudah terdegradasi, salah satunya oleh suhu tinggi (termosensitif). Suhu tinggi saat proses penyimpanan dapat mempengaruhi stabilitas senyawa fenolik pada ekstrak, sehingga dapat menyebabkan perubahan struktur kimianya, pada gugus hidroksil (OH). Suhu ruang merupakan perlakuan suhu tertinggi daripada suhu penyimpanan lain (dingin dan beku), oleh karena itu penurunan nilai total

fenol terbesar terdapat pada perlakuan penyimpanan suhu ruang (27 ± 2)°C. Selain suhu penyimpanan, lama penyimpanan juga dapat mempengaruhi nilai total fenol. Proses degradasi fenol akan terus berlangsung selama ekstrak disimpan, sehingga menyebabkan penurunan nilai total fenol.

Persentase penurunan rata-rata total fenol ekstrak kulit buah kakao terkecil yaitu pada suhu beku (-10 ± 2)°C, setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 9,75%, 37,31% dan 5,41%. Pada suhu dingin (5 ± 2)°C, persentase penurunan rata-rata total fenol ekstrak kulit buah kakao setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 29,42%, 21,91% dan 8,80%. Persentase penurunan rata-rata total fenol ekstrak kulit buah kakao terbesar yaitu pada suhu ruang (27 ± 2)°C, setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 31,89%, 21,99% dan 26,77%. Gambar 1 menunjukkan total fenol ekstrak kulit buah kakao dengan kombinasi suhu dan lama penyimpanan selama 4 minggu.



Gambar 1. Grafik total fenol ekstrak kulit buah kakao selama penyimpanan

Penelitian yang dilakukan oleh Wulansari *et al.* (2020) menunjukkan bahwa pada penyimpanan ekstrak daun asam, penurunan nilai total fenol terbesar terjadi pada penyimpanan suhu ruang (27 ± 2)°C dan laju kerusakan terkecil terjadi pada penyimpanan suhu beku (-10 ± 2)°C, suhu beku merupakan suhu penyimpanan terbaik dalam mempertahankan senyawa fenolik sampai penyimpanan 4 minggu. Hal ini diperkuat dengan penelitian Afgatiani *et al.* (2020) bahwa penyimpanan bubuk *Sargassum hystrix* pada suhu beku memiliki nilai total fenol tertinggi dan nilai total fenol terus menurun selang penyimpanan 2 bulan.

Total Flavonoid

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama penyimpanan dan suhu penyimpanan serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$) terhadap total flavonoid ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata total flavonoid (mg QE/g) ekstrak kulit buah kakao yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 2.

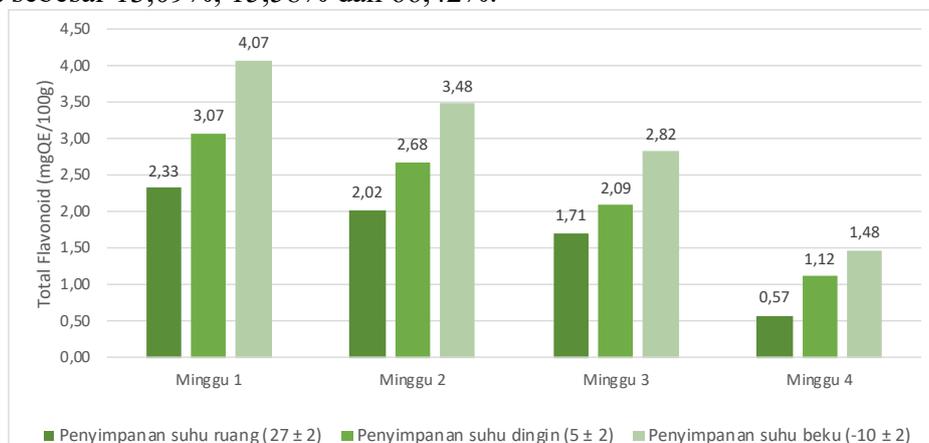
Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil rata-rata total flavonoid ekstrak kulit buah kakao tertinggi diperoleh dari perlakuan penyimpanan pada suhu beku (-10 ± 2)°C dengan lama penyimpanan selama 1 minggu yaitu sebesar $4,07 \pm 0,09$ (mg QE/g) berbeda nyata dengan semua perlakuan dan rata-rata total flavonoid terendah diperoleh dari perlakuan penyimpanan pada suhu ruang (27 ± 2)°C dengan lama penyimpanan selama 4 minggu yaitu sebesar $0,57 \pm 0,01$ (mg QE/g) berbeda nyata dengan semua perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, semakin lama waktu penyimpanan dan tinggi suhu penyimpanan, maka penurunan nilai rata-rata total flavonoid akan semakin cepat. Gambar 2 menunjukkan total flavonoid ekstrak kulit buah kakao dengan kombinasi suhu dan lama penyimpanan selama 4 minggu.

Tabel 2. Nilai rata-rata total flavonoid (mg QE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan suhu dan lama penyimpanan

Suhu Penyimpanan (°C)	Lama Penyimpanan (Minggu)			
	L1 (1)	L2 (2)	L3 (3)	L4 (4)
S1 (27 ± 2)	2,33 ± 0,03 ^c	2,02 ± 0,01 ^f	1,71 ± 0,01 ^g	0,57 ± 0,01 ⁱ
S2 (5 ± 2)	3,07 ± 0,07 ^c	2,68 ± 0,09 ^d	2,09 ± 0,07 ^{ef}	1,12 ± 0,04 ^h
S3 (-10 ± 2)	4,07 ± 0,09 ^a	3,48 ± 0,12 ^b	2,82 ± 0,10 ^{cd}	1,48 ± 0,07 ^g

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

Persentase penurunan rata-rata total flavonoid ekstrak kulit buah kakao terkecil yaitu pada suhu beku (-10 ± 2)°C, setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 14,45%, 19% dan 47,65%. Pada suhu dingin (5 ± 2)°C, persentase penurunan rata-rata total flavonoid ekstrak kulit buah kakao setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 12,65%, 22,30% dan 46,32%. Persentase penurunan rata-rata total flavonoid ekstrak kulit buah kakao terbesar yaitu pada suhu ruang (27 ± 2)°C, setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 13,09%, 15,58% dan 66,42%.



Gambar 2. Grafik total flavonoid ekstrak kulit buah kakao selama penyimpanan

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga pada suhu penyimpanan yang terlalu tinggi akan mudah mengalami oksidasi (Koirewoa *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki lebih dari 1 gugus hidroksil (OH). Cao *et al.* (1997) menyatakan bahwa sifat antioksidan dan prooksidan bergantung pada gugus OH pada rangka dasar. Semakin banyak gugus OH, semakin besar sifat antioksidan dan prooksidannya. Proses oksidasi flavonoid akan merusak kestabilan gugus OH dan dapat menurunkan nilai total flavonoid. Suhu rendah dapat mempertahankan kandungan flavonoid pada ekstrak kulit buah kakao, karena proses kerusakan flavonoid berjalan dengan lambat. Wati *et al.* (2018) melaporkan bahwa kandungan antosianin yang termasuk dalam golongan senyawa flavonoid pada sari buah naga merah lebih stabil disimpan pada suhu dingin (14°C) dibandingkan pada suhu ruang (30°C).

Lama penyimpanan juga berpengaruh terhadap total flavonoid, karena semakin singkat lama penyimpanan, proses oksidasi senyawa flavonoid akan semakin singkat pula. Hal ini dibuktikan pada penelitian Khotimah *et al.* (2018) melaporkan bahwa pada penyimpanan ekstrak daun miana hari pertama pada suhu 8-15°C setelah penyimpanan hari ke-3, 7 dan 14 kadar flavonoid total mulai

mengalami penurunan yaitu pada hari ke-3, ke-7 dan ke-14 berturut-turut sebesar 10,62%, 10,18% dan 10,01%

Kapasitas Antioksidan

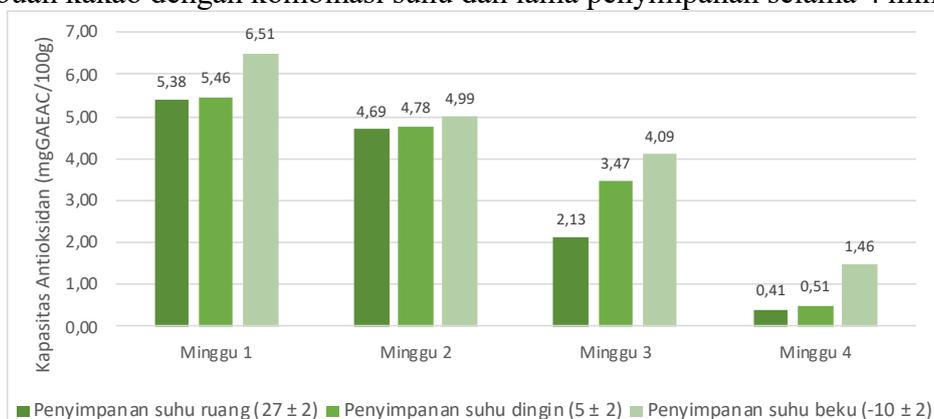
Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama penyimpanan dan suhu penyimpanan serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($p \leq 0,01$) terhadap kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak kulit buah kakao yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg QE/g) ekstrak kulit buah kakao pada perlakuan suhu dan lama penyimpanan

Suhu Penyimpanan (°C)	Lama Penyimpanan (Minggu)			
	L1 (1)	L2 (2)	L3 (3)	L4 (4)
S1 (27 ± 2)	5,38 ± 0,01 ^b	4,69 ± 0,02 ^d	2,13 ± 0,01 ^g	0,41 ± 0,02 ⁱ
S2 (5 ± 2)	5,46 ± 0,02 ^b	4,78 ± 0,02 ^d	3,47 ± 0,02 ^f	0,51 ± 0,02 ⁱ
S3 (-10 ± 2)	6,50 ± 0,02 ^a	4,99 ± 0,03 ^c	4,11 ± 0,03 ^e	1,46 ± 0,05 ^h

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

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao tertinggi diperoleh dari perlakuan penyimpanan pada suhu beku (-10 ± 2)°C dengan lama penyimpanan selama 1 minggu yaitu sebesar 6,50 ± 0,02 (mg GAEAC/g) berbeda nyata dengan semua perlakuan dan kapasitas antioksidan terendah diperoleh dari perlakuan penyimpanan pada suhu ruang (27 ± 2)°C dengan lama penyimpanan selama 4 minggu yaitu sebesar 0,41 ± 0,02 (mg GAEAC/g) berbeda nyata dengan semua perlakuan. Kapasitas antioksidan yang dihasilkan dipengaruhi oleh senyawa fenol dan flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak kulit buah kakao. Senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga berpotensi sebagai antioksidan. Semakin tinggi total fenol dan flavonoid maka semakin tinggi juga kapasitas antioksidannya. Gambar 3 menunjukkan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao dengan kombinasi suhu dan lama penyimpanan selama 4 minggu.



Gambar 3. Grafik kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao selama penyimpanan

Pada penelitian ini hasil total fenol, flavonoid dan kapasitas antioksidan sama-sama dihasilkan dari kombinasi perlakuan suhu penyimpanan beku (-10 ± 2)°C dan lama simpan 1 minggu dengan nilai total fenol sebesar 12,32 ± 0,08 (mg GAE/g), nilai total flavonoid sebesar 4,07 ± 0,09 (mg QE/g) dan kapasitas antioksidan sebesar 6,50 ± 0,02 (mg GAEAC/g). Nilai total fenol pada

penelitian ini lebih tinggi daripada kapasitas antioksidan, hal ini karena tidak semua senyawa fenol yang diekstrak merupakan senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa fenol yang terdapat dalam ekstrak kulit buah kakao tidak dilakukan identifikasi sehingga tidak dapat diketahui senyawa fenol apa saja yang terdapat pada ekstrak tersebut. Menurut Maulida (2017), lignin termasuk senyawa golongan fenol yang berfungsi sebagai pembentuk dinding sel tanaman, namun fungsinya sebagai antioksidan masih belum diketahui.

Persentase penurunan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao terkecil yaitu pada suhu beku (-10 ± 2)°C, setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 23,44%, 17,93% dan 64,22%. Pada suhu dingin (5 ± 2)°C, persentase penurunan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 12,56%, 27,28% dan 85,27%. Persentase penurunan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao terbesar yaitu pada suhu ruang (27 ± 2)°C, setelah penyimpanan minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 berturut-turut sebesar 12,94%, 54,58% dan 80,71%. Semakin lama waktu penyimpanan dan tinggi suhu penyimpanan, maka penurunan kapasitas antioksidan akan semakin cepat. Penelitian Madrau *et al.* (2009) menjelaskan bahwa suhu yang tinggi akan merusak ikatan pada senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan (*chain-breaking activity*) sehingga kapasitas antioksidan menjadi menurun akibat ketidakstabilan dalam senyawa.

Uji Indeks Efektivitas

Uji indeks efektivitas dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dalam menyimpan ekstrak kulit buah kakao. Variabel yang diamati pada pengujian ini adalah total fenol, total flavonoid dan kapasitas antioksidan. Hasil dari uji indeks efektivitas yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 4. Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan terbaik dihasilkan pada penyimpanan minggu pertama dan penyimpanan suhu beku (-10 ± 2)°C dengan nilai sebesar 1,00 sehingga merupakan alternatif penyimpanan terbaik dalam mempertahankan kandungan antioksidan ekstrak kulit buah kakao.

Tabel 4. Hasil uji indeks efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik pada suhu dan lama penyimpanan dari ekstrak kulit buah kakao

Perlakuan	Variabel			Jumlah
	Fenol	Flavonoid	Kapasitas Antioksidan	
	BV	0,87	0,67	1
	BN	0,34	0,26	0,39
L1S1	Ne	0,93	0,50	0,82
	Nh	0,32	0,13	0,32
L1S2	Ne	0,94	0,71	0,83
	Nh	0,32	0,19	0,33
L1S3	Ne	1,00	1,00	1,00
	Nh	0,34	0,26	0,39
L2S1	Ne	0,45	0,41	0,70
	Nh	0,15	0,11	0,28
L2S2	Ne	0,49	0,60	0,72
	Nh	0,17	0,16	0,28
L2S3	Ne	0,84	0,83	0,75
	Nh	0,29	0,22	0,30
L3S1	Ne	0,22	0,32	0,28
	Nh	0,07	0,09	0,11
L3S2	Ne	0,25	0,43	0,50
	Nh	0,09	0,11	0,20
L3S3	Ne	0,31	0,64	0,60
	Nh	0,11	0,17	0,24
L4S1	Ne	0,00	0,00	0,00
	Nh	0,00	0,00	0,00
L4S2	Ne	0,18	0,16	0,02
	Nh	0,06	0,04	0,01
L4S3	Ne	0,26	0,26	0,17
	Nh	0,09	0,07	0,07

KESIMPULAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Suhu dan lama penyimpanan serta interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap total fenol, total flavonoid dan kapasitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao.
2. Kombinasi perlakuan terbaik untuk mempertahankan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao selama disimpan adalah menggunakan penyimpanan suhu beku (-10 ± 2)°C dan lama penyimpanan selama 1 minggu, dengan kandungan total fenol sebesar $12,32 \pm 0,08$ (mg GAE/g), total flavonoid sebesar $4,07 \pm 0,09$ (mg QE/g) dan kapasitas antioksidan sebesar $6,50 \pm 0,02$ (mg GAEAC/g).

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, bagi industri yang mengolah ekstrak kulit buah kakao hingga menjadi sebuah produk, disarankan melakukan penyimpanan pada suhu beku (-10 ± 2)°C dan lama penyimpanan selama 1 minggu.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti enkapsulasi pada ekstrak yang mengandung banyak senyawa bioaktif yang mudah terdegradasi, agar dapat menjaga stabilitas senyawa tersebut selama proses penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afgatiani, P. M., Husni, A., dan Budhiyanti, S. A. 2020. Aktivitas antioksidan bubuk *sargassum hystrix* selama penyimpanan pada suhu berbeda. *Journal Agricultural Technology*, 40(3), 175-181.
- Badan Pusat Statistik. 2021. Statistik Kakao Indonesia 2020. Badan Pusat Statistik Indonesia.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
- Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., and Oomah, B. D. 2018. Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 81(1), 172-184.
- Cao, G., Sofic, E., and Prior, R. L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 749-760.
- Chia-Chi, C., Ming-Hua, Y., Hwei-Mei, W., and Jiing-Chuan, C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Analysis*, 10(3), 178-182.
- Chusniasih, D., dan Tutik, T. 2020. Aktivitas antikanker ekstrak aseton kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap sel vero dan MCF-7 secara in vitro. *Jurnal Analis Kesehatan*, 9(2), 35-40
- De Garmo, E. P., Sullivan, W. G., and Canada, C. R. 1984. Engineering Economy. Macmillan Publisher.
- ICCO. 2022. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. The International Cocoa Organization.
- Khotimah, H., Agustina, R., dan Ardana, M. 2018. Pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth). *Mulawarman Pharmaceutical Conference*, 8(1), 1-7.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan Wiyono, W. I. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 1(1), 47-52.
- Maulida, R. 2007. Aktivitas antioksidan rumput laut *caulerpa lentillifera*. Skripsi S-1. Tidak Dipublikasikan. IPB University Scientific Repository, Bogor.
- Madrau, M. A., Piscopo, A., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Poiana, M., Romeo, F. V., and Piga, A. 2009. Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. *Europe Food Reseach Technology*, 228(3), 441–448.
- 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.
- Sakanaka, S., Tachibana, Y., and Okada, Y. 2003. Preparation and antioxidant properties of extracts of japanese persimmon leaf tea (kakinocha-cha). *Food Chemistry*, 89(4), 569-575.
- Sartini, M., Djide, N., dan Duma, N. 2012. Pemanfaatan limbah kulit buah kakao sebagai sumber bahan aktif untuk sediaan farmasi. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 7(2), 69-73.
- Wati, E. W., Mita, N., dan Ardana, M. 2018. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap stabilitas warna sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton and Rose). *Mulawarman Pharmaceutical Conference*, 8(1), 1-7.
- Wulansari, I. D., Admadi, B., dan Mulyani, S. 2020. Pengaruh suhu penyimpanan terhadap kerusakan antioksidan ekstrak daun asam (*Tamarindus indica* L.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(4), 544-550.