PENGARUH LAMA EKSTRAKSI DAN KONSENTRASI PELARUT ETANOL TERHADAP EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

Effect of Long Extraction and Concentration and Concentration of Ethanol Solvent Extraction Antioxidant Cocoa Beans (Theobroma cacao L.)

Fitrah Diantika*, Sandra Malin Sutan, Rini Yulianingsih

Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Brawijaya Malang, Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email FDiantika@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan adalah suatu zat yang dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi dan mampu menangkal dampak negatif oksidan dalam tubuh yang sangat bermanfaat untuk kesehatan. Antioksidan dapat ditemukan di sayur-sayuran, buah-buahan, teh dan coklat. Zat antioksidan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Tujuan dari penelitian ini untuk mengkaji pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap hasil rendemen ekstraksi, aktivitas antioksidan dan menghitung kesetimbangan massa proses. Bahan yang digunakan adalah biji kakao (*Theobroma Cacao* L.). Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu lama proses ekstraksi secara maserasi yaitu (8, 12, 16, 20, dan 24 jam) serta konsentrasi pelarut etanol sebesar 70 dan 80%. Hasil penelitian adalah perlakuan terbaik diperoleh dari lama ekstraksi 20 jam dan konsentrasi pelarut etanol 80% untuk aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar 82 ppm dan rendemen 8.63%.

Kata Kunci: Antioksidan, ekstraksi, etanol, kakao, lama ekstraksi

ABSTRACT

Antioxidant is a substance that can inhibit or slow down the oxidation process and is able to counteract the negative effects of oxidants in the body that are beneficial to health. Antioxidants can be found in vegetables, fruits, tea and chocolate. Antioxidants can be obtained by extraction. The purpose of this study was to assess the effect of long extraction and ethanol concentration on the extraction yield results, antioxidant activity and calculate the mass balance process. The materials used are cocoa (*Theobroma cacao* L.). Research compiled using Randomized Block Design (RBD) with two factors: the long process of extraction by maceration namely (8, 12, 16, 20, and 24 hours) and ethanol concentration of 70 and 80%. The results showed that the best treatment was obtained from the 20-hour long extraction and ethanol concentration of 80% for the antioxidant activity IC_{50} of 82 ppm and a yield of 8.63%.

Keywords: Antioxidants, extraction, ethanol, cocoa, extraction duration

PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan

sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2011). Biji kakao segar mengandung polifenol 12-18% berat kering dan sekitar 35% dari total polifenol adalah berupa senyawa flavonoid katekin tergantung varietas, budaya dan daerah asal tanam (Kim and Keeney, 1983) kandungan senyawa antioksidan katekin dari cokelat gelap atau *dark chocolate* (535 mg/g) adalah 4 kalinya daripada

kandungan teh yang hanya mencapai 139 mg/g (Osakabe *et al.*, 2002). Ekstrak kakao diperkaya dengan senyawa proksianidin, dapat menyebabkan hingga mencapai 70% dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker dengan cara memblokir aliran sel pada fase pertumbuhan kedua atau G2 (Kelishadi, 2005). Metode ekstraksi yang sering dilakukan adalah ekstraksi menggunakan pelarut. Proses ekstraksinya adalah setelah bahan yang akan diekstraksi kontak dengan pelarut, pelarut akan menembus kapiler-kapiler dalam bahan padat dan melarutkan ekstrak (Putri dan Febrianto, 2006). Dalam metode ekstraksi bahan alam, dikenal suatu metode maserasi. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut (Lathifa, 2008). Sehingga penggunaan ekstraksi menggunakan pelarut cocok untuk mengekstrak antioksidan kakao.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Oven, Blender, Timbangan Analitik, Ayakan 40 Mesh, Erlenmeyer, Cawan Aluminium, Compression machine, Rotary Vacuum Evaporator dan Kain saring halus. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kakao (*Theobroma Cacao L*) varietas *farastero* yang didapat dari PTPN XII Afdeling Penataran – Blitar, Jawa Timur, Petroleum Eter, Etanol 70% dan 80% dan Akuades.

Metodologi

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Struktur dan Bahan Konstruksi, Jurusan Teknik Sipil, Fakultas Teknik dan untuk uji analisa kadar aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan

Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada bulan Oktober 2014 – Januari 2015.

Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu lama ekstraksi (8, 12, 16, 20, dan 24 jam) dan konsentrasi pelarut etanol 70 dan 80%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 30 satuan percobaan. Data dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 1%.

Pelaksanaan Penelitian

Buah kakao yang diperoleh dari PTPN XII Afdeling Penataran – Blitar dipisah antara kulit dan biji kakao basah, kemudian biji kakao basah dicuci dengan air sampai bersih untuk proses selanjutnya.

Biji kakao basah dikeringkan dengan dioven selama 2 hari pada suhu 60 °C untuk pengurangan kadar air biji kakao. Selanjutnya setelah biji kakao kering, dipisahkan antara kulit biji dan nib (biji kakao), kakao dioven 15 menit pada suhu 60 °C kemudian dipres dengan menggunakan *compression machine* sampai tekanan 208 kN untuk menghilangkan lemaknya, sehingga didapat kakao rendah lemak. Kakao rendah lemak dihaluskan dengan menggunakan blender untuk mendapatkan bubuk kakao, yang mana setiap kali perlakuan dengan massa kakao sebesar 50 g, dengan waktu 3 menit.

Sampel bubuk kakao rendah lemak diekstraksi untuk dipisahkan lemaknya (*deffating*) yaitu direndam dengan pelarut petroleum eter pada suhu 50 °C selama 2 jam, setelah itu bubuk kakao difiltrat menggunakan kain saring halus dan di oven selama 2 jam dengan suhu 60 °C sehingga didapat bubuk kakao bebas lemak yang akan dijadikan sebagai bahan baku untuk ekstraksi.

Setelah proses pembuatan bubuk kakao bebas lemak, dilakukan perlakuan ekstraksi secara maserasi sesuai dengan rancangan percobaan dengan rasio perbandingan bahan dan pelarut 1:3. Kemudian bahan disaring dengan kain saring dan filter agar larutan ekstrak terpisah dari rafinat (endapan) bahan, lalu untuk pemisahan larutan dari pelarut

sehingga dihasilkan ekstrak antioksidan yang diinginkan atau proses evaporasi digunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 70 °C dengan kecepatan ± 50 rpm $\pm$ 45 menit. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 60 °C selama 24 jam sehingga dihasilkan ekstrak antioksidan, antioksidan ini kemudian dianalisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

Data analisis karakteristik bahan baku biji kakao dan bubuk kakao ditunjukkan dalam Tabel 1. Dapat diamati dari data Tabel 1 bahwa kadar air biji kakao pada penelitian ini sangat tinggi, penurunan kadar air dari bahan awal sampai pada bubuk kakao sebesar 27% dilakukan dengan beberapa tahap antara lain pengovenan, pengepresan dan proses perendaman dengan pelarut petroleum eter. Nilai aktivitas antioksidan IC_{50} pada bubuk termasuk tingkatan kekuatan antioksidan “lemah”, hal ini diduga karena masih belum mendapatkan perlakuan maserasi oleh pelarut etanol sehingga nilai aktivitas antioksidan masih lemah.

Kadar Air Ekstrak Biji Kakao

Hasil analisis rerata kadar air ekstrak biji kakao dengan metode maserasi akibat perlakuan lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol dapat dilihat pada Gambar 1. Perlakuan dan faktor dari konsentrasi pelarut etanol memberikan interaksi pengaruh nyata dan sangat nyata berdasarkan analisis ragam (ANNOVA) dan diuji lanjut dengan uji BNT dengan taraf 1%, terhadap nilai kadar air ekstrak biji kakao.

Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar air dengan pelarut etanol 70% lebih besar dibandingkan pelarut etanol 80%. Hal ini diduga karena kekuatan etanol 70% untuk menembus kapiler-kapiler bubuk kakao lebih rendah dari pada etanol 80%. Sehingga hasil ekstrak masih mengandung air dan komponen-komponen lainnya lebih besar dari pada etanol 80% karena pada proses pengeringan sisa kandungan etanol 80% pada bahan akan mudah menguap dibandingkan dengan etanol 70%. Air berfungsi sebagai bahan yang dapat mendispersikan senyawa yang ada dalam bahan. Kadar air dapat mempengaruhi sifat-sifat fisik (kekerasan dan kekeringan) dan sifat-sifat fisio-kimia, perubahan-

Tabel 1 Data Karakteristik Biji dan Bubuk Kakao

Sampel	Parameter	Hasil Analisis
Biji Kakao	Kadar Air (%)	68.29
Bubuk Kakao	Kadar Air (%)	27
	Rendemen (%)	20.22
	Aktivitas Antioksidan IC_{50} (ppm)	310.30

Gambar 1. Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Kadar Air Ekstrak Biji Kakao

perubahan kimia (pencoklatan enzimatis, kerusakan mikrobiologis, dan perubahan enzimatis) (Winarno, 2002). Pada faktor lama ekstraksi terlihat untuk etanol 70% mengalami kenaikan pada lama ekstraksi 12 jam dan mengalami penurunan pada lama ekstraksi 16 jam namun mengalami kenaikan lagi pada lama ekstraksi 24 jam. Sedangkan untuk 80% mengalami kenaikan pada lama ekstraksi 12 jam dan mengalami penurunan pada lama ekstraksi 20 jam. Hal ini diduga volume filtrat yang didapatkan pada saat proses maserasi dan filtrat pekat dari proses *rotary vacuum evaporator* berbeda-beda tiap perlakuan namun pada proses pengeringan waktu yang digunakan sama sehingga juga berpengaruh terhadap tingkat kekeringan masing-masing perlakuan.

Rendemen (Ekstrak Antioksidan Kasar)

Hasil analisis rerata rendemen ekstrak biji kakao dengan metode maserasi akibat perlakuan lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol dapat dilihat pada Gambar 2. Perlakuan lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol memberikan pengaruh tidak nyata, berdasarkan analisis ragam (ANNOVA) dan diuji lanjut dengan uji BNT dengan taraf 1%, terhadap rendemen ekstrak biji kakao.

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa rendemen yang dihasilkan terjadi sedikit fluktuasi pada jam ke 12 tetapi sampai jam ke 24 terjadi kecenderungan naik. Semakin lama waktu ekstraksi, kuantitas bahan yang terekstrak juga akan semakin meningkat dikarenakan kesempatan untuk bersentuhan anatara bahan dengan pelarut makin besar sehingga hasilnya akan bertambah sampai titik jenuh larutan (Mandal, 2007). Pada

gambar diatas terlihat pada konsentrasi pelarut etanol 70% mengalami peningkatan pada lama ekstraksi 12 jam, namun mengalami penurunan pada lama ekstraksi 16 jam dan mengalami peningkatan lagi pada lama ekstraksi 24 jam. Sedangkan pada konsentrasi etanol 80% mengalami penurunan pada pada lama ekstraksi 12 jam, namun mengalami peningkatan pada lama ekstraksi 16 jam. Hal ini kurang sesuai dengan literatur yang menjelaskan semakin lama ekstraksi maka hasil yang terekstrak juga semakin meningkat. Hal ini diduga pelarut petroleum eter yang masih tersisa dalam bubuk kakao, meskipun proses pengeringannya dalam waktu yang sama yaitu selama 2 jam dengan suhu 60 °C, namun perlakuan tersebut tidak berpengaruh secara signifikan, diduga kadar air belum mencapai titik optimal dimana petroleum eter sudah menguap semua dari bahan karena belum ditemukan pustaka yang menyebutkan kadar air terbaik untuk proses pengeringan bubuk kakao bebas lemak. Sehingga mempengaruhi kandungan bahan yang akan digunakan dalam proses maserasi. Selain itu, alat pengepres kakao yaitu compression kurang maksimal dalam mengekstrak minyak kakao sehingga ekstrak lemak yang dihasilkan juga kurang maksimal.

Aktivitas Antioksidan

Hasil analisis rerata aktivitas antioksidan IC_{50} ekstrak biji kakao dengan metode maserasi akibat perlakuan lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol dapat dilihat pada Gambar 3. Perlakuan lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol memberikan pengaruh tidak nyata

Gambar 2. Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Biji Kakao

Gambar 3. Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kakao

berdasarkan analisis ragam (ANNOVA) dan diuji lanjut dengan uji BNT dengan taraf 1%, terhadap aktivitas antioksidan IC_{50} .

Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan dengan konsentrasi pelarut etanol 80% tingkat kekuatan antioksidannya sebagian besar "aktif" untuk setiap lama ekstraksi. Hal ini diduga semakin besar konsentrasi pelarut etanol maka nilai aktivitas antioksidannya juga besar, karena senyawa antioksidan dari biji kakao bersifat polar sehingga semakin besar konsentrasi pelarut etanol berpengaruh semakin besar pula kepolaran pelarut tersebut yang akan memudahkan kontak antara pelarut dengan bahan ekstrak. Pada faktor lama ekstraksi terlihat bahwa untuk pelarut etanol 70% yang paling optimal hasilnya pada lama ekstraksi 20 jam dan minimum pada lama ekstraksi 16 jam, yang mana pada etanol 70% ini mengalami penurunan pada lama ekstraksi 12 jam, dan mengalami peningkatan pada lama ekstraksi 20 jam namun pada lama ekstraksi 24 jam mengalami penurunan lagi. Sedangkan untuk etanol 80% yang paling optimal hasilnya pada lama ekstraksi 20 jam dan minimum pada lama ekstraksi 8 jam, yang mana pada etanol 80% ini mengalami peningkatan pada lama ekstraksi 12 jam namun mengalami penurunan pada lama ekstraksi 24 jam. Hal ini diduga karena selama masa penyimpanan sebelum proses rotary vacuum evaporator terdapat beberapa faktor yang membuat nilai dari aktivitas antioksidan mengalami penurunan, sesuai literatur yang menyebutkan bahwa faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan yaitu salah satunya faktor fisik yaitu tekanan oksigen yang tinggi, luas kontak dengan oksigen, pemanasan ataupun iradiasi

menyebabkan peningkatan terjadinya rantai inisiasi dan propagasi dari reaksi oksidasi akan menurunkan aktivitas antioksidan yang ditambahkan dalam bahan (Medikasari, 2000). Faktor yang mempengaruhi stabilitas aktivitas antioksidan adalah pH, suhu, sinar dan oksigen, serta faktor lainnya seperti ion logam (Abbas, 2003).

Selain itu diduga pada ekstrak biji kakao ini masih dalam ekstrak yang tidak murni. Senyawa flavonoid dalam bentuk ekstrak yang tidak murni kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan (Ery, 2013). Selain itu pada ekstrak biji kakao ini diduga pula masih terdapat senyawa pengganggu lainnya yang menghalangi proses penangkapan radikal bebas. Adanya senyawa protein dan lemak pada ekstrak dapat mengganggu proses penangkapan radikal bebas oleh senyawa fenolik atau flavonoid (Elsha, 2012). Bubuk kakao per 100 g memiliki komposisi kimia yaitu protein sebesar 19.59 g dan lemak sebesar 13.50 g (Wahyudi dan Pangabea, 2008). Pada sampel kontrol terlihat nilai aktivitas antioksidannya sangat rendah karena belum ada perlakuan ekstraksi maserasi dan juga diduga kandungan lemak masih tersisa pada proses perendaman dengan petroleum eter.

SIMPULAN

Rendemen terbaik diperoleh akibat perlakuan lama ekstraksi 12 jam dengan etanol 70% sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh akibat perlakuan lama ekstraksi 20 jam dengan etanol 80%. Keseimbangan massa pembuatan

bubuk kakao bebas lemak dipengaruhi oleh kehilangan uap air akibat proses pengovenan, serta kehilangan massa pada proses pemisahan kulit, pengepresan, pembレンダーan, pengayakan, dan perendaman. Rendemen yang didapatkan dari bubuk kakao bebas lemak sebesar 20,22% bk. Sedangkan kesetimbangan massa selama proses ekstraksi antioksidan biji kakao dengan konsentrasi etanol 70% dan 80% dipengaruhi oleh kehilangan uap saat proses maserasi dan pengovenan, serta kehilangan massa pada proses penyaringan dan rotary vacuum evaporator. Rendemen ekstrak antioksidan biji kakao dengan konsentrasi 70% sebesar 8,6% bk. Sedangkan rendemen ekstrak antioksidan biji kakao dengan konsentrasi 80% sebesar 7,1% bk.

DAFTAR PUSTAKA

- Winarsi H. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kasinius.
- Kim H and Keeney PG. 1983. Method of Analysis for (-)-Epicatechin in Cacao Beans by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Science* 48(2): 548-551.
- Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Takizawa T, Terao J, and Kondo K. 2002. Catechins and their oligomers linked by C4→C8 bonds are major cacao polyphenols and protect low density lipoprotein from oxidation in vitro. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2002 Jan;227(1): 51-56.
- Kelishadi RMD. 2005. Cacao to Cocoa to Chocolate: Healthy Food? *ARYA Journal* 1(1): 28-34.
- Putri WDR dan Febrianto K. 2006. *Rempah – rempah (Fungsi dan Pemanfaatannya)*. Penerbit Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Guenther E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I (Diterjemahkan Oleh Ketaren S.)*. Universitas Negeri Jakarta. Jakarta.
- Lathifa QA. 2008. *Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing (Averrhoa Bilimbi L.) Dengan Variasi Pelarut*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malik Ibrahim. Malang.
- Winarno FG. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Mandal V. 2007. *Microwave Assisted Extraction – An Innovation and Promising Extraction Tool For Medical Plant Research. Pharmacognosy Reviews*. Vol. 1, Issue 1.
- Medikasari. 2000. *Bahan Tambahan Makanan: Fungsi dan Penggunaannya Dalam Makanan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Abbas A. 2003. *Identifikasi Dan Pengujian Stabilitas Pigmen Antosianin Bunga Kana (Cana Coccinea Mill) Serta Aplikasinya Pada Produk Pangan*. Undergraduated Theses. JIPTUMM. Malang.
- Ery A. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (Cayratia trifolia) dengan DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Elsha U. 2012. *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (Peperomia pelucida L. Kunth)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Wahyudi T dan Pangabea TR. 2008. *Kakao Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Swadaya. Jakarta.