

KANDUNGAN SENYAWA POLIFENOL PADA BIJI KAKAO DAN KONTRIBUSINYA TERHADAP KESEHATAN

POLYPHENOLS CONTENT IN COCOA BEANS AND ITS CONTRIBUTION FOR HEALTH

Juniaty Towaha

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357
juniaty_tmunir@yahoo.com

ABSTRAK

Kandungan senyawa polifenol pada biji kakao bervariasi tergantung kepada tingkat kematangan buah, varietas/kultivar dan lingkungan tempat tumbuhnya. Senyawa polifenol yang terkandung dalam biji kakao berkontribusi terhadap karakteristik citarasa coklat karena memberikan rasa sepat (*astringent*) dan pahit (*bitter*) yang khas. Adanya pengolahan kakao seperti fermentasi, pengeringan, penyangraian dan alkalisasi serta proses teknologi produksi lainnya sangat berpengaruh terhadap pengurangan kandungan senyawa polifenol pada biji kakao maupun pada produk turunannya. Walaupun demikian, nilai kapasitas antioksidan dari senyawa polifenol berbagai produk tersebut cukup memadai untuk berkontribusi dalam menyehatkan tubuh manusia. Selain mempunyai sifat antioksidan, senyawa polifenol juga mempunyai sifat anti kanker, anti diabetes, anti hipertensi, anti inflamasi, menghilangkan stres, mencegah karies gigi, memperbaiki kemampuan kognitif, meningkatkan resistensi terhadap hemolisis, menyehatkan jantung dan afrodisiak. Oleh karena itu, dalam berbagai pengolahan yang dilakukan harus tetap menjaga agar pengurangan kandungan polifenol dapat diminimalkan, sehingga produk akhirnya tetap kaya akan kandungan polifenol yang menyehatkan.

Kata kunci : Kakao (*Theobroma cacao* L.), polifenol, antioksidan, kesehatan

ABSTRACT

The content of polyphenol compounds in cocoa beans is vary, depend on the degree of maturity of fruit, varieties/cultivars and environment. Polyphenolic, contained in cocoa beans, contribute to characteristic flavor of chocolate because it gives a specific sense of astringent and bitter. Cocoa processing such as fermentation, drying, roasting, alkalinization and others greatly influence to the reduction in the content of polyphenol in cocoa beans and their derivative products. However, the value of the antioxidant capacity from polyphenol of various product adequate to contribute to the healthy of human body. In addition, besides antioxidant function, polyphenolic also have anti cancer, anti diabetic, anti hypertensive, anti inflamasi, anti stress, prevent dental caries, improving cognitive abilities, improving resistance to hemolysis, heart healthy and aphrodisiac. Therefore, variety of processing that was done must keep polyphenol content reduction can be minimized. So the final product still rich in polyphenol content remains healthy.

Keywords : Cocoa (*Theobroma cacao* L), polyphenols, antioxidant, health

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara produsen kakao di dunia yang berada di urutan ketiga terbesar setelah Pantai Gading dan Ghana, dengan produksi sebesar 13% dari produksi kakao dunia. Adapun produksi Pantai Gading dan Ghana masing-masing adalah 39% dan 19% (ICCO, 2012). Oleh karena itu, produksi kakao Indonesia sangat diperhitungkan dalam perputaran pasar kakao dunia, apalagi biji kakao dari Indonesia mempunyai kandungan gugus polifenol epicatechin dan kapasitas antioksidan yang lebih tinggi daripada biji kakao yang berasal

dari Pantai Gading, Ghana dan Malaysia (Othman *et al.*, 2010). Hal tersebut dapat meningkatkan daya saing kakao Indonesia di pasar internasional menjadi lebih baik.

Biji kakao segar yang belum diolah mempunyai kandungan senyawa polifenol sekitar 12-18% (Cooper *et al.*, 2007; Meng *et al.*, 2009; Afoakwa *et al.*, 2012; Ackar *et al.*, 2013), yang terdiri dari gugus polifenol utama yaitu flavan-3-ol/flavanol, anthocyanidin dan proanthocyanidin (Engler and Engler, 2004; Andreas-Lacueva *et al.*, 2008; Hii *et al.*, 2009; Chin *et al.*, 2013). Menurut Kowalska dan Sidorczuk (2007) serta Meng *et al.*, (2009) kandungan senyawa polifenol pada biji kakao

akan bervariasi tergantung kepada tingkat kematangan buah, varietas/kultivar, lingkungan tempat tumbuh dan pengolahan.

Senyawa polifenol merupakan senyawa kimia yang mempunyai sifat antioksidan, yang sangat penting dalam peranannya menyehatkan tubuh manusia (Jalil dan Ismail, 2008; Nestle Research Centers, 2010; Crozier *et al.*, 2011). Hasil penelitian Miller *et al.* (2006), Gu *et al.* (2006), Redovnikovic *et al.* (2009) dan Chin *et al.* (2013) menyatakan kapasitas antioksidan pada biji kakao maupun berbagai produk coklat mempunyai korelasi positif dengan jumlah total polifenol maupun gugus fenol flavan-3 ol dan *proanthocyanidin* yang dikandungnya.

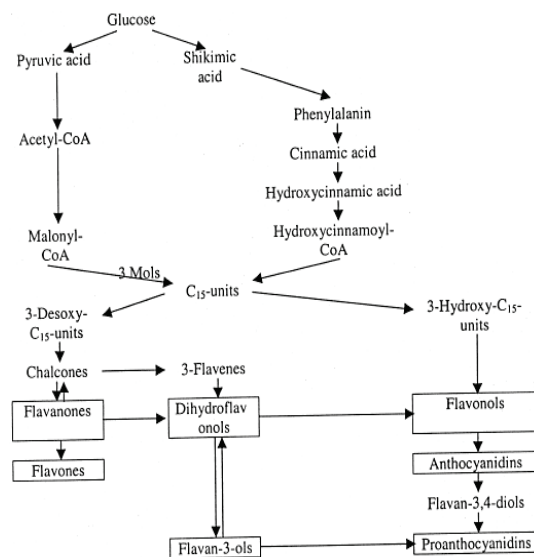
Selanjutnya Hii *et al.* (2009), Belscak *et al.* (2009) dan Subhashini *et al.* (2010) menyatakan biji kakao mempunyai kandungan polifenol berikut aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hijau, anggur merah maupun *blueberry*. Adanya kandungan senyawa polifenol yang tinggi tersebut maka produk kakao maupun produk turunannya berupa coklat sangat berkontribusi untuk menyehatkan tubuh, karena mempunyai peran sebagai antioksidan, anti kanker, anti diabetes, anti hipertensi, anti inflamasi, menghilangkan stres, mencegah karies gigi, memperbaiki kemampuan kognitif, meningkatkan resistensi terhadap hemolisis, menyehatkan jantung dan sebagai aprodisiak (Kelishadi, 2005; Afoakwa, 2008; Nestle Research Centers, 2010; Watson *et al.*, 2012; Ackar *et al.*, 2013; Latif, 2013).

Mengingat berbagai manfaat penting senyawa polifenol yang terkandung pada biji kakao maupun produk turunannya bagi kesehatan tubuh manusia, maka dalam berbagai pengolahan yang dilakukan harus tetap menjaga agar pengurangan kandungan polifenol dapat diminimalkan, sehingga produk terakhirnya tetap kaya akan kandungan polifenol yang menyehatkan.

KANDUNGAN POLIFENOL BIJI KAKAO

Biosintesis senyawa polifenol pada tanaman kakao

Senyawa polifenol merupakan produk dari metabolisme sekunder tanaman, yang disintesis melalui dua jalur sintetik utama, yaitu jalur shikimat dan jalur piruvat, dimana asam shikimat dan asam piruvat merupakan hasil metabolisme dari senyawa glukosa (Wollgast and Anklam, 2000). Adapun biosintesis selengkapnya senyawa polifenol pada tanaman kakao tertera pada Gambar 1.



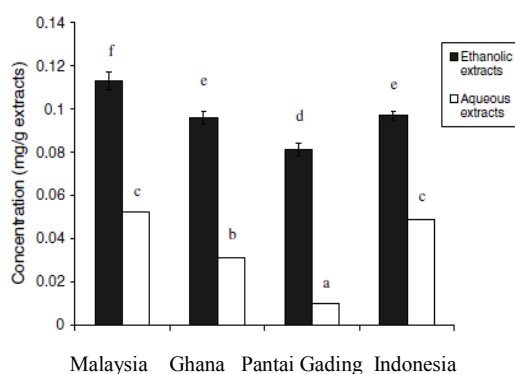
Gambar 1. Skema biosintesis polifenol pada tanaman kakao

Sumber : Wollgast and Anklam (2000)

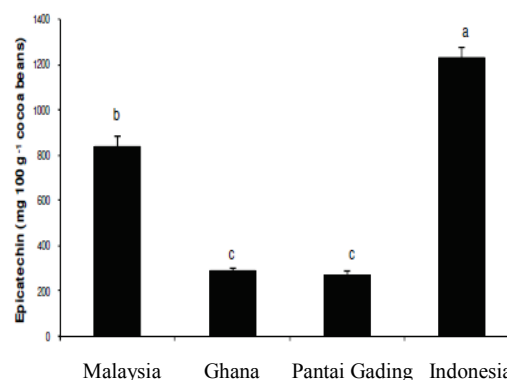
Jumlah serta jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao

Jumlah kandungan senyawa polifenol pada biji kakao akan bervariasi tergantung pada tingkat kematangan buah, varietas/kultivar dan lingkungan tempat tumbuh tanaman kakao tersebut (Kowalska dan Sidorczuk, 2007; Meng *et al.*, 2009). Pada umumnya besarnya kandungan senyawa polifenol yang terdapat pada biji kakao matang yang segar dan belum dilakukan pengolahan/belum difermentasi adalah 12-18% (Othman *et al.*, 2007; Cooper *et al.*, 2007; Afoakwa *et al.*, 2012; Ackar *et al.*, 2013).

Kandungan polifenol pada biji kakao sangat tergantung pada lingkungan tempat tumbuh seperti iklim dan jenis tanah (Bruna *et al.*, 2009). Hasil penelitian Othman *et al.* (2007) menyatakan biji kakao dari Indonesia mempunyai kandungan polifenol yang lebih tinggi dibandingkan biji kakao Pantai Gading, dan kandungan polifenolnya sama dengan biji kakao dari Ghana, tetapi polifenolnya lebih rendah dibandingkan biji kakao dari Malaysia (Gambar 2). Othman *et al.* (2010) menyatakan kandungan gugus fenol *epicatechin* pada biji kakao Indonesia lebih tinggi bila dibandingkan dengan biji kakao dari Malaysia, Ghana dan Pantai Gading (Gambar 3). Selanjutnya pada Tabel 1 terlihat kultivar tanaman turut berpengaruh terhadap kandungan senyawa polifenol pada biji kakao, dimana kandungan polifenol Forastero > Trinitario > Criollo (Othman *et al.*, 2007; Hii *et al.*, 2009). Selanjutnya Wollgast (2004), Hii *et al.* (2009) dan Saltini *et al.* (2013) menyatakan kandungan senyawa polifenol pada kultivar Forastero dan Trinitario lebih tinggi bila dibandingkan dengan kultivar Criollo. Adapun Othman *et al.* (2007) dari hasil penelitiannya menyatakan biji kakao dari Indonesia mengandung total fenol yang lebih tinggi daripada biji kakao dari Pantai Gading.



Gambar 2. Kandungan total fenol ekstrak biji kakao Indonesia dibanding beberapa negara
Sumber : Othman *et al.* (2007)



Gambar 3. Kandungan epikatechin biji kakao Indonesia dibanding kakao beberapa negara

Sumber : Othman *et al.* (2010)

Tabel 1. Kandungan total polifenol biji kakao dari beberapa negara

Negara	Kultivar	Kandungan total polifenol (mg GAE/g)
Pantai Gading	Forastero	81,5
Columbia	Forastero Amazon	81,4
Guinea	Forastero	72,4
Ekuador	Hibrida Amazon	84,2
Venezuela	Trinitario	64,3
Peru	Criollo	50,0
Dominika	Criollo	40,0
Malaysia	Forastero	71,4-82,6
Indonesia	Forastero	82,3

Keterangan : GAE = *Garlic Acid Equivalent*

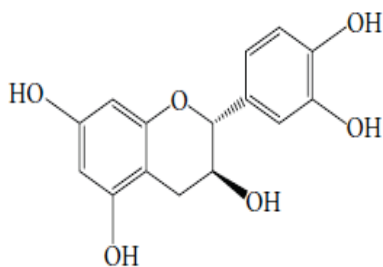
Sumber : Othman *et al.* (2007), Hii *et al.* (2009)

Menurut Wollgast dan Anklam (2000) serta Hii *et al.* (2009) senyawa polifenol di alam diklasifikasikan menjadi (1) fenol sederhana; (2) benzoquinon; (3) asam fenolik; (4) *acetophenon*; (5) asam fenilasetat; (6) asam hidroksi-sinamat; (7) fenilpropen; (8) coumarin; (9) chromone; (10) naphtoquinon; (11) xanthon; (12) stilbene; (13) anthraquinon; (14) flavonoid; (15) lignan; dan (16) lignin. Adapun senyawa polifenol pada kakao lebih banyak didominasi oleh gugus flavonoid yang terdiri dari grup *proanthocyanidin* sebanyak $\pm 58\%$, flavan-3-ol/flavanol sebanyak $\pm 37\%$, *anthocyanidin* sebanyak $\pm 4\%$ dan flavonol *glycoside* sebanyak $\pm 1\%$ (Engler *et al.*, 2004; Andreas-Lacueva *et al.*, 2008; Hii *et al.*, 2009; Chin *et al.*, 2013). Jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao (Tabel 2), dan struktur molekul gugus polifenol tersebut tertera pada Gambar 4 - 7.

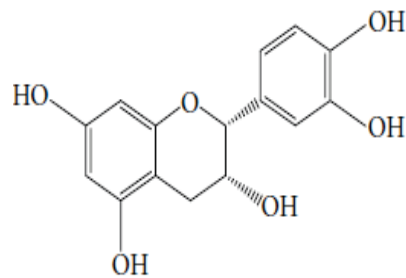
Tabel 2. Jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao

Gugus polifenol			
Proanthocyanidin	Flavan-3 ol	Anthocyanidin	Flavonol glycoside
1. Procyanidin B1	1. (-)-Epicatechin	1. Cyanidin-3- α -L-arabinosid	1. Quercetin-3-O- α -D-arabinosid
2. Procyanidin B2	2. (+)-Catechin	2. Cyanidin-3- β -D-galaktosid	2. Quercetin-3-O- β -D-glucopuranosid
3. Procyanidin B3	3. (+)-Gallocatechin		
4. Procyanidin B4	4. (-)-Epigallocatechin		
5. Procyanidin B5			
6. Procyanidin C1			
7. Procyanidin D			

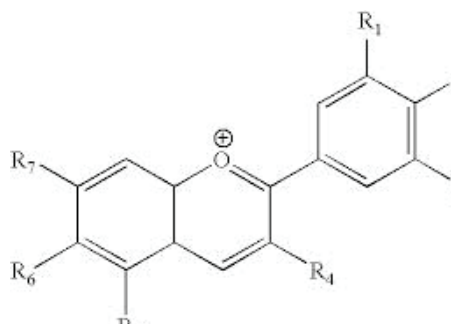
Sumber : Wollgast and Anklam (2000), Jalil dan Ismail (2008); Jonvia-Essien *et al.* (2008)



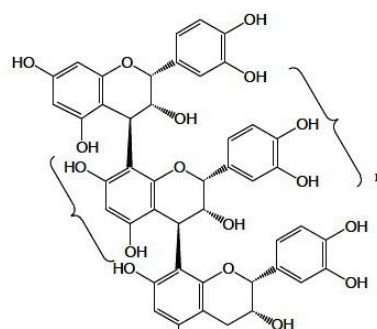
Gambar 4. Struktur molekul (+)-Catechin
Sumber : Ackar *et al.* (2013)



Gambar 5. Struktur molekul (-)-Epicatechin
Sumber : Ackar *et al.* (2013)



Gambar 6. Struktur molekul Anthocyanidin
Sumber : Wollgast dan Anklam (2000)



Gambar 7. Struktur molekul Proanthocyanidin
Sumber : Wollgast (2004)

PROSES PENGOLAHAN KANDUNGAN POLIFENOL

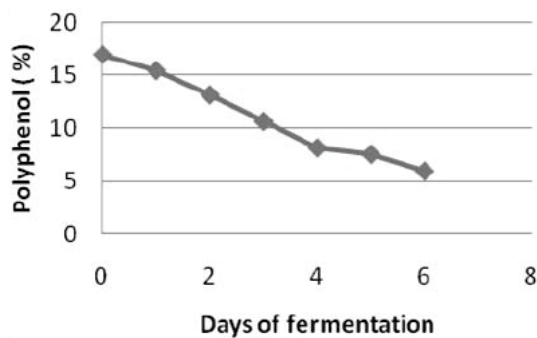
Proses pengolahan mempengaruhi pengurangan kandungan senyawa polifenol pada biji kakao. Adapun proses pengolahannya adalah proses fermentasi, pengeringan, penyangraian dan alkalisasi. Sedangkan proses pengolahan lainnya seperti proses produksi untuk menghasilkan berbagai produk coklat walaupun ada pengaruhnya, tetapi tidak sebesar pengaruh proses pengolahan sebelumnya.

Proses fermentasi

Beckett (2008) dan Lima *et al.*, (2011) menyatakan proses fermentasi merupakan tahapan pengolahan biji kakao yang vital dan

mutlak untuk menjamin dihasilkannya citarasa maupun aroma coklat yang baik. Proses fermentasi selain dapat memperbaiki dan mengembangkan citarasa, juga dapat mengurangi rasa pahit dan sepat (Camu *et al.*, 2008; Owosu, 2010). Menurut Misnawi *et al.* (2004) dan Redovnikovic *et al.* (2009) senyawa polifenol yang terkandung dalam biji kakao sangat berkontribusi dalam memberikan rasa sepat dan pahit pada kakao. Adanya pengurangan rasa pahit dan sepat karena proses fermentasi, disebabkan adanya pengurangan kandungan polifenol pada biji kakao. Hal ini merupakan peristiwa yang harus terjadi untuk membentuk citarasa dan aroma coklat yang baik (Wollgast dan Anklam, 2000; Misnawi, 2003).

Lama proses fermentasi yang biasa dilakukan pada biji kakao adalah 5 hari. Hasil penelitian Aikpokpodion dan Dongo (2010) menyatakan selama proses fermentasi 5 hari terjadi pengurangan senyawa polifenol dari 16,11% menjadi 7,60% perhari, sehingga terjadi pengurangan senyawa polifenol sebanyak 52,82% (Gambar 8). Hasil penelitian Misnawi (2003) juga menyatakan terjadi pengurangan senyawa polifenol sebanyak 53,0% selama proses fermentasi 5 hari. Khusus untuk senyawa *epicatechin* dan senyawa polifenol yang dapat larut terjadi pengurangan sebesar 10-20% selama proses fermentasi 5 hari (Camu *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Aikpokpodion dan Dongo, 2010).



Gambar 8. Efek fermentasi terhadap kandungan polifenol biji kakao

Sumber : Aikpokpodion dan Dongo (2010)

Menurut De-Brito, *et al.*, (2000), Misnawi dan Jinap (2003) serta Afoakwa *et al.* (2012), penurunan kandungan senyawa polifenol selama fermentasi disebabkan adanya peristiwa oksidasi polifenol oleh enzim polifenol oksidase, difusi polifenol dari kotiledon menuju lapisan kulit dan terjadinya polimerisasi senyawa polifenol terutama *epicatechin* dan *proanthocyanidin* membentuk senyawa tanin serta terjadinya pembentukan kompleks dengan protein dan polisakarida. Di-Mattia *et al.* (2013) dan Afoakwa *et al.* (2013) menyatakan terjadinya reaksi polimerisasi polifenol dan pembentukan kompleks dengan senyawa lain, menambah kelarutan polifenol yang hilang terbawa cairan pulpa.

Proses pengeringan

Wahyudi *et al.* (2008) menyatakan proses pengeringan biji kakao yang baik adalah

apabila telah dihasilkan warna coklat yang khas pada keping biji dan memiliki citarasa yang khas yaitu beraroma coklat dengan rasa pahit dan sepat yang rendah. Menurut Hii *et al.* (2009) sebagian besar warna coklat yang dihasilkan pada proses pengeringan merupakan hasil dari reaksi oksidasi senyawa polifenol yang dikatalisis oleh enzim polifenol oksidase. Adapun senyawa polifenol hasil oksidasi tersebut berdifusi keluar dari biji (Afoakwa *et al.*, 2013), sehingga pada proses pengeringan terjadi pengurangan senyawa polifenol yang dapat mencapai 35% dari kandungan total polifenol biji kakao fermentasi (De-Brito *et al.*, 2000). Hasil penelitian Jalil dan Ismail (2008) menyatakan selama proses pengeringan 2 hari dengan sinar matahari telah terjadi pengurangan gugus polifenol *epicatechin* sebanyak 50%.

Proses penyangraian

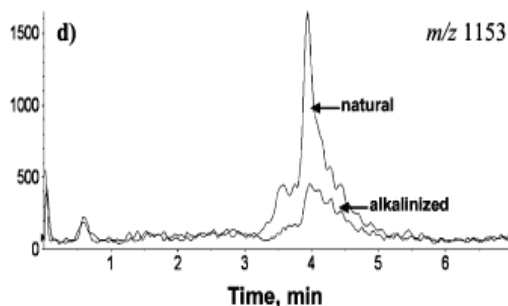
Selama proses penyangraian, biji kakao akan mengalami perubahan sifat fisika dan kimia, dimana senyawa pembawa citarasa dan aroma khas coklat seperti pirazin, karbonil, ester dan sebagainya meningkat secara nyata selama proses penyangraian (Noor-Soffalina *et al.*, 2009). Disamping itu, dengan adanya temperatur yang tinggi pada saat penyangraian terjadi perubahan kimia terhadap senyawa polifenol karena teroksidasi oksigen, terutama pada sistem penyangraian konvensional pada keadaan udara terbuka yang memungkinkan oksigen di udara teraktivasi menjadi oksigen yang aktif (Thamrin, 2012). Janeiro dan Brett (2004) menyatakan senyawa polifenol terutama *catechin* akan rusak karena proses oksidasi. Adanya proses oksidasi yang intensif selama penyangraian menyebabkan terjadinya pengurangan senyawa polifenol dari biji kakao, dimana pada peningkatan temperatur dari 127^oC menjadi 181^oC terjadi pengurangan senyawa polifenol sebanyak 48,06% (Hii *et al.*, 2009).

Oleh karena itu, untuk meminimalisir kehilangan senyawa polifenol pada saat penyangraian dapat dilakukan dengan metode penyangraian vakum, pada metode ini oksigen pada ruang penyangraian diminimalkan, sehingga proses oksidasi akan rendah dan

penurunan polifenol dapat dikurangi. Thamrin (2012) menyatakan dengan metode penyangraian vakum 45,6 cm Hg biji kakao hasil sangrai mempunyai kandungan polifenol dan kapasitas antioksidan 11,45% lebih tinggi bila dibandingkan dengan metode penyangraian konvensional.

Proses alkalisasi

Alkalisasi atau dikenal juga sebagai proses “dutching” merupakan penambahan sejumlah garam alkali NaHCO₃ atau KHCO₃ kedalam massa kakao atau cokelat untuk meningkatkan pH menjadi > 6 yang biasanya dilakukan setelah pelepasan kulit biji, untuk memperoleh citarasa yang kuat atau untuk memodifikasi warna cokelat bubuk menjadi cokelat gelap atau bahkan mendekati hitam (Wahyudi *et al.*, 2008). Menurut Hii *et al.* (2009) dan Noor-Soffalina *et al.* (2009) dengan adanya peningkatan pH menjadi alkalis mengakibatkan terjadinya penurunan kandungan senyawa polifenol, mengingat dalam kondisi netral maupun alkalis senyawa polifenol seperti *catechin* menjadi tidak stabil.



Gambar 9. Peak area senyawa polifenol pada cokelat bubuk natural dan alkalisasi berdasarkan analisis High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Sumber : Andreas-Lacueva *et al.* (2008)

Andreas-Lacueva *et al.* (2008) mengemukakan bahwa dengan proses alkalisasi kandungan senyawa polifenol pada cokelat bubuk menurun ± 60% bila dibandingkan dengan coklat bubuk natural tanpa alkalisasi (Gambar 9), dimana epicatechin menurun sebanyak 67% dan catechin menurun sebanyak 38%. Adapun hasil penelitian Miller *et al.* (2006) menyatakan kandungan total flavan-3-ol

pada cokelat bubuk natural sebanyak 22,86-40,25 mg/g, pada cokelat bubuk alkalisasi ringan sebanyak 8,76-24,65 mg/g dan pada cokelat bubuk alkalisasi berat sebanyak 1,33-6,05 mg/g.

Adanya proses pengolahan kakao seperti fermentasi, pengeringan, penyangraian dan proses teknologi produksi lainnya sangat berkontribusi terhadap pengurangan kandungan senyawa polifenol pada biji kakao maupun pada produk turunannya. Seperti pada proses fermentasi yang dapat mereduksi kandungan senyawa polifenol pada biji kakao sebanyak ± 53% dari kandungan semula (Misnawi, 2003; Aikpokpodion and Dongo, 2010). Senyawa polifenol yang terkandung dalam biji kakao sangat berkontribusi terhadap karakteristik citarasa cokelat karena memberikan rasa sepat (*astringent*) dan pahit (*bitter*) (Misnawi *et al.*, 2004; Redovnikovic *et al.*, 2009).

KANDUNGAN POLIFENOL PADA PRODUK TURUNAN KAKAO

Natsume *et al.* (2000), Kowalska and Sidorczyk (2007) serta Meng *et al.* (2009) menyatakankan kandungan polifenol pada berbagai produk turunan kakao (Tabel 3), terlihat bahwa semakin ke hilir proses produksi kandungan senyawa polifenol semakin menurun yang diakibatkan oleh adanya pengurangan pada setiap proses produksi.

Tabel 3. Kandungan polifenol pada beberapa jenis produk kakao dan cokelat

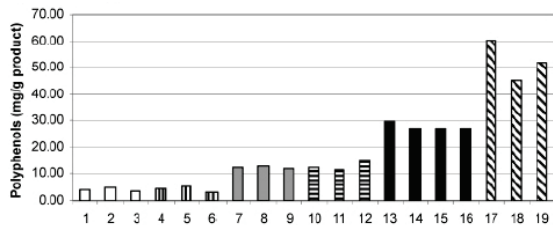
Jenis produk kakao/cokelat	Kandungan polifenol (%)	Kandungan total fenol (mg CAE/100 g)
Pasta kakao	2,02-4,11	-
Lemak kakao	0,01	-
Cokelat bubuk natural	3,02-4,73	1.274,47
Cokelat bubuk alkalisasi	-	267,35
Cokelat gelap (<i>dark chocolate</i>)	1,52-2,13	578,64
Cokelat susu (<i>milk chocolate</i>)	0,56	160,46
Cokelat putih (<i>white chocolate</i>)	-	126,39

Keterangan : CAE = Catechin Equivalent

Sumber : Natsume *et al.* (2000), Kowalska dan Sidorczyk (2007) Meng *et al.* (2009)

Gambaran hasil penelitian Miller *et al.* (2006) terhadap kandungan senyawa polifenol pada

berbagai produk coklat yang beredar di Amerika Serikat yaitu coklat sirup (1,2 dan 3), coklat susu (3,4 dan 6), coklat batang semi manis (7, 8 dan 9), coklat gelap (10, 11 dan 12), coklat *baking* (13, 14, 15 dan 16) dan coklat bubuk (17, 18 dan 19) (Gambar 10).



Gambar 10. Kandungan polifenol pada berbagai produk coklat

Sumber : Miller *et al.* (2006)

Menurut Harrington (2011) adanya kandungan senyawa polifenol dalam produk coklat akan memberikan keuntungan bagi peningkatan kualitas produk tersebut, dikarenakan senyawa polifenol mempunyai kemampuan antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan makanan akibat peristiwa oksidasi terhadap lemak kakao yang dapat menyebabkan ketengikan (*rancidity*). Dengan demikian akan meningkatkan keawetan maupun waktu simpan dari produk makanan coklat tersebut.

KAPASITAS ANTIOKSIDAN PADA BIJI KAKAO DAN PRODUK TURUNAN KAKAO

Penelitian Othman *et al.* (2010) terhadap kapasitas antioksidan biji kakao dari beberapa negara menyatakan biji kakao dari Indonesia mempunyai kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan biji kakao dari Malaysia, Ghana dan Pantai Gading (Tabel 4).

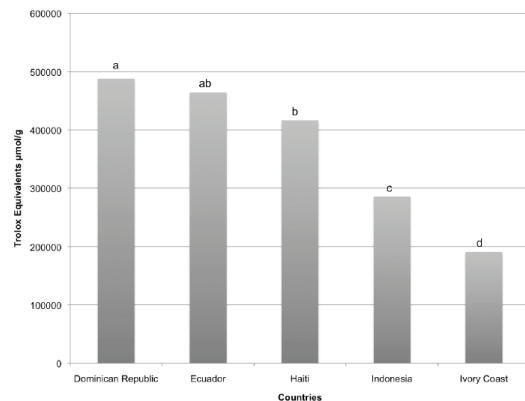
Adapun Harrington (2011) dari hasil penelitiannya melaporkan bahwa kapasitas antioksidan berdasarkan metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) terhadap biji kakao forastero sangrai dari beberapa negara yang disangrai pada *temperature* 130°C selama 30 menit adalah seperti yang tertera pada Gambar 11. Walaupun kapasitas antioksidan biji kakao

sangrai dari Indonesia lebih rendah dari negara Dominika, Ekuador dan Haiti, tetapi mempunyai kapasitas antioksidan yang lebih tinggi daripada Pantai Gading.

Tabel 4. Kapasitas antioksidan pada ekstraks biji kakao beberapa negara berdasarkan metode FRAP (*Feric Reducing Antioxidant Power*)

Asal biji kakao	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$ equivalent/100 g ekstrak biji kakao)	
	Ekstrak etanol	Ekstrak air
Indonesia	143,37	80,21
Malaysia	138,65	66,47
Ghana	113,64	68,84
Pantai Gading	77,47	54,22

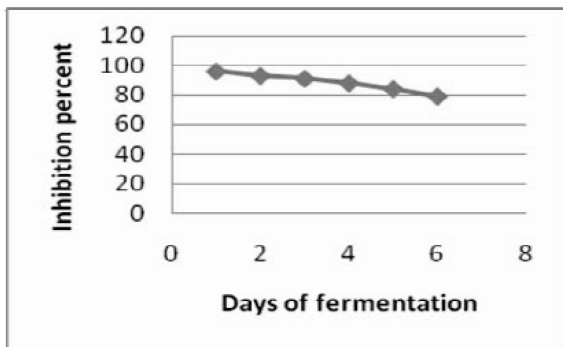
Sumber : Othman *et al.* (2010)



Gambar 11. Kapasitas antioksidan biji kakao forastero sangrai dari beberapa negara

Sumber : Harrington (2011)

Miller *et al.* (2006), Gu *et al.* (2006), Redovnikovic *et al.* (2009) dan Chin *et al.* (2013) menyatakan terdapat korelasi yang positif antara kapasitas antioksidan biji kakao dan produk turunannya dengan jumlah total polifenol yang dikandungnya. Sehingga semakin rendah kandungan polifenol akan semakin rendah pula nilai kapasitas antioksidannya. Oleh karena itu, apabila berbagai proses pengolahan biji kakao dapat menurunkan kandungan polifenol, maka demikian pula bahwa proses pengolahan dapat menurunkan nilai kapasitas antioksidan dari bahan tersebut. Seperti misalnya hasil penelitian Aikpokpodion dan Dongo (2010) yang menyatakan proses fermentasi pada biji kakao berpengaruh pada menurunnya nilai kapasitas antioksidan (Gambar 12).



Gambar 12. Pengaruh fermentasi terhadap kapasitas antioksidan biji kakao
 Sumber : Aikpokpodion dan Dongo (2010)

Adapun nilai kapasitas antioksidan beberapa produk coklat berdasarkan metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) dapat dilihat pada (Tabel 5). Terlihat bahwa semakin ke hilir proses produksi, semakin rendah nilai kapasitas antioksidan dari produk tersebut. Walaupun demikian, nilai kapasitas antioksidan dari berbagai produk coklat tersebut cukup memadai untuk berkontribusi dalam menyehatkan tubuh manusia.

Tabel 5. Kapasitas antioksidan beberapa produk coklat berdasarkan metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Jenis produk	ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
Cokelat bubuk natural	709-899
Cokelat bubuk alkalisasi	397-406
Cokelat pahit batangan (<i>unsweetened chocolate</i>)	450-532
Cokelat semi manis (<i>semi sweet chocolate</i>)	174-190
Cokelat gelap (<i>dark chocolate</i>)	161-349
Cokelat susu (<i>milk chocolate</i>)	68-86
Cokelat sirup	57,5-66,7

Keterangan : TE = Trolox Equivalent
 Sumber : Hii *et al.* (2009)

KONTRIBUSI SENYAWA POLIFENOL KAKAO TERHADAP KESEHATAN

Kandungan polifenol pada biji kakao dan produk coklat diyakini mempunyai kontribusi penting dalam menjaga kesehatan yaitu dikarenakan perannya sebagai berikut :

Sumber antioksidan

Hasil beberapa penelitian menyatakan biji kakao yang diolah menjadi produk olahan

kakao seperti coklat maupun minuman coklat merupakan sumber antioksidan dalam bentuk senyawa katekin, epikatekin, prosianidin dan bentuk senyawa polifenol lainnya (Kelishadi, 2005; Fraga, 2005; Vinson *et al.*, 2006). Vicioli *et al.* (2000) menyatakan senyawa antioksidan mempunyai kemampuan untuk mengurangi sejumlah gugus radikal bebas dalam tubuh manusia dan menyediakan pertahanan terhadap serangan spesies oksigen yang reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*). Radikal bebas merupakan molekul tidak stabil hasil dari proses metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Sebenarnya antioksidan ada secara alami di dalam tubuh, namun jumlahnya sedikit dan terus menurun seiring bertambahnya usia, karenanya tubuh perlu tambahan antioksidan dari asupan makanan.

Beberapa penelitian menunjukkan dengan mengkonsumsi antioksidan dapat mengurangi peluang munculnya penyakit degeneratif dan memperlambat penuaan. Antioksidan tersebut akan merangsang respon imun tubuh sehingga mampu menghancurkan radikal bebas, mempertahankan kelenturan pembuluh darah dan mempertahankan besarnya jaringan otak. Dengan mengkonsumsi zat antioksidan tersebut, berarti melindungi sel-sel maupun jaringan tubuh dari serangan radikal bebas (Vinson *et al.*, 2006; Latif, 2013).

Anti kanker

Telah banyak penelitian *in vitro* yang menyatakan bahwa polifenol yang terkandung pada biji kakao dapat menghambat perkembangan sel kanker (Latif, 2013). Yamagishi *et al.*, (2002) dan Amin *et al.*, (2004) menyatakan bahwa pada hewan percobaan tikus, ekstrak cairan biji kakao dapat dimanfaatkan untuk melawan sel kanker pada hati dan kelenjar saluran pankreas.

Ranneh *et al.* (2013) melaporkan gugus fenol pada biji kakao yang banyak berperan dalam menghambat sel kanker adalah senyawa flavanol dan prosianidin yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan biosintesis poliamin dari sel koloni kanker.

Lebih lanjut dinyatakan oleh Kelishadi (2005) senyawa prosianidin dapat menyebabkan turunnya secara signifikan aktivitas enzim ornithin dekarboksilase dan sadenosilmetionin dekarboksilat yang berperan dalam biosintesis poliamin sel kanker.

Anti diabetes

Grassi *et al.*, (2004a) dalam penelitiannya menyatakan dengan mengkonsumsi cokelat gelap (*dark chocolate*) yang kaya polifenol 100 g setiap hari dapat meningkatkan kandungan insulin yang berfungsi untuk menurunkan kandungan glukosa dalam darah, sehingga dapat mencegah dan mengurangi terjadinya penyakit diabetes melitus. Menurut Latif (2013) produk cokelat yang kaya polifenol sangat bermanfaat bagi penderita diabetes, karena dapat mengurangi resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas insulin pada tubuh, sehingga lambat laun insulin dapat diproduksi lagi lebih lanjut. Grassi *et al.*, (2004b) menjelaskan bahwa terjadinya pengurangan resistensi insulin dan peningkatan sensitivitas insulin dikarenakan adanya senyawa NO (*nitric oxide*) yang terangsang keluar akibat pengaruh polifenol cokelat.

Anti hipertensi

Hasil penelitian Fisher *et al.*, (2003), Engler *et al.*, (2004) dan Heiss (2005) menyatakan mengkonsumsi minuman cokelat atau *dark chocolate* dapat memperbaiki sistem aliran darah serta mampu untuk menurunkan tekanan darah. Taubert *et al.*, (2005) dan Grassi *et al.*, (2004a) menyatakan dengan mengkonsumsi sebanyak 100 g *dark chocolate* setiap hari dapat menurunkan tekanan darah, baik terhadap subyek hipertensif maupun pada subyek normotensif. Selanjutnya dijelaskan oleh Viochopoulos *et al.*, (2005) dan Latif (2013) senyawa polifenol yang terkandung dalam cokelat dapat merangsang sel endothelium vaskular pada tubuh untuk melepaskan serum senyawa NO yang bertanggung jawab dalam memperbaiki sistem aliran darah.

Anti inflamasi

Anti-inflamasi adalah obat-obatan untuk mengurangi tanda-tanda dan gejala peradangan, dimana menurut Latif (2013) senyawa polifenol yang terkandung dalam kakao mempunyai kemampuan sebagai anti inflamasi. Adapun mekanisme anti-inflamasi dari senyawa polifenol terjadi melalui efek penghambatan pada jalur metabolisme asam arakhidona, pembentukan prostaglandin dan pelepasan histamin pada radang (Sies *et al.*, 2005).

Menghilangkan stres

Senyawa polifenol yang terkandung dalam kakao juga memiliki kemampuan untuk memperbaiki kondisi mental, sehingga pengkonsumsinya merasa lebih rileks dan nyaman serta membantu meningkatkan konsentrasi untuk membuat lebih fokus. Messaoudi *et al.*, (2008) menyatakan polifenol kakao mempunyai sifat anti depresi yang dapat menciptakan perasaan nyaman untuk mengurangi stres dan rasa cemas, dimana asupan polifenol kakao dapat meningkatkan serotonin yang merupakan neurotransmitter di dalam otak yang dapat mempengaruhi emosi seseorang menjadi lebih baik.

Mencegah karies gigi

Senyawa polifenol mempunyai sifat anti kariogenik yaitu mempunyai kemampuan untuk mencegah berkembangnya bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus* yang merupakan bakteri perusak gigi (Ito *et al.*, 2003). Adapun mekanisme pencegahannya adalah senyawa polifenol dapat mengikat dan membentuk kompleks dengan polisakarida dinding bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, yang pada akhirnya dapat mencegah karies gigi (Kelishadi, 2005; Percipal *et al.*, 2006).

Memperbaiki kemampuan kognitif

Francis *et al.* (2006) dan Nehlig (2013) menyatakan asupan bahan pangan dari produk kakao maupun cokelat yang kaya senyawa flavanol ke dalam tubuh dapat meningkatkan aliran darah pada jaringan syaraf otak, yang

berarti senyawa flavanol yang terkandung dalam kakao maupun produk coklat dapat memegang peranan penting dalam meningkatkan kemampuan kognitif otak terutama memperbaiki daya ingat (*memory*) pada manusia usia lanjut.

Memperkuat resistensi terhadap hemolisis

Menurut Weisburger (2001) senyawa dari Oligomer polifenol kakao berupa epikatekin, katekin dan prosiyanidin berpengaruh untuk menghambat pecahnya sel-sel darah merah (hemolisis) pada tikus percobaan, sehingga senyawa polifenol tersebut dapat memberi perlindungan dan memperkuat resistensi terhadap hemolisis.

Menyehatkan jantung

Senyawa polifenol yang terkandung dalam kakao memiliki peran untuk membantu menurunkan kolesterol LDL (*low density lipoprotein*) yang merupakan kolesterol jahat, menurunkan trigliserida dalam darah, meningkatkan kolesterol HDL (*high density lipoprotein*) yang merupakan kolesterol baik, meningkatkan kapasitas total antioksidan pada serum darah serta menurunkan total kolesterol dalam darah (Wan *et al.*, 2001; Keen *et al.*, 2005; Vinson *et al.*, 2006; Latif, 2013). Terjadinya penurunan trigliserida maupun total kolesterol dalam darah dapat menghambat gejala penyempitan maupun penyumbatan pembuluh darah (*atherosclerosis*). Vinson *et al.* (2006) dalam penelitiannya terhadap hewan hamster menyatakan bahwa hewan yang diberi asupan coklat gelap 2 g/hari dapat menurunkan sebanyak 40% gejala *atherosclerosis*.

Menurut Corti *et al.* (2009) *atherosclerosis* yang terjadi pada pembuluh darah yang menuju jantung (arteri koroner) merupakan penyebab penyakit kardiovaskuler khususnya *Ischaemic Heart Disease* (penyakit jantung koroner/serangan jantung), dan jika *atherosclerosis* terjadi pada pembuluh darah yang menuju otak (arteri karotid) maka dapat mengakibatkan terjadinya stroke. Engler dan Engler (2004) serta Nestle Research Centers, (2010) menyatakan selain peran tersebut diatas, senyawa polifenol kakao juga berkontribusi

terhadap pelebaran pembuluh darah untuk memperbaiki sirkulasi aliran darah, serta secara positif mempengaruhi peningkatan produksi senyawa *eicosanoid* yang bermanfaat dalam menjaga kesehatan jantung.

Sebagai aprodisiak

Afoakwa (2008) menyatakan gugus senyawa polifenol seperti flavanol secara klinis telah terbukti efektif sebagai katalis dalam meningkatkan aktivitas senyawa NO, dimana NO merupakan senyawa yang banyak berperan dalam proses fisiologis dalam tubuh, diantaranya meningkatkan aliran darah dan melebarkan pembuluh darah sehingga dapat berperan mengobati disfungsi ereksi. Hasil penelitian Heiss *et al.* (2005) menyatakan mengkonsumsi produk kakao yang mengandung flavanol konsentrasi tinggi, secara signifikan meningkatkan sirkulasi NO maupun pelebaran pembuluh darah lebih tinggi bila dibandingkan dengan mengkonsumsi produk kakao dengan flavanol konsentrasi rendah.

PENUTUP

Senyawa polifenol yang terkandung dalam biji kakao sangat berkontribusi terhadap karakteristik citarasa coklat. Disamping itu senyawa polifenol yang terkandung dalam biji kakao maupun produk turunannya seperti pasta kakao, coklat bubuk, coklat gelap (*dark chocolate*), coklat susu (*milk chocolate*) dan sebagainya sangat berkontribusi positif terhadap penjagaan kesehatan tubuh manusia. Oleh karena itu, pada pengembangan industri hilir kakao dan coklat berupa industri makanan maupun minuman, harus tetap menjaga agar produk akhirnya tetap kaya akan kandungan polifenol yang menyehatkan. Adapun untuk pengembangan senyawa polifenol khusus sebagai produk farmasi dapat diekstrak dari biji kakao tanpa fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackar, D., K.V. Landic, M. Valek, D. Subaric, B. Milicevic, J. Babic and H. Nedic. 2013. Cocoa polyphenols : can we consider cocoa and chocolate as potential functional food. *Journal of Chemistry* 13 : 289-296.
- Afoakwa, E.O. 2008. Cocoa and chocolate consumption : Are there aphrodisiac and other benefits for human health?. *South African Journal of Clinical Nutrition* 21 (3) : 107-113.
- Afoakwa, E.O., J. Quao, F.S. Takrama, A.S. Budu and F.K. Saalia. 2012. Changes in total polyphenols, o-diphenols and anthocyanin concentration during fermentation of pulp pre-conditional cocoa (*Theobroma cacao* L.). *International Food Research Journal* 19 (3) : 1071-1077.
- Afoakwa, E.O., J.E. Kongor, J.F. Takrama, A.S. Budu and H. Mensah-Brown. 2013. Effects of pulp preconditioning on total polyphenols, O-diphenols and anthocyanin concentrations during fermentation and drying of cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *Journal of Food Science and Engineering* 3 (20) : 235-245.
- Aikpokpodion, P.E. and L.N. Dongo. 2010. Effects of fermentation intensity polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. *International Journal of Sustainable Crop Production* 5(4) : 66-70.
- Amin, I., B.K. Koch and R. Asmah. 2004. Effects of cacao liquor extract on tumor marker enzyme during chemical hepato carcino-genesis in rats. *Journal of Medicine and Food* 7 : 7-12.
- Andres-Lacueva, C., M. Monagas, N. Khan, M. Izquierdo-Pulido, M. Urpi-Sarda, J. Permanyer and R.M. Lamuela-Raventos. 2008. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder product: Influence of the manufacturing process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 : 3111-3117.
- Beckett, S.T. 2008. *The Science of Chocolate*. 2nd Edition. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Milton Road. Cambridge CB4 0WF, United Kingdom. 240p.
- Belscak, A., D. Komes, D. Horzic, K.K. Ganic and D. Karlovic. 2009. Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. *Food Research International* 42 : 707-716.
- Bruna, C., I. Eichholz, S. Rohn, L.W. Kroh and S. Huysken-Keil. 2009. Bioactive compound and antioxidant activity of cocoa hulls from different origin. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 83 : 9-13.
- Camu, N., T.D. Winter, S.K. Addo, J.S. Takrama, H. Bernaert and L.D. Vuyst. 2008. Fermentation of cocoa beans : Influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of Science Food and Agriculture* 88 : 2288-2297.
- Chin, E., K.B. Miller, M.J. Payne, W.J. Hurst and D.A. Stuart. 2013. Comparison of antioxidant activity and flavanol content of cocoa beans processed by modern and traditional Mesoamerican methods. *Heritage Science* 1 : 1-7.
- Cooper, K.A., E. Campos-Gimenez, D.J. Alvarez, K. Nagy, J.L. Donovan and G. Williamson. 2007. Rapid reversed phase ultra-performance liquid chromatography analysis of the major cocoa polyphenols and inter-relationships of their concentrations in chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 : 2841-2847.
- Corti, R., A.J. Flammer, N.K. Hollenberg and T.F. Luscher. 2009. Cocoa and cardiovascular health. *Circulation* 119 : 1433-1441.
- Crozier, S.J., A.G. Preston, J.W. Hurst, M.J. Payne, J. Mann, L. Hainly and D.L. Miller. 2011. Cocoa seeds are a "Super Fruit" : A comparative analysis of various fruit powders and products. *Chemistry Central Journal* 5 : 1-6.

- De-Brito, E.S.; N.H.P. Garcia; M.I. Gallao; A.L. Cortelazzo; P.S. Fevereiro and M.R. Braga 2000. Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *Journal of Science of Food and Agriculture* 81 : 281-288.
- Di-Mattia, C., M. Martuscelli, G. Sacchetti, I. Scheirlinck, B. Beheydt, D. Mastrocola and P. Pittia. 2013. Effect of fermentation and drying on procyanidins, antiradical activity and reducing properties of cocoa beans. *Food Bioprocess Technology* 6 : 3420-3432.
- Engler, M.B. and M.M. Engler. 2004. The vasculoprotective effects of flavonoid-rich cocoa and chocolate. *Nutrition Research* 24 : 695-706.
- Fraga, C.G. 2005. Cocoa, diabetes and hypertension : should we eat more chocolate. *American Journal of Clinical Nutrition* 81 : 541-542.
- Francis, S.T., K. Head, P.G. Morris and I.A. MacDonald. 2006. The effect of flavanol rich cocoa on the MRI response to cognitive task in healthy young people. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 47 : 221-223.
- Fisher, N.D.L., M. Hughes, M. Gerhard-Herman and N.K. Hollenberg. 2003. Flavanol rich cocoa induces nitric oxides dependent in healthy humans. *Journal of Hypertens* 21 : 2281-2286.
- Grassi, D., S. Lippi, S. Nicoziona, G. Desideri and C. Ferri. 2004a. Short-term administration of dark chocolate is followed by significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *American Journal of Clinical Nutrition* 81 : 611-614.
- Grassi, D., S. Lippi, S. Nicoziona, C. Lippi, G. Croce, L. Valeri, P. Pasqualetti, J.B. Blumberg and C. Ferri. 2004b. Cocoa induces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension Journal* 46 : 398-405.
- Gu, L., S.E. House, X. Wu, B. Ou and R.L. Prior. 2006. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (11) : 4057-4061.
- Harrington, W.L. 2011. The Effects of Roasting Time and Temperature on The Antioxidant Capacity of Cocoa from Dominican Republic, Equador, Haiti, Indonesia and Ivory Coast. Thesis of Master of Science The University of Tennessee, Knoxville USA. 66p.
- Heiss, C., A. Dejam, P. Kleinbogard, S. Perre, H. Schroeten and M.A. Kelm. 2005. Accute consumption of flavanol rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers. Cocoa, diabetes and hypertension : should we eat more chocolate. *Journal of American Coll. and Cardiology* 46 : 1276-1283.
- Hii, C.L., C.L. Law, S. Suzannah, Misnawi and M. Cloke. 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2 (4) : 702-722.
- ICCO. 2012. International Cocoa Organization Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XXXVIII, No. 4, Cocoa year 2011/2012. <http://www.icco.org/> (7 Januari 2013).
- Ito, K., Y. Nakamura, T. Tokunaga, D. Iijima and K. Fukushima. 2003. Anti-cariogenic properties of a water soluble extract from cacao. *Bioscience Biotechnology and Biochemical* 67 (12) : 2567-2573.
- Jalil, A.M.M. and A. Ismail. 2008. Polyphenols in cocoa and cocoa product : Is there a link between antioxidant properties and health?. *Molecules* 13 : 2190-2219.
- Janeiro, P. and A.M.O. Brett. 2004. Catechin electrochemical oxidation mechanism. *Analytica Chimica Acta* 518 : 109-115.

- Jonvia-Essien, W.A., G. West, P.G. Alderson and G. Tucker. 2008. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food Chemistry* 108 : 1155-1159.
- Keen, C.L., R.R. Holt, P.I. Oteiza, C.G. Fraga and H.H. Schmitz. 2005. Cocoa antioxidant and cardiovascular health. *American Journal of Clinical Nutrition* 81 : 298-303.
- Kelishadi, R.M.D. 2005. Cocoa to cocoa to chocolate : healthy food?. *ARYA Journal* 1 : 28-34.
- Kowalska, J. and A. Sidorczyk. 2007. Analysis of the effect of technological processing on changes antioxidant properties of cocoa processed Products. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57 (2A) : 95-99.
- Latif, R. 2013. Chocolate/cocoa and human health : a review. *The Journal of Medicine* 71(2) : 63-68.
- Lima, L.J.R., M. H. Almeida, M.J.R. Nout and M.H. Zwietering. 2011. *Theobroma cacao* L., the food of the gods : Quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of fermentation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51 : 731-761.
- Meng, C.C., A.M.M. Jalil and A. Ismail. 2009. Phenolic and theobromine contents of commercial dark, milk and white chocolates on the Malaysian market. *Molecules* 14 : 200-209.
- Messaoudi, M., J.F. Bisson, A. Nejdj, P. Rozan and H. Javelot. 2008. Antidepressant-like effects of a cocoa polyphenolic extract in Wistar-Unilever rats. *Nutrition Neuroscience* 11 (6) : 269-276.
- Miller, K.B., D.A. Stuart, N.L. Smith, C.Y. Lee, N.L. McHale, J.A. Flanagan, B. Ou and W.J. Hurst. 2006. Antioxidant activity and polyphenols and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate product in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (11) : 4062-4068.
- Misnawi. 2003. Influences of Cocoa Polyphenols and Enzyme Reaction on The Flavor Development of Unfermented and Under-Fermented Cocoa Beans. Thesis of Doctor of Philosophy Universiti Putra, Malaysia. 329p.
- Misnawi and S. Jinap. 2003. Effect of cocoa bean polyphenols on sensory properties and their changes during fermentation. *Pelita Perkebunan* 19 (2) : 90-103.
- Misnawi, B. Jamilah and S. Nazamid. 2004. Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during coco liquor roasting. *Food Chemistry* 85 (1) : 73-80.
- Natsume, M., N. Osakabe, M. Yamagishi, T. Takizawa, T. Nakamura, H. Miyatake, T. Hatano and T. Yoshida. 2000. Analysis of polyphenols in cacao liquor, cocoa and chocolate by normal phase and reversed phase HPLC. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 64 (12) : 2581-2587.
- Nehlig, A. 2013. The neuroprotective effects of cocoa flavanol and its influence on cognitive performance. *British Journal of Clinical Pharmacology* 75 : 716-727.
- Nestle Research Centers. 2010. Focos on : Polyphenols in chocolate. Nestle Research Centers. 3p.
- Noor-Soffalina, S.S., S. Jinap, S. Nazamid and S.H.A. Nazimah. 2009. Effect of polyphenol and pH on cocoa Mailard related flavour precursors in a lipidic model system. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 168-180.
- Othman, A., A. Ismail, N.A. Ghani and I. Adenan. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100 : 1523-1530.
- Othman, A., A.M.M. Jalil, K.K. Wang, A. Ismail, N.A. Ghani and I. Adenan.

2010. Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries. *African Journal of Biotechnology* 9 (7) : 1052-1059.
- Owosu, M. 2010. Influence of Raw Material and Processing on Aroma in Chocolate. Ph.D. Thesis Faculty of Life Science, University of Copenhagen, 98p.
- Percipal, R.S., D.A. Devine, M.S. Duggal, S. Chartron and P.D. Marsh. 2006. The effect of cocoa polyphenols on the growth, metabolism, and biofilm formation by *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *European Journal of Oral Science* 14 (4) : 343-348.
- Ranneh, Y., F. Ali and N.M. Esa. 2013. The protective effect of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in colon cancer. *Journal of Nutrition and Food Science* 3 (2) : 190-193.
- Redovnikovic, I.R., K. Delonga, S. Mazor, V. Dragovic-Uzelac, M. Caric and J. Vorkapic-Furac. 2009. Polyphenolic content and composition and antioxidative activity of different cocoa liquors. *Czech Journal of Food Sciences* 27 (5) : 330-337.
- Saltini, R., R. Akkerman and S. Frosch. 2013. Optimizing chocolate production through traceability a review of influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control* 29 : 167-187.
- Sies, H., T. Schewe, C. Heiss and M. Keln. 2005. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *American Journal of Clinical Nutrition* 81 : 304-312.
- Subhashini, R., U.S.M. Rao, P. Sumathi and G. Gunalan. 2010. A comparative phytochemical analysis of cocoa and green tea. *Indian Journal of Science and Technology* 3 (2) : 188-196.
- Tamrin. 2012. Perubahan aktivitas antioksidan bubuk kakao pada penyangraian vakum. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Inovatif Pascapanen Pertanian IV*. p. 80-90. Bogor, 17 November 2012.
- Taubert, D., R. Beckels, R. Rossen and W. Klaus. 2003. Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension. *Journal of American Medicine Associated* 290 (8) : 1029-1031.
- Vicioli, F., L. Borsami and C. Galli. 2000. Diet and prevention of coronary heart disease : the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research* 7 (3) : 419-423.
- Vinson, J.A., J. Proch, P. Bose, S. Muchler, P. Taffera, D. Shuta, N. Samman and G. A. Agbor. 2006. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant an antiatherosclerotic agent in a animal model and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 : 8071-8076.
- Viochopoulos, C., K. Aznaouridis, N. Alexpoulos, E. Economou and C. Stefanadis. 2005. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals. *American Journal of Hypertens* 18 : 785-791.
- Wahyudi, T.; T.R. Panggabean dan Pujianto. 2008. Panduan Kakao Lengkap, Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir. Penebar Swadaya, Jakarta, 364p.
- Wan, Y., J.A. Vinson, T.D. Etherton, J. Proch, S.A. Lazarus and P.M. Kris-Etherton. 2001. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 74 : 596-602.
- Watson, R.R., V.R. Preedy and S. Zibadi. 2012. Chocolate in Health and Nutrition. Humana Press brand of Springer, New York Heidelberg Dordrecht London. 541p.

- Weisburger, J.H. 2001. Chemo preventive effects of cocoa polyphenols in chronic diseases. *Exploration Biology and Medicine* 226 (10) : 891-897.
- Wollgast, J. 2004. The contents and effects of polyphenols in chocolate. Dissertation for obtaining the degree of doctor of The Faculty of Agricultural and Nutritional Sciences, Home Economics and Environmental Management at The University of Gieben, Germany.
- Wollgast, J. and E. Anklam. 2000. Review of polyhenols in Theobroma cacao : changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33 : 423-447.
- Yamagishi, M., M. Natsume, N. Okasabe, H. Nakamura, F. Furukawa, A. Nishikawa and M. Herose. 2002. Effect of cacao liquor proanthocyanidins on Ph IP induced mutagenesis in vitro and in vivo mammary and pancreatic tomorigenesis in female sprague-dawley rats. *Cancer Letters* 185 : 123-130.

