

TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

PEMANFAATAN BIJI KAKAO INFERIOR CAMPURAN SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI

The Utilization of Inferior Cocoa Beans as Antioxidant and Antibacterial Sources

Yulianto Tri Chandra Kusuma, *Sony Suwasono, Sih Yuwanti

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37 Kampus Tegal Boto, Jember 68121. Indonesia*E-mail: sony.unej@yahoo.co.id

ABSTRACT

There are about 30% of cocoa beans still classified as inferior or low quality beans due to diseases. Low-quality cocoa beans can be used as the source of polyphenolic substances. The purpose of this study was to determine the potency of inferior cocoa beans with various particle sizes as raw materials for polyphenol extraction, and the use of polyphenol-rich cocoa extracts as antioxidant and antibacterial substances. The research was conducted in two stages, namely preliminary research and primary research. This preliminary study aimed to obtain polyphenol-rich cocoa bean extract and to examine antioxidant activity using DPPH method. The next research was to conduct antibacterial test against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* using well diffusion method treated using polyphenols of each type of various particle size (16 mesh, 25 mesh, 35 mesh) with concentrations of 0 ppm, 25.000 ppm, 50.000 ppm, 75.000 ppm, 100.000 ppm. The plates were incubated at 37°C for 24 hours and the inhibition power against bacteria was observed. The results showed that the greater the concentration of polyphenol extracts and the smaller size of the filter powder cocoa resulted in the increase of bacterial growth inhibition area.

Keywords: Polyphenol; Cocoa beans; *Escherichia coli*; *Bacillus subtilis*

ABSTRAK

Biji kakao inferior merupakan biji buah kakao bermutu rendah karena terserang penyakit dan belum termanfaatkan secara maksimal. Biji kakao berkualitas rendah dapat dimanfaatkan dengan cara mengekstrak kandungan polifenolnya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi ekstrak polifenol biji kakao inferior dengan variasi ukuran partikel sebagai bahan yang memiliki aktivitas antioksidan dan penghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk memperoleh ekstrak polifenol dari biji kakao inferior campuran yang terserang penyakit. Ekstrak polifenol hasil penelitian pendahuluan berpotensi sebagai senyawa antioksidan dan antibakteri. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Sedangkan pengujian antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Daya penghambatannya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* menggunakan ekstrak polifenol dari variasi ukuran partikel (16 mesh, 25 mesh, 35 mesh) yaitu sebanyak 0 ppm, 25000 ppm, 50000 ppm, 75000 ppm, 100000 ppm dan dilakukan secara triplo. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati daya penghambatan terhadap bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak polifenol dan semakin kecil ukuran saringan bubuk biji kakao, menghasilkan luasan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri yang semakin besar.

Kata kunci: Polifenol; Kakao; *Escherichia coli*; *Bacillus subtilis*

How to cite: Kusuma YTC, S Suwasono, S Yuwanti. 2013. Pemanfaatan biji kakao inferior campuran sebagai sumber antioksidan dan antibakteri. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(2): 33-37.

PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu komoditi perdagangan yang mempunyai peluang untuk dikembangkan dalam rangka usaha meningkatkan devisa negara serta penghasilan petani kakao. Menurut Goenadi *et al.* (2005) perkebunan kakao di Indonesia mengalami perkembangan pesat, pada tahun 2002 areal perkebunan kakao Indonesia tercatat seluas 914.051 ha. Perkebunan kakao tersebut sebagian besar 87,4% dikelola oleh rakyat dan selebihnya 6,0% dikelola perkebunan besar negara serta 6,7% perkebunan besar swasta. Jenis tanaman kakao yang diusahakan sebagian besar adalah jenis kakao curah dengan sentra produksi utama adalah Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara dan Sulawesi Tengah. Disamping itu juga diusahakan jenis kakao mulia oleh perkebunan besar negara di Jawa Timur dan Jawa Tengah.

Menurut Goenadi *et al.* (2005) agribisnis kakao Indonesia masih menghadapi berbagai masalah kompleks antara lain produktivitas kebun masih rendah akibat serangan hama seperti penggerek buah kakao (PBK), penyakit busuk buah maupun kerusakan – kerusakan fisik yang ditimbulkan akibat kesalahan saat pemanenan. Hal tersebut mengakibatkan buah kakao memiliki mutu inferior. Buah-buah yang terinfeksi dapat menyebabkan kerugian total karena penyakit dapat dengan mudah masuk dari kulit buah ke lapisan bakal biji pada buah hijau yang sedang berkembang. Hal ini menjadi suatu tantangan sekaligus peluang bagi para investor untuk mengembangkan usaha dan meraih nilai tambah yang lebih besar dari agribisnis kakao.

Biji kakao mengandung senyawa polifenol cukup besar. Kandungan polifenol pada biji kakao meliputi katekin 33- 42 %, leukosianidin 23- 25 %, dan antosianin 5 %. Sedangkan pada biji kakao bubuk bebas lemak mengandung 5-18 % senyawa polifenol. Senyawa polifenol biji kakao memiliki aktifitas antioksidan yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh dan dapat digunakan sebagai pewarna alami (Misnawi *et al.*, 2003).

Biji kakao inferior terserang penyakit dapat menghasilkan sumber polifenol sebagai zat antioksidan dan antibakteri. Dalam pengambilan polifenol biji kakao inferior, ukuran partikel biji kakao akan mempengaruhi hasil ekstrak polifenol yang dihasilkan. Kandungan senyawa polifenol akan lebih mudah terekstrak dari suatu sampel dengan ukuran partikel yang kecil, sehingga mempersingkat waktu ekstraksi untuk mendapatkan hasil dengan jumlah dan kandungan yang lebih tinggi (Wenjuan *et al.*, 2010). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian pemanfaatan ekstrak polifenol dari biji kakao kering inferior sebagai zat antibakteri pada berbagai variasi ukuran partikel.

METODOLOGI

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Penelitian dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan selama 8 bulan mulai dari bulan November 2011 sampai dengan Juli 2012.

Penelitian ini terdiri atas dua tahap yaitu tahap pertama sebagai penelitian pendahuluan dan tahap kedua sebagai penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh bubuk polifenol biji kakao inferior campuran terserang penyakit dan penelitian utama dilakukan pengujian sebagai senyawa antimikroba pada bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Pada Penelitian pendahuluan, pembuatan bubuk biji kakao rendah lemak dilakukan dengan cara biji kakao yang telah terpisah dari kulit buah dan pulp dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan sinar matahari selama 2 hari dengan suhu +50°C. Kemudian biji kakao kering yang diperoleh ditumbuk kasar untuk mempermudah pengepresan, lalu dipisahkan lemaknya dengan menggunakan pres hidrolik dan menghasilkan biji kakao kasar rendah lemak 1. Selanjutnya dilakukan pemisahan kulit ari dan diperoleh keping biji. Keping biji yang diperoleh dilakukan penghalusan dengan menggunakan blender dan dilakukan pengayakan dengan variasi ukuran partikel yaitu 16 mesh, 25 mesh dan 35 mesh sehingga diperoleh bubuk biji kakao rendah lemak 1.

Bubuk kakao rendah lemak 1 direndam petroleum benzene selama + 2 jam dengan perbandingan 1:3 dan suhu 40-60°C. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan padatan sebagai bubuk kakao rendah lemak 2 dan cairan. Bubuk kakao rendah lemak 2 dikeringkan dalam inkubator selama + 2 jam dan suhu 50°C.

Pembuatan bubuk polifenol biji kakao kering dengan cara bubuk biji kakao rendah lemak yang diperoleh kemudian diekstrak polifenolnya dengan metode ekstraksi menggunakan etanol 70% selama 3 jam dengan perbandingan 1:3 dan suhu 25-30°C. Sampel yang telah direndam menggunakan etanol 70%, kemudian disaring dengan menggunakan kain saring untuk memisahkan antara larutan polifenol dengan rafinatnya. Larutan polifenol dievaporasi menggunakan evaporator berputar menghasilkan konsentrat polifenol yang kemudian dikeringkan menggunakan oven vacum selama + 50 jam pada suhu 60°C dan menghasilkan bubuk polifenol kasar

Parameter pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Analisis karakterisasi biji kakao kering inferior campuran terserang penyakit meliputi index fermentasi (IF); pH; kadar air; dan kadar lemak.
2. Rendemen bubuk biji kakao defatting pada biji kakao kering.
3. Karakterisasi ekstrak polifenol biji kakao kering meliputi rendemen ekstrak polifenol; total polifenol (Metode Follin-Ciocalteu); aktivitas antioksidan (Metode DPPH (1,1-diphenyl-picrylhidroksil)); warna ekstrak polifenol (dengan colour reader CR- 300); uji sensoris dan uji penghambatan ekstrak polifenol terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan metode difusi sumur (Lay, 1994).

Pada penelitian utama, uji penghambatan ekstrak polifenol terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* dilakukan dengan metode Difusi Sumur. Sepuluh ose dari isolat bakteri (*E. coli* dan *B. subtilis*) diencerkan dengan 10 ml aquadest steril dan diambil 1 ml suspensi kemudian dituangkan pada cawan petri yang selanjutnya ditambahkan 15 ml media NA dan diamkan hingga mengeras + 1jam. Selanjutnya dibuat 4 titik sumur pada media yang telah memadat dengan diameter ±5 mm. Sumur yang telah dibuat diisi suspensi konsentrat dari bubuk polifenol kasar dari tiap jenis variasi ukuran partikel yang digunakan sebanyak 25.000 ppm, 50.000 ppm, 75.000 ppm, 100.000 ppm dan dilakukan secara triplo. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dan diamati daya penghambatannya dengan mengukur area yang tidak ditumbuhi bakteri pada inkubasi 12 jam. Kemudian cawan diambil dan diamati daerah penghambatan (daerah yang jernih) diukur dan dicatat. Pengukuran daerah penghambatan yaitu dengan membalikkan cawan sehingga terlihat daerah hambatan yang tampak transparan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Biji Kakao Kering

Indeks Fermentasi (IF). Analisis indeks fermentasi dilakukan untuk mengetahui apakah biji kakao kering yang digunakan merupakan biji tidak terfermentasi atau terfermentasi. Biji kakao kering yang telah terfermentasi

memiliki indeks fermentasi dengan nilai IF=1, sedangkan untuk biji kakao tidak terfermentasi mempunyai nilai IF<1 (Misnawi, 2005). Hasil rata-rata analisis Indeks Fermentasi biji kakao inferior menggunakan spectrometer adalah sebesar 0.424 + 0.141. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa biji kakao kering yang digunakan merupakan biji kakao kering tidak terfermentasi sehingga berpotensi untuk menghasilkan polifenol.

Pengukuran pH. Pengukuran pH kakao inferior dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman suatu bahan serta tingkat fermentasi yang terjadi pada bahan. Biji kakao yang mengalami fermentasi memiliki kisaran nilai pH 1-4, sedangkan biji kakao tidak terfermentasi memiliki nilai pH> 4 (Mulato dan Widyotomo, 2004). Hasil rata-rata analisis pH biji kakao kering inferior adalah sebesar 6.693 + 0.149. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa biji kakao kering yang digunakan tidak terfermentasi dan memiliki potensi kandungan polifenol yang bisa dimanfaatkan sebagai antibakteri.

Kadar Air. Penentuan kadar air pada prinsipnya menguapkan air yang ada dalam bahan dengan jalan pemanasan. Kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air sudah diuapkan. Menurut Setiadevi (2010), tingkat kekeringan biji kakao kering standar dinyatakan dalam besaran kadar air dengan kisaran 6-7%. Dari hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata kadar air biji kakao kering inferior sebesar 7.58 % + 0.299. Biji kakao kering dengan kadar air di atas 8 % mudah terkontaminasi oleh mikroflora seperti serangga dan jamur sehingga dapat menimbulkan kerusakan. Semakin besar kadar air suatu bahan maka semakin mudah bahan tersebut menyerap air. Sementara biji kakao kering dengan kadar air di bawah 6% akan merugikan terhadap kehilangan berat biji kakao (Setiadevi,2010).

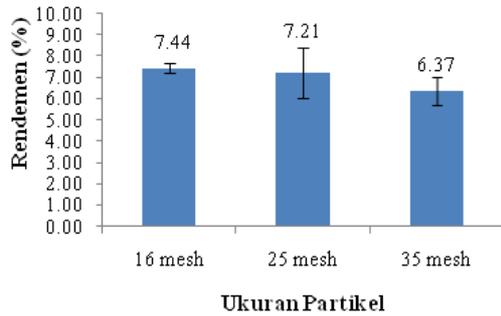
Kadar Lemak (%). Berdasarkan hasil analisis lemak dengan metode soxhlet, biji kakao kering inferior memiliki kadar lemak sebesar 23.81 % + 2.88. Menurut Mulato et al., (2005), kadar lemak yang terdapat pada biji kakao kering yang sehat memiliki kisaran sebesar 48-52 %. Rendahnya kandungan lemak pada biji kakao inferior akibat dari tidak mengembangkannya biji secara sempurna yang dikarenakan serangan jamur serta kerusakan mekanis selama proses pertumbuhan buah kakao. Jamur yang tumbuh dalam biji kakao dapat menembus ke dalam sel-sel jaringan buah dan membentuk haustorium untuk mengabsorpsi nutrisi seperti glukosa, lemak dan protein. Nutrisi yang diabsorpsi didegradasi menjadi asam-asam seperti oksalat, asam lemak dan asam-asam amino (Harmawan, 2010).

Rendemen Bubuk Biji Kakao Kering Low Fat. Penentuan kadar lemak dengan pelarut, selain lemak juga terikat fosfolipida, sterol, asam lemak bebas, karotenoid, dan pigmen yang lain. Oleh karena itu hasil analisisnya disebut lemak kasar. Pada penelitian ini, proses ekstraksi lemak kakao dilakukan dengan cara pengepresan dan perendaman. Proses pengepresan menggunakan press hidrolik (defatting 1)menghasilkan bungkil kakao sedangkan proses perendaman menggunakan pelarut petroleum benzene (defatting 2) menghasilkan bubuk lowfat (rafinat). Bungkil kakao hasil pengepresan biasanya masih mengandung lemak cukup tinggi, yakni antara 10-30% (Wahyudi, 2009). Rendemen bubuk biji kakao low fat inferior terbesar pada sampel dengan ukuran partikel 16 mesh yaitu 75.83 + 1.49 dan rendemen terkecil pada sampel dengan ukuran partikel 35 mesh yaitu 63.57 + 5.93. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin rendah rendemen bubuk biji kakao kering karena banyak lemak yang terekstrak saat pengepresan hidrolik dan perendaman menggunakan pelarut petroleum benzene. Lemak yang terkandung di dalam biji kakao terekstrak keluar karena lemak dapat larut oleh senyawa non-polar yaitu petroleum benzene yang menyebabkan rendahnya rendemen bubuk biji kakao lowfat yang diperoleh. Besarnya rendemen bubuk biji kakao low fat ditentukan oleh banyaknya lemak yang dapat dipisahkan, lama pengepresan yang dilakukan, tekanan yang digunakan, dan ukuran partikel biji yang diekstrak (Setiawan, 2007).

Karakterisasi Bubuk Polifenol Kasar

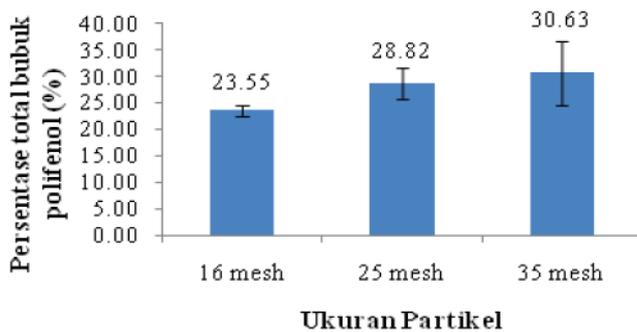
Rendemen Bubuk Polifenol Kasar. Hasil analisis rata-rata rendemen bubuk polifenol kasar dapat dilihat berdasar histogram seperti pada Gambar 1. Nilai rata-rata rendemen bubuk polifenol kasar terbesar terdapat pada perlakuan ukuran partikel 16 mesh yaitu sebesar 7.44 + 0.22 dan terkecil pada perlakuan ukuran partikel 35 mesh yaitu sebesar 6.37 + 0.67. Rendahnya rendemen bubuk polifenol kasar pada ukuran partikel 35 mesh diduga penggunaan pelarut saat proses defatting dan ekstraksi

menyebabkan partikel-partikel bubuk kakao yang berukuran kecil banyak mengendap dalam wadah pengekstrak sehingga mengurangi berat bubuk kakao lowfat kering dan menyebabkan komponen polifenol banyak terikut dalam partikel-partikel bubuk kakao yang mengendap tersebut.



Gambar 1. Diagram rata-rata rendemen bubuk polifenol kasar

Total Polifenol. Hasil analisis rata-rata persentase total polifenol bubuk polifenol kasar dapat dilihat berdasar histogram seperti pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, tampak bahwa nilai rata-rata persentase total bubuk polifenol terbesar pada ukuran partikel 35 mesh yaitu sebesar 30.63%, sedangkan terkecil pada ukuran partikel 16 mesh yaitu 23.55%. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar nilai persentase total bubuk polifenol.

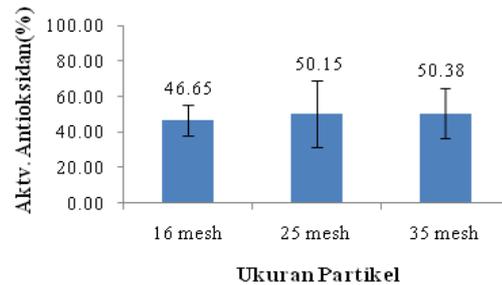


Gambar 2. Diagram rata-rata persentase total bubuk polifenol

Ukuran partikel mempengaruhi proses ekstraksi polifenol dari biji kakao inferior. Kandungan senyawa suatu bahan akan lebih mudah terekstrak dari suatu sampel dengan ukuran partikel yang kecil, sehingga mempersingkat waktu ekstraksi untuk mendapatkan hasil dengan jumlah dan kandungan yang lebih tinggi (Wenjuan *et al.*, 2010) Hasil yang sama juga terjadi pada penelitian ini yang menunjukkan bahwa perlakuan dengan ukuran partikel paling kecil yaitu 35 mesh diperoleh nilai persentase total polifenol terbesar. Hal tersebut diduga semakin kecil ukuran partikel maka semakin mudah proses penghilangan lemak (defatting) dimana adanya lemak dalam biji kakao berpengaruh terhadap komponen senyawa polifenol yaitu lemak menyelimuti polifenol sehingga ketika dilakukan ekstraksi akan sulit untuk memperoleh polifenolnya.

Aktivitas Antioksidan. Hasil analisis rata-rata nilai aktivitas antioksidan bubuk polifenol kasar dapat dilihat berdasar histogram seperti pada Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan bubuk polifenol kasar tertinggi terdapat pada sampel ukuran partikel 35 mesh yaitu sebesar 50.38% dan terendah pada sampel ukuran partikel 16 mesh yaitu sebesar 46.65%. Tingginya kandungan lemak yang tersisa pada perlakuan ukuran partikel besar yaitu 16 mesh diduga mengakibatkan nilai total polifenol rendah sehingga aktivitas antioksidannya menjadi lebih rendah juga. Berdasarkan hasil yang didapat diketahui bahwa semakin tinggi nilai total polifenolnya maka semakin besar nilai aktivitas antioksidannya.

Warna Bubuk Polifenol Kasar (Lightness). Tingkat lightness pada bubuk polifenol kasar biji kakao superior menurut hasil penelitian Setiadevi, 2010 adalah kisaran 29.97 - 32.72. Sementara nilai rata-rata lightness pada bubuk polifenol kasar biji kakao inferior pada ukuran partikel 16 mesh, 25 mesh dan 35 mesh adalah sebesar 26.27, 28.1 dan 28.40. Dari data tersebut terlihat perbedaan lightness biji normal dengan biji yang terserang penyakit. Rendahnya nilai lightness pada biji kakao inferior diduga akibat pengaruh serangan penyakit dan kerusakan mekanis sebelum maupun sesudah pemanenan kakao inferior yang menyebabkan biji kakao berwarna coklat kehitaman sehingga mempengaruhi kecerahan bubuk polifenol biji kakao.



Gambar 3. Aktivitas Antioksidan Bubuk Polifenol Kasar

Uji Organoleptik Bubuk Polifenol Kasar

Warna. Hasil pengamatan uji organoleptik kesukaan terhadap warna bubuk polifenol kasar berdasar Uji Friedman menunjukkan distribusi frekuensi penilaian panelis terhadap warna bubuk polifenol kasar.

Tabel 1. Distribusi Frekuensi dan Modus Penilaian Panelis terhadap Warna Bubuk Polifenol

Ukuran Partikel (mesh)	1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
16	4	16	2	8	4	16	8	32	7	28
25	4	16	3	12	6	24	4	16	8	32
35	5	20	2	8	9	36	2	8	7	28

Keterangan: 5. Suka, 4. Agak Suka, 3. Sedang, 2. Agak Tidak Suka, 1. Tidak suka

Berdasarkan Tabel 1, penilaian panelis terhadap warna bubuk polifenol kasar menunjukkan hasil yang berbeda. Persentase frekuensi dengan kriteria tidak suka terbesar terdapat pada sampel 35 mesh yaitu sebesar 20 %. Kriteria agak tidak suka terbesar terdapat pada sampel 25 mesh yaitu sebesar 12 %, kriteria sedang terbesar terdapat pada sampel 35 mesh yaitu sebesar 36 %, untuk kriteria agak suka terbesar terdapat pada sampel 16 mesh yaitu sebesar 32 %. Sementara persentase frekuensi dengan kriteria suka terbesar terdapat pada sampel 25 mesh sebesar 32 %. Sampel 25 mesh dinilai memiliki warna paling disukai berdasarkan kesukaan panelis.

Aroma. Hasil uji kesukaan terhadap aroma bubuk polifenol kasar seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Distribusi frekuensi dan modus penilaian panelis terhadap warna bubuk polifenol

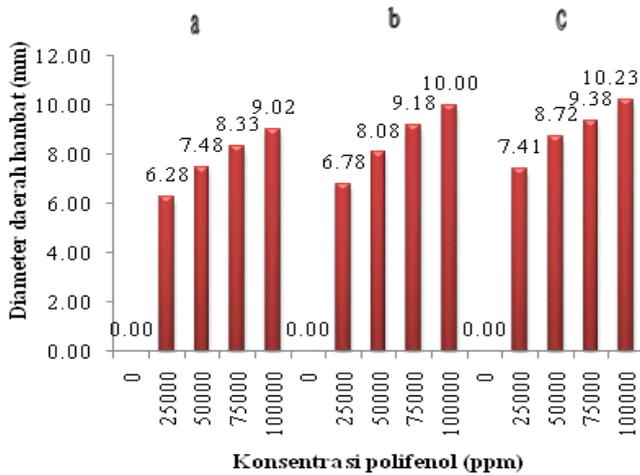
Ukuran Partikel (mesh)	1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
16	1	4	3	12	8	32	6	24	7	28
25	1	4	3	12	8	32	7	28	6	24
35	3	12	4	16	1	4	8	32	9	36

Keterangan: 5. Suka, 4. Agak Suka, 3. Sedang, 2. Agak Tidak Suka, 1. Tidak suka

Berdasarkan Tabel 2, menunjukkan bahwa persentase panelis tidak suka terbesar terdapat pada sampel 35 mesh yaitu sebesar 12%. Kriteria agak tidak suka terbesar terdapat pada sampel 35 mesh yaitu sebesar 16%, kriteria sedang terbesar terdapat pada sampel 16 mesh dan 25 mesh yaitu sebesar 32%, untuk kriteria agak suka terbesar terdapat pada sampel 35 mesh yaitu sebesar 32%. Sementara persentase frekuensi dengan kriteria suka terbesar terdapat pada sampel 35 mesh sebesar 36%.

Daya Antimikroba

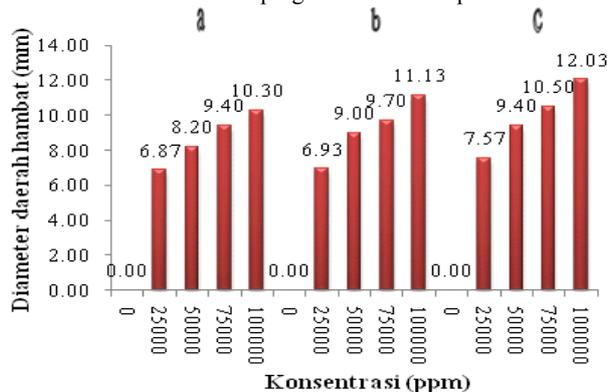
Diameter Daerah Hambat Bakteri *E. coli*. Berdasarkan hasil perhitungan sidik ragam anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata antara pengaruh faktor konsentrasi polifenol dan pengaruh faktor ukuran partikel. Artinya bahwa perlakuan konsentrasi dan ukuran partikel polifenol yang berbeda berpengaruh nyata terhadap daya hambat bakteri *E. coli* dengan waktu inkubasi 12 jam. Gambar 4, menunjukkan nilai rata-rata diameter daerah penghambatan terhadap bakteri *E. coli*.



Gambar 4. Penghambatan *E. coli* dengan lama inkubasi 12 jam. (a: ukuran partikel 16 mesh, b: ukuran partikel 25 mesh, c: ukuran partikel 35 mesh)

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin kecil ukuran partikel dengan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka daerah daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar.

Diameter Daerah Hambat Bakteri *B. subtilis*. Berdasarkan hasil perhitungan sidik ragam anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata antara pengaruh faktor konsentrasi polifenol dan pengaruh faktor ukuran partikel. Artinya bahwa perlakuan konsentrasi dan ukuran partikel polifenol yang berbeda berpengaruh nyata terhadap daya hambat bakteri *B. subtilis* dengan waktu inkubasi 12 jam. Gambar 5, menunjukkan nilai rata-rata diameter daerah penghambatan terhadap bakteri *B. subtilis*.



Gambar 5. Penghambatan *Bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 12 jam. (a: ukuran partikel 16 mesh, b: ukuran partikel 25 mesh, c: ukuran partikel 35 mesh)

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin kecil ukuran partikel dengan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka daerah daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar. Berdasarkan hasil uji daya hambat bakteri *E. coli* dan bakteri *B. subtilis* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* lebih besar dibandingkan terhadap *E. coli*. Untuk dapat membunuh bakteri, polifenol harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Kedua jenis bakteri tersebut memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Dinding sel *B. subtilis* yang merupakan kelompok bakteri gram positif memiliki struktur dengan banyak peptidoglikan dan relatif sedikit lipid sedangkan pada *E. coli* relatif lebih banyak mengandung lipid (Hugo dan Russel, 1998). Polifenol bersifat relatif polar sehingga mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif yaitu bakteri *B. subtilis*.

Pada variasi berbagai konsentrasi polifenol yang diberikan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka daerah daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar dan penggunaan konsentrasi yang semakin kecil menunjukkan daerah daya hambat yang semakin rendah. Sedangkan pada berbagai variasi ukuran partikel yang diberikan yaitu ukuran partikel 16 mesh, 25 mesh dan 35 mesh menunjukkan bahwa semakin kecil ukuran partikel dengan ukuran mesh besar maka daerah daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar sedangkan semakin besar ukuran partikel dengan ukuran mesh kecil menunjukkan daerah daya hambat yang semakin rendah.

KESIMPULAN

Hasil variasi perlakuan ukuran partikel 16 mesh, 25 mesh dan 35 mesh tidak berbeda nyata terhadap rendemen bubuk polifenol kasar, total polifenol, aktivitas antioksidan dan warna polifenol serta sifat organoleptik bubuk polifenol kasar. Semakin kecil ukuran partikel bubuk polifenol maka semakin besar nilai total polifenol, aktivitas antioksidan dan tingkat kecerahan warna dari polifenol yang dihasilkan. Pada variasi ukuran partikel dan konsentrasi polifenol berpengaruh sangat nyata terhadap penghambatan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* dengan inkubasi 12 jam. Semakin besar konsentrasi ekstrak polifenol maka semakin luas diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri sedangkan semakin kecil ukuran partikel bubuk polifenol maka daerah daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis juga menyampaikan terimakasih kepada Direksi PTPN 12 melalui Kantor Wilayah II PTPN 12 di Jember dan Kebun PTPN 12 Banjarsari di Jember yang telah membantu dalam penyediaan buah kakao untuk penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Branen AL, PJ Davidson. 1993. *Antimicrobials In Foods*. New York: Marcel Dekker.
- Fardiaz S. 1989. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Frazier WC, DC. Wetshoff 1988. *Food Microbiology 4th ed*, New York: McGraw Hill Publ. Co.Ltd
- Goenadi BH, Purwoto. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis kakao di Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.
- Gupte. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Percetakan Binarupa Aksara
- Harmawan S. 2010. Pemanfaatan Ekstrak Polifenol Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Kering Non Fermented Terserang *Conopomorpha cramerella* Snellen dan *Phytophthora palmivora* Butler sebagai Antibakteri. [Skripsi], Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- May A. 2012. Formulasi dan Karakterisasi Cookies Berbahan Tepung Campuran Umbi Garut, Kecambah Kedelai, dan Germ Gandum Berindeks Glikemik Rendah. [Skripsi]. Jember: Universitas Jember.

- Misnawi S. 2005. Effect of cocoa liquor roasting on polyphenol content, hydrophobicity astringency. *ASEAN Food Journal* 12(2):103-113.
- Mulato W, Misnawi S. 2005. *Petunjuk Teknis Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Nasution Z. 1976. *Pengolahan Coklat*. Bogor: Famateta IPB
- Nuciferani NM. 2004. Potensi Pigmen Antosianin Bunga Mawar (*Rosa* sp) Sortiran sebagai Zat Warna dan Antioksidan Alami pada Produk Yogurt dan Sari Buah Jeruk. Malang: Universitas Muhammadiyah.
- Nychas GJE, CC Tassou, 2000. Traditional Preservatives-oil and Species,” Didalam : R.K. Robinson, C. A. Batt, P.D. Patel, “Encyclopedia of Food Microbiology,” Vol. I, London: Academic Press.
- Pambayun R, M. Gardjito, S. Sudarmadji, KK Rahayu. 2007. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir. *Majalah Farmasi Indonesia* 18(3):141-146.
- Ray B. 2000. *Fundamental Food Microbiology 2nd ed*. New York: CRC Press.
- Rohan TA. 1963. *Processing of Raw for Cocoa*. Roma: FAO.
- Setiadevi S. 2010. Karakterisasi Ekstrak Polifenol Biji Kakao Nonfermented Dari Berbagai Macam Metode Ekstraksi. [Skripsi]. Jember: Universitas Jember.
- Siregar T. 2005. *Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Cokelat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Soemomarto S. 1972. Studies Chemical Control of Cocoa Pod Rot in Central Java. In Southeast Asia Reg Symp PI Dis Tropics.
- Sukamto S. 2002. *Pengenalan dan Pengendalian Hama Penyakit Tanaman Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi Dan Kakao Indonesia.
- Sunanto H. 1992. *Coklat, Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Yogyakarta: Kanisius.
- Susanto FX. 1994. *Tanaman Kakao-Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Yogyakarta: Kanisius.
- Syamsulbahri. 1996. *Bercocok Tanam Tanaman Perkebunan Tahunan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Timotius KH. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Salatiga: UKSW
- Volk WA, MF Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Weisburger JH. 2005. *Chemopreventive Effects of Cocoa Polyphenols on Chronic Disease*. USA: American Health Foundation Valhalla
- Wenjuan Q, Z Pan, H Ma. 2010. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering* 99:16-23.
- Yusianto. 2000. *Pasca Panen Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia