

Inovasi Nilai Produk Dalam Meraih Keunggulan Kompetitif Produk Pangan Fungsional

by Yusep Ikrawan -

Submission date: 24-Mar-2023 06:41PM (UTC+0700)

Submission ID: 2045338345

File name: Hibah_Bersaing_Inovasi_Nilai_Produk_dalam_meraih_keunggulan.pdf (1.35M)

Word count: 10895

Character count: 65233

LAPORAN AKHIR

PENELITIAN
HIBAH BERSAING
Tahun ke 2



INOVASI NILAI PRODUK DALAM MERAHAI KEUNGGULAN
KOMPETITIF PRODUK PANGAN FUNGSIONAL
(Peningkatan Sifat Fungsional *Dark Chocolate* dengan Penambahan
***Green Tea* dan *Soy Powder*)**

TIM PENGUSUL

Dr. Ir. Yusep Ikrawan, M.Eng
19641091993831002

Dr. Ir. Hj. Hasnelly, M.Sc.
195712121986012001

UNIVERSITAS PASUNDAN

2016

Dibiayai oleh
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Hibah Penelitian
Nomor: 105/SP2H/PPM/DRPM/II/2016, tanggal 17 Februari 2016

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN HIBAH BERSAING**

Judul Penelitian : **Inovasi nilai produk dalam meraih keunggulan kompetitif produk pangan fungsional**
(Peningkatan Sifat Fungsional Dark Chocolate dengan penambahan *Green Tea* dan *Soy Powder*)

Kode/Nama Rumpun Ilmu : **165/Teknologi Pangan dan Gizi**

Ketua Peneliti

A. Nama Lengkap : **Yusep Ikrawan, Ir., M.Eng., PhD**
B. NIDN : **0029106401**
C. Jabatan Fungsional : **Lektor**
D. Program Studi : **Teknologi Pangan**
E. Nomor HP : **08179253965**
F. Surel (e-mail) : **yusepikrawan@unpas.ac.id**

Anggota Peneliti

A. Nama Lengkap : **Dr. Hasnelly**
B. NIDN : **0012125702**
C. Perguruan Tinggi : **Universitas Pasundan**

Lama Penelitian : **3 (tiga) Tahun**
Keseluruhan Penelitian Tahun ke- : **2**
Biaya Penelitian Tahun ke-2 : **Rp. 50.000.000**
(SP DIPA-042.06.1.401516/2016)

Mengetahui,
Dekan Fakultas Teknik



(Dr. H. Yudi Garnida)
NIK. 151.102.29

Bandung, 31 Oktober 2016
Ketua Peneliti,

(Yusep Ikrawan, Ir., M.Eng., PhD)
NIP. 196410291993031002

INTISARI

Tujuan dari penelitian ini untuk mengidentifikasi sifat fungsional (senyawa aktif *alkaloid*, *catechin* dan *genistein*) pada produk *dark chocolate* yang ditambahkan *green tea matcha* serta perbandingan *soy powder* dan *milk powder*.

Metode penelitian yang dilakukan merupakan kelanjutan dari penelitian tahun pertama dari penambahan *green tea* dan *soy powder* yang ditambahkan pada produk *dark chocolate*. Sampel dilakukan analisis kadar total *alkaloid* dan kadar total *flavonoid* menggunakan spektrofotometri UV-Vis serta analisis kadar *catechin* dan kadar *genistein* menggunakan *HPLC (High performance Liquid Chromatography)*. Rancangan analisis yang dilakukan adalah RAK (Rancangan acak Kelompok) dengan faktor penambahan *soy powder* dan konsentrasi *green tea*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar total *alkaloid* (4,73 %), Kadar total *flavonoid* (1,21 %) dan hasil identifikasi senyawa aktif menggunakan HPLC didapat kadar *catechin* 0,81 % dan kadar *genistein* 0,20 % pada sampel 683. Dari hasil penelitian tahun kedua perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk penambahan gula berkalori rendah sebagai peningkatan dari coklat.

Kata kunci : *Dark chocolate, Alkaloid, Flavonoid, Catechin, Genistein*

I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Latar Belakang, (2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pemikiran, (6) Hipotesa Penelitian, dan (7) Tempat dan Waktu Penelitian.

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara agraris yang kaya akan sumber bahan alami. Pemanfaatan bahan baku alami yang dijadikan produk hasil olahan dalam negeri belum sepenuhnya memenuhi kualitas dan memberikan manfaat yang baik bagi konsumen. Dengan banyaknya keluhan konsumen, maka perlu dilakukan diversifikasi pangan dengan memberikan manfaat dalam setiap produk pangan yang dihasilkan. Ditinjau dari hasil pemasaran, banyak dijumpai produk pangan yang tidak memperhatikan kandungan dari masing – masing bahan bakunya seperti kandungan senyawa aktif karena keliru dalam pengolahannya, padahal manfaat dari senyawa aktif sangatlah baik bagi kesehatan.

Senyawa aktif adalah suatu senyawa kimiawi yang terdapat di dalam suatu sumber alami (umumnya tumbuhan) yang memberikan sifat khusus dan karakteristik dari tanaman sumber tersebut. Senyawa aktif umumnya dinamai berdasarkan sumber dari tanaman asalnya. Senyawa aktif suatu tumbuhan, misalnya menjadi topik utama dari pencaharian ilmu kimia mulai dari identifikasi, isolasi hingga identifikasi ulang untuk menetapkan kadar kualitatif dan kuantitatif keberadaannya di dalam suatu tanaman asal (Rira, 2013).

Manfaat dari senyawa aktif pada suatu komoditas dapat memiliki banyak kebaikan bagi tubuh bila dikonsumsi. Beberapa senyawa aktif seperti kandungan *alkaloid* pada coklat dapat merangsang terbentuknya hormon *endorfin* yang menciptakan perasaan santai, senang dan bahagia. *Flavonoid* pada teh hijau memiliki manfaat yang sangat banyak dalam hal peranannya sebagai antioksidan karena juga berfungsi dalam mencegah pertumbuhan mikroba - mikroba yang masuk dalam tubuh, juga menyerang berbagai macam virus yang berusaha masuk dan menginfeksi tubuh selain itu dapat memperbaiki *mood* dan mengurangi kelelahan sehingga bisa digunakan sebagai obat anti depresi serta dapat meningkatkan perlindungan tubuh terhadap serangan berbagai macam kanker, termasuk kanker payudara serta membantu membakar lemak dalam tubuh. *Isoflavon* dalam kedelai yang terdiri atas *genistein*, *daidzein* dan *glisitein*, protein kedelai dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler dengan cara meningkatkan *profile* lemak darah. Khususnya, protein kedelai menyebabkan penurunan yang nyata dalam kolesterol total. Kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan trisliserida serta dapat meningkatkan kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*). Karena estrogen telah terbukti menurunkan kolesterol LDL, peranan *isoflavon* dapat diduga mirip estrogen (*estrogen like*), menghasilkan efek yang sama (Spillane, 1995).

Cokelat bagi sebagian orang adalah sebuah gaya hidup dan kegemaran, namun masih banyak orang yang mempercayai mitos tentang coklat dan takut mengonsumsi coklat walaupun sebenarnya mereka sangat ingin mengonsumsinya. Cokelat dianggap dapat menaikkan berat badan dan menimbulkan jerawat juga

merusak gigi. Mengingat bahwa cokelat ialah makanan berkalori tinggi dan kebiasaan mengonsumsi dalam jumlah besar dapat meningkatkan risiko penambahan berat badan hal ini memang benar adanya. Namun, konsumsi cokelat yang sesuai dosis dan teratur dapat menjaga kesehatan jantung juga terhindar dari resiko stroke. Tentunya konsumsi yang sedikit tidak terlalu mempengaruhi bobot tubuh.

Cokelat yang beredar di pasaran kebanyakan telah diolah dan mengalami proses sehingga banyak dicampur dengan susu dan gula. Kualitas cokelat seperti ini sudah tidak lagi murni dan kandungan cokelat murninya menjadi sedikit, secara tidak langsung kandungan zat yang bermanfaat dalam cokelat berkurang. Cokelat jenis ini tidak dianjurkan untuk dikonsumsi bagi terapi cokelat yang menginginkan manfaat baik dari cokelat. Cokelat yang baik untuk dikonsumsi adalah jenis *dark chocolate* yaitu cokelat yang mengandung gula dan kalori rendah.

Cokelat murni memiliki banyak khasiat bagi kesehatan manusia khususnya bila dikonsumsi oleh kaum wanita. Masalahnya adalah hampir sebagian besar wanita salah kaprah menilai makanan ini. Jika diolah dengan tepat maka cokelat akan menjadi makanan yang luar biasa. Cokelat jenis *dark chocolate*, sangat kaya akan *flavonoid*, yaitu jenis antioksidan yang melindungi jantung dengan mencegah keping - keping lemak (*platelets*) menempel satu sama lain dan membentuk gumpalan yang menyumbat. *Flavonoid* dapat menetralkan efek buruk radikal bebas yang berniat menghancurkan sel-sel dari jaringan-jaringan tubuh. *Flavonoid* dipercaya sanggup menekan oksidasi *low density lipoprotein* (LDL alias kolesterol jahat) sehingga mencegah penyumbatan pada dinding pembuluh darah arteri.

Menurut penelitian, coklat yang meleleh di dalam mulut dapat merangsang dan meningkatkan kinerja otak juga denyut jantung.

Menurut data Badan Pusat Statistik (2007), hasil produksi coklat di Indonesia yaitu pada bubuk coklat tidak manis mencapai 11.039.647 kg, produk coklat batangan mencapai 3.106.336 kg, produk coklat butiran 5.648.891kg, produk bubuk coklat manis mencapai 26.011.959 kg, produk coklat cair 415.320 kg, produk permen coklat 2.453.306 kg, dan produk olahan coklat lainnya sebanyak 29.396.527 kg.

Konsumsi coklat semakin meningkat sejalan dengan arus globalisasi informasi dan daya beli masyarakat, diperlukan diversifikasi atau penganekaragaman produk coklat untuk memperluas jangkauan dan daya beli masyarakat serta dapat meningkatkan kesehatan dengan memanfaatkan sumber daya alam dan sumber daya manusia semaksimal mungkin dan meminimalkan biaya produksi sehingga dapat terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat (Riyani, 2011).

Menurut Werno (2011), *green tea* adalah teh yang tidak mengalami proses fermentasi sehingga kandungannya lebih tinggi. *Green tea* memiliki jenis *matcha* yaitu jenis teh hijau yang dipanen saat masih kuncup dan dikembangkan menjadi bentuk bubuk, *green tea matcha* mengandung nutrisi lebih banyak dan mengandung antioksidan lebih banyak dibandingkan dengan *green tea* yang dipanen dengan cara biasa. Tiga minggu sebelum dipanen, tanaman *green tea* akan dibuat berkembang secara perlahan sehingga meningkatkan pertumbuhan asam amino yang ada di dalamnya. *Matcha* memiliki kandungan antioksidan salah

satunya adalah *catechins*. *Catechins* termasuk kedalam senyawa aktif *flavonoid* diketahui dapat meningkatkan metabolisme, membakar lemak dengan cepat dan mengurangi tingkat kolesterol buruk.

Proses pembuatan *dark chocolate* pada dasarnya menggunakan susu bubuk sebagai sumber protein hewani. Untuk melengkapi kandungan nutrisi maka dilakukan diversifikasi dengan penambahan soy powder sebagai sumber protein nabati. *Soy powder* merupakan tepung yang terbuat dari biji kedelai kering yang digiling halus. Kedelai utuh mengandung 35 – 40% protein, paling tinggi dari segala jenis kacang-kacangan. Ditinjau dari segi mutu, protein kedelai adalah yang paling baik mutu gizinya yaitu hampir setara dengan protein daging. Diantara jenis kacang-kacangan, kedelai merupakan sumber protein paling baik karena mempunyai susunan asam amino esensial paling lengkap. Disamping itu kedelai juga dapat digunakan sebagai sumber lemak, vitamin, mineral dan serat (Sundarsih dan Kurniaty, 2009).

Pada penelitian ini, akan diidentifikasi senyawa aktif dalam produk *Dark Chocolate* yakni *alkaloid* dalam kandungan *cocoa powder* sebagai *endorfin* pemberi nuansa bahagia, senyawa aktif *flavonoid* yang berasal dari *green tea matcha* sebagai sumber antioksidan sehingga dapat dihasilkan produk coklat fungsional yang dapat meningkatkan kesehatan serta senyawa aktif *isoflavon* dari *soy powder* sebagai sumber protein, antioksidan serta ditujukan untuk memberikan sifat organoleptik yang sama dengan *dark chocolate* yang telah ada.

Diharapkan penelitian ini dapat membantu menyelesaikan permasalahan, memberikan suatu solusi, manfaat dan informasi bagi masyarakat.

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan paparan pada latar belakang, masalah yang dapat dirumuskan yakni apakah penambahan *green tea* dan *soy powder* berpengaruh terhadap senyawa aktif *Dark Chocolate*.

1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud yang hendak dicapai dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam formulasi terbaik produk *dark chocolate* yang ditambahkan *green tea* dan *soy powder*.

Tujuan yang hendak dicapai dari penelitian ini dari sisi kesehatan adalah untuk mendapatkan manfaat senyawa aktif dari produk *dark chocolate* yang ditambahkan *green tea* dan *soy powder* yang bagi kesehatan. Dari sisi sosial adalah untuk meningkatkan tingkat kestabilan emosi dari masyarakat dengan mengkonsumsi *dark chocolate* yang dapat membuat perasaan nyaman, tenang dan bahagia serta dapat dikonsumsi oleh semua kalangan. Dari sisi ekonomi adalah untuk meningkatkan hasil produksi dan pendapatan negara dengan memanfaatkan sumber bahan baku alami dalam negeri dan dapat meningkatkan daya beli masyarakat dari hasil diversifikasi produk *dark chocolate* yang ditambahkan *green tea matcha* dan perbandingan *soy powder* dengan *milk powder*.

1.4. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh manfaat untuk meningkatkan sifat fungsional produk *dark chocolate* yang ditambahkan *green tea* dan *soy powder* sebagai sumber senyawa aktif yang baik bagi kesehatan .

1.5. Kerangka Pemikiran

Menurut Winarsi (2011), 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 begitupun dengan senyawa aktif lainnya yang berperan penting dalam kesehatan tubuh.

Menurut Masyah (2011), menyatakan bahwa ekstraksi *alkaloid* dilakukan dengan cara Sokletasi, dimana sampel sebanyak 350 gram tersebut dibungkus dengan kerstas saring seberat masing - masing 50 gram. Kemudian diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol p.a sebanyak 300 ml di dalam labu soklet 500 ml selama 28 jam tiap-tiap bungkusnya. Seluruh hasil ekstrak dikumpulkan, lalu di pekatkan dengan alat *rotary evaporator* pada temperatur tidak lebih dari 65°C sampai didapatkan hasilnya ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan kemudian dilarutkan dalam asam sulfat 2 N sampai pH 3 - 4 kemudian disaring. Filtratnya ditampung dan dibasakan ammonia pekat sampai di dapatkan pH 8 - 9, lalu di dikocok dengan *chloroform p.a* beberapa kali pengocokkan sampai lapisan alkali tidak lagi memberikan reaksi positif terhadap preaksi *alkaloid*. Lapisan *chloroform* yang mengandung *alkaloid* di pisahkan dari bagian lainnya dan di kumpulkan. Pelarutnya diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 60°C sampai pelarutnya habis / kering. Ekstrak kering yang didapatkan ditimbang dan didapatkan hasil seberat 11,87 gram dihitung sebagai *alkaloid* kasar. Untuk mengetahui kadar total senyawa *theobromin* yang termasuk

golongan *alkaloid* dapat juga dilakukan dengan metode spektrofotometri. Derivat *xantin* mengabsorpsi dengan kuat sinar UV dan sangat mudah ditentukan dengan menggunakan pengukuran spektrofotometri. Pada pH 6 golongan *alkaloid* seperti *coffein*, *theobromine* dan *teofiline* masing-masing menunjukkan absorptivitas maksimum pada panjang gelombang 272 hingga 273 mikrometer, sedikit perubahan maksimum nampak pada nilai pH yang berbeda.

Menurut penelitian Adriani (2010); Yoo, K. M., Lee, C. H., Lee, H., Moon, B. K., & Lee, C. Y. (2008), menyatakan didalam daun teh hijau mengandung senyawa aktif tertinggi adalah *catechin* yang tergolong dalam metabolit sekunder secara alami dihasilkan oleh daun teh hijau dan termasuk dalam golongan *flavonoid*, senyawa ini dapat berperan sebagai antioksidan akibat gugus fenolnya dimana dapat mencegah terhadap penyakit jantung iskemik serta menghambat kanker atau senyawa anti kanker. Penentuan kadar *flavonoid* total Sejumlah 1 mL ekstrak dimasukkan dalam labu 10 mL, ditambahkan 4 mL akuades dan 0,3 mL NaNO₂ 5%, diamkan 5 menit kemudian tambahkan 0,6 mL AlCl₃ 1% diamkan 6 menit. Kemudian tambahkan 2 mL NaOH 1 M dan akuades sampai volume 10 mL. Ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm. Sebagai baku digunakan *catechin* dengan berbagai konsentrasi.

Menurut Penalvo *et al.* (2004); Pradana (2008), menyatakan bahwa senyawa *isoflavon* merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesa oleh tanaman. Namun, tidak sebagai layaknya senyawa metabolit sekunder karena senyawa ini tidak disintesis oleh mikroorganisme. Dengan demikian, mikroorganisme tidak mempunyai kandungan senyawa ini. Oleh karena itu,

tanaman merupakan sumber utama senyawa *isoflavon* di alam. Dari beberapa jenis tanaman, kandungan *isoflavon* yang lebih tinggi terdapat pada tanaman *Leguminoceae*, khususnya pada tanaman kedelai. Untuk mengetahui kandungan *isoflavon* maka dilakukan analisis menggunakan HPLC dengan dilakukan preparasi sampel sebelumnya. Sampel sebanyak 100 gram dihancurkan, kemudian dikeringkan pada suhu 40°C dan dihancurkan lagi. Bubuk sampel 1 – 2 gram diekstrak dengan 5 ml 1 M HCl di dalam 80% etanol dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 80°C. Selanjutnya di shaker selama 2 menit dan disentrifus 2140 x g selama 2 menit. Supernatan disaring, sedangkan ampas ditambah 2,5 ml 80% etanol kemudian dikocok dan disentrifugasi kembali. Disaring dan supernatan yang diperoleh digabung dengan supernatan pertama. Kondisi HPLC: HPLC *Simadzu*, isokratik, volume sampel 20 µl, kolom: C 18, eluen: methanol dan asetonitril (97:3), detektor: SPD 10A, laju aliran: 1 ml/min, temperatur: 25 - 27oC, panjang gelombang 260 nm dan pompa LC10AD.

Menurut Werno (2011); *States man Journal* (2015), menyatakan bahwa *Green tea matcha* terlihat lebih hijau dari teh hijau biasa. Pada proses pembuatan *green tea matcha* setelah melalui proses pemilihan dan pemetikan, kuncup *green tea* akan dikeringkan sebelum dijadikan bubuk. Penggunaan *matcha green tea* pada beberapa produk *dessert* dan *smoothie* penggunaan *matcha green tea* pada produk *yoghurt* dan *pudding* memiliki maksimal penambahan yaitu sebesar 55 gram, hal ini dikarenakan pada jumlah yang lebih tinggi akan membuat sifat organoleptik produk yaitu atribut rasa yaitu terasa pahit.

Menurut Afandi (2001); Akinwale (2002); Salim (2012), menyatakan bahwa produk olahan kedelai merupakan sumber protein nabati yang banyak dikonsumsi oleh hampir seluruh lapisan masyarakat Indonesia, sehingga berperan dalam mendukung ketahanan pangan dan meningkatkan status gizi masyarakat. Diantara jenis kacang-kacangan, kedelai memiliki prospek yang baik untuk dikembangkan karena mengandung protein yang tinggi (35-38%). Selain itu, kandungan lemak pada kedelai juga cukup tinggi ($\pm 20\%$). Dari jumlah ini sekitar 85% merupakan asam lemak esensial yakni linoleat dan linolenat. Disamping memiliki protein tinggi, kedelai mengandung serat atau *dietary fiber*, vitamin dan mineral. menyatakan bahwa tingkat kesukaan terhadap perbandingan antara susu bubuk dan *soy powder* pada pembuatan *milk chocolate* adalah pada perbandingan 75% susu bubuk dan 25% *soy powder*.

Berdasarkan penelitian Ferdian (2000); Wanti (2008); Erukainur (2010), menyatakan bahwa dua sifat utama cokelat yang perlu diperhatikan adalah flavor dan tekstur. Berbagai cara mengolah cokelat, salah satu diantaranya meliputi tahap-tahap : pencampuran, pelembutan, penghalusan (*conching*), *tempering*, dan pencetakan. Bahan yang digunakan untuk membuat cokelat bervariasi, diantaranya : pasta/liquor kakao, gula halus, susu, lesitin, dan lemak kakao. Bahan tersebut dicampur dengan perbandingan tertentu, kemudian dilembutkan dengan mesin tipe *roll*. Proses pembuatan coklat yaitu dengan cara mencampurkan coklat bubuk, gula, lemak kakao serta lesitin dan sebagian kecil penambah citarasa seperti garam dan vanili. Pencampuran ini bertujuan agar pasta coklat yang dihasilkan mudah untuk dicetak. Pada penelitian produk coklat kurma memiliki sifat organoleptik yang baik

terutama pada tekstur coklat yang lembut, memiliki kandungan coklat kurma dengan formulasi *cocoa powder* tertinggi yaitu 212 gram dalam basis 334 gram memiliki kandungan karbohidrat, protein yang paling tinggi dibanding dengan sampel yang mengandung konsentrasi *cocoa powder* lebih rendah. Pencampuran bahan-bahan yang berbentuk bubuk merupakan proses yang penting dalam pembuatan coklat, dimana bahan bubuk mempunyai sifat sukar dibasahi dan perlu adanya pengemulsi. Penambahan lesitin pada cokelat atau campuran gula dan lemak mampu menurunkan viskositas campuran.

Menurut Setiawan (2005); Han (2006); menyatakan bahwa pada proses pembuatan coklat bahan-bahan yang digunakan adalah cokelat bubuk, susu skim, gula tepung, mentega putih, dan lemak kakao. Bahan-bahan tersebut mempunyai sifat tidak begitu mudah dibasahi atau lambat terdispersi pada saat pencampuran. Faktor yang mempengaruhi viskositas dari cokelat adalah lemak kakao (*cacao butter*), lesitin, air, pengadukan, aerasi (pengudaraan) dan temperatur. Cokelat adalah bahan coklat, gula dan susu bubuk yang terdispersi di dalam lemak kakao (*cocoa butter*). Selain itu fraksi dari lemak kakao (*cocoa butter*) mempunyai peranan penting pada proses pengembangan dari produk cokelat yang dihasilkan. *Dark chocolate* dapat dibuat dengan menggunakan bubuk kakao berwarna lebih pucat dalam presentase yang tinggi, namun hal ini beresiko menyebabkan *fat bloom* hal ini akibat dari pembentukan kristal lemak β berukuran besar.

Menurut Saleh (2006), menyatakan bahwa proses *conching* merupakan pencampuran dari bahan yang digunakan dalam pembuatan cokelat, dilakukan pengadukan dan pencampuran, sehingga memakan waktu beberapa jam atau hingga

beberapa hari. Suhu yang digunakan pada proses *conching* tersebut mendekati atau dibawah suhu inversi coklat yaitu 45°C untuk *milk chocolate* dan 60°C untuk *dark chocolate*. Lama waktu yang dilakukan pada proses *conching* mencapai 72 jam untuk menghasilkan coklat bermutu tinggi dan 4 - 6 jam untuk menghasilkan coklat bermutu rendah, hal ini terjadi karena proses *conching* terjadi perubahan - perubahan yaitu ukuran butiran dihaluskan lebih halus lagi sehingga tidak terdeteksi oleh lidah, menajamkan aroma, aktivasi zat organik dan memunculkan rasa karamel. Proses *conching* dilakukan untuk mengeluarkan asam-asam volatil, oleh karenanya akan mengurangi keasaman pada coklat tersebut. Pada proses *conching* akan menghasilkan coklat yang mempunyai aroma baik, kehalusan baik, menjadikan pasta coklat tersebut homogen dan menyebabkan coklat tersebut mempunyai viskositas yang stabil.

Menurut penelitian Zogina (2015), berdasarkan analisis aktivitas antioksidan pada bahan baku utama yaitu *cocoa powder* memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibanding kandungan antioksidan pada *green tea* yang sangat kuat. Produk *Dark Chocolate* terbaik dibuat dengan waktu *conching* terbaik selama 10 jam serta dari keseluruhan respon diperoleh pada sampel perbandingan *soy powder* dan susu bubuk 1 : 1 dengan aktivitas antioksidan yaitu 95,44 µg/mL, kadar protein 16,92%, kadar karbohidrat gula total 11,14 % dan kadar lemak 13,43%.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa produk *dark chocolate* yang ditambahkan *green tea matcha* dan *soy powder* mengandung antioksidan serta senyawa aktif lainnya maka akan dilakukan penelitian lanjutan

dengan mengidentifikasi senyawa aktif *alkaloid*, *catechin* dan *genistein* serta pada produk *dark chocolate*.

1.6. Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas diduga bahwa penambahan *green tea* dan *soy powder* dapat menambah kandungan senyawa aktif dalam produk *Dark Chocolate*.

1.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan, Jl. Dr. Setiabudhi No 193 Bandung - Jawa Barat dan di Laboratorium Kimia analitik Program Studi Kimia Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha No.10 Bandung - Jawa Barat.

II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Kakao, (2) Coklat, (3) *Green Tea*, (4) *Soy Powder*, (5) *Alkaloid*, (6) *Catechin* dan (7) *Genistein*.

2.1. Kakao

Tanaman Kakao (*Theobroma cacao*) termasuk famili *Sterculiaceae*, yang merupakan suatu famili yang sangat bervariasi dan hanya bagian kola yang paling berguna untuk dikonsumsi oleh manusia. Berdasarkan daerah asalnya kakao tumbuh dibawah naungan pohon - pohon yang tinggi. Habitat seperti itu masih dipertahankan dalam budi daya kakao dengan menanam pohon pelindung. Kakao mutlak membutuhkan naungan sejak tanam sampai umur 2 - 3 tahun. Tanaman muda yang kurang naungan pertumbuhannya akan terlambat. Tanaman ini juga tidak tahan angin kencang sehingga tanaman pelindung (penaung) dapat berfungsi sebagai penahan angin (Saleh, 2006).

Kakao (*Theobroma cacao, L.*) merupakan satu-satunya spesies diantara 22 jenis dalam genus *Theobroma* yang diusahakan secara komersial. Tanaman ini diperkirakan berasal dari lembah Amazon di Benua Amerika yang mempunyai iklim tropis. Colombus dalam pengembaraan dan petualangannya di benua menemukan dan membawanya ke Spanyol. Tanaman kakao terdiri dari 2 (dua) tipe yang dibedakan berdasarkan atas warna bijinya, warna putih termasuk ke dalam grup *Criollo*, sedangkan biji tanaman ungu termasuk grup *Forastero* (Saleh, 2006).

Biji kakao yang akan dijadikan bahan baku pangan berbeda dalam hal penanganan pasca panennya dengan bahan baku non pangan. Untuk bahan baku

pangan, diperlukan proses fermentasi agar dapat diperoleh cita rasa yang baik, sedangkan Biji kakao yang digunakan sebagai bahan baku non pangan tidak memerlukan proses fermentasi. Produk cokelat yang umum dikenal masyarakat adalah permen cokelat (*cocoa candy*). Produk cokelat yang juga sangat populer adalah berbagai jenis makanan dan es krim (*ice cream*). Bubuk cokelat (*Cocoa powder*) juga dapat digunakan sebagai bahan pembuat kue dan pengoles roti. Di samping itu, ada produk antara (produk setengah jadi) yang kurang dikenal masyarakat, yaitu lemak cokelat (*Cocoa butter*) yang umumnya digunakan oleh industri farmasi dan industri kosmetik (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2004).

Taksonomi tanaman kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Taksonomi tanaman kakao

Divisi	<i>Spermatophyta</i>
Anak Divisi	<i>Angiospermae</i>
Kelas	<i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	<i>Malvales</i>
Familli	<i>Sterculiaceae</i>
Genus	<i>Theobroma</i>
Spesies	<i>Theobroma cacao, L.</i>

(Saleh, 2006).

Gambar kakao dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1. Kakao

Spesies tanaman yang ada cukup banyak, pada umumnya kakao dibagi 2 (dua) tipe antara lain:

a. *Criollo* : 1. *Criollo* Amerika Tengah

2. *Criollo* Amerika Selatan

b. *Forastero* : 1. *Forastero* Amazone

2. *Trinitario* (merupakan hibrid *Criollo* dan *Forastero*)

Kakao dibawa oleh orang Spanyol ke Indonesia sekitar tahun 1560 melalui Filipina ke daerah Minahasa, Sulawesi Utara. Di daerah itu kakao ditanam sebagai tanaman campuran di pekarangan, dan baru dikembangkan secara luas pada tahun 1820. Pada tahun 1845 tanaman ini terserang penggerek buah kakao (PBK) dan karena ditanam tanpa naungan maka umur tanaman hanya mencapai 12 tahun (Saleh, 2006).

Syarat umum biji kakao dibedakan berdasarkan ukuran biji kakao tersebut, tingkat kekeringan / kandungan kadar air dan tingkat kontaminasi benda asing. Ukuran biji kakao ini dinyatakan dalam jumlah biji per 100 g biji kakao kering (kadar air 6 – 7 %). Klasifikasi mutu berdasarkan ukuran biji ini diklasifikasikan dalam 5 tingkatan, sedang tingkat kekeringan dan kontaminasi ditentukan secara laboratoris atas dasar pengujian kadar air pada sample uji yang mewakili yang

diukur menggunakan alat pengukur kadar air biji kakao. Syarat mutu biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat umum standar mutu biji kakao

Karakteristik	Persyaratan
Kadar air (b/b)*	maks. 7,5 %
Biji berbau asap dan atau abnormal dan atau berbau asing	Tidak ada
Serangga hidup	Tidak ada
Kadar biji pecah dan atau pecahan biji dan atau pecahan kulit (b/b)	maks. 3 %
Kadar benda-benda asing (b/b)	maks. 0 %

Sumber : SNI 01 – 2323 – 2000.

Syarat mutu kakao berdasarkan jumlah biji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Mutu biji kakao berdasarkan ukuran biji kakao

Ukuran	Jumlah Biji / 100 gram
AA	Maks 85
A	Maks 100
B	Maks 110
C	Maks 120

Sumber: SNI 01 – 2323– 2000

Pada dasarnya buah kakao terdiri atas 4 bagian yakni : kulit, *placenta*, *pulp*, dan biji. Buah kakao masak berisi 30-40 biji yang diselubungi oleh *pulp* dan *placenta*. *Pulp* merupakan jaringan halus yang berlendir yang membungkus biji kakao, keadaan zat yang menyusun pulp terdiri dari 80-90% air dan 8-14% gula sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi (Saleh, 2006).

2.2. Cokelat

Kata cokelat berasal dari *xocoatl* (bahasa suku Aztec) yang berarti minuman pahit. Suku Aztec dan Maya di Mexico percaya bahwa Dewa Pertanian telah mengirimkan coklat yang berasal dari surga kepada mereka. Cortes kemudian

membawanya ke Spanyol antara tahun 1502 - 1528, dan oleh orang-orang Spanyol minuman pahit tersebut dicampur gula sehingga rasanya lebih enak (Saleh, 2006).

Cokelat kemudian menyebar ke Perancis, Belanda dan Inggris. Pada tahun 1765 didirikan pabrik cokelat di Massachusetts AS. Dalam perkembangannya cokelat tidak hanya menjadi minuman tetapi juga menjadi *snack* yang disukai anak-anak, remaja, maupun orang dewasa. Selain rasanya enak, cokelat ternyata berkhasiat membuat umur seseorang menjadi lebih panjang. Komposisi adonan cokelat batangan dalam 1 kg terdiri dari pasta kakao 235 g, lemak kakao 235 g, susu bubuk 176 g, garam 0,005 g, vanilin 0,01 g dan lesitin 0,03 g. Cokelat dibuat menggunakan sumber manis sukrosa pada konsentrasi 350 g. Lesitin dan vanilin diberikan dua jam sebelum koncing berakhir. Adonan cokelat dihaluskan tiga kali siklus menggunakan refiner lima silinder dan dilanjutkan dengan koncing selama 22 jam pada suhu 50°C. Adonan selanjutnya didinginkan mengikuti standar suhu tempering, kemudian dicetak pada suhu 32–34°C dan didinginkan pada suhu 10–12°C (Misnawi, 2010).

Menurut Erukainure (2010), menyatakan bahwa formulasi dalam pembuatan coklat kurma, jumlah *cocoa powder* yang digunakan adalah 212,38 gram, *cocoa butter* 4 gram, tepung kurma 60 gram, gula halus 25 gram, susu bubuk 25 gram, lesitin 5 gram, vanili 2 gram dan pala sebanyak 0,29 gram.

Suatu studi epidemiologis telah dilakukan pada mahasiswa Universitas Harvard yang terdaftar antara tahun 1916-1950. Dengan menggunakan *food frequency questionnaire* berhasil dikumpulkan informasi tentang kebiasaan makan permen atau cokelat pada mahasiswa Universitas Harvard. Dengan mengontrol

aktivitas fisik yang dilakukan, kebiasaan merokok, dan kebiasaan makan ditemukan bahwa mereka yang selalu mengonsumsi cokelat umurnya lebih lama satu tahun dibandingkan bukan pemakan (Saleh, 2006).

Diduga antioksidan yang terkandung dalam cokelat adalah penyebab mengapa mereka bisa berusia lebih panjang. Fenol ini juga banyak ditemukan pada anggur merah yang sudah sangat dikenal sebagai minuman yang baik untuk kesehatan jantung. Cokelat mempunyai kemampuan untuk menghambat oksidasi kolesterol LDL (kolesterol jahat) dan meningkatkan fungsi kekebalan tubuh, sehingga dapat mencegah risiko penyakit jantung koroner dan kanker. Selama ini ada pandangan bahwa permen coklat menyebabkan *caries* pada gigi dan mungkin juga yang menyebabkan munculnya masalah kegemukan. Gambar *Dark Chocolate* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Dark Chocolate*

Tidak dapat disangkal lagi bahwa kegemukan adalah salah satu faktor risiko berbagai penyakit degeneratif. Tetapi studi di Universitas Harvard ini menunjukkan bahwa jika diimbangi dengan konsumsi permen cokelat dengan aktivitas fisik yang cukup dan makan dengan menu seimbang, maka dampak negatif permen coklat tidak perlu terlalu dikhawatirkan.

Menurut kepercayaan suku Maya, coklat adalah makanan para dewa. Rasa asli biji coklat sebenarnya pahit akibat kandungan *alkaloid*, tetapi setelah melalui rekayasa proses dapat dihasilkan coklat sebagai makanan yang disukai oleh siapapun. Biji coklat mengandung lemak 31%, karbohidrat 14% dan protein 9%. Protein coklat kaya akan asam amino triptofan, fenilalanin, dan tyrosin. Meski coklat mengandung lemak tinggi namun relatif tidak mudah tengik karena coklat juga mengandung polifenol (6%) yang berfungsi sebagai antioksidan pencegah ketengikan. Di Amerika Serikat konsumsi coklat hanya memberikan kontribusi 1% terhadap *intake* lemak total sebagaimana dinyatakan oleh *National Food Consumption Survey* (1987-1998). Jumlah ini relatif sedikit khususnya bila dibandingkan dengan kontribusi daging (30%), sereal (22%), dan susu (20%). Lemak pada coklat, sering disebut *cocoa butter*, sebagian besar tersusun dari lemak jenuh (60%) khususnya stearat. Tetapi lemak coklat adalah lemak nabati yang sama sekali tidak mengandung kolesterol (Saleh, 2006).

Dalam penelitian yang melibatkan subjek manusia, ditemukan bahwa konsumsi lemak coklat menghasilkan kolesterol total dan kolesterol LDL yang lebih rendah dibandingkan konsumsi mentega ataupun lemak sapi. Konsumsi coklat tidak akan menimbulkan kecanduan, tetapi bagi sebagian orang rasa coklat yang enak mungkin menyebabkan kerinduan untuk mengkonsumsinya kembali. Ini yang disebut *chocolate craving*. Dampak coklat terhadap perilaku dan suasana hati (*mood*) terkait erat dengan *chocolate craving* (Saleh, 2006).

Coklat juga mengandung *theobromine* dan kafein. Kedua substansi ini telah dikenal memberikan efek terjaga bagi yang mengkonsumsinya. Produk coklat

cukup beraneka ragam. Misalnya, ada cokelat susu yang merupakan adonan cokelat manis, *cocoa butter*, gula, susu dan ada pula cokelat pahit yang merupakan coklat alami dan mengandung 43% padatan coklat (Saleh, 2006).

2.3. Green Tea

Teh adalah bahan minuman yang secara universal dikonsumsi di banyak negara serta berbagai lapisan masyarakat. Teh juga mengandung banyak bahan-bahan aktif yang bisa berfungsi sebagai antioksidan maupun antimikroba (Gramza et al., 2005).

Green tea merupakan teh yang tidak mengalami proses fermentasi dan banyak dikonsumsi orang karena nilai medisnya. Teh hijau kerap digunakan untuk membantu proses pencernaan dan juga karena kemampuannya dalam membunuh bakteri. Kandungan polifenol yang tinggi dalam teh hijau dimanfaatkan untuk membunuh bakteri-bakteri perusak dan juga bakteri yang menyebabkan penyakit di rongga mulut (penyakit periodontal) (Gramza et al., 2005).

Pada zaman dahulu, genus *Camellia* dibedakan menjadi beberapa spesies teh yaitu *sinensis*, *assamica*, dan *irrawadiensis*. Namun, pada tahun 1958, semua jenis teh secara universal dikenal sebagai suatu spesies tunggal yaitu *Camellia sinensis* dengan nama varietas yang berbeda (Gramza et al., 2005).

Camellia sinensis, suatu tanaman yang berasal dari famili *theaceae*, merupakan pohon berdaun hijau yang memiliki tinggi 10 - 15 meter di alam bebas dan tinggi 0,6 - 1,5 meter jika dibudayakan sendiri. Daun dari tanaman ini berwarna hijau muda dengan panjang 5 - 30 cm dan lebar sekitar 4 cm. Tanaman ini memiliki bunga yang berwarna putih dengan diameter 2,5 - 4 cm. Buahnya berbentuk pipih, bulat, dan terdapat satu biji dalam masing-masing buah dengan ukuran sebesar

kacang. Taksonomi tanaman teh dapat dilihat pada Tabel 4 dan gambar *green tea* dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 4. Taksonomi Tanaman Teh

Superdivisi	<i>Spermatophyta</i> (tumbuhan biji)
Divisi	<i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)
Kelas	<i>Dicotyledoneae</i> (tumbuhan biji belah)
Sub Kelas	<i>Dilleniidae</i>
Ordo (bangsa)	<i>Theales</i>
Familia (suku)	<i>Theaceae</i>
Genus (marga)	<i>Camellia</i>
Spesies (jenis)	<i>Camellia sinensis</i>

Sumber: Gramza et al., 2005



Gambar 3. *Green Tea*

Komposisi senyawa-senyawa dalam *Green tea* sangatlah kompleks yaitu protein (15-20%); asam amino seperti teanine, asam aspartat, tirosin, triptofan, glisin, serin, valin, leusin, arginin (1-4%); karohidrat seperti selulosa, pektin, glukosa, fruktosa, sukrosa (5-7%); lemak dalam bentuk asam linoleat dan asam

linolenat, sterol dalam bentuk stigmasterol, vitamin B, C, dan E, kafein dan teofilin, pigmen seperti karotenoid dan klorofil, senyawa volatile seperti aldehida, alkohol, laktone, ester, dan hidrokarbon; mineral dan elemen-elemen lain seperti Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F, dan Al (5%).

Green tea telah dilaporkan memiliki lebih dari 4000 campuran bioaktif dimana sepertiganya merupakan senyawa-senyawa polifenol. Polifenol merupakan cincin *benzene* yang terikat pada gugus-gugus hidroksil. Polifenol dapat berupa senyawa *flavonoid* ataupun *non-flavonoid*. Namun, polifenol yang ditemukan dalam teh hampir semuanya merupakan senyawa *flavonoid* (Gramza *et al.*, 2005).

Green tea sebagian besar mengandung ikatan biokimia yang disebut *polyphenols*, termasuk di dalamnya *flavonoid*. Pada tanaman, *flavonoid* memberikan perlindungan terhadap adanya *stress* lingkungan, sinar ultra violet, serangga, jamur, virus, dan bakteri, di samping sebagai pengendali hormon dan enzim inhibitor. Subkelas dari *polyphenols* meliputi *flavones*, *flavonols*, *flavanones*, *catechins*, *antocyanidin*, dan *isoflavones*. *Catechin* dan *phenolic acid* umumnya ditemukan di dalam teh. *Catechin* yang terdapat dalam teh berupa *epi-catechin* (EC), *epigallo-catechin* (EGC), *epicatechin gallate* (ECG), *epigallo-catechin gallate* (EGCG), dan *phenolic acid* berupa *gallic acid* (GA). *Green tea* juga mengandung *cafein* (CA), suatu *alkaloid* yang juga terkandung dalam beberapa jenis minuman lain seperti kopi (Turkoglu *et al.*, 2010).

Pada *Green tea*, *catechins* merupakan komponen utama, sedangkan pada teh hitam dan teh oolong, *catechins* diubah menjadi *theaflavin* dan *thearubigins*.

Diantara senyawa-senyawa yang terkandung di dalam teh hitam, *theaflavin* merupakan senyawa yang mendapatkan perhatian lebih karena fungsinya sebagai antioksidan, antipatogen, dan antikanker. *Green tea* dapat menangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS) seperti oksigen yang tidak berpasangan, radikal superoksida, radikal hidroksil, oksida nitrat, peroksinitrit, dan nitrogen dioksida sehingga mengurangi kerusakan pada protein, membran lipid, dan asam nukleat pada sel. (Turkoglu et al., 2010).

2.4. Soy Powder

Kedelai adalah salah satu komoditi pangan utama setelah padi dan jagung. Kedelai merupakan bahan pangan sumber protein nabati utama bagi masyarakat. Pada awalnya tanaman kedelai merupakan tanaman sub tropika hari pendek, namun setelah didomestikasi dapat menghasilkan banyak kultivar lokal. Para pemulia tanaman pun telah mengintroduksi kultivar yang dapat beradaptasi terhadap lintang yang berbeda. Kemampuannya untuk ditanam dimana saja adalah keunggulan utama tanaman ini

Menurut Afandi (2001), pencampuran ini akan bersifat komplementer. Kedelai juga mengandung 1,5 - 3,0% lesitin yang sangat berguna baik dalam industri pangan maupun non pangan. Hal ini disebabkan oleh adanya "*natural emulsifier*" pada tepung kedelai berlemak utuh, yaitu lesitin, yang pada tepung kedelai bebas lemak ikut terekstrak bersama lemak. Protein kedelai memiliki sifat fungsional antara lain sifat pengikatan air dan lemak, sifat mengemulsi dan mengentalkan serta membentuk lapisan tipis.

Sifat - sifat fungsional ini dapat dimanipulasi untuk memperoleh sistem pangan yang dikehendaki. Kedelai mengandung protein kurang lebih 35%, bahkan pada varietas unggul dapat mencapai 40-43%. Bila dibandingkan dengan beras, jagung, kacang hijau, daging, ikan segar dan telur, kedelai mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi. Dapat dikatakan bila seseorang tidak boleh makan daging sebagai sumber protein maka kebutuhan protein 55 gram/hari dapat dipenuhi dengan mengkonsumsi 157,14 gram kedelai (Afandi, 2001).

Bubuk kedelai dibuat melalui beberapa tahap proses perendaman, pembersihan, pencucian, penirisan penjemuran, penggilingan atau penumbukan, pengayakan, pengemasan, dan penyimpanan bubuk kedelai. Mutu bubuk kedelai selain dipengaruhi oleh metoda proses , juga sangat dipengaruhi oleh suhu dan jenis kedelai yang digunakan. Gambar *soy powder* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. *Soy Powder*

2.5. Alkaloid

Senyawa kimia terutama senyawa organik hasil metabolisme dapat dibagi dua yaitu yang pertama senyawa hasil metabolisme primer, contohnya karbohidrat,

protein, lemak, asam nukleat, dan enzim. Senyawa kedua adalah senyawa hasil metabolisme sekunder, contohnya terpenoid, steroid, *alkaloid* dan *flavonoid*.

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh *alkaloid* berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar *alkaloid* terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuhan monokotil dan *pteridofita* mengandung *alkaloid* dengan kadar yang sedikit (Redha, 2008).

Senyawa aktif *alkaloid* dapat diklasifikasikan menjadi 12 golongan yang diantaranya terdapat golongan piridina, *pyrrolidine*, *tropane*, kuinolina, isokuinolina, *fenantrena*, *phenethylamine*, indola, purin, terpenoid, *ammonium quaternarys* dan *cynarin*. Untuk senyawa aktif dalam kakao terdapat *theobromine* turunan *xantina* yang merupakan golongan alkaloid purin (Redha, 2008).

Keberhasilan mengisolasi senyawa alkaloid dari bahan alam sangat ditentukan oleh pemilihan pelarut pengekstrak dan pendeteksian awal. Maka perlu upaya memodifikasi untuk mendapatkan hasil isolasi yang optimum. Mengingat kegunaan dan tersedianya bahan alam yang mengandung *alkaloid*, maka perlu dilakukan kajian - kajian yang menyangkut senyawa *alkaloid* ini (Redha, 2008).

2.6. Catechin

Catechin tanaman teh dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu *proanthocyanidin* dan *poliester*. *Catechin* teh hijau tersusun sebagian besar atas senyawa-senyawa *catechin* (C), *epicatechin* (EC), *galocatechin* (GC), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin galat* (ECG), *galocatechin galat* (GCG), dan

epigallocatechin galat (EGCG). Konsentrasi katekin sangat tergantung pada umur daun. Pucuk dan daun pertama paling kaya katekin galat. Kadar katekin bervariasi tergantung pada varietas tanaman tehnya.

Catechin pada teh hijau bersifat antimikroba (bakteri dan virus), antioksidan, antiradiasi, memperkuat pembuluh darah, melancarkan sekresi air seni, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. *Catechin* merupakan kelompok utama dari substansi teh hijau dan paling berpengaruh terhadap seluruh komponen teh. Dalam pengolahannya, senyawa tidak berwarna ini baik langsung maupun tidak langsung selalu dihubungkan dengan semua sifat produk teh, yaitu rasa, warna, dan aroma. *Flavanoid* tanaman teh menunjukkan suatu kelompok senyawa yang sangat mirip komposisi kimianya dengan *catechin*. *Flavanoid* pada teh meliputi quersetin, kaemferol, dan mirisetin. *Flavanoid* merupakan satu di antara sekian banyak antioksidan alami yang terdapat dalam tanaman pangan dan mempunyai kemampuan mengikat logam.

Antioksidan memiliki peran yang vital untuk mencegah beberapa penyakit seperti jantung, stroke kanker dan kandungan *flavanoid* dalam teh hijau kaya akan antioksidan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kandungan *flavanoid* dalam teh hijau dapat menurunkan kadar LDL dan menaikkan HDL dalam darah. *Flavanoid* merupakan salah satu kelompok fitokimia yang memiliki struktur polifenol. Banyak penelitian yang menyatakan bahwa *flavanoid* ini dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah karena *flavanoid* berperan dalam metabolisme lipid (Radhika, 2011).

2.7. Genistein

Ada tiga kandungan kimia utama tumbuhan kedelai yang memiliki sifat dan fungsi seperti estrogen di dalam tubuh, yaitu *lignin* (enterolakton dan enterodiol), *isoflavon* (genistein, daidzein, biochanin A, dan glycitein), dan *coumestan*. Dua zat utama fitoestrogen yang ditemukan pada makanan manusia adalah *lignin* (enterolakton dan enterodiol) dan *isoflavon* (*daidzein, genistein, dan glycitein*).

Isoflavon termasuk dalam golongan *flavonoid* yang merupakan senyawa polifenolik. Struktur kimia dasar dari *isoflavon* hampir sama seperti flavon, yaitu terdiri dari 2 cincin benzen (A dan B) dan terikat pada cincin C piran heterosiklik, tetapi orientasi cincin B nya berbeda. Pada flavon, cincin B diikat oleh karbon nomor 2 cincin tengah C, sedangkan *isoflavon* diikat oleh karbon nomor 3 (Schmidl dan Labuza, 2000).

Isoflavon merupakan bagian dari *flavonoid* yang banyak ditemukan di dalam kedelai. Kandungan utama *isoflavon* dalam kedelai adalah *genistein* dan *daidzein* walaupun sebenarnya ada banyak kandungan isoflavon lain seperti glycitein dan biochanin A. Kedelai mengandung lebih banyak *genistein* dari pada *daidzein* walaupun rasio ini bervariasi dalam produk kedelai yang berbeda. *Isoflavon* yang merupakan bagian dari fitoestrogen ini memiliki fungsi penting dalam mekanisme pertahanan diri tumbuhan

Genistein merupakan salah satu senyawa polifenol golongan *isoflavon* yang ditemukan pada beberapa tanaman. Jenis tanaman yang paling banyak mengandung

senyawa ini adalah kacang kedelai (*Glycine max*). Secara kimiawi, struktur *genistein* menyerupai struktur estrogen sehingga senyawa ini disebut juga senyawa *fitoestrogen*. Kemiripan struktur ini menyebabkan beberapa sifat *genistein* menyerupai estrogen. Dengan demikian, *genistein* dapat digunakan sebagai pengganti estrogen apabila terjadi gangguan produksi, misalnya pada wanita *postmenopause*. Pemberian *genistein* memiliki beberapa keuntungan dibanding dengan terapi hormon eksogen lain, karena *genistein* dapat berfungsi sebagai antikanker melalui beberapa mekanisme. Mekanisme tersebut antara lain *genistein* dapat berperan sebagai antioksidan, antiangiogenik, inhibitor protein kinas dan inhibitor proliferasi dan metastasis sel kanker. Dengan demikian, asupan bahan makanan yang mengandung *genistein*, seperti beberapa produk kedelai dapat mengurangi risiko penyakit kanker. Salah satu jenis kanker yang pertumbuhannya dapat dicegah dengan pemberian *genistein* adalah kanker paru (Zubik dan Meydani, 2003).

Selain pada tanaman kedelai, senyawa *isoflavon* dapat ditemukan terutama produk - produk olahannya, seperti tahu, tempe, tauco, dan kecap, juga ditemukan pada buah-buahan dan teh hijau. Telah banyak informasi bahwa dengan mengkonsumsi produk kedelai yang cukup tinggi, sangat bermanfaat dalam mencegah berbagai penyakit kardiovaskular (yakni dengan mempertahankan kolesterol pada kadar yang normal), mencegah kanker payudara dan prostat, mencegah osteoporosis, dan mengurangi berbagai gejala serta keluhan *menopause*. Hal tersebut dikarenakan potensi senyawa *isoflavon* pada produk kedelai yang dapat mengendalikan penyakit tertentu (Achdiat, 2003).

III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat penelitian (2) Metode Penelitian dan (3) Prosedur Penelitian.

3.1. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dasar yang digunakan dalam pembuatan *Dark Chocolate* adalah *cocoa powder*, *cocoa butter*, gula tepung, *milk powder*, mentega putih, *soy powder*, *green tea* semua bahan tersebut diperoleh dari toko bahan kue di Jl. Naripan No.52 Bandung dan lesitin kedelai dari laboratorium penelitian Program Studi Teknologi Pangan.

Bahan yang digunakan dalam analisis yaitu adalah aquadest, standar *alkaloid*, standar *flavonoid*, standar *catechin*, standar *genistein*, N-Hexan 450 mL, kloroform 450 mL, metanol *liquid chromatography gradd mass* 60 mL.

Alat yang digunakan dalam pembuatan *Dark Chocolate* adalah timbangan digital, *mixer* untuk mencampurkan adonan, *concher*, panci *stainless steel* untuk wadah pengadukan adonan, *aluminium foil*, spatula, sendok untuk mengambil bahan, cetakan sebagai wadah hasil adonan, kain lap dan lemari es.

Alat yang digunakan dalam analisis yaitu Spektrofotometri UV-Vis, *Micropore Filter* 0,45 μ L (*Sartorius Minisart Non Sterilrc*), HPLC untuk identifikasi *catechin* menggunakan HPLC *LiCrosper*[®] 5 μ m 100 RP-18e *column* (125 x 4 mm), *flowrate* 1 mL/min, volume injeksi 20 μ L, menggunakan *syringe* 50 μ L dan *loop* 20 μ L. Eluen yang digunakan adalah H₂O 60% dan Metanol 40%. Sementara untuk mengidentifikasi *genistein* menggunakan HPLC *Simadzu* dengan kolom *Lichrospher*[®] (Non Polar), menggunakan *syringe* 50 μ L dan *loop* 20 μ L,

eluennya asetonitril 60 %, dapar asetat 10 % dan aquadest 30 % dengan kolom *Supel Cocil LC-18-DB* (250 x 4,1 mm, i.d.54 μm), *flowrate* 1mL/min, volume injeksi 20 μL , Detektor sinar UV pada panjang gelombang 263 nm dengan suhu oven menggunakan suhu kamar, *rotary evaporator*, sentrifugator, gelas kimia, gelas ukur, timbangan, pisau, kertas saring, corong, cawan penguap, *waterbath*, batang pengaduk, vial, pipet filler, pipet volum, pipet mikron, pipet tetes dan neraca digital.

3.2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan, yaitu:

Penelitian terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis, dan rancangan respon.

1. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan pada penelitian tahap 1 terdiri dari dua faktor, yaitu perbandingan antara *soy powder* dengan *milk powder* (a), serta konsentrasi *green tea* (b).

a. Faktor perbandingan konsentrasi antara *soy powder* dengan *milk powder* (A) berdasarkan jumlah persentasi kedua bahan baku yang ditambahkan sebanyak 20,44% terdiri dari 3 taraf, yaitu:

$$a1 = 1 : 0$$

$$a2 = 1 : 1$$

$$a3 = 0 : 1$$

b. Faktor konsentrasi *green tea* (B) terdiri dari 3 taraf, yaitu:

$$b1 = 6\%$$

$$b_2 = 8\%$$

$$b_3 = 10\%$$

2. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan pola faktorial 3 x 3, setiap perlakuan diulang tiga kali (Gaspersz,1995).

Model percobaan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = Nilai pengamatan dari kelompok ke-k, yang memperoleh taraf ke-i dari faktor (A), taraf ke-j dari faktor (B).

μ = Nilai rata-rata sebenarnya

A_i = Pengaruh perlakuan taraf ke-i Faktor konsentrasi (B)

B_j = Pengaruh perlakuan taraf ke-j Faktor konsentrasi (A)

$(AB)_{ij}$ = Pengaruh interaksi antara taraf ke-i dan taraf ke-j

i = 1,2,3 (banyaknya variasi perbandingan *soy powder* dengan *milk powder* (a1,a2,a3)).

j = 1,2,3 (banyaknya variasi konsentrasi *green tea matcha* b1,b2, b3))

k = 1,2,3 (banyaknya ulangan)

ϵ_{ijk} = Pengaruh galat karena kombinasi perlakuan ij

Tabel 5. Rancangan Acak Kelompok Dengan Desain Faktorial 3 x 3

Perbandingan <i>soy powder</i> dengan <i>milk</i> <i>powder</i> (a)	Konsentrasi <i>Green tea</i> <i>matcha</i> (b)	Kelompok		
		1	2	3
1 : 0 (a1)	6% (b1)	1 : 0b1	1 : 0b1	1 : 0b1
	8% (b2)	1 : 0b2	1 : 0b2	1 : 0b2
	10% (b3)	1 : 0b3	1 : 0b3	1 : 0b3
1 : 1 (a2)	6% (b1)	1 : 1b1	1 : 1b1	1 : 1b1
	8% (b2)	1 : 1b2	1 : 1b2	1 : 1b2
	10% (b3)	1 : 1b3	1 : 1b3	1 : 1b3
0 : 1 (a3)	6% (b1)	0 : 1b1	0 : 1b1	0 : 1b1
	8% (b2)	0 : 1b2	0 : 1b2	0 : 1b2
	10% (b3)	0 : 1b3	0 : 1b3	0 : 1b3

Tabel 6. Denah (*Layout*) Rancangan Acak Kelompok (RAK) 3 x 3

Kelompok I								
1 a1b2	2 a2b1	3 a2b3	4 a3b1	5 a1b1	6 a2b2	7 a3b3	8 a1b3	9 a3b2
Kelompok II								
10 a1b1	11 a3b3	12 a2b1	13 a3b1	14 a2b3	15 a2b2	16 a1b3	17 a3b2	18 a1b2
Kelompok III								
19 a2b2	20 a2b1	21 a1b3	22 a3b1	23 a1b2	24 a3b2	25 a2b3	26 a3b3	27 a1b1

Sumber: Garspersz, 1995.

3. Rancangan Analisis

Rancangan analisis dapat dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dicobakan terhadap respon yang diteliti, yang disusun pada tabel Analisis Variasi (ANAVA) untuk mendapatkan kesimpulan mengenai pengaruh perlakuan. Analisis ragam pengaruh terhadap respon yang diteliti dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Analisis Variasi (ANAVA)

Sumber Keceragaman	Derajat bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F Hitung	F Tabel 5%
Kelompok	r-1	JKK	JKK/(r-1)	-	-
Perlakuan	ab-1	JKP	-	-	-
A	a-1	JK(A)	KT(A)	KT(A)/KTG	-
B	b-1	JK(B)	KT(B)	KT(B)/KTG	-
Interaksi (AxB)	(a-1)(b-1)	JK(AxB)	KT(AxB)	KT(AxB)/KTG	-
Galat	(ab)(b-1)	JKG	KTG		
Total	abr-1	JKT			

Sumber: Garspersz, 1995.

Kesimpulan dari hipotesis di atas adalah hipotesis diterima jika ada pengaruh nyata antara rata-rata dari masing-masing perlakuan atau disebut berbeda nyata. Hipotesis ditolak jika tidak ada pengaruh dari masing-masing perlakuan (Gaspersz, 1995).

$$H_0 \text{ diterima (} H_1 \text{ ditolak)} \longrightarrow (F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}})$$

$$H_0 \text{ ditolak (} H_1 \text{ diterima)} \longrightarrow (F_{\text{hitung}} \geq F_{\text{tabel}})$$

Analisis dilakukan apabila terdapat pengaruh nyata antara rata-rata dari masing-masing perlakuan ($F_{\text{hitung}} \geq F_{\text{tabel}}$) adalah dengan melakukan uji lanjut menggunakan uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui kelompok sampel yang memiliki perbedaan mencolok (Gaspersz, 1995).

Penelitian meliputi pembuatan preparasi sampel *dark chocolate*, pembuatan larutan blanko serta identifikasi senyawa aktif *alkaloid* total dan *flavonoid* total menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis sedangkan untuk menentukan identifikasi *catechin* pada *flavonoid* yang bersumber dari *green tea matcha* dan *isoflavan* jenis *genistein* yang bersumber dari *soy powder* menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

3.3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dalam pembuatan *Dark Chocolate* beserta analisis senyawa aktifnya.

3.3.1. Deskripsi Penelitian

Prosedur pembuatan produk *Dark Chocolate* adalah sebagai berikut :

1. Persiapan bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan produk *Dark Chocolate* adalah coklat bubuk (*cocoa powder*), lemak kakao (*cocoa butter*), mentega putih, gula tepung, lesitin, *milk powder*, *soy powder*, dan *green tea*. Bahan-bahan yang telah dipersiapkan dilakukan penimbangan sesuai basis yang telah di tentukan.

2. Pencampuran I

Coklat bubuk (*cocoa powder*) dan lemak kakao (*cocoa butter*) dicampurkan untuk mendapatkan adonan cokelat cair. Alat yang digunakan adalah kompor gas dengan 1 panci besar sebagai media penghantar panas dan 1 panci kecil sebagai wadah pencampuran dengan waktu 30 menit dan dengan suhu yang digunakan yaitu 45°C hingga didapat adonan cokelat cair.

3. Pencampuran II (*Conching*)

Hasil pencampuran I, gula tepung, mentega putih, *milk powder*, *soy powder*, *green tea* dicampurkan secara langsung sesuai dengan formulasinya sedangkan lesitin dicampurkan 2 jam sebelum proses *conching* selesai dengan menggunakan *cocnher* pada suhu 60°C dengan waktu 6 jam.

4. Pencampuran III

Hasil pencampuran II dipindahkan ke dalam panci kecil dan dilakukan pencampuran serta pemanasan secara tidak langsung diatas media air panas dalam panci besar dengan *green tea* pada masing-masing perlakuan selama 10 menit dengan suhu air $\pm 60^{\circ}\text{C}$.

5. Pencetakan

Adonan hasil pencetakan III di lakukan pencetakan dengan menggunakan cetakan yang telah di sediakan, adonan tersebut dicetak.

6. *Tempering*

Adonan hasil pencampuran II yang telah di cetak di diamkan pada suhu kamar sampai adonan tersebut agak dingin atau suhunya turun. Adonan tersebut didiamkan selama 10 menit atau sampai adonan tersebut memiliki suhu $\pm 27^{\circ}\text{C}$.

7. Pendinginan

Adonan yang telah dilakukan *tempering*, dilakukan pendinginan kembali pada suhu $\pm 15^{\circ}\text{C}$ selama 6 jam di dalam lemari es.

Pada penelitian selanjutnya dilakukan preparasi sampel *dark chocolate* untuk dilakukan analisis penentuan kadar total senyawa aktif *alkaloid* dan *flavonoid*

dengan metode spektrofotometri serta menghitung kadar senyawa aktif *catechin* dan *isoflavon* jenis *genistein* dengan metode HPLC.

3.3.2.1. Preparasi sampel *Dark Chocolate*

Prosedur preparasi sampel *Dark Chocolate* adalah sebagai berikut :

1. Penimbangan

Produk *dark chocolate* yang didapat ditimbang 5 gram menggunakan timbangan digital.

2. Pemotongan

Dark chocolate yang telah ditimbang lalu dipotong menggunakan pisau hingga halus agar pada saat dimasukkan kedalam kertas saring dibuat kantung gelas kimia.

3. Maserasi

Proses maserasi diawali dengan mengisi gelas kimia dengan N – Hexan 150 mL beserta sampel yang telah dimasukkan kedalam kertas saring dilakukan perendaman selama 4 jam, selanjutnya sampel dipisahkan dan larutan N-hexan dibuang dimana proses ini dilakukan 2 kali untuk menghilangkan lemak.

4. Maserasi Kembali

Residu hasil penyaringan diangin – anginkan lalu dimaserasi kembali dengan pelarut kloroform yang selanjutnya ekstrak sari kloroform dan ampasnya diekstrak kembali, proses ini dilakukan 2 kali untuk menghilangkan lemaknya dan selanjutnya sampel dalam kertas saring diangin – anginkan. Lalu sampel dilarutkan dengan metanol *grad mass chromatograph* dalam 10 mL labu ukur.

5. Evaporasi

Ekstrak hasil maserasi yang didapat dipekatkan menggunakan *Rotary Evaporator* lalu dikakukan pengisian kedalam botol sampel. Diagram alir prosedur preparasi sampel *dark chocolate* dapat dilihat pada Gambar 6.

Analisis senyawa aktif kadar total *Alkaloid* dan *Flavonoid*

Prosedur pembuatan analisis senyawa aktif kadar total *alkaloid* dan *flavonoid* adalah sebagai berikut :

1. Membuat larutan standar

Membuat larutan standar *alkaloid* untuk penentuan kadar total *alkaloid* yang dilarutkan kedalam 100 mL etanol dibuat konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Lalu diukur absorbansi pada panjang gelombang 200 - 400 nm. Diagram alir pembuatan larutan standar *alkaloid* dapat dilihat pada Gambar 7.

Membuat larutan standar *flavonoid* untuk penentuan kadar total *flavonoid* dalam 50 mL etanol dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm, 3 ppm dan 5 ppm. Lalu diukur serapannya dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 200 - 400 nm. Diagram alir pembuatan larutan standar *alkaloid* dapat dilihat pada Gambar 8.

2. Penentuan panjang Gelombang tertinggi

Masing – masing larutan dimasukan kedalam kuvet lalu dengan menggunakan spektrofotometer dicari panjang gelombang tertinggi dari 200 – 400.

3. Persiapan sampel dan larutan standar

Sampel hasil preparasi beserta larutan standar masing – masing senyawa aktif disiapkan dan dimasukan kedalam kuvet.

4. Pengukuran transmittan sampel

Pengukuran transmittan diawali dengan larutan standar lalu sampel dengan menggunakan panjang gelombang maksimal.

Diagram alir prosedur analisis kadar total senyawa aktif *alkaloid* dan *flavonoid* metode spektrofotometri dapat dilihat pada Gambar 9.

Analisis senyawa aktif *catechin* dan *genistein*

Prosedur analisis senyawa aktif *catechin* dan *genistein* pada penelitian tahap 3 adalah sebagai berikut :

1. Persiapan sampel

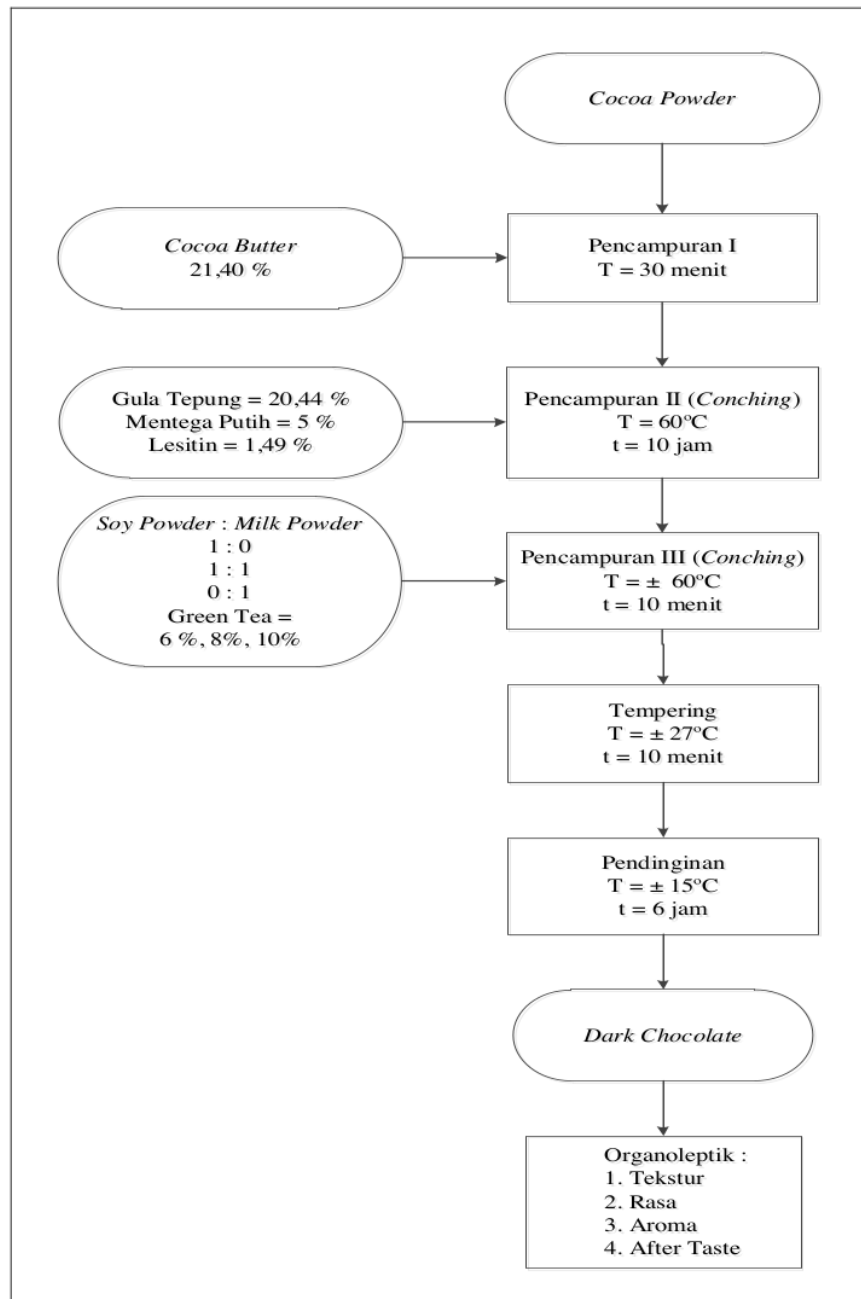
Ekstrak dari masing – masing senyawa aktif ditimbang 0,5 gram untuk *catechin* dan 5 gram untuk *genistein* gram lalu dilarutkan dengan metanol *grad mass chromatography* dalam 10 mL labu ukur.

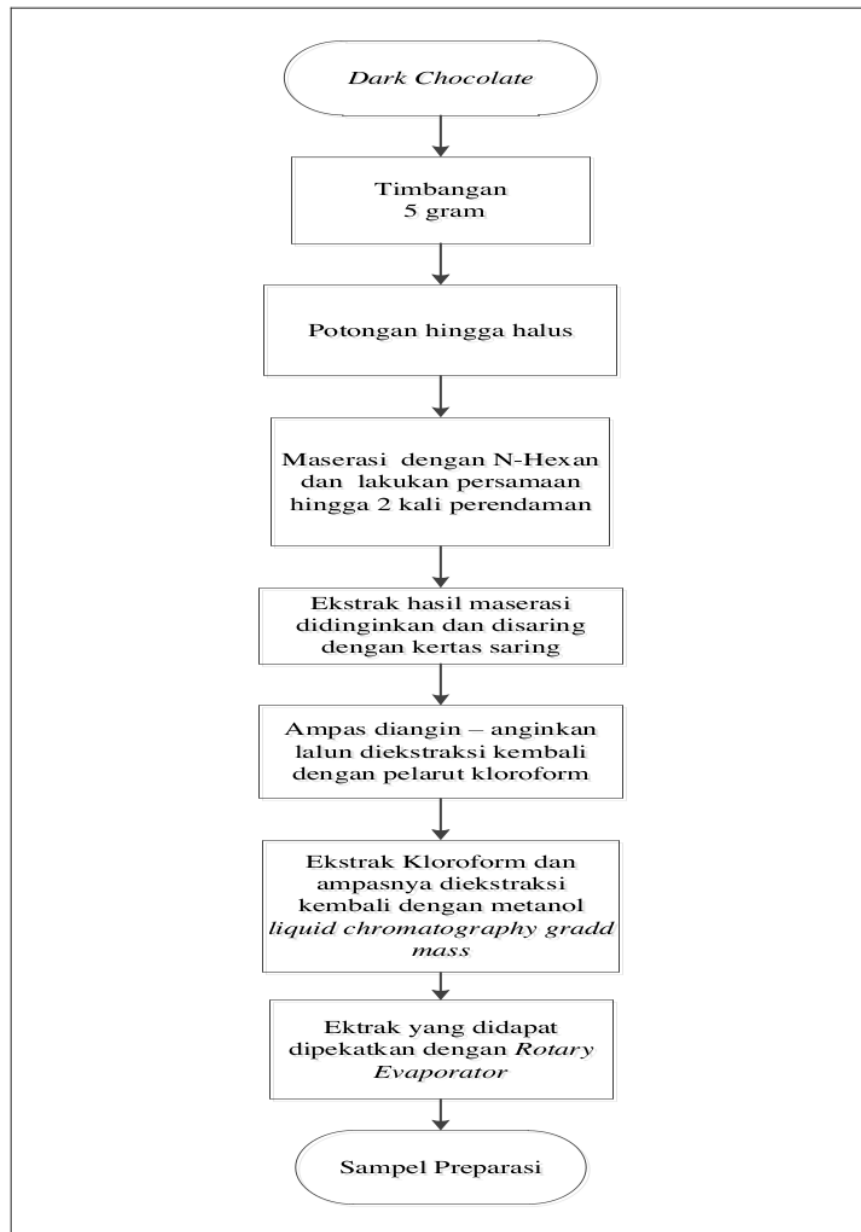
2. Filtrasi

Ekstrak senyawa aktif dari *dark chocolate* yang telah larut dengan metanol *grad mass chromatography* lalu penyaringan dengan *Micropore Filter 0,45 μ L (Sartorius Minisart Non Sterilrc)*.

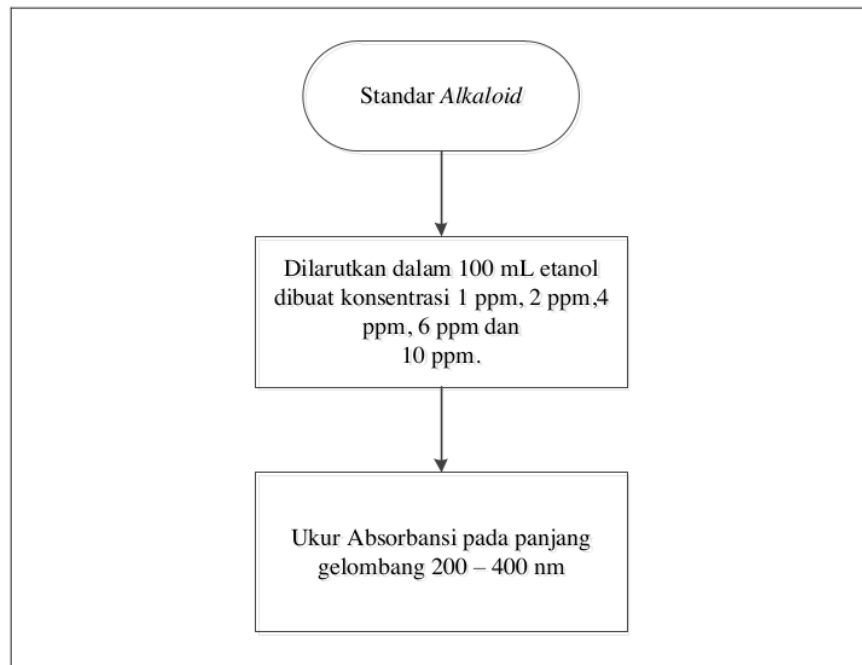
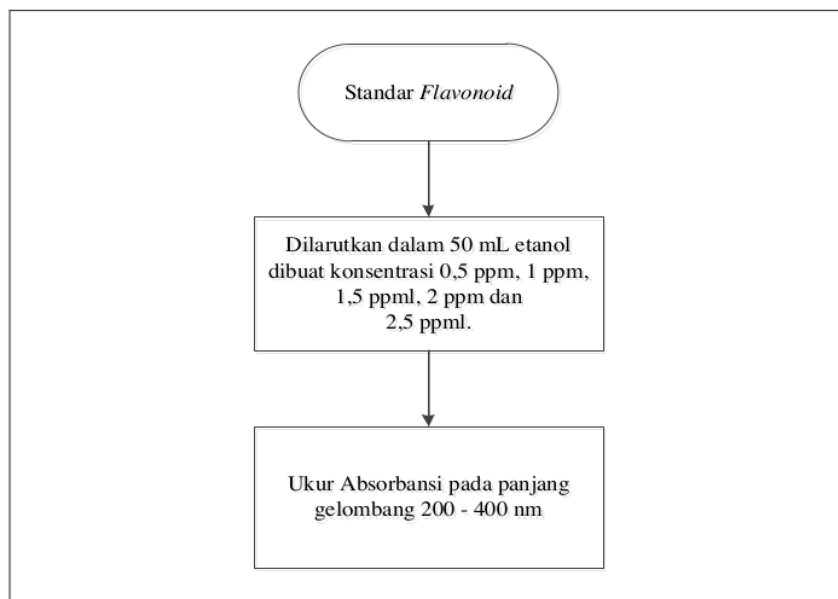
3. Analisis menggunakan HPLC

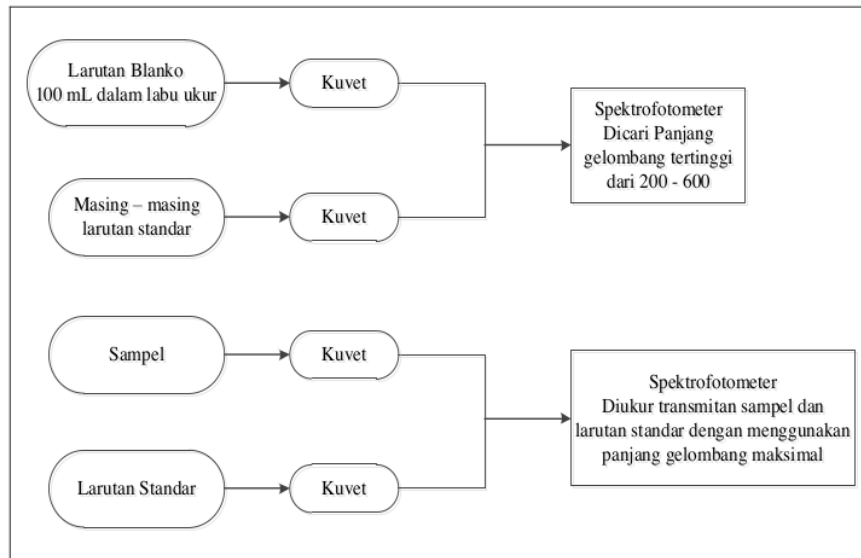
Hasil sentrat dari proses filtrasi diambil 20 μ L menggunakan alat injeksi lalu diinjeksikan kedalam HPLC dan dianalisis dengan pembanding standar *catechin* dan *isoflavan* jenis *genistein* standar. Diagram alir prosedur analisis senyawa aktif *catechin* dan *genistein* dapat dilihat pada Gambar 10.

Diagram Alir Penelitian Pembuatan *Dark Chocolate*

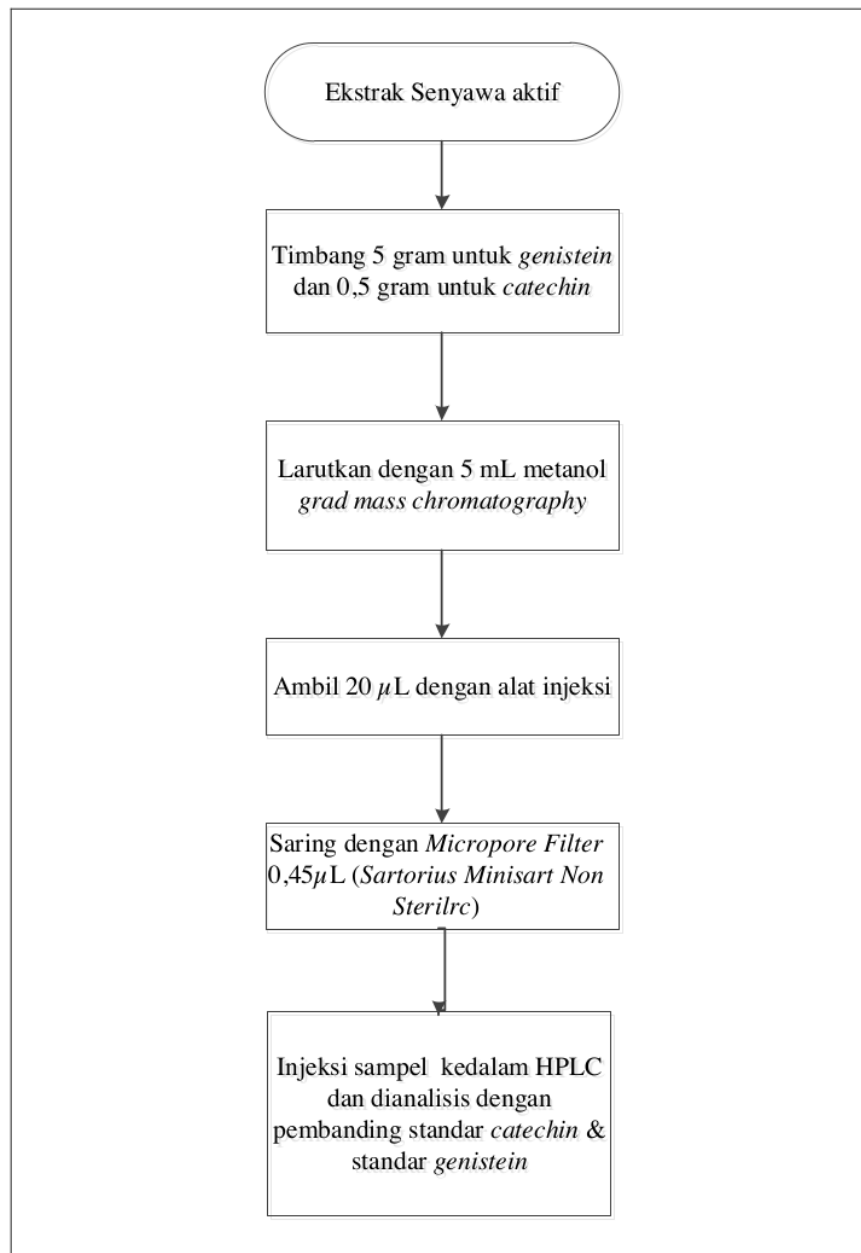


Prosedur Preparasi Sampel *Dark Chocolate*

Prosedur Pembuatan standar *Alkaloid*Prosedur Pembuatan standar *Flavonoid*



Prosedur Analisis Kadar Total *Alkaloid* dan *Flavonoid* aktif Menggunakan Spektrofotometri



Prosedur Analisis Senyawa Aktif *Catechin* dan *Genistein* menggunakan HPLC

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi sampel

Penelitian tahap 2 diawali dengan preparasi sampel terpilih dengan metode maserasi. Sampel 165, 372 dan 683 masing – masing ditimbang 5 gram lalu dipotong halus dan dimasukkan kedalam kertas saring yang sudah dibentuk kantung kecil. Selanjutnya dimaserasi dengan N-Hexan selama 2 jam lalu dengan kloroform 2 jam tujuannya adalah untuk menghilangkan lemak pada sampel *dark chocolate*. Setelah itu dilakukan maserasi kembali dengan pelarut organik *methanol liquid chromatography grade mass* unuk mengekstrak senyawa aktif dalam *dark chocolate* selanjutnya dipekatkan dengan alat *rotary evaporator*.

Maserasi dalam bahasa latin *macerare* yang artinya merendam. Cara ini merupakan salah satu cara ekstraksi, dimana sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu. Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*), penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam bubuk sampel dalam cairan penyari yang sesuai selama waktu tertentu pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah. Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses

maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan (Putri, 2013).

Prinsip *rotary evaporator* adalah proses pemisahan ekstrak dari cairan penyarinya dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu, cairan penyari dapat menguap 5-10 °C di bawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap larutan penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul - molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu penampung. Prinsip ini membuat pelarut dapat dipisahkan dari zat terlarut di dalamnya tanpa pemanasan yang tinggi (Rachman, 2009).

Analisis Kadar Total *Alkaloid*

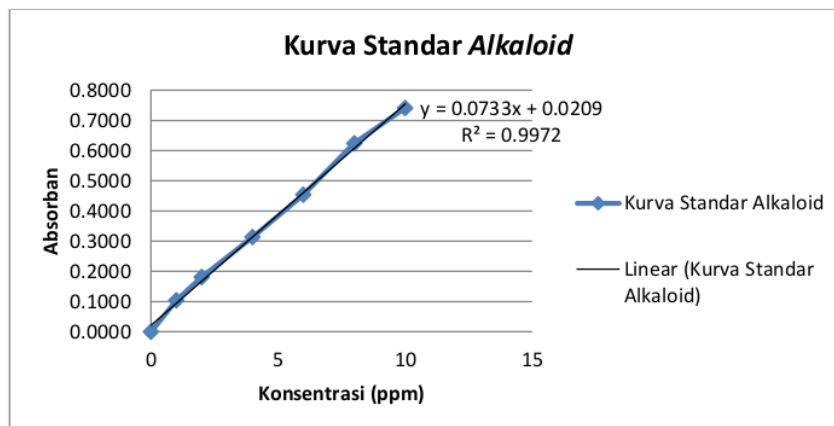
Berdasarkan hasil pengamatan analisis kadar total *alkaloid* didapat bahwa kadar total *alkaloid* tertinggi pada sampel 683 sebanyak 4,73 %, sampel 165 sebanyak 4,61 % dan sampel 372 sebanyak 4,66 %. Analisis kadar total *alkaloid* diawali dengan membuat grafik standar *alkaloid* dengan berbagai konsentrasi, sehingga dapat diketahui absorbansinya serta panjang gelombang maksimum *alkaloid* 352 dengan nilai $y = 0,0733x + 0,0209$ dan $R^2 = 0,9972$.

Pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-400 nm) dan sinar tampak (400-800 nm) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya UV atau cahaya tampak mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Panjang gelombang cahaya uv atau cahaya tampak bergantung pada mudahnya promosi elektron. Molekul- molekul yang memerlukan lebih banyak

energi untuk promosi elektron, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energi lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak (senyawa berwarna) mempunyai elektron yang lebih mudah dipromosikan dari pada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang lebih pendek (Herliani, 2008).

Standar Alkaloid

No	Konsentrasi (ppm)	Absorban
1	0	0,0000
2	1	0,1046
3	2	0,1816
4	4	0,3136
5	6	0,4541
6	8	0,6246
7	10	0,7409



Dilihat dari kurva standar *alkaloid* diatas semakin tinggi konsentrasi standar *alkaloid* maka semakin besar pula absorbansinya. Nilai R yang didapat 0,9972 ini menunjukkan terbentuk garis lurus linear pada rentang konsentrasi yang dibuat

karena standar terbentuknya garis lurus linear pada rentang 0,7 sampai 1,0 sehingga dapat disimpulkan bahwa tingkat kesalahannya kecil. Pengukuran kadar total *alkaloid* dilakukan duplo untuk setiap sampelnya karena dibutuhkan pembanding untuk mengukur absorbansi agar data hasil pengamatan valid. Setelah dilakukan perhitungan absorbansi dari masing – masing sampel duplo hasilnya hampir sama untuk setiap sampelnya.

Tabel Hasil Perhitungan Kadar *Alkaloid*

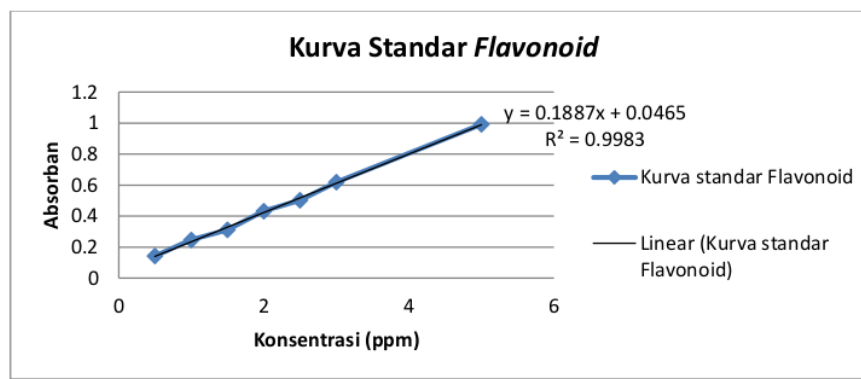
No	Nama sampel	Berat sampel (Gram)	Absorban	Pengenceran	Kadar (ppm)	Kadar (%)
1	683	5,0214	0,3686	100	237,18	4,72
2	683	5,0214	0,3688	100	237,31	4,73
3	165	5,1006	0,3653	100	234,92	4,61
4	165	5,1006	0,3654	100	234,99	4,61
5	372	5,0031	0,363	100	233,36	4,66
6	373	5,0031	0,3629	100	233,29	4,66

Analisis Kadar Total *Flavonoid*

Berdasarkan hasil pengamatan analisis kadar total *flavonoid* didapat bahwa kadar total *flavonoid* tertinggi pada sampel 683 sebanyak 1,21 %, sampel 165 sebanyak 1,17 % dan sampel 372 sebanyak 1,18 %. Analisis kadar total *flavonoid* diawali dengan membuat grafik standar *flavonoid* dengan berbagai konsentrasi, sehingga dapat diketahui absorbansinya serta panjang gelombang maksimum *flavonoid* 432,5 nm dengan $y = 2,9481x + 14,842$ $R^2 = 0,9961$. Kurva Panjang gelombang maksimum *flavonoid*.

Standar *Flavonoid*

No	Konsentrasi (ppm)	Absorban
1	0,5	0,1432
2	1	0,2472
3	1,5	0,3122
4	2	0,4327
5	2,5	0,5032
6	3	0,6195
7	5	0,9926



Dilihat dari kurva standar *flavonoid* diatas semakin tinggi konsentrasi standar *flavonoid* maka semakin besar pula absorbansinya. Nilai R yang didapat 0,9961 ini menunjukkan terbentuk garis lurus linear pada rentang konsentrasi yang dibuat karena standar terbentuknya garis lurus linear pada rentang 0,7 sampai 1,0 sehingga dapat disimpulkan bahwa tingkat kesalahannya kecil. Pengukuran kadar total *flavonoid* dilakukan duplo untuk setiap sampelnya karena dibutuhkan pembandingan untuk mengukur absorbansi agar data hasil pengamatan valid. Setelah dilakukan perhitungan absorbansi dari masing – masing sampel duplo hasilnya hampir sama untuk setiap sampelnya. Hasil perhitungan kadar total *flavonoid* sebagai berikut:

Hasil Perhitungan Kadar *flavonoid*

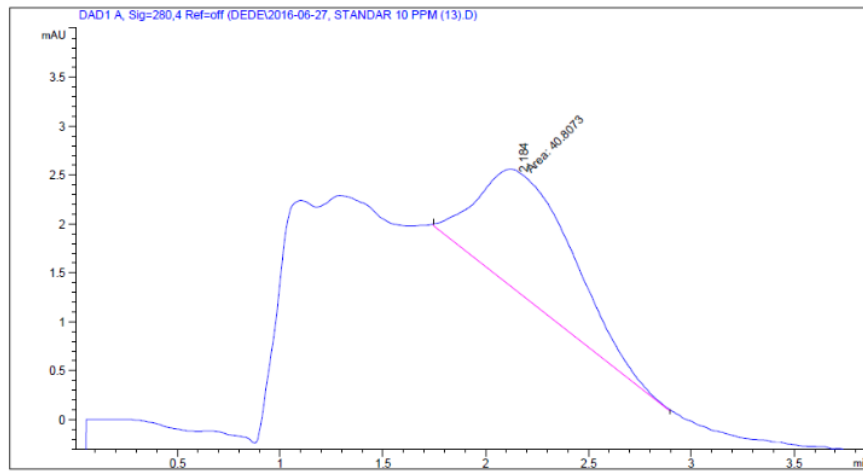
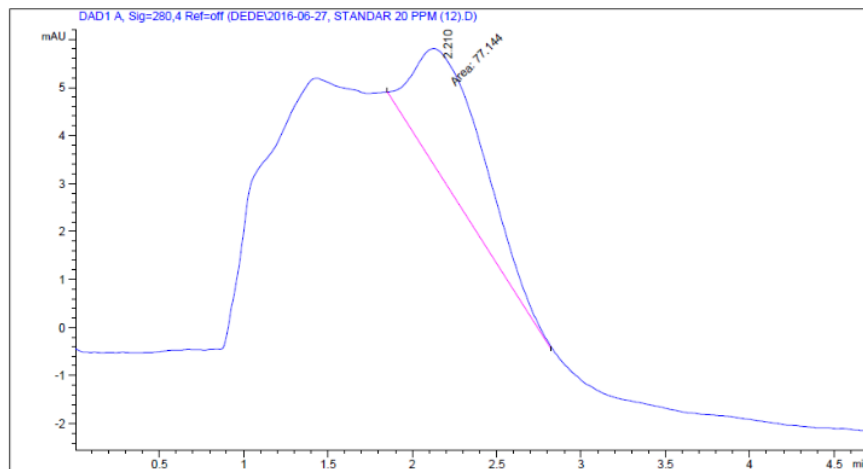
No	Nama sampel	Berat sampel (Gram)	Absorban	Pengenceran	Kadar (ppm)	Kadar (%)
1	683	5,0214	0,2754	50	60,65	1,21
2	683	5,0214	0,2756	50	60,70	1,21
3	165	5,1006	0,2721	50	59,78	1,17
4	165	5,1006	0,2722	50	59,80	1,17
5	372	5,0031	0,2698	50	59,17	1,18
6	373	5,0031	0,2697	50	59,14	1,18

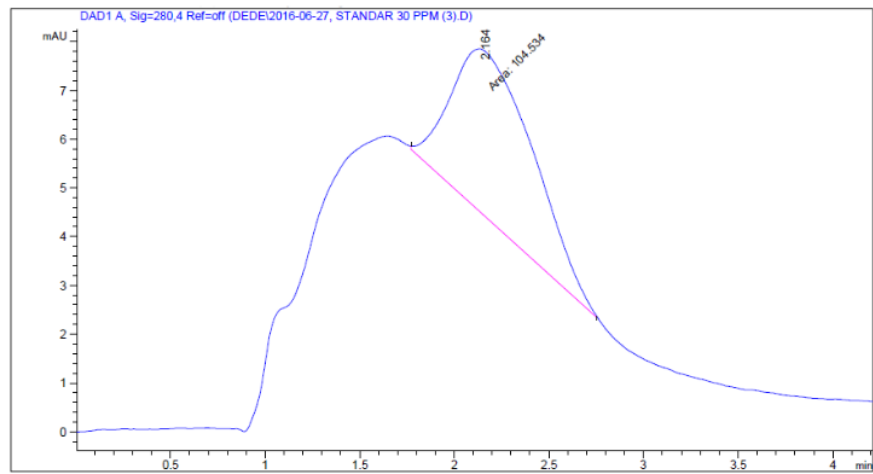
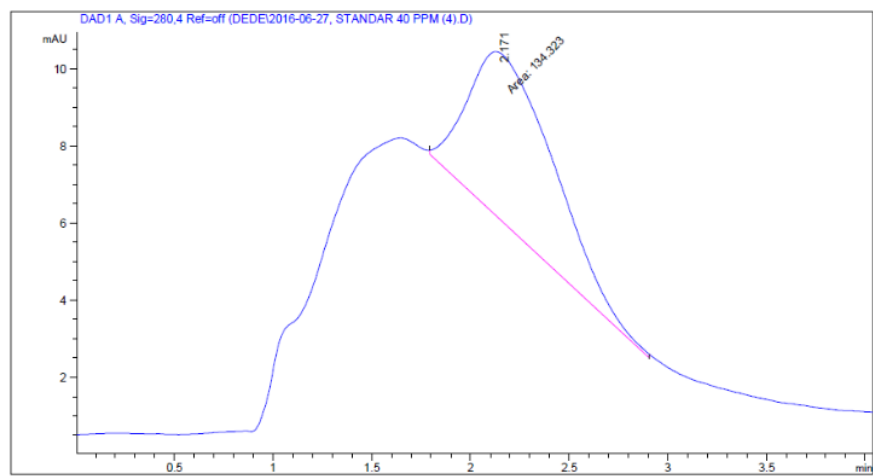
Analisis Kadar *Catechin* Metoda HPLC

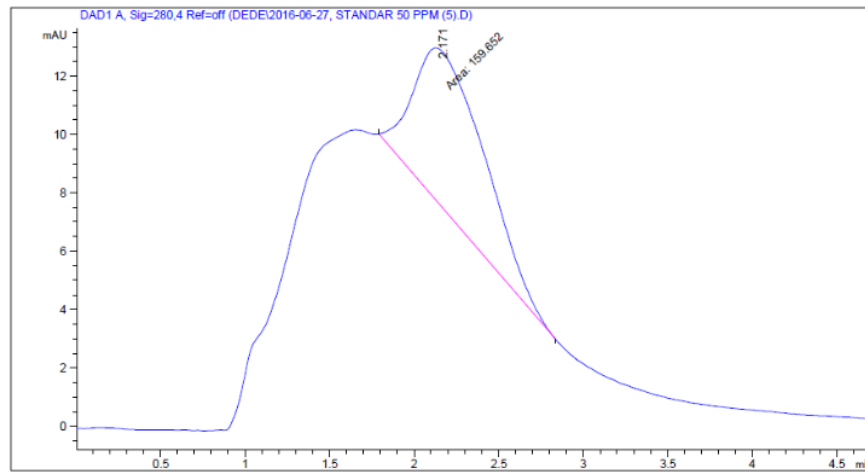
Berdasarkan hasil pengamatan analisis kadar *catechin* didapat bahwa kadar *catechin* tertinggi pada sampel 165 sebanyak 0,40%, sampel 372 sebanyak 0,65% dan sampel 683 sebanyak 0,81%. Analisis senyawa aktif kadar *catechin* dengan metode HPLC diawali dengan membuat kurva kalibrasi dengan berbagai konsentrasi sebagai acuan untuk menentukan *peak* dari senyawa aktif *catechin*. HPLC yang digunakan adalah *LiCrosper 5 μ m 100 RP-18e column (125 x 4 mm)*, menggunakan *syringe 50 μ L* dan *loop 20 μ L*. Eluen yang digunakan adalah H₂O 60% dan Metanol 40% dengan panjang gelombang maksimumnya 280 nm.

Standar *Catechin*

Konsentrasi (ppm)	Area (mAU)
10	40,8073
20	77,144
30	104,534
40	134,323
50	159,625

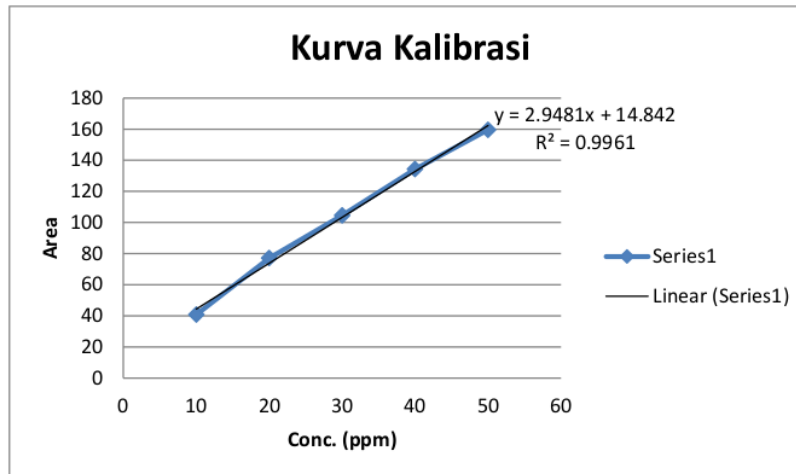
Standar *Catechin* konsentrasi 10 ppmStandar *Catechin* Konsentrasi 20 ppm

Standar *Catechin* Konsentrasi 30 ppmStandar *Catechin* Konsentrasi 40 ppm



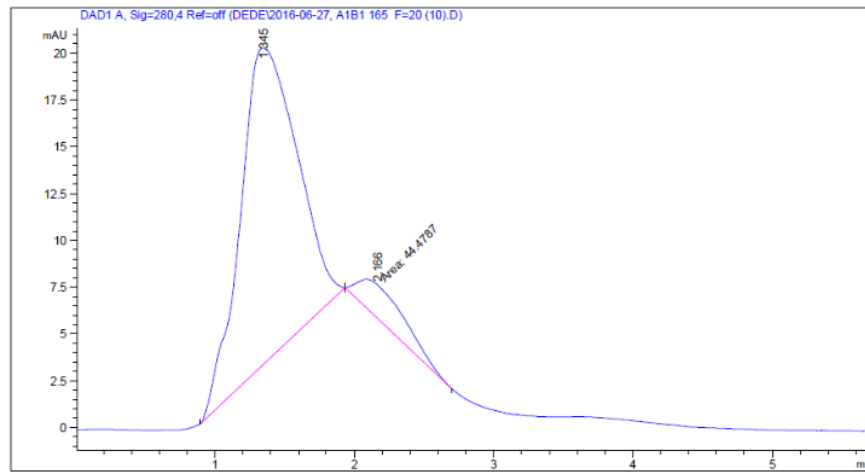
Standar Catechin konsentrasi 50 ppm

Hasil pengamatan dari kelima konsentrasi standar *catechin* diantaranya pada konsentrasi 10 ppm *retention time* 2,184 dan *area* 40,8073 mAU, konsentrasi 20 ppm *retention time* 2,210 menit dan *area* 77,144 mAU, konsentrasi 30 ppm *retention time* 2,164 menit dan *area* 104,534 mAU, konsentrasi 40 ppm *retention time* 2,171 menit dan *area* 134,323 mAU, serta konsentrasi 50 ppm *retention time* 2,171 menit dan *area* 159,652 mAU. Dilihat dari hasil *peak* pada masing - masing konsentrasi memiliki perbedaan AUC (*Area Under The Curve*) yang sangat terlihat jelas sesuai dengan kepekatan konsentrasi standar *catechin* sementara untuk hasil *retention time* dari masing – masing konsentrasi relatif sama maka dari itu dapat disimpulkan bahwa standar *peak* dari *catechin* berada pada kisaran *retention time* 2,18 menit. Kurva kalibrasi dapat sebagai berikut:

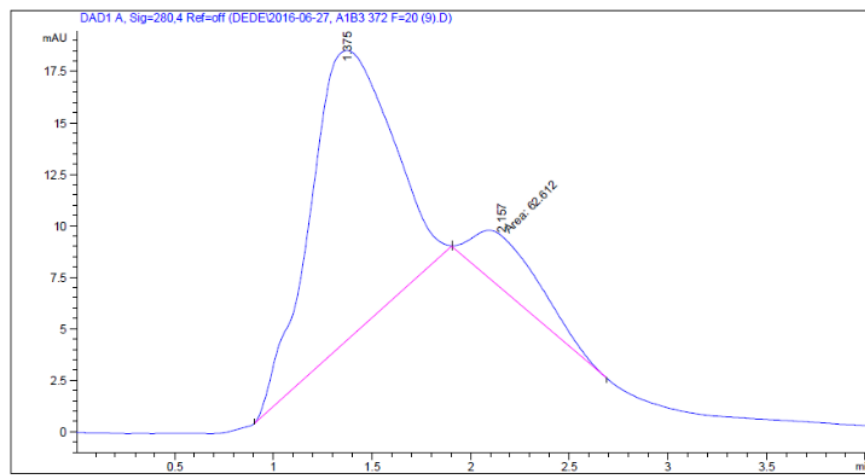


Kurva Kalibrasi Standar *Catechin*

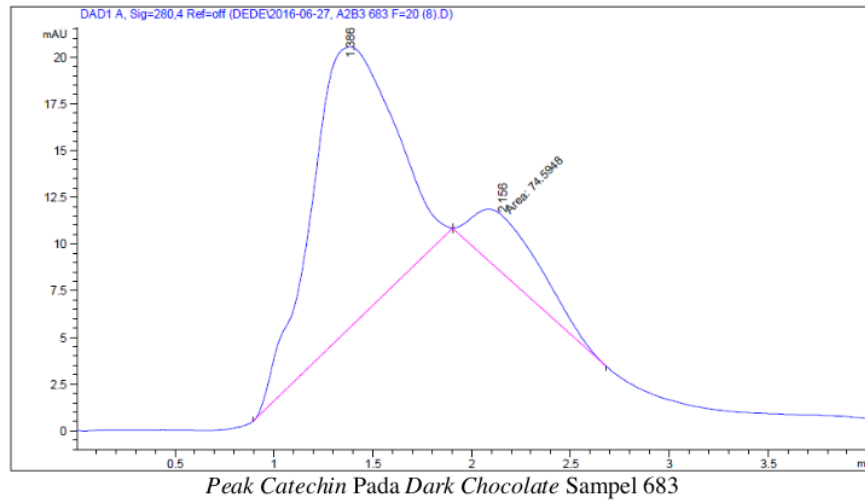
Setelah didapat kurva standar *catechin* pada *retention time* kisaran 2 menit maka dapat dilakukan pengukuran sampel untuk mengukur kadar *catechin*, dimana pada sampel 165 *retention time* pada 2,166 menit dan area (AUC) pada 44,4787 mAU, sampel 372 *retention time* pada 2,157 menit dan area (AUC) pada 62,612 mAU serta sampel 683 *retention time* pada 2,156 menit dan area (AUC) pada 74,5948 mAU. *Peak* dari *catechin* untuk ketiga sampel tersebut dapat dilihat pada gambar 23, 24 dan 25 serta untuk hasil perhitungan kadar *catechin* pada sampel *dark chocolate* dapat dilihat pada Tabel 19.



Peak Catechin Pada *Dark Chocolate* Sampel 165



Peak Catechin Pada *Dark Chocolate* Sampel 372



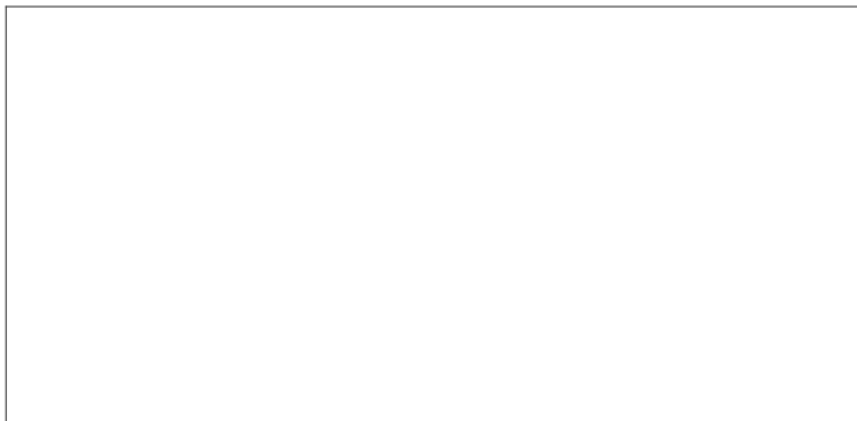
Hasil Perhitungan Kadar *Catechin* metoda HPLC

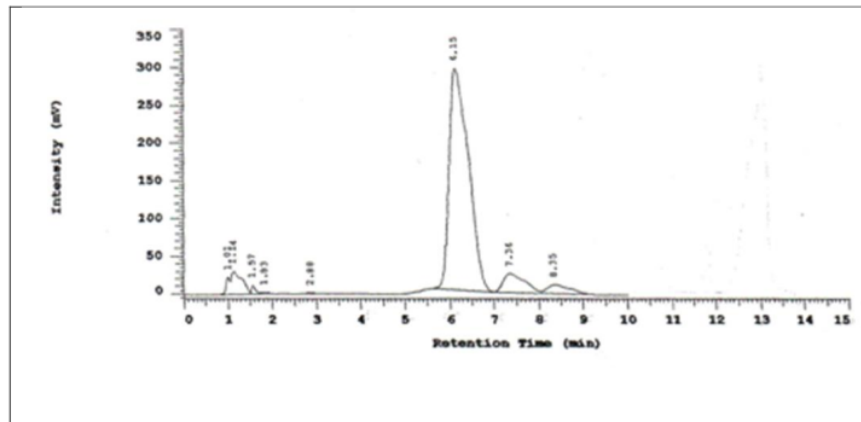
No.	Sampel	Berat di timbang (gr)	Area (mAU)	Conc. (ppm)	fp	Conc. (ppm)	(%) w/w
1	165	0,5002	44,4787	10,05	20	201,08	0,40%
2	372	0,4992	62,612	16,20	20	324,10	0,65%
3	683	0,5008	74,5948	20,27	20	405,39	0,81%

Analisis Kadar *Genistein* Metoda HPLC

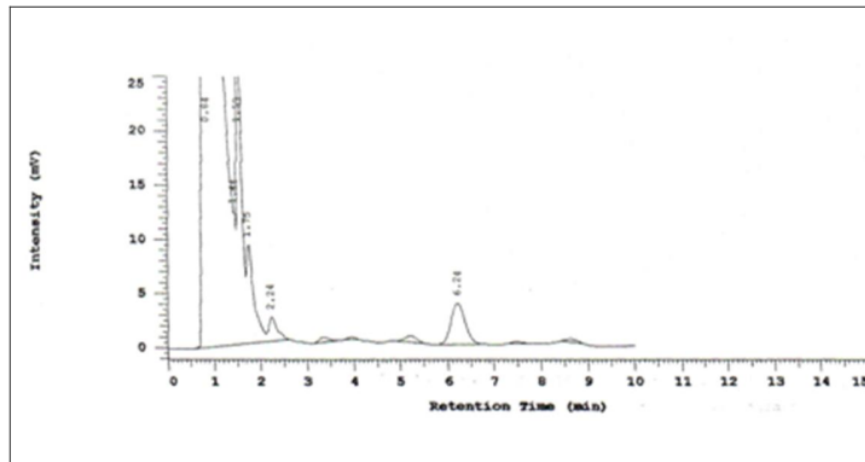
Standar *Genistein*

No	Konsentrasi	Nama File	RT (Ratting Time)	AUC (Area Under The Curve)
1	10 ppm	0100	6.15	8703607

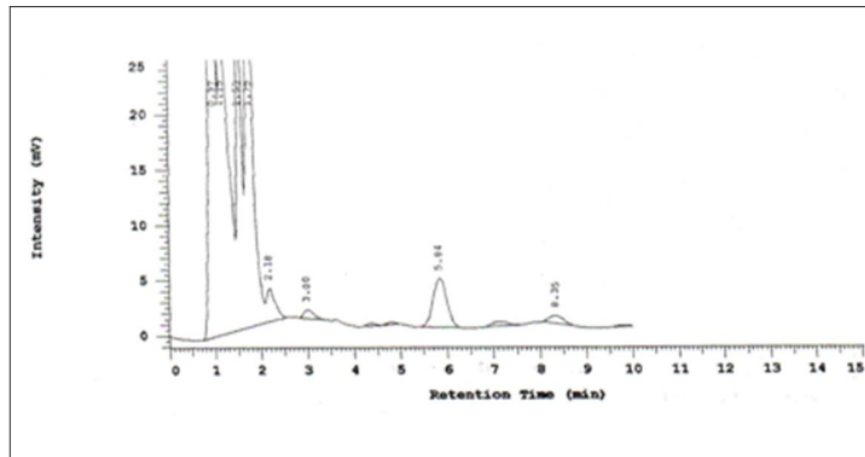


Standar *Genistein*

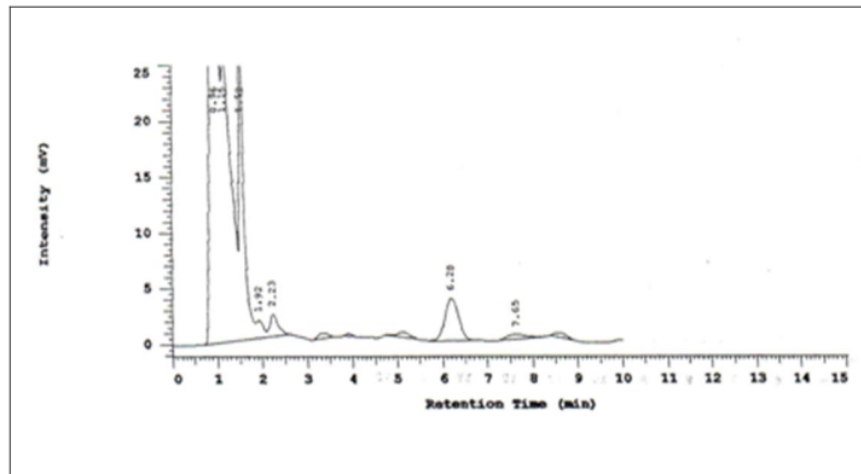
Berdasarkan hasil pengamatan analisis kadar *genistein* didapat bahwa kadar *genistein* pada sampel 165 sebanyak 0,18%, sampel 372 sebanyak 0,17% dan sampel 683 sebanyak 0,20%. Analisis senyawa aktif kadar *genistein* dengan metode HPLC diawali dengan menentukan kurva standar *genistein* dengan *one point method* yakni hanya menggunakan 1 kurva standar dari konsentrasi 10 ppm standar *genistein* maka didapat hasil *retention time* 6,15 menit dan area (AUC) pada 8703607 mAU. Pengukuran standar dengan metode *one point method* dikarenakan standar senyawa aktif *genistein* yang digunakan memiliki tingkat kemurniannya yang sangat tinggi sehingga untuk menentukan *peak* standar dari *genistein* dapat menghasilkan data yang valid cukup dengan 1 konsentrasi. HPLC yang digunakan *Simadzu Lichrospher®* (Non Polar), menggunakan *syringe* 50 μ L dan *loop* 20 μ L, eluennya asetonitril 60 %, dapar asetat 10 % dan aquadest 30 % dengan kolom *Supel Cocil LC-18-DB* (250 x 4,1 mm, i.d.54 μ m), *flowrate* 1mL/min, volume injeksi 20 μ L, Detektor sinar UV pada panjang gelombang 263 nm Untuk lebih jelasnya *peak* dari standar *genistein* dapat dilihat sebagai berikut:



Peak Genistein Pada Dark Chocolate Sampel 165



Peak Genistein Pada Dark Chocolate Sampel 372



Peak Genistein Pada Dark Chocolate Sampel 683

Hasil Perhitungan Kadar *Genistein* metoda HPLC

No	Sampel	Berat sampel	Nama File	RT	AUC	Kadar ppm	Kadar dalam %	Kadar setelah pengenceran
1	165	5,0431	0101	6.24	77178	0,0887	0,0018	0,18
2	372	5,0274	0102	6.20	75369	0,0866	0,0017	0,17
3	683	5,0184	0103	5.84	87308	0,1003	0,0020	0,20

V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil penelitian, yakni identifikasi senyawa aktif untuk kadar total *alkaloid* sampel dengan kadar total *alkaloid* tertinggi adalah sampel 683 sebanyak 4,73 %. Kadar total *flavonoid* sampel dengan kadar total *flavonoid* tertinggi adalah sampel 683 sebanyak 1,21 %, hasil identifikasi menggunakan HPLC didapat sampel terbaik yakni 683 dengan kadar *catechin* 0,81 % dan hasil identifikasi menggunakan HPLC didapat sampel terbaik yakni 683 dengan kadar *genistein* 0,20 %.
2. Produk *Dark Chocolate* dari keseluruhan respon diperoleh pada sampel a2b3 (perbandingan *soy powder* dan *milk powder* 1 : 1, konsentrasi *green tea* 10%), karena dilihat dari uji organoleptik merupakan sampel yg diberi ranking terbaik dari panelis dengan senyawa aktif kadar total *alkaloid* 4,73 %, kadar total *flavonoid* 1,21 %, kadar *catechin* 0,81 % dan kadar *genistein* 0,20 %.

5.1 Saran

1. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai metoda pencampuran dengan menggunakan *conching* dapat diganti dengan alat pencampur yang lebih efektif sehingga proses pencampuran I dapat dihasilkan adonan yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membuat produk dark chocolate yang kaya akan senyawa aktif namun tanpa menambahkan gula tepung agar

rendah kalori untuk menghindari penyakit diabetes supaya setiap kalangan dapat menikmati produk *dark chocolate*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, 2001. Mempelajari Pembuatan Tepung Kedelai (*Glycine max*), Amerika Serikat dan Analisa Mutu Tepung yang Dihasilkan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Adriani. 2010. Identifikasi Ekstrak Teh Hijau Yang Mengandung Senyawa Aktif dan Antioksidan Yang Bagi Tubuh. Pasca Sarjana Universitas Udayana. Denpasar
- Badan Pusat Statistik, 2007, Statistik Indonesia, Data BPS, Bandung.
- Erukainure O.L., *Development and Quality Assessment of Date Chocolate Products*, American Journal Of Food Technology Vol 5 no 5.
- Ferdian, 2000. Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Mutu Cocoa Butter, Tugas Akhir Universitas Pasundan Bandung.
- Gramza *et all*, 2005. *Tea Extracts as Free Radical Scavengers*, Polish Journal of Environmental Studies Vol. 14 No. 6: 861-867.
- Han, 2006, Pengaruh Substitusi Sukrosa oleh Maltitol Pada Formulasi DarkBaking Compound, <http://www.repository.ipb.ac.id>.
- Herliani, 2008. Penggunaan Spektrofotometri UV - Visible. <http://www.landasanteori.com/2015/09/pengertian-spektrofotometri-uv-vis.html>. Diakses : 15 Juli 2016
- Masyah, 2011. Identifikasi Senyawa Aktif *Alkaloid* Total Pada Coklat. Jurnal Penelitian ITB. Bandung
- Misnawi, 2010, Pengaruh Fruktosa dan Tepung Tapioka Terhadap Sifat Fisik dan Organoleptik Cokelat Batangan, PELITA PERKEBUNAN, Volume 27, Nomor 3, Jember, Indonesia.
- Penalvo *et all*, 2004. *A simplified HPLC method for total isoflavones in soy products*. Food Chem., 87: 297-305.
- Putri, 2013. Proses Preparasi Sampel Metode Maserasi. <https://jesicaputri2013.wordpress.com/2015/07/30/pengertian-dan-prinsip-maserasi/>. Diakses 14 Juli 2016
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2004. Kakao. Jember. Jawa Timur

- Rachman, 2009. *Rotary Evaporasi*. <http://www.blogpribadi.com>. Diakses: 14 Juli 2016
- Radhika, 2011. *Antidiabetic and Hypolipidemic Activity of Punica granatum Linn on Alloxan Induced Rats*. World Journal of Medical Sciences.
- Redha, 2008. Struktur Alkaloid & Flavanoid, Sifat Senyawa Aktif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Jurnal Politeknik Negeri Pontianak
- Rira, 2013. Senyawa Aktif. <http://rirac-robertus.blogspot.co.id/2013/10/zat-aktif-serial-alkaloida.html>. Diakses : 1 Maret 2016
- Riyani, 2011. Aplikasi Program Linier pada Optimasi Formulasi Coklat batang dengan menggunakan Cocoa Butter Substitute dan Inulin, Tugas Akhir, UNPAS, Bandung.
- Saleh, 2006. Pengaruh Penambahan Inulin dan Waktu Conching terhadap Karakteristik Produk Cokelat. Tugas Akhir. UNPAS. Bandung.
- Salim, 2012. Kiat Cerdas Wirausaha Aneka Olahan Kedelai. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Schmild, 2001. *Essentials of Functional Foods*. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Setiawan 2005, Pengaruh Konsentrasi Lemak Kakao (*Cocoa Butter*) dan Konsentrasi Lesitin terhadap mutu produk Cokelat batang. Tugas Akhir. UNPAS. Bandung.
- Sundarsih, 2009. Pengaruh Waktu dan Suhu Perendaman Kedelai pada Tingkat Kesempurnaan Ekstraksi Protein Kedelai dalam Proses Pembuatan Tahu. Makalah Penelitian. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Standar Nasional Indonesia, 2000. Standarisasi Mutu Cokelat Indonesia.
- Turkoglu, 2010. *Antioxidant and antimicrobial activities of Turkish endemic Achillea species*. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4(19): 2034-2042.
- Wanti, 2008. *Chocolate product*, <http://www.wanti-smanda.blogspot.com>. Diakses : 28 Februari 2016
- Werno, 2011. *Green Tea Matcha*. <http://werno.blogspot.co.id/2011/04/green-tea-matcha.html>. Diakses : 1 Maret 2016

- Winarsi. 2011. Senyawa Antioksidan. <http://winarsi-linda.blogspot.co.id/2011/senyawa-antioksidan.html>. Diakses : 28 Februari 2016
- Yoo *et al*, 2008. *Relative Antioxidant and Cytoprotective Activities of Common Herbs*. Food Chemistry, 106, 929-936.
- Zogina, Nurul. 2015. Pengaruh Substitusi Soy Powder dan Green Tea Matcha Terhadap Karakteristik Dark Chocolate. Tugas Akhir. UNPAS.Bandung
- Zubik, L. and M. Meydani. 2003. *Bioavailability of soybean isoflavon from aglycone and glucoside form in american women*. Am. J. Clin. Nutr. 77: 1459-1465.

Seminar – INTERNATIONAL CONFERENCE

		
Secretariat: Gedung SEAFast Center IPB, Jl. Puspas No. 1 IPB Darmaga Campus Bogor 16680, West Java, INDONESIA Tel/Fax: +62 251 8629903. E-mail: seafastseminar@gmail.com , https://seafast.ipb.ac.id/FIA2016/		
No	: 076/FIAC/VIII/2016	Bogor, 31 st August 2016
Attachment	: 1 (one) document	
Subject	: Letter of Acceptance	
To: Yusep Ikrawan Food Technology Department Pasundan University		
Dear Author,		
We are pleased to inform you that your abstract entitled "Improvement of dark chocolate with the addition of green tea and soy powder" has been accepted for Poster presentation at the International Conference Food Innovation: AEC Challenges, to be held on September 21-22, 2016 in Jakarta, Indonesia. Please note the following:		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Your paper presentation has been scheduled for the session indicated in Session Summary (please visit our website at: https://seafast.ipb.ac.id/FIA2016/ for the details agenda). The abstract of your paper will be published in the conference program book and will help attendees ascertain their interest in attending your presentation. 2. If you have not completed the registration yet, please the registration and send your pay-in slip with your name and address via email: seafastseminar@gmail.com, no later than September 5, 2016. Abstracts from unregistered presenters will be removed from the conference program after the deadline. You can register for the Conference at the following link: https://seafast.ipb.ac.id/FIA2016/register.html/ 3. Each poster presenter will be responsible for the poster design and its content. A 80 cm (width) x 100 cm (height) partition board will be provided for your poster exhibition. It will be marked with your poster code. Detailed schedule of the poster sessions will be announced later at the conference website. 4. Submission of full paper will be reviewed for publication in the Conference proceeding. A set of instructions for the full paper format is available on our website. The deadline for Full Paper Submission is September 14, 2016. 5. Please visit the SEAFast website (https://seafast.ipb.ac.id/FIA2016/) and check for the updated program of the Conference. Your assigned paper code will be listed on the program later. 6. All presenters will be responsible for their own registration, travel and accommodation expenses. 		
If you have any inquiry, please do not hesitate to contact us. We are looking forward for your participation in International Conference 2016 on September.		
Scientific Program Chair 		
Dr. Harsi D. Kusumaningrum SEAFast Center IPB IPB Darmaga Campus Bogor 16680 West Java, INDONESIA https://seafast.ipb.ac.id/FIA2016/		



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 INTERNATIONAL BASIC SCIENCE CONFERENCE
 Jl. Kalimantan No. 37 Kampus Tegalboto Kotak Pos 159 Jember 68121
 Telpun (0331) 338696 Fax (0331) 330225



Dear Mr/Mrs Yusep Ikrawan

Jember, August 19, 2016

On behalf of The IBSC committee, it is our pleasure to inform you that your paper entitled: "Improvement of Dark Chocolate with the Addition of Green Tea and Soy Powder" has been **accepted** to be presented in Plenary Session of IBSC 2016. You are requested to submit the full paper through "Online paper Submission" in the IBSC homepage by September 19, 2016 and to arrange the payment (Invoice is attached). Please follow the guidelines as mentioned in our website: <http://ibsc.fmipa.unej.ac.id/conference/guidelines/>

We look forward to having you participate in this upcoming seminar and present your work.

Sincerely,

Agung Tjahjo Nugroho, Ph.D
 Head of Internasional Basic Science Conference Committee

The First INTERNATIONAL BASIC SCIENCE CONFERENCE 2016
 Secretariat and contact:
 Faculty of Mathematics and Natural Sciences, The University of Jember
 Jember – Indonesia 68121

Phone +62-331-338696
 Fax +62-331-330225
 Email: ibsc.fmipa@unej.ac.id

Inovasi Nilai Produk Dalam Meraih Keunggulan Kompetitif Produk Pangan Fungsional

ORIGINALITY REPORT

22%

SIMILARITY INDEX

22%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

1%

★ avisena-fkepunand.blogspot.com

Internet Source

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On