

IDENTIFIKASI POTENSI ANTIOKSIDAN DALAM MINUMAN COKLAT DARI KAKAO LINDAK (*Theobroma cacao* L.) DENGAN BERBAGAI CARA PREPARASI: METODE *FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER* (FRAP)

(*Identification of antioxidants potential in kakao lindak (Theobroma cacao L.) chocolate drinks by different preparation methods: ferric reducing antioxidant power (FRAP) method*)

Florentin Yunita Halim^a, Yustinus Marsono^{a*}, Maria Matoetina Suprijono^a

^a Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

* Penulis korespondensi
Email: yustimar49@yahoo.co.id

ABSTRACT

Cocoa has been proved to be a source of antioxidant. This study aimed to determine the effect of chocolate drinks preparation to the ability of antioxidants to reduce Ferric Tripyridyl triazine complex (Fe III TPTZ) to Ferro form. This research used a single factor, Chocolate Drinks Preparation Methods consisted of four treatments (P), dissolving the cocoa powder in room temperature water (P1), dissolving cocoa powder in boiled water (P2), dissolving cocoa powders in room temperature water then heated until boiling (P3), and dissolving cocoa powders in room temperature water then heated until boiling using microwave oven (P4). Each treatment was repeated two times. The experiment units were randomized using Randomized Block Design with ability of antioxidants to reduce Ferric Tripyridyl Triazine (Fe III TPTZ) complex to Ferro form as parameter. The effect was analyzed using analysis ANOVA at $\alpha = 5\%$ then continued with Duncan Multiple Range Test $\alpha = 5\%$ to determine the level of treatment that gives significant difference. The results showed that preparation methods had significant effect on total phenolic contents in chocolate drinks but showed no significant effect on total flavonoid contents ((+)-catechin nor (-)-epicatechin) and the ability of antioxidants to reduce Ferric Tripyridyl triazine complex (Fe III TPTZ) to Ferro form. Total phenolic content of samples was 16,1 – 28,6 mg GAE/ g chocolate powder. Total flavanoid content was 18,8 – 27,4 mg CE/g chocolate powder and 36,0 – 47,3 mg ECE/g chocolate powder. Cacao's antioxidant capacity to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} was 136,2 – 168,5 mM Fe(II)/L.

Keywords: antioxidants, chocolate drinks, kakao lindak, FRAP

ABSTRAK

Kakao merupakan salah satu sumber antioksidan yang diharapkan mampu menangkal efek radikal bebas dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan cara preparasi minuman coklat terhadap kemampuan antioksidan dalam kakao untuk mereduksi kompleks *Ferric Tripyridyl Triazine* (Fe III TPTZ) menjadi bentuk Ferro. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan faktor tunggal, yaitu Cara Preparasi Minuman Coklat yang terdiri dari empat perlakuan (P) yaitu: pelarutan bubuk coklat dalam air bersuhu ruang (P1), penambahan air mendidih ke dalam wadah berisi bubuk coklat (P2), pelarutan bubuk coklat dalam air bersuhu ruang dan kemudian dididihkan (P3) serta pelarutan bubuk coklat dalam air bersuhu ruang yang kemudian dididihkan dengan menggunakan *microwave* (P4). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali, pengacakan unit penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan parameter penelitian kemampuan antioksidan minuman coklat untuk mereduksi kompleks *Ferric Tripyridyl Triazine* (Fe III TPTZ) menjadi bentuk Ferro.

Pengaruh faktor dianalisa menggunakan ANOVA pada $\alpha = 5\%$ kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT pada $\alpha = 5\%$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan cara preparasi minuman coklat berpengaruh nyata terhadap kadar total fenol dari minuman coklat tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar total flavonoid (baik berupa (+)-katekin maupun (-)-epikatekin) dan terhadap kemampuan antioksidan dalam kakao untuk mereduksi kompleks *Ferric Tripyridyl Triazine* (Fe III TPTZ) menjadi bentuk Ferro. Kadar total fenol sampel antara: 16,1 – 28,6 mg GAE/g bubuk coklat. Kadar total flavonoid sampel berkisar antara 18,8 – 27,4 mg CE/g bubuk coklat dan 36,0 – 47,3 mg ECE/g bubuk coklat. Kemampuan antioksidan dalam kakao untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} berkisar antara 136,2 – 168,5 mM Fe(II)/L.

Kata kunci: antioksidan, minuman coklat, kakao lindak, FRAP

PENDAHULUAN

Dunia saat ini tidak bebas dari berbagai hal yang menyebabkan penyakit-penyakit degeneratif, salah satunya adalah radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu atom, molekul ataupun ion yang memiliki electron tak berpasangan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Berdasarkan mekanisme antioksidasi yang terjadi secara garis besar antioksidan terbagi menjadi dua yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder (Winarsi, 2007). Antioksidan primer mampu mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal menjadi lebih stabil. Antioksidan sekunder memutuskan rantai oksidasi dari radikal bebas dengan cara mengkelat logam yang mengkatalis reaksi atau menangkapnya.

Indonesia merupakan negara penghasil kakao terbesar ketiga di dunia. Data Badan Pusat Statistik (BPS) yang diolah Kementerian Perdagangan menyebutkan jumlah produksi biji kakao nasional mencapai 577.000 ton pada tahun 2009 tetapi hampir 93% dari total produksi tersebut diekspor ke mancanegara. Biji kakao Indonesia yang diekspor selalu dihargai lebih murah karena harga biji kakao yang tercantum di terminal New York adalah harga untuk biji kakao yang telah difermentasi (Biro Umum dan Hubungan Masyarakat Kementerian Perindustrian, 2010).

Kakao sebenarnya memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan lebih lanjut untuk kesehatan karena kadar senyawa-senyawa antioksidan di dalamnya cukup tinggi. Antioksidan dalam biji kakao terutama yang berasal dari Indonesia belum diteliti jenis dan jumlahnya. Berdasarkan beberapa penelitian, seperti yang diungkapkan Gu *et al.* (2006) diketahui bahwa variasi jenis antioksidan dalam biji kakao diantaranya katekin, epikatekin dan prosianidin seperti yang dimiliki oleh teh.

Potensi besar antioksidan dalam kakao ini perlu ditinjau lebih lanjut mengingat volume ekspor kakao dalam bentuk olahan masih relative sangat kecil dibandingkan dengan volume ekspor biji kakao volume produksi biji kakao nasional. Pengembangan produk minuman coklat berantioksidan diharapkan dapat meningkatkan nilai tambah kakao Indonesia.

Penelitian ini menggunakan bubuk kakao yang didapatkan dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia yang berada di Jember, Jawa Timur. Penggunaan sampel tersebut dimaksudkan untuk mewakili kakao Indonesia. Sampel tersebut akan diproses menjadi minuman kakao yang diharapkan tidak hanya memiliki kadar antioksidan tinggi tetapi juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Pemilihan produk menjadi minuman kakao sehat didasarkan pada proses preparasi yang cenderung singkat dan kontak terhadap panas minimal sehingga diharapkan degradasi senyawa antioksidan ataupun perubahan struktur dan penurunan aktivitas

antioksidan dalam kakao dapat diminimalkan.

Preparasi sampel menjadi minuman coklat dilakukan dengan empat macam cara yang dianggap mendekati dengan kebiasaan masyarakat secara umum dalam preparasi minuman coklat. Empat cara tersebut adalah dengan mencampurkan bubuk coklat dengan air bersuhu ruang (perlakuan 1), mencampurkan bubuk coklat dengan air bersuhu 100°C (perlakuan 2), mendidihkan bubuk coklat dengan air secara bersamaan hingga suhu 100°C (perlakuan 3) serta memanaskan campuran bubuk coklat dan air dalam *microwave* dengan suhu tinggi (High; 1') (perlakuan 4)

Sampel minuman coklat kemudian disentrifugasi dan diambil supernatannya yang kemudian dianalisis dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Pemilihan metode didasari oleh dugaan adanya antioksidan dalam kakao yang mampu mereduksi senyawa Fe. Senyawa Fe diduga mampu mengkatalisis reaksi yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama untuk pembuatan minuman coklat adalah air minum dalam kemasan merek Club dan bubuk kakao yang didapatkan dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember, Jawa Timur. Bahan pendukung yang digunakan adalah gula pasir "Gulaku" dan garam "Dolphin".

Bahan yang digunakan untuk analisa meliputi: n-heksana teknis, akuabides, asam galat, *Folin-Ciocalteu* (Merck UN3264), Na₂CO₃ teknis 7%, (-)-epikatekin (Sigma E4018-1MG), (+)-katekin (Sigma 1251-5G), NaNO₂ (Merck 1.06549.0500) 5%, AlCl₃ (Merck 8.01081.0500) 10%, NaOH p.a (Mallinckrodt 7708) 1 M, standar FeSO₄ (Mallinckrodt 5056), asam asetat glasial (J.T. Baker 9508-69), Natrium asetat (Riedel-de Haen 32319), FeCl₃.6H₂O (UPT BPPIK) 20 mM, HCl (Merck 1.00317.2500)

dan TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-striazine) 10 mM.

Pembuatan Minuman Coklat

Penimbangan bahan-bahan untuk membuat minuman coklat tersebut ditimbang sesuai dengan formulasi. Bubuk kakao ditimbang sebanyak 12 gram, gula pasir ditimbang sebesar 25 gram tiap perlakuan, garam ditimbang sebesar 1 gram tiap perlakuan. Preparasi minuman coklat dibagi menjadi 4 perlakuan yaitu perlakuan 1 (P1) dengan mencampurkan bahan-bahan tersebut dengan 240 mL air bersuhu ruang (28,5°C), kemudian dilakukan pengadukan menggunakan pengaduk kaca hingga homogen. Perlakuan 2 (P2) dengan mencampurkan bahan-bahan tersebut dengan 240 mL air yang telah dididihkan dengan bunsen, kemudian dilakukan pengadukan menggunakan pengaduk kaca hingga homogen. Perlakuan 3 (P3) dengan mencampurkan bahan-bahan tersebut dengan 240 mL air bersuhu ruang, kemudian diaduk menggunakan pengaduk kaca hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dididihkan langsung di atas pemanas bunsen yang telah diberi alas kasa hingga mendidih. Perlakuan 4 (P4) dengan mencampurkan bahan-bahan tersebut dengan 240 mL air bersuhu ruang, kemudian diaduk menggunakan pengaduk kaca hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *microwave* dan dilakukan pengaturan dengan *mode HIGH* selama 1 menit yang diperlukan agar minuman coklat mendidih.

Kadar Lemak

Prinsip ekstraksi lemak dan minyak dengan ekstraksi Soxhlet adalah dengan melarutkan lemak/minyak dari bahan pangan yang diekstrak dengan menggunakan pelarut organik sehingga diperoleh campuran lemak/minyak bersama dengan pelarutnya. Setelah ekstraksi selesai, labu dipisahkan dari tabung Soxhlet, dan kemudian pelarut yang digunakan dipisahkan dari lemak/minyak

dengan cara diuapkan, sehingga diperoleh sejumlah lemak/minyak yang dapat ditentukan beratnya.

Kadar Total Fenol

Prinsip analisa kadar total fenol dengan metode kolorimetri *Folin-Ciocalteu* (FC) berdasarkan reaksi reduksi reagen yang merupakan campuran dari tungsten dan molibdenum oksida oleh senyawa fenolik. Hasilnya berupa metal oksida yang memiliki warna biru dan memiliki absorbansi maksimum pada 765 nm. Intensitas absorpsi gelombang adalah berbanding lurus dengan konsentrasi fenol (Lee *et al.*, 2003).

Kadar Total Flavonoid

Prinsip analisa kadar total flavonoid berdasarkan aluminium klorida kolorimetri adalah aluminium klorida akan membentuk asam kompleks yang stabil dengan kelompok keto C-4, C-3 atau dengan kelompok hidroksil C-5 dari flavon dan flavonol. Aluminium klorida akan membentuk asam kompleks yang labil dengan kelompok orto-dihidroksil dalam cincin A- atau B- pada flavonoid (Zhishen *et al.*, 1999 dalam Lee *et al.*, 2003)

Ferric reducing Ion Power (FRAP)

Uji FRAP menentukan total kapasitas antioksidan dengan memanfaatkan antioksidan dalam kolorimetri berbasis reaksi redoks. Prinsip uji ini adalah reduksi dari senyawa kompleks *Ferric Tripyridyl Triazine* (Fe III TPTZ) menjadi bentuk ferro yang berwarna biru. Warna ini dapat diukur pada spektrum absorpsi 593 nm (Benzie dan Strain, 1996).

Analisis Statistik

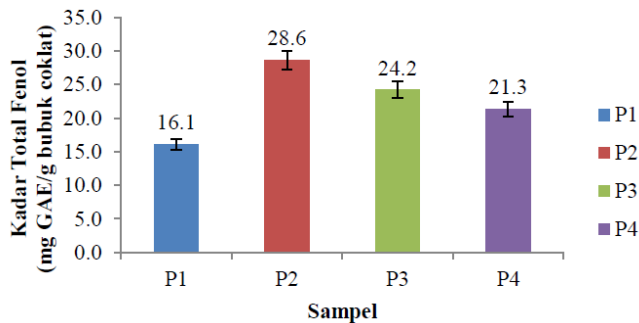
Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan faktor tunggal, yaitu Cara Preparasi Minuman Coklat (P) yang terdiri dari empat perlakuan yaitu pelarutan bubuk coklat dalam air bersuhu ruang (P1) sebagai kontrol, penambahan air yang telah dididihkan ($98\pm 1^\circ\text{C}$) ke dalam wadah berisi bubuk coklat (P2), pelarutan bubuk coklat dalam

air bersuhu ruang dan kemudian dipanaskan diatas api hingga mendidih ($98\pm 1^\circ\text{C}$) (P3) serta pelarutan bubuk coklat dalam air bersuhu ruang yang kemudian dipanaskan hingga mendidih dengan menggunakan *microwave* dengan mode HIGH selama 1 menit atau hingga timbul gelembung (P4). Masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak dua kali. Percobaan kemudian diacak dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) factor tunggal. Pengaruh faktor dianalisa menggunakan ANOVA pada $\alpha = 5\%$. Apabila hasil uji menunjukkan adanya pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$ untuk mengetahui perlakuan yang memberikan perbedaan nyata. Parameter utama penelitian yaitu kemampuan antioksidan dalam kakao untuk mereduksi kompleks *Ferric Tripyridyl Triazine* (Fe III TPTZ) menjadi bentuk ferro. Parameter penelitian lain meliputi kadar lemak, kadar fenol dan kadar flavonoid dalam bubuk kakao.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1. menunjukkan bahwa Kadar Total Fenol dari sampel minuman coklat berkisar antara 16,1 – 28,6 mg GAE/g bubuk coklat. Data hasil pengujian dengan ANOVA ($\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa ada pengaruh yang nyata dari perbedaan cara preparasi minuman coklat terhadap kadar total fenol. Uji lanjutan dilakukan dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan $\alpha = 5\%$ menunjukkan bahwa perlakuan sampel P1 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, P4 berbeda nyata terhadap sampel P2 tetapi tidak berbeda nyata dengan P3, sedangkan P2 dan P3 tidak berbeda nyata. Perlakuan dengan panas terhadap sampel P2, P3 dan P4 menunjukkan kadar total fenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel P1 yang tidak dikenai oleh panas. Hal ini dapat disebabkan karena panas yang mengenai sampel membantu ekstraksi senyawa fenol dari sampel. Menurut Pujimulyani *et al.* (2010), perlakuan panas diduga dapat

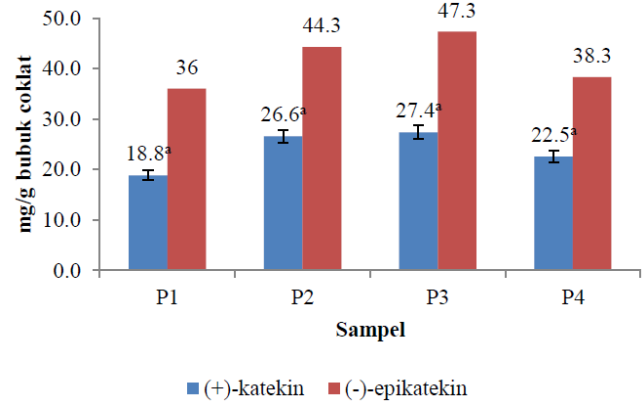
mendegradasi senyawa fenol kompleks menjadi fenol sederhana, selain itu, diduga senyawa fenol tidak mengalami oksidasi enzimatis sehingga jumlahnya tidak turun.



Gambar 1. Rerata Kadar Total Fenol Sampel Minuman Coklat

Kadar fenol tertinggi terdapat pada sampel P2. Naczka dan Shahidi (2004) menyatakan bahwa semakin panjang waktu ekstraksi akan meningkatkan kemungkinan oksidasi senyawa fenolik kecuali terdapat pereduksi ditambahkan dalam pelarut. Sampel P4 diproses dengan *microwave oven* selama 1 menit, ternyata memiliki kadar total fenol lebih rendah dibandingkan dengan pemanasan minuman coklat pada sampel P3 yang waktunya relatif panjang (10 ± 1 menit). Hal ini dapat disebabkan penggunaan air sebagai pelarut minuman coklat, sedangkan pada bubuk kakao yang digunakan diketahui memiliki kadar lemak yang cukup tinggi (26,67%). Energi yang dipancarkan oleh *microwave* akan diteruskan ke dalam sistem melalui air yang bersifat polar menuju komponen-komponen polar lain, seperti senyawa-senyawa fenolik dan katekin (Kaufmann *et al.*, 2001 dalam Pak-Dek *et al.*, 2011). Adanya lemak dalam coklat yang bersifat non-polar akan menghambat transfer panas dalam sampel, sehingga komponen-komponen fenolik kurang dapat terekstrak dengan baik. Berdasarkan Heldman dan Singh (2001) konduktivitas panas dari bubuk kakao sebesar $0,188 \text{ W/m}^{\circ}\text{C}$ sedangkan konduktivitas panas air pada suhu 25°C adalah sebesar $0,606 \text{ W/m}^{\circ}\text{C}$. Koefisien konduktivitas panas air yang lebih besar

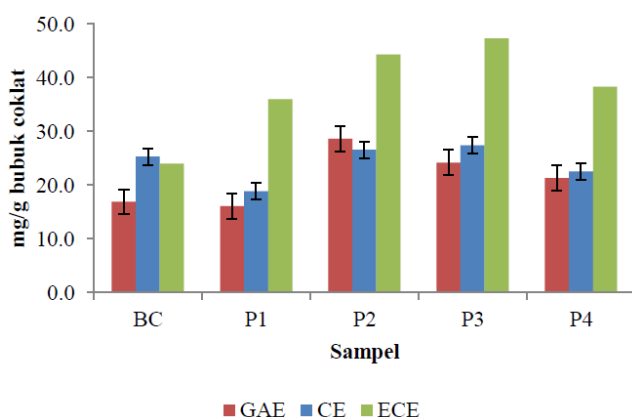
dibandingkan dengan bubuk coklat yang memiliki lemak lebih banyak sehingga dapat dikatakan transfer panas air lebih baik dibandingkan dengan lemak.



Gambar 2. Kadar Total Flavonoid Sampel Minuman Coklat

Hasil pengamatan rata-rata kadar total flavonoid dengan metode aluminium klorida dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil pengukuran menunjukkan kadar flavonoid empat perlakuan sampel berkisar antara 18,8 – 27,4 mg (+)-katekin/g bubuk coklat. Data hasil pengujian dengan ANOVA ($\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang nyata dari perbedaan cara preparasi minuman coklat terhadap kadar total flavonoid baik untuk (+)-katekin dan (-)-epikatekin. Hasil pengukuran terhadap kadar flavonoid empat perlakuan sampel yang dihitung sebagai (-)-epikatekin berkisar antara 36,0 – 47,3 mg (-)-epikatekin/g bubuk coklat. Perbandingan kadar total (+)-katekin serta (-)-epikatekin menunjukkan bahwa jumlah (-)-epikatekin yang terdapat dalam minuman coklat lebih banyak bila dibandingkan dengan jumlah (+)-katekin. Menurut Kofink *et al.* (2007), (+)-katekin adalah komponen minor yang ada pada biji kakao dibandingkan dengan (-)-epikatekin. Hasil pengujian total flavonoid pada sampel minuman coklat dengan perbedaan cara preparasi yang tidak menunjukkan pengaruh yang nyata, dimungkinkan karena proses pemanasan yang dilakukan dalam waktu relatif singkat sehingga, penurunan kadar flavonoid tersebut tidak terdeteksi secara nyata.

Total flavonoid yang dihitung sebagai (-)-epikatekin menunjukkan jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan kadar total fenol. Jumlah flavonoid yang terekstrak dari minuman coklat seharusnya lebih rendah dibandingkan dengan jumlah total fenolnya. Flavonoid merupakan bagian dari fenol, sehingga jumlahnya lebih rendah ataupun sama dengan total fenol. Hal ini dapat disebabkan karena proses ekstraksi yang dilakukan hanya dalam waktu ± 10 menit sehingga tidak diduga tidak semua senyawa fenol terekstrak. Ekstraksi sampel dilakukan penyaringan yang menyebabkan kadar lemak dalam ekstrak berkurang, sedangkan pada penelitian ini, tidak dilakukan pemisahan lemak, sehingga menyebabkan senyawa fenolik lebih sedikit yang terekstrak.



Gambar 3. Perbandingan Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Bubuk Coklat dan Sampel Minuman Coklat

Hasil pengamatan pada Gambar 3. menunjukkan rata-rata aktivitas antioksidan dengan metode FRAP. Data hasil pengujian dengan ANOVA ($\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang nyata dari perbedaan cara preparasi minuman coklat terhadap aktivitas antioksidan dalam mereduksi senyawa Fe III TPTZ menjadi bentuk Ferro, namun dapat dikatakan memiliki kemampuan untuk mereduksi ion Fe^{3+} walaupun kemampuannya lebih rendah dari α -tokoferol sebagai pembanding. Bubuk kakao diketahui memiliki kadar zat besi sebesar 13,86 mg (Cheney, 1999 dalam Amri, 2007). Ion Fe^{3+} memiliki kecenderungan yang lebih stabil

dibandingkan ion Fe^{2+} sehingga pada tahap pemanasan tidak terjadi degradasi yang berarti, mengakibatkan $Fe(III)$ masih tetap reaktif saat bereaksi dengan antioksidan.

Tabel 1. Korelasi Senyawa Fenolik dengan Aktivitas Antioksidan Minuman Coklat

Senyawa Fenolik	Aktivitas Antioksidan (FRAP)
Total Fenol	0,933*
(+)- katekin	0,565
(-)- epikatekin	0,632

Keterangan: *) menunjukkan korelasi signifikan pada $\alpha = 5\%$

Tabel 1. menunjukkan korelasi antara senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan dari sampel minuman coklat. Total fenol berkorelasi secara nyata terhadap nilai FRAP Berdasarkan Pereira *et al.* (2009), senyawa fenolik memiliki kemampuan antioksidan dengan cara mengkelat ion logam yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas, sehingga terjadi korelasi antara total fenol dengan nilai FRAP. Diduga nilai FRAP sampel minuman coklat merupakan aktivitas antioksidan dari senyawasenyawafenol. Pujimulyani *et al.* (2010) menyatakan bahwa senyawa fenolik berkorelasi secara signifikan pada $\alpha = 1\%$ dengan aktivitas antioksidan kunir putih yaitu kadar total fenol (0,320**) dan total flavonoid (0,322**) dengan nilai FRAP. Senyawa flavonoid pada sampel minuman coklat tidak menunjukkan korelasi dengan nilai FRAP. Diduga hal ini disebabkan pada kunir putih senyawa flavonoid berupa kuersetin, dimana kuersetin memiliki kemampuan reduksi lebih kuat dibandingkan dengan katekin maupun epikatekin. Nijveldt *et al.* (2001) menyatakan bahwa epikatekin dan rutin merupakan *scavenger* radikal yang kuat, sehingga flavonoid dan aktivitas antioksidan minuman coklat tidak berkorelasi nyata. Hal ini diduga menyebabkan nilai FRAP sampel minuman coklat tidak berbeda nyata antar perlakuan.

KESIMPULAN

Cara preparasi minuman coklat berpengaruh nyata terhadap kadar total fenol minuman coklat tetapi tidak

berpengaruh nyata terhadap kadar total flavonoid dan kemampuan antioksidan dalam kakao yang diukur dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Cara preparasi minuman kakao dengan cara menambahkan air mendidih ($\pm 98^{\circ}\text{C}$) menghasilkan minuman coklat dengan kadar total fenol tertinggi, sehingga cara preparasi ini dianggap paling baik, walaupun dengan cara preparasi lain tetap tidak mempengaruhi kemampuan antioksidan dari minuman coklat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri, E. 2007. Pengaruh Konsumsi Minuman Bubuk Kakao Lindak Bebas Lemak terhadap Sifat Antioksidatif dan Hemolisis Eritrosit Manusia, Thesis S-2, Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Benzie, I. F. F. dan J. J. Strain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Biro Umum dan Hubungan Masyarakat Kementerian Perindustrian. 2010. Penerapan Bea Keluar Dorong Industri Hilir Kakao Domestik. *Media Industri*, 11-13.
- Gu, L, S.E. House, X. Wu, B. Ou dan R. L. Prior. 2006. Procyanidin and Catechin Contents and Antioxidant Capacity of Cocoa and Chocolate Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4057 – 4061.
- Heldman, D. R. dan P.R. Singh. 2001. *Introduction to Food Engineering*. London. Academic Press, Inc.
- Kofink 2007. (-)-Catechin in Cocoa and Chocolate: Occurrence and Analysis of an Atypical Flavan-3-ol Enantiomer, *Molecules* 12: 1274-1288.
- Lee, K.W., Y. J. Kim, H. J. Lee, dan C. Y. Lee. 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7292-7295.
- Naczki, M. dan F. Shahidi, 2004. Extraction and Analysis of Phenolics in Food, *J. Chromatogr.* 1054:95-111.
- Nijveldt, R.J., E.V. Nood, D.E.V. Hoorn, P.G. Boelens, K.V. Norren, dan P.A.V. Leeuwen. 2001. Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications, *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 418-425.
- Pak-Dek, M.S., A. Osman, N.G. Sahib, N. Saari, M. Markom, A.A. Hamid and F. Anwar. 2011. Effects of Extraction Techniques on Phenolic Components and Antioxidant Activity of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Leaf Extracts. *J. Med. Plant. Res.* 5 (20), 5050-5057.
- Pereira, D.M., P. Valentao, J.A. Pereira dan P.B. Andrade. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, 14, 2202-2211.
- Pujimulyani, D., S. Raharjo, Y. Marsono dan U. Santoso. 2010. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Senyawa Fenolik pada Kunir Putih (*Curcuma mangga* Val.) Segar dan Setelah Blanching. *Agritech* 30(2): 68-74.