
FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH TERHADAP KANDUNGAN POLIFENOL PADA BIJI DAN PRODUK BERBASIS KAKAO

FACTORS AFFECTING THE POLYPHENOL CONTENTS IN COCOA BEANS AND COCOA-BASED PRODUCTS

Edi Wardiana

BALAI PENELITIAN TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357

ediwardiana@yahoo.com

ABSTRAK

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan tanaman neotropik tahunan yang memiliki manfaat penting, baik sebagai produk pangan maupun produk kesehatan. Khusus untuk produk kesehatan, biji dari tanaman kakao memiliki kandungan senyawa polifenol yang jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanaman penghasil polifenol lainnya, termasuk teh dan anggur. Kandungan polifenol pada biji kakao dapat mencapai 10% dari bobot keringnya. Salah satu sub-klas polifenol yang memegang peranan penting bagi kesehatan manusia adalah flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, antiradikal, antimikrobal, antiproliferasi, antimutagenik, dan antikarsinogenik. Kandungan polifenol akan dipengaruhi oleh berbagai aktivitas dan aktor yang terlibat pada setiap rantai nilai produksi cokelat, mulai dari periode pra panen (*on-farm*) sampai pasca panen dan pengolahan (*off-farm*). Tulisan ini bertujuan mengidentifikasi dan menganalisis berbagai faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa polifenol pada biji kakao dan produk akhir yang dihasilkannya. Pada periode pra panen, faktor yang mempengaruhi kandungan polifenol biji kakao adalah genetik (genotipe/varietas/klon) berinteraksi dengan faktor lingkungan biofisik maupun agronomis (budidaya). Selanjutnya pada periode pasca panen, interaksi terjadi antar komponen faktor pasca panen dan pengolahan yang meliputi proses penyimpanan buah, fermentasi, pengeringan, serta penyangraian biji. Komponen-komponen faktor pasca panen dan pengolahan memiliki "pengaruh yang berlawanan" untuk dua orientasi produk yang berbeda (produk pangan atau kesehatan). Semakin tinggi intensitas pengolahan, semakin menurun kandungan polifenol, tetapi citarasa semakin meningkat. Oleh karena itu, diperlukan suatu keseimbangan antara "kesehatan dan citarasa" melalui kombinasi perlakuan pada komponen-komponen pasca panen dan pengolahan dengan tujuan memproduksi cokelat yang dapat diterima secara baik oleh pasar.

Kata kunci: Kakao, polifenol, genetik dan lingkungan, pasca panen, pengolahan

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is a perennial neotropical plant that has important benefits, either as food or health products. Particularly for the purpose as health products, cocoa beans contain polyphenol compounds that are much higher compared to the other crops which also produce polyphenols including tea and grape. The content of polyphenols in cocoa beans can reach about 10% of their dry weight, and flavonoid which are a subclass of polyphenols have an important role for human health as an antioxidant, antiradical, antimicrobial, antiproliferative, antimutagenic, and anticarcinogenic. Polyphenol content is influenced by various activities and considered as an agent that involved in the value chain of chocolate production, starting from pre-harvest period (*on-farm*) to post-harvest and processing (*off-farm*) periods. This papers aimed to identify and analyze several important factors affecting the polyphenol content in cocoa beans and cocoa-based products. At the pre-harvest periods, the genetic factors (genotypes/varieties/clones) interacts with the biophysical environment as well as agronomic factors (cultivation) in influencing the polyphenols content of cacao beans. Furthermore, at the post-harvest periods, the interaction occurs among the various components of post-harvest and processing factors such as pods storage, fermentation, drying, and roasting of cacao beans. The components of post-harvest and processing factors has "an opposite effect" for two different products orientation (foods or healths product). In which, the higher intensity of processing will make the polyphenols content decreased, but the flavor will increase. Therefore, we need a balance between "health and flavor" through a combination of treatments on the components of post-harvest and processing to produce chocolate which can be received well by the market.

Keywords: Cocoa, polyphenol, genetic and environment, post-harvest, processing

PENDAHULUAN

"Cokelat" yang sekarang banyak ditemukan di pasaran adalah salah satu bentuk produk pangan yang diperoleh dari hasil pengolahan derivat biji kakao. Pada awalnya, cokelat merupakan salah satu jenis pangan mewah dan yang biasa mengkonsumsinya terbatas hanya pada orang-orang dari "golongan atas". Namun demikian, sejak akhir abad ke-19, cokelat mulai populer dan berkembang hampir ke seluruh dunia sehingga dapat dinikmati

oleh banyak orang (Badrie, Bekele, Sikora, & Sikora 2014). Bahan-bahan penyusun cokelat terdiri dari kombinasi campuran pasta kakao (*chocolate liquor*), gula, lemak kakao, dan beberapa jenis bahan tambahan untuk penambah citarasa (Kelishadi, 2005). Di pasaran, terdapat beberapa jenis cokelat, di antaranya adalah (1) cokelat pahit (*bitter chocolate*) yang terbuat dari pasta kakao dengan sedikit gula; (2) cokelat susu (*milk chocolate*) yang dibuat dari campuran pasta kakao, lemak kakao, gula, dan susu bubuk dalam jumlah substansial; dan (3) cokelat

putih (*white chocolate*) yang terbuat dari campuran lemak kakao, gula, dan susu bubuk (Rizza, Liang, McMohan, & Harrison, 2000). Sebagai sumber bahan pangan berupa cokelat, daging biji (kotiledon) kakao mengandung 32-39% air, 2-3% selulosa, 4-6% pati, 4-6% pentosans, 2-3% sukrosa, 30-32% lemak, 8-10% protein, 2-3% theobromin, 1% kafein, 1% asam, dan 5-6% polifenol, sedangkan pulpa mengandung 82-87% air, 10-13% gula, 2-3% pentosans, 1-2% asam sitrat, dan 8-10% garam (Lopez & Dimick, 1995).

Di samping sebagai bahan dasar untuk produk pangan, kakao berfungsi juga sebagai bahan dasar untuk produk kesehatan. Perhatian publik terhadap fungsi kakao sebagai bahan untuk produk kesehatan bukan merupakan hal yang baru, tetapi telah dimulai sejak abad ke-16 sampai sekarang. Di Benua Eropa telah banyak dipublikasi hasil penelitian yang mengungkap tentang peranan kakao sebagai bahan dasar produk pangan yang sekaligus menyehatkan (Dillinger *et al.*, 2000). Jumlah publikasinya di jurnal-jurnal biomedis cenderung meningkat mulai dari tahun 1985, dan pada tahun 2010 telah mencapai sekitar 400 publikasi (Visioli, Bernardini, Poli, & Paolett, 2012).

Aktivitas farmakologi yang paling banyak diteliti adalah kandungan polifenol, dan salah satu sub-klasnya adalah "flavonoid" yang berfungsi sebagai antioksidan alami dan telah dipercaya memiliki efek dalam mencegah dan mengurangi risiko penyakit jantung dan kanker (Corti, Flammer, Hollenberg, & Lüscher, 2009; Colombo, Pinorin-Godly, & Conti, 2012; Visioli *et al.*, 2012; Martin, Goya, & Ramos, 2013; Ranneh, Ali, & Esa, 2013; Khan *et al.*, 2014). Flavanol merupakan salah satu jenis senyawa dari kelompok flavonoid yang tersusun dari beberapa molekul fenol (polifenol) (Bernaert, Blondeel, Allegaert, & Lohmueller, 2012).

Kakao sebagai bahan dasar untuk produk pangan dan kesehatan, tentunya memerlukan genotipe/varietas/klon, lingkungan tumbuh, teknik budidaya, dan pasca panen yang spesifik agar kedua manfaat itu dapat dicapai dengan baik. Selanjutnya, dalam proses industrialisasi kakao menjadi produk akhir yang siap untuk dipasarkan, sarat dengan penggunaan berbagai jenis bahan kimia serta perlakuan suhu tinggi yang dapat berpengaruh terhadap kuantitas dan kualitas polifenol yang diperlukan untuk tujuan kesehatan. Berbagai aktivitas dan "aktor/pemain" yang ada pada setiap rantai nilai produksi cokelat akan berkontribusi terhadap naik-turunnya kandungan polifenol pada biji kakao maupun pada produk akhir yang akan dihasilkan. Penelusuran terhadap aktivitas-aktivitas tersebut menjadi penting untuk dilakukan, seperti yang telah dilakukan oleh Saltini, Akkerman, & Frosch (2013) terhadap aspek-aspek kualitas dan aroma pada biji kakao dan pada beragam produk akhir yang dihasilkan dari biji kakao.

Sejalan dengan pernyataan-pernyataan di atas maka tulisan ini bertujuan mengidentifikasi dan menganalisis berbagai faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa polifenol pada biji kakao dan pada produk yang terbuat dari biji kakao. Pada bagian awal, disampaikan hal-hal yang berkaitan

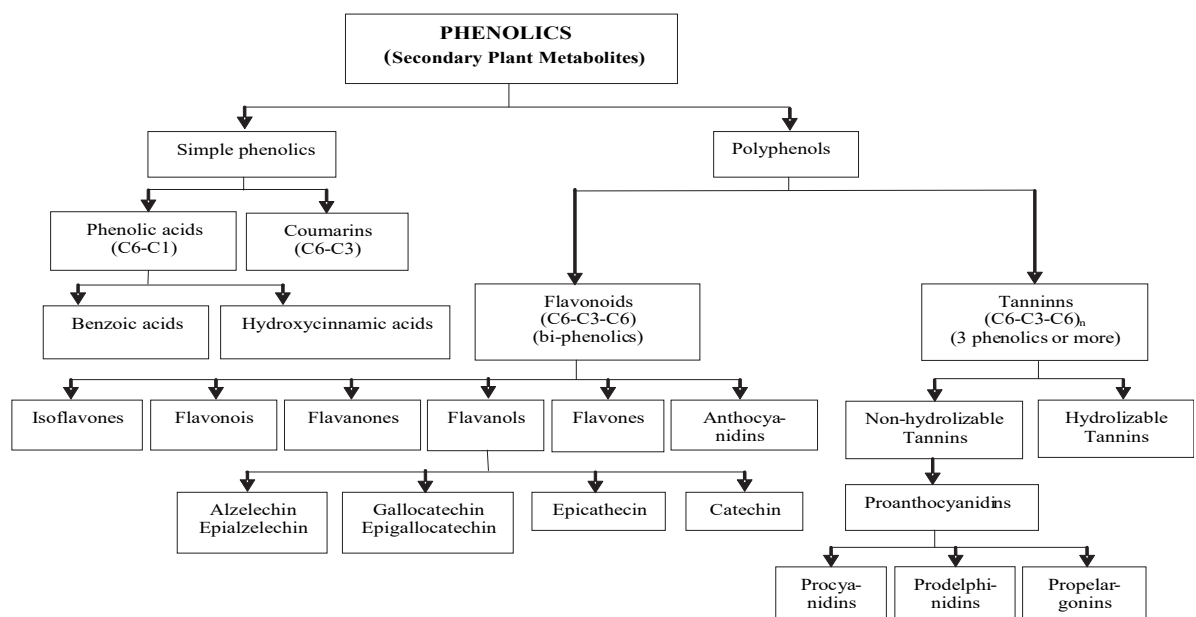
dengan senyawa polifenol yang terdapat pada biji kakao yang merupakan bahan dasar untuk produk kesehatan. Selanjutnya, pada bagian isi disampaikan analisis faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kandungan polifenol, baik yang ada pada biji kakao maupun pada produk yang dihasilkannya. Identifikasi faktor dibagi ke dalam dua bagian, yaitu kondisi-kondisi pada periode sebelum panen (pra panen) dan periode setelah panen (pasca panen dan pengolahan). Di bagian akhir, sebagai penutup, disampaikan intisari atau ringkasan dari pembahasan-pembahasan yang telah dikemukakan sebelumnya, serta implikasi yang dapat diperoleh bagi kepentingan penelitian dan pengembangannya di masa yang akan datang.

SENYAWA POLIFENOL PADA KAKAO

Struktur Kimia dan Senyawa Turunannya

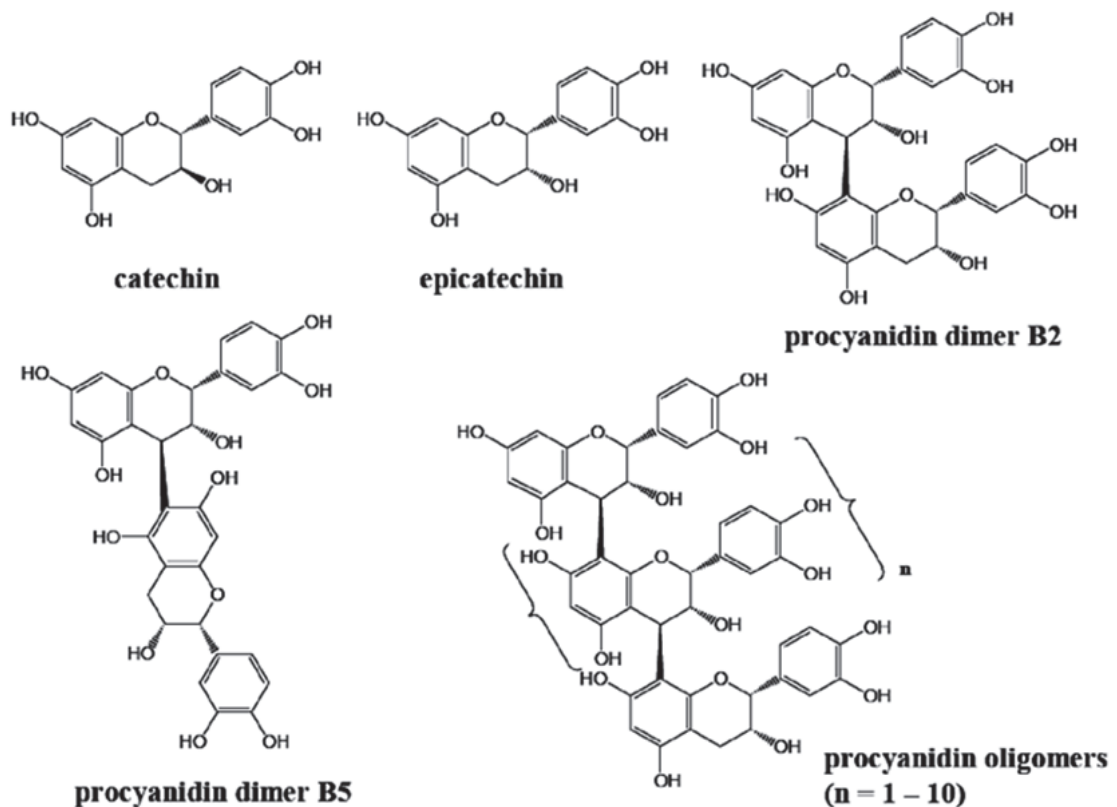
Berdasarkan struktur kimianya, senyawa polifenol merupakan gabungan dari beberapa senyawa fenol yang banyak ditemukan pada berbagai jenis tanaman, dan "flavonoid" merupakan salah satu sub-klasnya yang memiliki peranan paling penting bagi kesehatan dibandingkan senyawa lainnya (Wollgast, 2004; Robbins, Kwik-Urbe, Hammerstone, & Schmitz, 2006). Pada Gambar 1, diperlihatkan skema klasifikasi polifenol berdasarkan pada banyaknya jumlah sub-unit fenol yang menyusunnya serta berdasarkan pada hierarki monomer dan polimer flavonoid. Selanjutnya, berdasarkan pada perbedaan dari struktur cincin C-heterosiklik pada senyawa tersebut maka flavonoid terbagi ke dalam beberapa jenis di antaranya adalah isoflavones, flavonoids, flavanone, flavanols, flavones, dan anthocyanidin. Dari keenam jenis tersebut, flavanols dinilai memiliki potensi yang paling penting dalam hal pencegahan penyakit kardiovaskular (penyakit jantung) (Robbins *et al.*, 2006).

Kakao mengandung bermacam-macam senyawa polifenol (Counet, Ouwerx, Rosoux, & Collin, 2004) yang tersimpan dalam sel-sel pigmen kotiledon (Wollgast, 2004). Jumlah polifenol pada biji kakao mencapai sekitar 6-8% (Zumbe, 1998), bahkan dapat mencapai 10% dari bobot keringnya (Rusconi dan Conti, 2010; Badrie *et al.*, 2014). Beberapa senyawa polifenol yang ditemukan pada biji kakao di antaranya adalah (1) asam hydroxybenzoat (*gallic, siringic, protocatechic, vanillic acid*); (2) asam hydroxycinnamic (*caffeic, ferulic, p-coumaric, phloretic acids, clovamide, dideoxyclovamide*); (3) flavanols (*quercetin*); (4) flavones (*luteolin, apigenin*); (5) flavanones (*naringenin*); dan (6) flavanols (*catechin, epicatechin, procyanidins/ oligomers and polymers*) (Counet *et al.*, 2004). Dari sejumlah itu, ternyata "flavanols" ditemukan dalam jumlah yang paling tinggi pada biji kakao bila dibandingkan jenis flavonoid lainnya (Bernaert *et al.*, 2012). Senyawa flavanol monomerik lebih dikenal dengan senyawa catechin dan epicatechin, sedangkan senyawa flavanol oligomerik lebih dikenal dengan procyanidin. Susunan kimia senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Skema klasifikasi polifenol berdasarkan jumlah sub-unit fenol dan hierarki monomer serta polimer senyawa flavonoid (Sumber: Robbins *et al.*, 2006)

Figure 1. Classification scheme of polyphenol according to the number of phenol subunits and the hierarchy of common flavonoid monomers and polymers (Source: Robbins *et al.*, 2006)



Gambar 2. Flavanol yang banyak ditemukan pada kakao (Sumber: Wollgast, 2004)

Figure 2. Major flavanols found in cocoa (Source: Wollgast, 2004)

Polifenol pada kakao dan produk turunannya dapat dianalisis dengan berbagai metode seperti: *thin-layer chromatography* (TLC), *capillary electrophoresis* (CE), *high-performance liquid chromatography* (HPLC), *ultraviolet* (UV), *photo-diode array* (DAD), *mass spectrometry* (MS), *tandem mass spectrometry* (LC-MS-MS), dan *nuclear magnetic resonance* (NMR) (Rabenda *et al.*, 2003; Caligiani, Acquotti, Cirlini, & Pall, 2010).

Manfaat dan Fungsinya

Senyawa polifenol pada kakao dan coklat telah banyak diteliti mengandung berbagai komponen bioaktif yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia karena memiliki sifat antioksidan, antiradikal, dan antikarsinogenik (Wollgast & Anklam, 2000a; Ren, Qiao, Wang, Zhu, & Zhang, 2003), antimikroba sehingga dapat menghambat patogen pada makanan (Osawa *et al.*, 1990; Ferrazzano, Amato, Ingenito, De Natale, & Pollio, 2009), antiproliferasi dan antimutagenik (Andujar, Recio, Giner, & Rios, 2012), dapat menghambat terjadinya oksidasi senyawa kolesterol berkerapatan rendah (LDL) pada sel endotelial (Pearson, Schmitz, Lazarus, & Keen, 2004; Corti *et al.*, 2009), dapat meningkatkan kolesterol berkerapatan tinggi (HDL), dan dapat menurunkan kandungan trigliserida (Vinson, Proch, & Bose, 2006).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Redovnikovic *et al.* (2009) dengan menggunakan dua metode pengukuran antioksidan yang berbeda, yaitu ORAC (*oxygen radical antioxidant capacity*/kapasitas

antioksidan radikal oksigen) dan DPPH (*1,1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), menunjukkan kandungan total polifenol pada kakao berhubungan secara positif dengan aktivitas antioksidan pada kedua metode tersebut. Hasil penelitian tersebut sejalan dengan hasil penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Velioglu, Mazza, Gao, & Oomah (1998); Yang, Lin, & Mau (2002); Nagai, Reiji, Hachiro, & Nobutaka (2003); Counet *et al.* (2004); Ninfali, Mea, Giorgini, Rocchi, & Bacchiocca (2005); Miller *et al.* (2006); Arlorio *et al.* (2008); dan Othman *et al.* (2010). Tetapi, terdapat penelitian lain yang hasilnya berbeda, yaitu total senyawa fenol pada kakao tidak berhubungan secara positif dengan aktivitas antioksidan, baik yang diekstrak dengan air maupun etanol (Othman, Ismail, Ghani, & Adenan, 2007). Perbedaan hasil ini diduga karena pengaruh dari perbedaan metode analisis di dalam menguji aktivitas antioksidan, dan metode yang digunakan oleh Othman *et al.* (2007) adalah metode *β -carotene Bleaching Method* yang dikembangkan oleh Velioglu *et al.* (1998). Hal yang sama terjadi pada hasil penelitian yang menguji kapasitas antioksidan pada pulpa kakao dengan dua metode berbeda, yaitu ORAC dan CAA (*cellular antioxidant assay*), dan hasilnya menunjukkan hal yang berlawanan. Hasil yang berlawanan ini diduga karena pada metode ORAC mengabaikan proses serapan dan metabolisme senyawa fenolik bila dibandingkan dengan metode CAA (Endraiyani, 2011).

Tabel 1. Produk pangan yang mengandung antioksidan tinggi
Table 1. Food products contained high antioxidants

No.	Jenis produk pangan	Kapasitas antioksidan radikal oksigen (ORAC) (unit per 100 g)
1.	Cokelat gelap (<i>dark chocolate</i>)	13.120
2.	Cokelat susu (<i>milk chocolate</i>)	6.740
3.	Buah prune	5.770
4.	Raisin	2.830
5.	Buah blueberry	2.400
6.	Buah blackberry	2.036
7.	Buah kale	1.778
8.	Buah strawberry	1.540
9.	Sayur bayam	1.260
10.	Buah raspberry	1.220
11.	Buah brussel sprout	980
12.	Buah plum	949
13.	Buah alfalfa	930
14.	Brokoli	890
15.	Buah jeruk	750
16.	Buah anggur merah	739
17.	Cabai merah	710
18.	Buah chery	570
19.	Bawang merah	450
20.	Jagung	400
21.	Eggplant	390

Sumber: Kelishadi (2005)

Source: Kelishadi (2005)

Adanya perbedaan hasil ini memberikan implikasi tersendiri bagi proses penelitian dan pengembangan ke depan, bahwa terbuka peluang yang cukup lebar untuk terus menerus melakukan penelitian dan pengembangan sampai diperolehnya suatu hasil yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan dapat diterima secara baik oleh sebagian besar para pemangku kepentingan (*stakeholder*) di bidang komoditas kakao.

Meningkatnya perhatian para konsumen terhadap kakao dan atau terhadap produk pangan yang dibuat dari kakao tidak hanya terbatas karena adanya kandungan kimia yang baik untuk kesehatan manusia, tetapi juga dikarenakan jumlah kandungannya jauh lebih tinggi dibandingkan jenis produk pangan lainnya. Cokelat gelap (*dark chocolate*) memiliki Kapasitas Antioksidan Radikal Oksigen (ORAC) sebesar 2-30 kali lipat bila dibandingkan produk pangan lainnya (Tabel 1). Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa kakao memiliki fitokimia fenolik dan kapasitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan teh dan anggur (Lee, Kim, Lee, & Lee, 2003).

FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH TERHADAP KANDUNGAN POLIFENOL

Periode Sebelum Panen (Pra panen)

Dalam ilmu pemuliaan tanaman, penampilan fenotipik suatu karakter tanaman dipengaruhi oleh perbedaan faktor genetik, lingkungan, dan interaksi genetik dengan lingkungan. Faktor lingkungan didefinisikan sebagai keseluruhan faktor di luar faktor genetik. Ekspresi suatu karakter tanaman yang stabil pada kondisi lingkungan yang beragam mengindikasikan karakter tersebut dominan dipengaruhi oleh faktor genetik, dan sebaliknya apabila tidak stabil mengindikasikan bahwa faktor lingkungan lebih dominan pengaruhnya. Kandungan flavonoid pada biji kakao

dan pada produk yang dihasilkan dari biji kakao (misal: cokelat) sangat bervariasi karena interaksi berbagai faktor. Pada periode sebelum panen (pra panen), interaksi faktor genetik dengan faktor agronomis dan atau faktor lingkungan biofisik akan menjadi faktor penentunya (Colombo *et al.*, 2012). Penelusuran literatur yang menganalisis tentang pengaruh berbagai faktor terhadap kandungan polifenol dan atau senyawa turunannya pada biji kakao maupun pada produk yang dihasilkannya disajikan pada Lampiran 1.

Hasil Pengujian antar Genotipe

Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya variasi kandungan polifenol antar spesies dan atau genotipe/varietas/klon kakao yang diuji (Martini, Figueira, Lenci, & Tavares, 2008; Dadzie *et al.*, 2014). Spesies *T. cacao* memiliki kandungan polifenol jauh lebih tinggi dibandingkan spesies-spesies lainnya, sedangkan kakao jenis Forastero dengan warna biji violet gelap memiliki kandungan polifenol lebih tinggi (hampir dua kali lipat) dibandingkan jenis lain yang tidak diketahui namanya (Tabel 2). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan Efraim, Tucci, Pezoa-Garcia, Haddad, & Eberlin (2006). Hasil penelitian lainnya menunjukkan perbedaan kandungan polifenol dari beberapa genotipe kakao terseleksi di daerah Ghana. Hasil penelitian yang dilakukan pada periode 2009-2012 menunjukkan genotipe GU 255 dan IMC 47 memiliki konsentrasi polifenol paling tinggi, sedangkan genotipe T 79/501 yang terendah. Selanjutnya pada periode 2010-2012 dengan menggunakan genotipe yang berbeda, menunjukkan genotipe ICS 1 dan ICS 43 memiliki konsentrasi polifenol lebih tinggi, sedangkan genotipe Amaz 15, genotipe MO 20, dan genotipe VENC 4-4 lebih rendah dibandingkan genotipe-genotipe lainnya (Tabel 3 dan 4).

Tabel 2. Kandungan polifenol pada beberapa spesies kakao
Table 2. Polyphenols content on several species of cocoa

Species kakao	Kandungan polifenol (mg/g)
<i>T. cacao</i> jenis Forastero (warna biji violet gelap)	132,7 ± 7,5
<i>T. cacao</i> (jenis tidak diketahui)	79,9 ± 6,1
<i>T. subinum</i>	55,2 ± 2,8
<i>T. obovatum</i>	51,0 ± 5,0
<i>T. grandiflorum</i>	42,7 ± 2,3
<i>T. microcarpum</i>	26,8 ± 1,1
<i>T. bicolor</i>	5,0 ± 1,2
<i>T. speciosum</i>	3,2 ± 0,5

Sumber: Martini *et al.* (2008)

Source: Martini *et al.* (2008)

Tabel 3. Konsentrasi polifenol dan kandungan lemak beberapa genotipe kakao, 2009-2012
 Table 3. Concentration of polyphenol and fat content on several cacao genotypes, 2009-2012

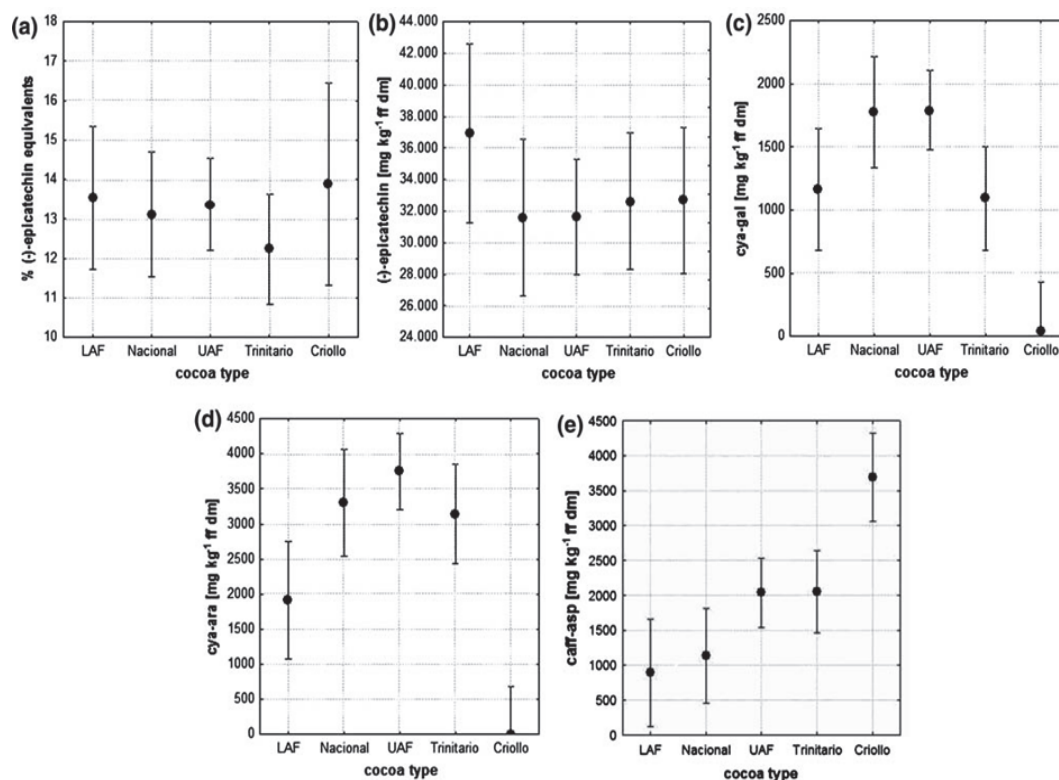
Genotipe kakao	Konsentrasi polifenol (mg/g)	Kandungan lemak (%)
EET 59	116,4	50,5
GU 255	160,1	52,5
IFC 5	123,0	52,3
IMC 47	155,7	43,5
Man 15-2	132,0	56,2
MOCO	126,7	52,7
PA 107	142,3	53,9
SCA 6	121,4	55,6
T 79/501	101,2	53,7
LSD (0,05)	8,0	5,0
KK (%)	3,1	4,3

Sumber: Dadzie *et al.* (2014)
 Source: Dadzie *et al.* (2014)

Tabel 4. Konsentrasi polifenol dan kandungan lemak beberapa genotipe kakao, 2010-2012
 Table 4. Concentration of polyphenol and fat content on several cacao genotypes, 2010-2012

Genotipe kakao	Konsentrasi polifenol (mg/g)	Kandungan lemak (%)
Amaz 15	69,3	51,4
ICS 1	151,0	56,0
ICS 43	141,8	48,9
MO 20	82,2	50,8
UF 676	101,8	51,8
VENC 4-4	89,2	43,1
LSD (0,05)	7,0	4,3
KK (%)	3,3	3,6

Sumber: Dadzie *et al.* (2014)
 Source: Dadzie *et al.* (2014)



Gambar 3. Kandungan flavanol pada biji kakao jenis Criollo, Forastero, dan Trinitario (Sumber: Elwers *et al.*, 2009)
 Figure 3. Flavanols content in cocoa beans of Criollo, Forastero, and Trinitario types (Source: Elwers *et al.*, 2009)

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Elwers, Zambrano, Rohsius, & Lieberei (2009) pada biji kakao dari jenis Criollo, Forastero, dan Trinitario menunjukkan hasil yang sebagian berbeda dengan hasil penelitian yang telah dikemukakan sebelumnya. Kandungan flavanol (dalam hal ini epicatechin) pada ketiga jenis kakao yang diuji menunjukkan hasil tidak berbeda nyata (Gambar 3a dan 3b). Sementara itu, kandungan flavanol lainnya (dalam hal ini anthocyanin) pada jenis Criollo nyata lebih rendah bila dibandingkan jenis Forastero dan Trinitario (Gambar 3c dan 3d). Tidak adanya perbedaan kandungan epicatechin antar jenis kakao, juga diperoleh dari hasil penelitian Graziani de Farinas, Ortiz de Bertoreli, & Parra (2003).

Berdasarkan pada pembahasan-pembahasan yang telah dikemukakan di atas, tentang pengaruh genotipe terhadap kandungan polifenol kakao, ternyata memberikan hasil yang tidak konsisten antara satu penelitian dengan penelitian lainnya. Hal seperti ini memberikan indikasi bahwa faktor genetik tidak dapat berdiri sendiri, tetapi sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan lainnya. Hal ini sejalan dengan pendapat yang menyatakan bahwa kandungan polifenol biji kakao dan produk-produk yang dihasilkan dari biji kakao dipengaruhi oleh faktor perbedaan varietas, kondisi pertumbuhan, dan proses pengolahan (Nazaruddin, Osman, Mamot, Wahid, & Aini, 2006; Niemenak, Rohsius, Elwers, Ndoumou, & Lieberei, 2006; Bernaert *et al.*, 2012). Pernyataan tersebut lebih diperkuat lagi melalui hasil pengujian beberapa jenis kakao di bawah kondisi lingkungan yang lebih terkendali (minimalisasi faktor lingkungan), dan hasilnya tidak memperlihatkan perbedaan kandungan senyawa fenol antar jenis yang diuji (Jonfia-Essien, West, Alderson, & Tucker, 2008).

Genetik dan Lingkungan (Biofisik dan Agronomis)

Pembuktian kemungkinan adanya pengaruh interaksi antara faktor genetik dengan lingkungannya terhadap kandungan polifenol pada

kakao dapat dilihat dari hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan contoh (sampel) dari berbagai asal geografis (negara) seperti yang telah dilakukan oleh Kim & Keency (1984); Caligani, Cirlini, Palia, Ravaglia, & Arlorio (2007); Tomas-Barberan *et al.* (2007); Arlorio *et al.*, (2008); Redovnikovic *et al.* (2009); Chin, Miller, Payne, Hurst, & Stuart (2013); Hii, Law, Suzannah, Misnawi, & Cloke (2013); serta Yap, Ouffoue, Okpekon, & Kouakou (2013) (Tabel 5 sampai 10).

Sampel kakao yang diambil dari berbagai negara untuk bahan penelitian akan sangat bervariasi sebagai akibat dari proses interaksi berbagai faktor, di antaranya faktor genetik (genotipe/varietas/klon), kondisi lingkungan tempat tumbuh (biofisik), agronomis, perbedaan umur dan kesehatan tanaman, serta kondisi sosial dan ekonomi petani atau negara yang bersangkutan. Konsekuensi dari interaksi berbagai faktor tersebut akan mengakibatkan keberagaman dalam kualitas maupun kuantitas senyawa polifenol yang menjadi bahan kajiannya. Wollgast & Anklam (2000a) mengemukakan kandungan polifenol pada kakao sangat dipengaruhi oleh asal geografis (negara). Tabel 5 sampai 10 memperlihatkan variasi kandungan polifenol pada biji kakao yang diperoleh dari asal geografis yang berbeda.

Berdasarkan Tabel 5 dan 6 maka dapat diketahui bahwa dengan jenis kakao yang sama tetapi diperoleh dari asal geografis (negara) yang berbeda menghasilkan kandungan polifenol yang relatif berbeda. Dalam hal ini, faktor lingkungan untuk setiap negara memberikan pengaruh cukup nyata terhadap kandungan polifenol yang diperoleh sehingga karakter tersebut dipengaruhi oleh interaksi antara genotipe dengan lingkungan. Secara umum, bila dibandingkan antar jenis yang digunakan ternyata jenis Criollo memperlihatkan kandungan polifenol total relatif rendah dibandingkan jenis lainnya. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Elwers *et al.* (2009).

Tabel 5. Kandungan polifenol total pada biji kakao dari sembilan asal geografis/negara
Table 5. Total polyphenols content in cocoa beans derived from nine geographical origins/countries

Asal geografis/negara	Jenis	Kandungan polifenol total (mgGAE/g)
Pantai Gading	Forstero	81,50
Kolumbia	Amazon	81,40
Guinea Ecuatorial	Amazon Forastero	72,40
Ekuador	Amazon hybrid	84,20
Venezuela	Trinitario	64,30
Peru	Criollo	50,00
Republik Dominika	Criollo	40,00
Malaysia *	Tidak diketahui	71,42–82,68
Kamerun *	Tidak diketahui	86,60–143,60

Sumber: Tomas-Barberan *et al.* (2007); * Hii *et al.* (2013)

Source: Tomas-Barberan *et al.* (2007); * Hii *et al.* (2013)

Tabel 6. Kandungan polifenol total pada biji kakao kering tanpa fermentasi yang diperoleh dari asal geografis/negara dan jenis yang berbeda

Table 6. Total polyphenol content in dried cocoa beans without fermentation obtained from different geographical origins/countries and different types

Asal geografis/negara	Jenis	Kandungan polifenol total (mgGAE/100g)
Pantai Gading	Forastero	8,15 b
Kolumbia	Amazon	8,14 b
Guinea Ecuatorial	Amazon Forastero	7,24 c
Ekuador	Amazon-Trinitario-Canelo	8,42 a
	Amazon Hybrid (Clone CCN51)	
Venezuela	Trinitario	6,43 d
Peru	Criollo	5,00 e
Republik Dominika	Criollo	4,00 e

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% (Sumber: Tomas-Barberan *et al.*, 2007)

Notes : Numbers followed by same letters are not significantly different at 5% levels (Source: Tomas-Barberan *et al.*, 2007)

Tabel 7. Total polifenol, epicatechin, catechin, galocatechin, dan epigallocatechin pasta kakao dari enam asal geografis/negara

Table 7. Total of polyphenol, epicatechin, catechin, galocatechin, and epigallocatechin in cacao liquors derived from six geographical origin/country

Asal gegografis/ Negara	Total polifenol (mg/g DCL)	Epicatechin (mg/g DCL)	Catechin (mg/g DCL)	Galocatechin (mg/g DCL)	Epigallocatechin (mg/g DCL)
Ekuador	8,14 b	0,59 a	0,02 d	0,40 a	0,40 ab
Ghana	4,01 d	0,16 c	0,18 c	(ta)	0,15 c
Madagaskar	12,65 a	0,40 bc	0,09 c	0,19 b	0,42 a
Meksiko	8,37 b	0,55 ab	0,11 c	0,09 c	(ta)
Sao Tome	4,92 c	0,26 c	0,34 b	0,06 c	0,34 b
Venezuela	5,19 c	0,52 ab	0,42 a	(ta)	(ta)

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata menurut uji HSD 5%; (ta) = tidak tersedia data (Sumber: Redovnikovic *et al.*, 2009)

Notes : Numbers followed by same letters in each column are not significantly different according to HSD test at 5% level; (ta) = not available (Source: Redovnikovic *et al.*, 2009)

Tabel 7 memperlihatkan kandungan total polifenol dan empat senyawa flavanol (epicatechin, catechin, galocatechin, dan epigallocatechin) pada pasta kakao yang diperoleh dari enam negara penghasil kakao. Total polifenol tertinggi dimiliki oleh pasta kakao yang berasal dari Madagaskar (12,65 mg/g DCL), sedangkan yang terendah dimiliki oleh pasta kakao dari Ghana (4,01 mg/g DCL). Kandungan epicatechin, catechin, galocatechin, dan epigallocatechin terdapat juga variasi untuk keenam negara penghasil kakao.

Kandungan epicatechin biji kakao yang berasal dari Samoa dan Kosta Rika ternyata cukup tinggi (masing-masing 10,64 dan 16,52 mg/g), sementara Venezuela, Trinidad, Ghana, Nigeria, dan Jamaica dapat dikelompokkan rendah, sedangkan Pantai Gading, Brasil, dan Ekuador dapat dikategorikan sedang (Tabel 8). Sementara itu, hasil penelitian lain menunjukkan kandungan epicatechin biji kakao dari Ekuador dan Ghana justru termasuk ke dalam kategori tinggi, yaitu masing-masing 5,71 dan 4,05

mg/g, sedangkan negara lainnya jauh di bawah Ekuador dan Ghana (Tabel 9).

Untuk kawasan Asia, sampel kakao dari daerah Hainan (China) memiliki kandungan polifenol total paling tinggi diikuti oleh sampel dari Indonesia dan Papua New Guinea. Kedua sampel yang disebut terakhir diperoleh dari biji yang tidak dilakukan fermentasi (Gu *et al.*, 2013). Hasil penelitian lain menunjukkan sampel biji kakao yang diperoleh dari daerah Sulawesi (Indonesia) memiliki kapasitas antioksidan paling tinggi diikuti sampel dari Malaysia, Ghana, dan Pantai Gading. Sampel biji kakao dari Indonesia tidak dilakukan fermentasi, sementara dari daerah lainnya merupakan hasil fermentasi (Othman *et al.*, 2010). Hal yang sama terjadi pada hasil penelitian lainnya yang menunjukkan variasi kandungan polifenol pada beberapa sampel kakao hibrida yang diperoleh dari berbagai daerah pertanaman kakao di Pantai Gading (Yapo *et al.*, 2013).

Tabel 8. Konsentrasi epicatechin biji kakao dari berbagai asal geografis/negara

Table 8. Concentration of epicatechin in cacao beans obtained from various geographic origins/countries

Asal geografis/ Negara	Konsentrasi epicatechin (mg/g)
Pantai Gading	6,22
Venezuela	3,62
Samoa	10,64
Trinidad	4,68
Brasil	8,23
Ghana	4,52
Nigeria	4,68
Kosta Rika	16,52
Ekuador	8,08
Jamaika	2,66

Sumber: Kim & Keency (1984)

Source : Kim & Keency (1984)

Tabel 9. Kandungan epicatechin dan catechin biji kakao dan produk kakao yang diperoleh dari asal geografis/negara

Table 9. Epicatechin and catechin content in cacao beans and related products obtained from different geographic origins/countries

Asal geografis (negara)/ Jenis produk	Kandungan epicatechin (mg/g)	Kandungan catechin (mg/g)
Ekuador (biji)	5,71	0,23
Ekuador (nib)	2,11	1,30
Ekuador (pasta)	3,83	1,92
Ghana (biji)	4,05	0,15
Ghana (nib)	0,87	0,41
Ghana (pasta)	0,93	0,52
Trinidad (biji)	1,24	0,08
Trinidad (nib)	0,55	0,28
Trinidad (pasta)	0,65	0,38
Cokelat	1,35	0,67

Keterangan : Biji merupakan campuran dari biji warna cokelat, violet, dan biru keabu-abuan; cokelat merupakan campuran dari pasta yang diperoleh dari Ekuador, Ghana, dan Trinidad (Sumber: Caligani *et al.*, 2007)

Notes : Beans are a blend of brown, violet, and blue-gray beans; chocolate were obtained from a blend of cocoa paste that obtained from Equador, Ghana, and Trinidad (Source: Caligani *et al.*, 2007)

Adanya variasi serta tidak konsistennya hasil-hasil penelitian tentang kandungan polifenol pada biji kakao yang diperoleh dari berbagai negara memberikan indikasi adanya pengaruh faktor lain, di luar faktor genetik, yang dapat berkontribusi terhadap kandungan senyawa tersebut. Dengan kata lain, kandungan polifenol pada biji kakao sangat dipengaruhi oleh interaksi faktor genetik dengan faktor lingkungan biofisik maupun agronomis.

Implikasi yang dapat diperoleh dari uraian tersebut adalah bahwa setiap negara penghasil kakao, termasuk Indonesia, tidak harus menggunakan jenis yang sama dengan negara lain apabila menginginkan tingginya kandungan polifenol pada biji kakao. Masing-masing negara tentunya memiliki kondisi lingkungan tempat tumbuh dan praktek budidaya yang berbeda sehingga memerlukan genotipe/varietas/klon berbeda pula untuk menghasilkan kandungan polifenol yang diinginkan. Sebagai contoh, kandungan senyawa fenol dari biji kakao asal Sulawesi (Indonesia) yang diekstrak dengan air ternyata tidak berbeda dengan

biji kakao dari Malaysia, demikian juga yang diekstrak dengan etanol ternyata tidak berbeda dengan biji kakao dari Ghana (Othman *et al.*, 2007), walaupun ketiga negara tersebut tidak sepenuhnya menggunakan jenis kakao yang sama. Implikasi lain adalah terbukanya peluang cukup besar untuk mendapatkan suatu informasi teknologi melalui kegiatan penelitian dan pengembangan tentang lingkungan biofisik maupun agronomis yang dapat meningkatkan kandungan polifenol pada biji kakao.

Periode Setelah Panen (Pasca panen dan Pengolahan)

Kandungan polifenol pada kakao di samping dipengaruhi oleh faktor genetik serta lingkungan biofisik dan agronomis, juga dipengaruhi oleh faktor pasca panen dan pengolahan yang meliputi proses penyimpanan buah (pod), fermentasi, pengeringan, dan proses penyangraian, serta proses-proses industrialisasi lain untuk menjadi produk akhir yang siap dipasarkan.

Tabel 10. Kandungan fenolik kakao (ekivalen catechin dalam g/100g bobot kering bubuk kakao) dari asal geografis/negara yang berbeda

Table 10. Phenolic content (expressed as catechin equivalents in g/100 g of dry weight powder) from different geographical origins/countries

Contoh dari asal geografis/ Negara	Tidak disangrai	Disangrai
Ghana	1,423 ± 0,080 b	0,644 ± 0,019 d
Arribia	1,716 ± 0,014 a	1,156 ± 0,179 c
Pantai Gading	1,500 ± 0,001 b	0,927 ± 0,016 cd

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

(Sumber: Arlorio *et al.*, 2008)

Notes : Numbers followed by same letters are not significantly different at 5% level

(Source: Arlorio *et al.*, 2008)

Tabel 11. Aktivitas antioksidan contoh kakao dari asal geografis/negara yang berbeda

Table 11. Antioxidant activity of cocoa samples obtained from different geographical origins/countries

Asal geografis/ negara	Ekstrak metanol (µg/ml)		Bobot kering bubuk (mg/ml)	
	Tidak disangrai	Disangrai	Tidak disangrai	Disangrai
Ghana	30,100 ± 2,417 a	34,761 ± 2,018 a	0,394 ± 0,031 a	0,626 ± 0,036 b
Arribia	14,986 ± 1,348 c	26,546 ± 2,107 b	0,111 ± 0,025 e	0,216 ± 0,020 d
Pantai Gading	20,748 ± 3,566 c	27,008 ± 2,507 b	0,152 ± 0,014 e	0,290 ± 0,023 c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%;

(Sumber: Arlorio *et al.*, 2008)

Notes : Numbers followed by same letters are not significantly different at 5% level;

(Source: Arlorio *et al.*, 2008)

Genetik dan Lingkungan (Pasca panen dan Pengolahan)

Biji kakao yang diperoleh dari asal geografis (negara) berbeda tidak harus melakukan proses pengolahan yang berbeda pula untuk menghasilkan kandungan polifenol yang diinginkan, karena kedua faktor ini bersifat *independen*. Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi interaksi nyata antara perlakuan asal negara dengan suhu penyangraian terhadap kandungan fenol dan kapasitas antioksidan. Kandungan fenol biji kakao yang berasal dari Arribia nyata lebih tinggi dibandingkan dari negara Ghana dan Pantai Gading, dan hasilnya konsisten untuk biji yang disangrai maupun tidak disangrai (Tabel 10), sedangkan untuk kapasitas antioksidan, biji kakao asal Ghana nyata lebih tinggi dibandingkan asal negara Arribia dan Pantai Gading, dan hasilnya pun konsisten untuk biji disangrai maupun tidak disangrai (Tabel 11).

Apabila diasumsikan bahwa setiap negara itu memiliki perbedaan dalam hal genotipe/varietas/klon kakao yang ditanamnya maka dapat dikatakan tidak terdapat interaksi antara faktor genetik dengan komponen faktor lingkungan pengolahan, dalam hal ini proses penyangraian biji. Konsep interaksi ini berlawanan dengan konsep interaksi antara genotipe dengan lingkungan biofisik dan agronomis yang telah dikemukakan sebelumnya.

Penyimpanan Buah dan Fermentasi Biji

Salah satu kegiatan pasca panen kakao sebelum dilakukan fermentasi di antaranya adalah kegiatan penyimpanan buah (pod). Hasil penelitian menunjukkan penyimpanan pod dapat berpengaruh terhadap penurunan kandungan polifenol dan tingkat keasaman. Selama proses penyimpanan, terjadi penurunan volume pulpa yang dapat mendukung terhadap meningkatnya proses oksidasi dan polimerisasi o-diphenols. Proses oksidasi berlangsung mulai hari ke-14 sampai hari ke-21 penyimpanan (Nazaruddin, Seng, Hassan, & Said, 2006).

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa perlakuan penyimpanan buah berinteraksi dengan perlakuan lamanya fermentasi yang dapat mengakibatkan terjadinya penurunan kandungan polifenol pada biji. Kandungan polifenol biji kakao menurun secara bertahap (<10%) sebagai akibat dari proses fermentasi yang dilakukan selama enam hari setelah pod kakao disimpan selama tujuh hari (Afoakwa, Quao, Takrama, Budu, & Saalia, 2012). Hasil analisis regresi antara kandungan total polifenol, o-diphenol, dan anthocyanin dengan waktu fermentasi biji dan lamanya penyimpanan pod serta interaksi dari keduanya disajikan pada Tabel 12. Berdasarkan pada tabel tersebut dapat diketahui bahwa semakin lama proses penyimpanan buah dan waktu fermentasi biji maka semakin menurun kandungan total polifenol dan o-diphenol biji kakao, sedangkan untuk kadar anthocyanin hanya dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi.

Tabel 12. Koefisien regresi dan nilai R^2 terkoreksi pada model untuk kandungan polyphenols total, o-diphenol dan anthocyanin total pada biji kakao

Table 12. Regression coefficients and their adjusted R^2 values in the models of total polyphenols, o-diphenol and anthocyanin content in cocoa beans

Variabel	Koefisien regresi		
	Polifenol total	o-diphenol	anthocyanin
Konstanta	177,81700	24,25000	17,01080
x_1	-1,19370 *	-0,00958 *	-0,17877
x_2	-0,80280 *	-0,09981	-5,14831*
x_1^2	0,02140	0,00438 *	0,00497
x_2^2	0,00420 *	0,00054 *	0,53679
x_1x_2	-0,01820 *	-0,00380 *	-0,00964
R^2	0,851	0,855	0,963

Keterangan : * nyata pada taraf 5%; x_1 = periode penyimpanan pod; x_2 = waktu fermentasi (Sumber: Afoakwa *et al.*, 2012)

Notes : * significant at 5% level; x_1 = pod storage; x_2 = fermentation time (Source: Afoakwa *et al.*, 2012)

Hasil penelitian pengaruh fermentasi menunjukkan bahwa kandungan polifenol serta aktivitas antibakteri dan antioksidan pada biji kakao yang tidak difermentasi nyata lebih tinggi dibandingkan yang difermentasi (Prayoga, Murwani, & Anwar, 2013), karena pada proses fermentasi kandungan polifenol banyak berkurang melalui proses oksidasi, polimerisasi, dan pengikatan oleh protein (Nazaruddin *et al.*, 2006). Secara normal, proses fermentasi biji kakao memerlukan waktu 5 sampai 7 hari, dan terdapat dua tahapan proses, yaitu fermentasi eksternal dan internal. Fermentasi eksternal adalah proses katabolisme gula oleh mikroorganisme, sedangkan fermentasi internal meliputi proses-proses perubahan biokimia dalam kotiledon biji. Selama proses fermentasi, senyawa polifenol menyebar ke luar dari sel penyimpanannya

dan kemudian mengalami oksidasi membentuk senyawa bermolekul tinggi (Bernaert *et al.*, 2012).

Tabel 13 memperlihatkan kandungan epicatechin, catechin, flavanol, dan kapasitas antioksidan dari biji kakao yang difermentasi nyata lebih rendah dibandingkan tidak difermentasi (Aikpokpodion & Dongo, 2010; Chin *et al.*, 2013; Prayoga *et al.*, 2013). Kapasitas antioksidan mulai menurun dari 96% menjadi 79% mulai hari ke-1 sampai ke-6 fermentasi (Aikpokpodion & Dongo, 2010). Proses penurunan kandungan polifenol terjadi secara bertahap dan kelihatan menurun tajam mulai jam ke-48 sampai ke-96 (hari ke-2 dan ke-3) (Tabel 14). Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Bernaert *et al.* (2012), bahwa selama 2 sampai 3 hari fermentasi biji kakao maka kandungan epicatechin mulai berkurang secara nyata.

Tabel 13. Kapasitas antioksidan (KARO) dan kandungan flavanol biji kakao dari Pantai Gading dan Lavado dengan teknik pengolahan yang berbeda

Table 13. Antioxidant capacity (ORAC) and flavanol content in cacao beans derived from Ivory Coast based on different processing technic

Sampel biji kakao	Kapasitas antoksidan /KARO ($\mu\text{mol TE/g}$)	Kandungan epicatechin (mg/g)	Kandungan catechin (mg/g)	Kandungan flavanol DP1-10 (mg/g)	Total flavanol (mg/g)
- Asal Lavado, dibersihkan, dan tidak difermentasi	737 $\pm$ 32	6,53 $\pm$ 0,25	0,17 $\pm$ 0,02	37,18 $\pm$ 0,38	8,67 $\pm$ 1,15
- Asal Pantai Gading dan difermentasi	420 $\pm$ 44	1,53 $\pm$ 0,06	0,09 $\pm$ 0,00	10,18 $\pm$ 0,09	14,33 $\pm$ 0,58

Sumber: Chin *et al.* (2013)

Source: Chin *et al.* (2013)

Tabel 14. Kandungan procyanidin berdasarkan lamanya proses fermentasi

Table 14. Procyanidin content based on periods of fermentation process

Lamanya fermentasi (jam)	Kandungan procyanidin ($\mu\text{g/g}$)
0	60.753
24	57.252
48	58.165
96	27.910
120	22.974

Sumber: Kealey *et al.* (1998)

Source : Kealey *et al.* (1998)

Tabel 15. Pengaruh suhu penyangraian terhadap kandungan pentamer dan procyanidin
 Table 15. Effect of roasting temperature on pentamer and procyanidin content

Suhu	Suhu produk	Kandungan pentamer dari bobot total ($\mu\text{g/g}$)	Kandungan procyanidin total dari bobot total ($\mu\text{g/g}$)
127 °C penyangraian nib	119 °C, SBI*	1.953	26.418
Pasta akhir	82-95 °C	1.943	23.710
159 °C penyangraian nib	142 °C, SBI	810	21.234
Pasta akhir	59-92 °C	727	16.826
181°C penyangraian nib	162 °C, SBI	425	12.786
Pasta akhir	59-83 °C	408	11.656

Keterangan: * Suhu biji internal (Sumber: Kealey *et al.*, 1998)

Notes : * Internal bean temperature (Source: Kealey *et al.*, 1998)

Pengeringan dan Penyangraian Biji

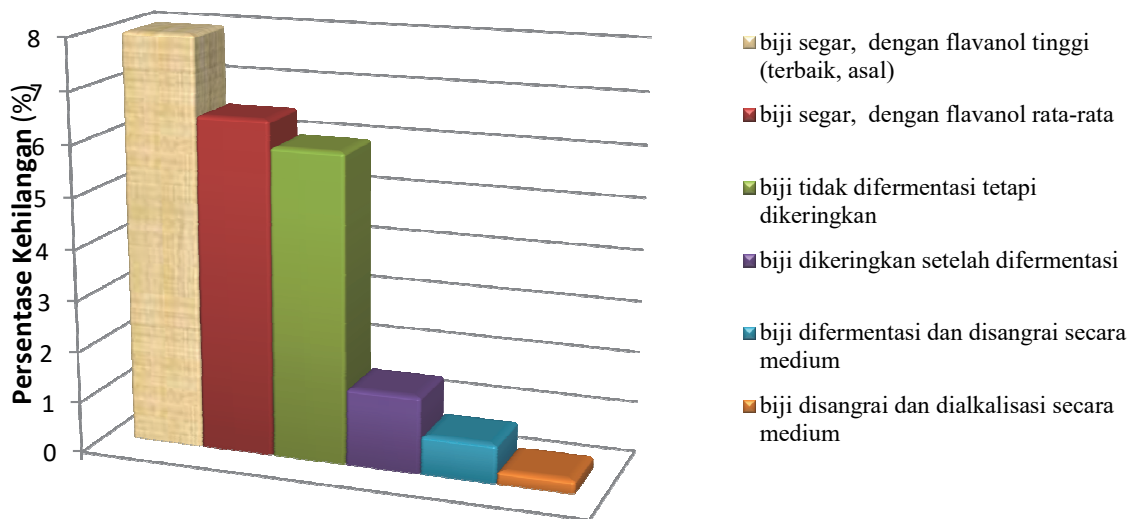
Setelah dilakukan fermentasi, maka selanjutnya dilakukan proses pengeringan dan penyortiran. Pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk menurunkan kadar air sampai sekitar 6-7% sehingga aman dalam transportasinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lamanya proses pengeringan biji berpengaruh nyata terhadap kandungan polifenol (dalam hal ini procyanidin) dan aktivitas antiradikal (Di Mattia *et al.*, 2013). Semakin lama proses pengeringan maka proses perombakan senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam biji akan semakin tinggi dan cepat. Kondisi seperti ini dapat menurunkan kandungan procyanidin serta menurunkan aktivitas antiradikalnya.

Dampak dari proses pengeringan hampir identik dengan proses penyangraian (*roasting*), hanya perbedaannya pada proses penyangraian memerlukan suhu lebih tinggi. Proses penyangraian sangat berpengaruh terhadap penurunan kandungan polifenol karena dalam proses ini membutuhkan suhu tinggi yang mengakibatkan terjadinya proses perombakan dan penguraian senyawa polifenol. Kandungan pentamer dan procyanidin berkurang secara tajam sejalan dengan semakin tingginya suhu penyangraian (Tabel 15). Kandungan procyanidin dan kapasitas antioksidan biji kakao yang dilakukan penyangraian nyata lebih rendah dibandingkan tidak disangrai (Arlorio *et al.*, 2008). Proses penyangraian dan proses debaktersasi merupakan proses penting dan utama yang dapat mempengaruhi stabilitas komponen kimia

dari biji kakao karena pada proses tersebut memerlukan suhu tinggi, dan reaksi-reaksi kimia seperti reaksi oksidasi berlangsung dengan intensitas lebih tinggi dan lebih cepat (Bernaert *et al.*, 2012).

Berdasarkan pada uraian-uraian di atas, maka secara umum dapat disimpulkan bahwa proses pasca panen dan pengolahan biji kakao yang meliputi penyimpanan buah, fermentasi, pengeringan, dan penyangraian biji berpengaruh terhadap menurunnya kandungan polifenol pada biji kakao. Selanjutnya, proses industrialisasi biji kakao berpengaruh juga terhadap menurunnya kandungan polifenol pada produk akhir yang dihasilkan. Wollgast & Anklam (2000b) mengemukakan bahwa proses industrialisasi biji kakao menjadi produk akhir berupa cokelat yang siap untuk dipasarkan berdampak terhadap menurunnya kandungan dan komposisi kimia, termasuk di dalamnya polifenol pada produk yang dihasilkan.

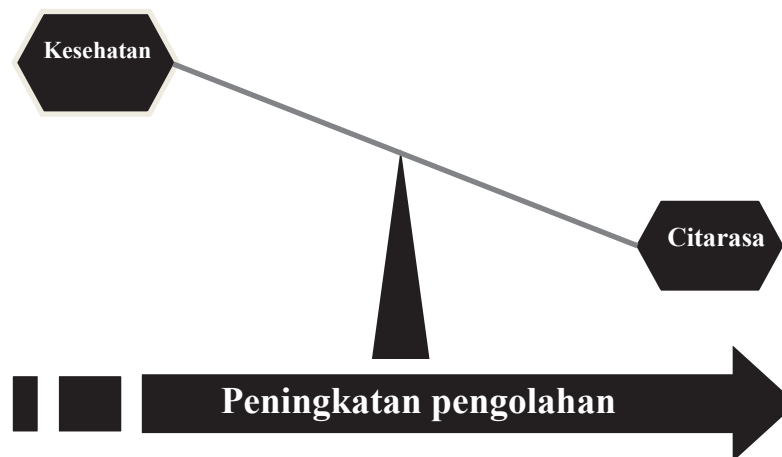
Gambar 4 memperlihatkan cukup tajamnya penurunan kandungan senyawa flavanol (dapat mencapai 50%) sebagai akibat dari proses pengolahan (Bernaert *et al.*, 2012), bahkan menurut Rusconi & Conti (2000) proses industrialisasi biji kakao dapat menurunkan kandungan polifenol dari 100 menjadi 10%. Hal yang sama dikemukakan juga oleh Thomas-Barberan *et al.* (2012), bahwa kandungan polifenol total biji kakao sangat bervariasi sebagai akibat dari kombinasi perlakuan pada proses pengolahan yang meliputi fermentasi, pengeringan, dan penyangraian.



Gambar 4. Flavanol potensial dan kehilangan flavanol selama proses pengolahan konvensional
(Sumber: Bernaert *et al.*, 2012)

Figure 4. The potential flavanols and the loss of flavanols during conventional processing
(Source: Bernaert *et al.*, 2012)

Mengembalikan keseimbangan?



Gambar 5. Visualisasi keseimbangan antara citarasa dan kesehatan pada kakao
(Sumber: Bernaert *et al.*, 2012)

Figure 5. Visualization of balance between flavor and health in cocoa
(Source: Bernaert *et al.*, 2012)

Apabila produk yang dihasilkan ditujukan hanya untuk keperluan pangan (bukan kesehatan) maka terjadi kondisi yang sebaliknya, bahwa proses pengolahan (fermentasi dan penyangraian) biji kakao sangat diperlukan karena kedua proses tersebut berpengaruh positif terhadap peningkatan aroma (*flavor*) dan citarasa (*taste*) dari produk cokelat yang akan dihasilkan (Afoakwa, Paterson, Fowler, & Ryan, 2008; Misnawi, 2008). Oleh karena itu, apabila produk yang akan dihasilkan ditujukan untuk produk pangan sekaligus produk kesehatan maka dibutuhkan proses pasca panen dan pengolahan yang spesifik agar mutu

citarasa dan kandungan polifenol tetap dapat dipertahankan dengan baik.

Berdasarkan pada uraian-uraian tersebut maka diperlukan suatu kombinasi perlakuan yang tepat dari berbagai komponen yang ada, mulai dari komponen di tingkat hulu sampai tingkat hilir, dengan tujuan untuk mempertahankan kandungan polifenol pada biji kakao dan atau pada produk berbasis kakao. Sejalan dengan itu, Wollgast & Anklam (2000b) mengemukakan walaupun secara umum proses pasca panen dan pengolahan berdampak terhadap menurunnya kandungan polifenol, tetapi perlu

ditemukan suatu metode variasi atau kombinasi dari berbagai faktor yang dinilai berpengaruh (misal: variasi atau kombinasi antara waktu dengan suhu dalam proses penyangraian). Melalui perlakuan kombinasi tersebut maka masih memungkinkan untuk dapat mempertahankan semaksimal mungkin kandungan polifenol pada biji kakao maupun pada produk yang dihasilkan dari biji kakao.

Sebuah visualisasi yang disajikan pada Gambar 5 mengindikasikan pentingnya ditemukan suatu metode kombinasi dari berbagai komponen perlakuan, mulai dari komponen pra panen, pasca panen, dan sampai komponen pengolahan hasil. Kombinasi yang tepat dari berbagai komponen tersebut akan menghasilkan suatu keseimbangan antara "citarasa *vs* kesehatan" pada produk yang akan dihasilkan. Colombo *et al.* (2012) mengemukakan bahwa akhir-akhir ini banyak ditemukan berbagai jenis produk "cokelat gelap" dengan kandungan flavonoid tinggi yang tersedia di pasaran. Cokelat-cokelat tersebut diproduksi dengan proses pengendalian yang lebih baik mulai dari proses seleksi biji, fermentasi, serta dengan perlakuan pengurangan suhu dan alkalisasi dalam proses pengolahannya. Melalui proses pengendalian yang lebih baik maka kandungan flavonoid pada produk akhir yang dihasilkan masih dapat dipertahankan hingga 70%.

PENUTUP

Peran kakao yang berhubungan dengan masalah kesehatan tidak terlepas dari telah ditemukannya kandungan senyawa polifenol yang terdapat dalam biji kakao dengan jumlah bisa mencapai 10% dari bobot keringnya. Kapasitas Antioksidan Radikal Oksigen (ORAC) senyawa polifenol yang terkandung pada "cokelat gelap" ternyata jauh lebih tinggi, hingga mencapai 2-30 kali lipatnya, bila dibandingkan produk pangan lainnya sebagai penghasil polifenol, termasuk teh dan anggur. Manfaat polifenol pada biji kakao sangat tinggi karena memiliki sifat atau aktivitas antioksidan, antiradikal, antimikrobal, antiproliferasi, antimutagenik, dan antikarsinogenik. Manfaat lainnya adalah dapat menghambat terjadinya oksidasi senyawa kolesterol berkerapatan rendah (LDL) pada sel endothelial, dapat meningkatkan kolesterol berkerapatan tinggi (HDL), dan dapat menurunkan kandungan trigliserida.

Kandungan polifenol pada biji maupun produk yang dihasilkan dari biji kakao sangat dipengaruhi oleh interaksi faktor genetik dengan lingkungannya. Pada periode sebelum panen (pra panen), kandungan polifenol dipengaruhi oleh interaksi faktor genetik (genotipe/varietas/klon) dengan faktor lingkungan biofisik maupun agronomis (budidaya). Selanjutnya pada periode setelah panen, antar komponen faktor pasca panen dan pengolahan yang meliputi proses penyimpanan buah, fermentasi, pengeringan, dan penyangraian biji kakao saling berinteraksi antara satu dengan yang lain dalam mempengaruhi tinggi-rendahnya kandungan

polifenol.

Pada proses industrialisasi untuk menghasilkan beragam produk berbasis kakao, di satu sisi sarat dengan penggunaan bahan-bahan kimia dan perlakuan suhu tinggi yang akan berdampak terhadap menurunnya kandungan polifenol. Namun di sisi lainnya, proses industrialisasi yang dimaksud sangat diperlukan untuk menghasilkan produk pangan berbasis kakao yang memiliki aroma dan citarasa yang baik serta diminati oleh konsumen. Komponen-komponen perlakuan pasca panen, pengolahan, dan proses industrialisasi untuk tujuan menghasilkan produk pangan dan kesehatan sesuai dengan yang diinginkan pasar menunjukkan "pengaruh yang berlawanan". Oleh karena itu, diperlukan suatu kombinasi yang tepat dari komponen-komponen yang ada sehingga terjadi suatu keseimbangan untuk menghasilkan suatu produk yang dapat diterima secara baik oleh sebagian besar pasar yang memerlukannya.

Implikasi yang dapat diperoleh adalah terbukanya peluang cukup besar bagi kegiatan penelitian dan pengembangan kakao secara terintegrasi dari berbagai bidang keilmuan dengan tujuan mendapatkan informasi teknologi tentang lingkungan biofisik maupun agronomis untuk meningkatkan kandungan polifenol pada biji kakao. Sebagai contoh, Yapo *et al.* (2013) menganjurkan untuk penelitian ke depan hendaknya salah satunya diarahkan pada pengujian hubungan antara kualitas tanah (kandungan mineral) dengan kandungan polifenol dan antioksidan pada biji kakao melalui kajian analisis tanah.

Tujuan lainnya dari suatu proses penelitian dan pengembangan yang direncanakan di antaranya adalah mendapatkan suatu metode yang tepat, di satu sisi diperlukan untuk dapat mempertahankan kandungan senyawa polifenol setinggi mungkin, dan di sisi lainnya untuk dapat meningkatkan aroma dan citarasa terhadap produk akhir yang akan dihasilkan. Sejalan dengan itu, Saltini *et al.* (2013) menganjurkan untuk penelitian ke depan hendaknya diarahkan pada pengujian berbagai parameter produksi untuk menghasilkan suatu produk cokelat dengan kandungan polifenol tinggi seperti yang telah dilakukan oleh Tomas-Barberan *et al.* (2007) dengan mengkombinasikan berbagai perlakuan pada proses fermentasi, pengeringan, dan penyangraian biji. Demikian juga halnya dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Afoakwa *et al.* (2012) dalam mengkombinasikan berbagai perlakuan lamanya periode penyimpanan buah (pod) dengan lamanya fermentasi biji.

DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(9), 840-857. doi: 10.1080/1040839070171 9272.

- Afoakwa, E.O., Quao, J., Takrama, F.S. Budu, A.S. & Saalia, F.K. (2012). Changes in total polyphenols, o-dipheol and anthocyanin concentrations during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Internat. Food Res. J.* 19(3), 1071-1077.
- Aikpokpodion, P.E., & Dongo, L.N. (2010). Effects of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. *Int. J. Sustain. Crop Prod*, 5(4), 66-70.
- Andujar, I., Recio, M. C., Giner, R. M., & Rios J. L. (2012). Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. Review Article. *Oxid. Med. and Cell. Long.*, volume 2012, 23p. Article ID 906252. doi: 10.1155/2012/90625.
- Arlorio, M., Locateli, M., Travagila, F., Coisson, J.D., Del Grosso, E., Minassi, ...Martelli, A. (2008). Roasting impact on the contents of clovamide (*N-caffeoyl-L- DOPA*) and antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Food Chem*, 106, 967-975.
- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E., & Sikora, M. (2014). Cocoa agronomy, quality, nutritional, and health aspects. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 55, 620-659. doi: 10.1080/10408398.2012.669428.
- Bernaert, H., Blondeel, L., Allegaert, L., & Lohmueller, T. (2012). Industrial treatment of cocoa in chocolate production: Health implication. In Paoletti *et al.* (Eds). *Chocolate and health* (pp. 17-34). Italia: Springer-Verlag. doi: 10.1007/978-88-470-2038-2.
- Caligani, A., Cirlini, M., Palia, G., Rgavlia, R., & Arlorio, M. (2007). GC-MS detection of chiral marker in coco beans of different quality and geographic origin. *Chirality*, 19, 329-334.
- Caligiani, A., Acquotti, D., Carlini, M., & Palla, G. (2010). N HMR study of fermented cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *J. Agric. Food Che*, 58, 12105-12111.
- Chin, E., Miller, K.B., Payne, M.J., Hurst, W.J., & Stuart D.A. (2013). Comparison of antioxidant activity and flavanol content of cacao beans processed by modern and traditional Mesoamerican methods. *Heritage Science*, 1(9).
- Colombo, M.L., Pinorin-Godly, M.T., & Conti, A. (2012). Botany and pharmacognosy of the cacao tree. In Paoletti *et al.* (Eds). *Chocolate and Health* (pp. 41-62). Italia: Springer-Verlag. doi: 10.1007/978-88-470-2038-2.
- Corti, R., Flammer, A.J., Hollenberg, N.K., & Lüscher, T.F. (2009). Cocoa and cardiovascular health. Contemporary Reviews in Cardiovascular Medicine. *Circulation*, 119, 1433-1441. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.827022.
- Counet, C., Ouwerx, C., Rosoux, D., & Collin, S. (2004). Relationship between procyanidin and flavor content of cocoa liquors from different origins. *J. of Agric. and Food Chem*, 52(20), 6243-6349. doi: 10.1021/jf040105b.
- Dadzie, A.M., Opoku, S.Y., Ofori, A., Lowor, S., Takrama, J.F., Padi, F.K., & Yeboah, J. (2014). Evaluation of major chemical components in beans of some selected international cocoa clones in Ghana. *J. of Agric. Sci. & Tech*, B 4, 200-208.
- Dillinger, T.L., Barriga, P., Escarcega, S., Jimenez, M., Lowe, D.S., & Grivetti, L.E. (2000). Food of the Gods: cure for humanity?. A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *J. Nutr.*, 130, 2057S-2072S.
- Di Mattia, C., Martuscelli, M., Sacchetti, G., Scheirlinck, I., Beheydt, B., Mastrocola, D. & Pittia, P. (2013). Effect of fermentation and drying on procyanidins, antiradical activity and reducing properties of cocoa beans. *Food Bioprocess Technol.*, 6, 3420-3432. doi: 10.1007/s11947-012-1028-x.
- Efraim, P., Tucci, M.L., Pezoa-Garcia, N.H., Haddad, R., & Eberlin, M. (2006). Teores de compostos fenolicos de sementes de cacaueiro de diferentes genotipos. *Braz. J. Food Technol*, 9(4), 229-236.
- Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., & Lieberei, R. (2009). Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.) *Eur. Food. Res. Technol.* 12p. Springer-Verlag. doi: 10.1007/s00217-009-1132-y.
- Endraiyan, V. (2011). *Total phenolics and antioxidant capacity of cocoa pulp: Processing and storage study*. (Thesis The Graduate School - New Brunswick Rutgers, The State University of New Jersey).
- Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., De Natale, A., & Pollio, A. (2009). Anti-cariogenic effects of polyphenol from stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia*, 80, 255-262.
- Graziani de Farinas, L., Ortiz de Bertorelli, L., & Parra, P. (2003). Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de cumboto, Aragua. *Agron. Tropic*, 53(2), 133-144.
- Gu, F., L. Tan, H, Wu, H., Fang, Y., Xu, F., Chu, Z., & Wang, Q. (2013). Comparison of cocoa beans from China, Indonesia, and Papua New Guinea. *Food*, 2, 183-197.
- Hii, C.L., Law, C.L., Suzannah, S., Misnawi, & Cloke, M. (2013). Polyphenol in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian J. of Food and-Ag-Ind*, 2(4), 702-722.

- Jonfia-Essien, W.A., West, G., Alderson, P.G., & Tucker, F. (2008). Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety coco beans. *Food Chem.*, 108, 1155-1159.
- Kealey, K.S., Snyder, R.M., Romanczyk, L.J., Geyer, H.M., Myers, M.E., Withcare, E.J., ...Schmitz, H.H. (1998). Cocoa components, edible products having enhanced polyphenol content, method of making some and medina uses. *Patent Cooperation Treaty (PCT) WO 98/09533*, Mars Incorporated, USA.
- Kelishadi, R.M.D. (2005). "Cacao to cocoa to chocolate" : healthy food?. *ARYA J*, 1(1), 28-34.
- Khan, N., Khymenets, O., Urpi-Sardà, M., Tulipani, T., Garcia-Aloy, M., Monagas, M., ...Andres-Lacueva, C. (2014). Cocoa polyphenols and inflammatory markers of cardiovascular disease. *Nutrients*, 6, 844-880. doi: 10.3390/nu6020844.
- Kim, H. & Kenncy, P.G. (1984). (-)Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *J. of Food Sci.*, 49, 1090-1092.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., & Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemical and a higher antioxidant capacity than tea and wine. *J. of Agric. Food Chem.*, 51, 7292-7295.
- Lopez, A.S. & Dimick, P.S. (1995). Cocoa fermentation. In Rehm, H.J. & Reed, G.D. (Eds.). *Biotechnology*. 2nd ed (pp. 5620-5667). Weinheim: CVH.
- Martin, M.A., Goya, L., & Ramos, S. (2013). *Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cancer* (p. 66). Department of Metabolism and Nutrition, Institute of Food Science and Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), José Antonio Novais 10, Ciudad Universitaria, 28040, Madrid, Spain.
- Martini, M.H., Figueira, A., Lenci, C.G., & Tavares, B.D.Q. (2008). Polyphenol cells and their interrelation with cotyledon cells in seven species of *Theobroma* (Sterculiaceae). *Revista Brasil. Bot*, 31(3), 425-431.
- Miller, K.B., Stuart, D.A., Smith, N.L., Lee, C.Y., Mchale, N.L., Flanagan, J.A., ...Jeffrey, H.W. (2006). Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. *J. of Agric. and Food Chem*, 54, 4062-4068.
- Misnawi (2008). Physico-chemical changes during cocoa fermentation and key enzymes involved. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*, 24(1), 47-64.
- Nagai, T., Reiji, I., Hachiro, I., & Nobutaka, S. (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem*, 80, 29-33.
- Nazaruddin, R., Osman, H., Mamot, S., Wahid, S., & Aini, N. (2006). Influence of roasting conditions and volatile plavor of roasted Malaysian cocoa beans. *J. of Food Process. And Preser*, 30, 280-298.
- Nazaruddin, R., Seng, L. K., Hassan, O. & Said, M. (2006). Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) during fermentation. *Indust. Crops Prod*, 24, 87-94.
- Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumou, D.O., & Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *J. od Food Compos. and Anal*, 19, 612-619.
- Ninfali, P., Mea, G., Giorgini, S., Rocchi, S., & Bacchiocca, M. (2005). Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British J. of Nutr*, 93, 257-266.
- Osawa, K., Matsumoto, T., Mayurama, T., Naito, Y., Okuda, K., & Takozoe, I. (1990). Inhibitory effects of aquos extract of cocoa bean husk on collagenase of *Bacteriodes gingivalis*. *Bull.of Tokyo Dent. Coll*, 31, 125-128.
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N.A., & Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chem*, 100, 1523-1530.
- Othman, A., Jalil, A.M., Weng, K.K., Ismail, A., Ghani, N.A., & Adenan, I. (2010). Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries. *Afric. J. of Biotech*, 9(7), 1052-1059.
- Pearson, D.A., Schmitz, H.H., Lazarus, S.A., & Keen, C.L. (2001). Inhibition of in vitro low density lipoprotein oxidation by oligomeric procyanidins present in chocolate and cocoas. *Methos Enzymol*, 335, 350-360.
- Prayoga, R.D., Murwani, R., & Anwar, S. (2013). Polyphenol axtracts from low quality cocoa beans: antioxidant, antibacterial and food colouring properties. *Internat. Food Res. J*, 20(6), 3275-3281.
- Rabenda, F.S., Jauregui, O., Casals, I., Andrea-Lacueva, C., Izquierdo-Pulido, M., & Lamuela-Raventos, R. (2003). Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometric studi of the phenolic compositon of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *J. Mass Spectrom*, 38, 35-42.
- Ranneh, Y. Ali, F., & Esa, N.M. (2013). The protective effect of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in colon cancer. *J. of Nutr. & Food Sci*, 3(2), 1-3. doi: 10.4172/2155-9600.1000193.

-
-
- Redovnikovic, I.R., Delonga, K., Mazor, S., Dragoniv-Uzelac, V. Caric, M., & Vorkapic-Furac, J. (2009). Polyphenolic content and composition and antioxidative activity of different cocoa liquors. *Czech J. of Food. Sci*, 27(5), 330-337.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. & Zhang, L. (2003). Flavonoid: Promosing anticancer agents. *Med. Res. Rev*, 23, 519-534.
- Rizza, R.A., Liang, V., McMohan, M., & Harrison, G. (2000). *Encyclopedia of foods: A guide to healthy nutrition*. London: Academic Press.
- Robbins, R.L., Kwik-Urbe, C., Hammerson, J.F., & H.H. Schmitz. (2006). Analysis of flavanols in foods: What methods are required to enable meaningful health recommendation?. *J. Cardiovasc. Pharmacol*, 47, S110-S118.
- Rusconi, M. & Conti, A. (2010). *Theobroma cacao* L. The food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol. Res*, 61(1), 5-13.
- Saltini, R., Akkerman, R., & Frosch, S. (2013). Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control*, 29, 167-187.
- Tomas-Barberan, F.A., Cienfuegos-Jovellanos, E., Marin, A., Muguerza, B., Gil-izquierdo, A., Cerda, B., ...Espin, J.C. (2007). A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 3926-3935.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. of Agric. and Food Chem*, 46, 4113-4117.
- Vinson, J.A., Proch, J., & Bose, P. (2006). Chocolate is powerfull ex vivo and in vivo antioxdant, an antiatherosclerotic agent in animal model and significant contributor to antioxidants in European and American diets. *J. of Agric. Food Chem*, 54, 8071-8076.
- Visioli, F., Bernardini, E., Poli, A., & Paoletti, R. (2012). Chocolate and health: A brief review of the evidence. In Paoletti *et al.* (Eds). *Chocolate and Health* (pp. 63-75). Italia: Springer-Verlag. doi: 10.1007/978-88-470-2038-2.
- Wollgast, J. (2004). The contents and effects of polyphenols in chocolate (qualitative and quantitative analyses of polyphenols in hocolate and chocolate raw products as well as evaluation of potential implications of chocolate consumption in human health) (PhD, Justus Liebig University, Giessen).
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000a). Polyphenol in chocolate: is there a contribution to human health?. *Food Res.Int*, 33, 449-459.
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000b). Review on polyphenol in *Theobroma cacao* : Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Internat*, 33, 423-447.
- Yang, J.H., Lin, C.H., & Mau, J.L. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushroom. *Food Chem*, 77, 229-235.
- Yapo, K.D., Ouffoue, S.K., Okpekon, T.A., & Kouakou, T.H. (2013). Soil effect on polyphenol content and antioxidant capacity of new hybrid variety of cocoa from Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7(5), 1794-1803.
- Zumbe, A. (1998). Polyphenol in cocoa: Are there health benefits?. British National Formulary. *Nutr. Bull*, 23, 94-112.
-
-

Lampiran 1. Penelusuran literatur tentang pengaruh berbagai faktor terhadap kandungan polifenol dan senyawa turunannya pada kakao
Appendix 1. The effect of various factors on polyphenol content and their derivative compounds in cacao based on published literatures

Pengaruh faktor	Polifenol total	Flavanol	Catechin	Epicatechin	Procyanidin	Gallo-catechin	Epigallo-catechin	Anthocyanin
Periode Pra panen :								
1. Species kakao	Martini <i>et al.</i> (2008).	-	-	-	-	-	-	-
1. Genotype/varietas/ klon/tipe kakao	Griziani de Farias <i>et al.</i> (2008), Efrain <i>et al.</i> (2006), Niemenak <i>et al.</i> (2006), Juulha-Essien <i>et al.</i> (2008), Marini <i>et al.</i> (2008), Elwers <i>et al.</i> (2008), Dadzie <i>et al.</i> (2014), Wollgast & Anklam (2006), Othman <i>et al.</i> (2007), Thomas-Barberan <i>et al.</i> (2007), Redovnikovic <i>et al.</i> (2009), Gu <i>et al.</i> (2013), Hii <i>et al.</i> (2013), Yapo <i>et al.</i> (2013).	-	-	Griziani de Farias <i>et al.</i> (2008), Elwers <i>et al.</i> (2008).	-	-	-	Niemenak <i>et al.</i> (2006), Elwers <i>et al.</i> (2008).
1. Asal geografis/ negara		Chin <i>et al.</i> (2013),	Caligani <i>et al.</i> (2007), Arlorio <i>et al.</i> (2008), Redovnikovic <i>et al.</i> (2009).	Kim & Keeney (1984), Caligani <i>et al.</i> (2007), Redovnikovic <i>et al.</i> (2008), Othman <i>et al.</i> (2010).	Coumel <i>et al.</i> (2004).	Redovnikovic <i>et al.</i> (2009).	Redovnikovic <i>et al.</i> (2009).	-

Lampiran 4. Lanjutan
Appendix 4. *Continued*

Pengaruh faktor	Polifenol total	Flavanol	Catechin	Epicatechin	Procyanidin	Gallocatechin	Epigallocatechin	Anthocyanin
Periode Pasca Panen dan Pengolahan :								
1. Penyimpanan buah	Nazaruddin <i>et al.</i> (2008).	-	Aioakwa <i>et al.</i> (2012).	-	-	-	-	Aioakwa <i>et al.</i> (2012).
1. Fermentasi biji	Tomas-Barberan <i>et al.</i> (2007); Nazaruddin <i>et al.</i> (2008); Aikpokpondon & Dongo (2010); Prayoga <i>et al.</i> (2013).	Bernaert <i>et al.</i> (2012); Chin <i>et al.</i> (2013).	Caligani <i>et al.</i> (2007); Chin <i>et al.</i> (2013).	Bernaert <i>et al.</i> (2012); Chin <i>et al.</i> (2013).	Kealey <i>et al.</i> (1998).	-	-	-
1. Pengeringan biji	Tomas-Barberan <i>et al.</i> (2007); Di Mattia <i>et al.</i> (2013).	Bernaert <i>et al.</i> (2012).	Arlorio <i>et al.</i> (2008); Aioakwa <i>et al.</i> (2012).	-	Kealey <i>et al.</i> (1998).	-	-	Aioakwa <i>et al.</i> (2012).
1. Penyangraian biji:	Wollgast & Anklam (2000b); Tomas-Barberan <i>et al.</i> (2007).	Bernaert <i>et al.</i> (2012).	Bernaert <i>et al.</i> (2012).	-	-	-	-	-
1. Pengolahan akhir (proses industrialisasi)	Rusconi & Conti (2000); Wollgast & Anklam (2000b); Chin <i>et al.</i> (2013).	Bernaert <i>et al.</i> (2012).	-	Kim & Keeney (1984).	-	-	-	-

