

PERSENTASE TOTAL AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARK CHOCOLATE DAN MILK CHOCOLATE SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Lany Nurhayati, Supriyono E. Wardoyo dan Rika Rosita
FMIPA Universitas Nusa Bangsa
Jl. KH. Sholeh Iskandar Km. 4, Tanah Sareal, Bogor
email : lanyhikmat@yahoo.com

ABSTRACT

Percentage Total Activities of Antioxidant of Dark Chocolate and Milk Chocolate Using Spectrofotometric

Chocolate is loaded with various properties, one of them as an antioxidant because it contains katekin, polyphenols, flavonoids that can prevent premature aging. The content of antioxidants in chocolate was varied, dark chocolate (DC) of at least 70 %, while milk chocolate (MC) is was lower. The compound of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was a stable free radical compounds that would neutralize each other if treated with antioxidant compound. Percentage of total activity was calculated by the reaction between DPPH compounds and chocolate spectrophotometrically at λ 520nm. The results showed that the DC brand A was 59.19 % , 17 : brand B 16 % and brand C 8.80 % , while the MC was 11, 07 % brand A, brand B 7, 00 % and brands C 5.84 % . Comparison of DC percentages was higher than MC because the DC contains catechins, riboflavin, vitamin E and vitamin C or minerals Mg and Cu that reacted with DPPH, so that DC could be used as one source of antioxidants.

Keywords : antioxidants, dark chocolate, milk chocolate, DPPH .

ABSTRAK

Cokelat sarat dengan berbagai macam khasiat, salah satunya sebagai antioksidan karena mengandung katekin, polifenol, flavonoid yang dapat mencegah penuaan dini. Kandungan antioksidan dalam coklat bervariasi *Dark chocolate (DC)* minimal 70% sedangkan *Milk chocolate (MC)* lebih rendah. Senyawa 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan senyawa radikal bebas stabil yang akan saling menetralkan jika direaksikan dengan senyawa antioksidan. Persentase total aktifitas dihitung melalui reaksi antara senyawa DPPH dengan coklat secara spektrofotometri pada λ 520nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *DC* merk A sebesar 59.19%, merk B 17.16%, dan merk C 8.80%, sedangkan *MC* merk A sebesar 11.07%, merk B 7.00%, dan merk C 5.84%. Perbandingan persentase *DC* lebih tinggi dibanding *MC* karena *DC* mengandung katekin, riboflavin, vitamin E, dan vitamin C, serta mineral Mg dan Cu yang bereaksi dengan DPPH, sehingga *DC* dapat dijadikan sebagai salah satu sumber antioksidan.

Kata kunci : antioksidan, *dark chocolate*, *milk chocolate*, DPPH.

PENDAHULUAN

Cokelat terkenal sebagai makanan lezat yang dicintai banyak orang. Di balik kenikmatan yang diberikan dan sensasi unik yang ditimbulkan setelah kita mengonsumsi coklat, ternyata coklat sarat dengan berbagai macam khasiat. Salah satunya adalah sebagai antioksidan. Cokelat merupakan pohon yang dapat tumbuh baik di daerah panas, mengandung biji seperti kacang – kacang antara 50 –

100 biji. Biji – biji ini diolah menjadi bubuk atau kristal coklat untuk dibuat makanan atau minuman (Tim Bina Karya Tani, 2008).

Cokelat memiliki kandungan antioksidan sehingga coklat menjadi salah satu makanan atau minuman kesehatan. Selain itu bermanfaat untuk kecantikan, karena antioksidan seperti katekin, polifenol, flavonoid, yang ada di dalamnya dapat mencegah penuaan dini, maka tidak

heran bila saat ini berkembang lulus cokelat yang sangat baik untuk kecantikan kulit (Astawan, 2009).

Kandungan antioksidan bervariasi pada setiap cokelat, bergantung pada berbagai faktor, diantaranya kandungan cokelat dan proses pengolahannya. *Dark Chocolate* sebagai salah satu jenis cokelat memiliki kandungan cacao yang paling tinggi yaitu paling sedikit 70%. Sedangkan, *milk chocolate* atau **cokelat susu** merupakan campuran cacao dengan susu dan gula, sehingga kandungan coklatnya tidak sebanyak pada *dark chocolate* (Sofia, 2005).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas. Ada beberapa bentuk antioksidan, di antaranya vitamin, mineral, dan fitokimia. Berbagai tipe antioksidan tersebut bekerja bersama dalam melindungi sel normal dengan cara menetralkan radikal bebas (Brotodjojo, 2008).

Senyawa 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) merupakan senyawa radikal bebas stabil yang akan saling menetralkan jika direaksikan dengan senyawa antioksidan, dengan merubah warna ungu menjadi kuning karena antioksidan memberikan elektronnya pada DPPH. Uji aktivitas antioksidan dilakukan melalui reaksi peredaman radikal DPPH. Uji DPPH ini merupakan metode yang mudah untuk menapis sejumlah kecil molekul antioksidan, karena reaksi dapat diamati intensitas antioksidannya melalui spektrofotometri sederhana (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Liempah tahun 2008, membuktikan bahwa senyawa antioksidan berupa propolis dalam madu lebah dapat saling menetralkan ketika direaksikan dengan radikal bebas DPPH. Namun dari hasil penelitian tersebut tidak diungkapkan persentase total aktifitasnya, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan bahan antioksidan lain

seperti cokelat. Antioksidan dalam cokelat pun akan saling menetralkan jika direaksikan dengan DPPH. Hal inilah yang menjadi dasar pada penelitian ini, sehingga persentase total aktifitas antioksidan dalam cokelat pun dapat ditetapkan melalui reaksi antara senyawa DPPH dengan cokelat itu sendiri secara spektrofotometri.

Penelitian ini bertujuan mengetahui perbandingan persentase total aktifitas antioksidan *dark chocolate* dan *milk chocolate*.

BAHAN DAN ALAT

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cokelat siap konsumsi (*dark chocolate* dan *milk chocolate* dari 3 merk berbeda) yang dijual bebas di toko – toko dan pasar, etanol (96 %), 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan Asam askorbat (*working standard*, batch no.806009, kemurnian : 99.40 %, tanggal kadaluarsa : 23 Februari 2010, suhu penyimpanan 2 – 8 °C).

Sampel yang digunakan berasal dari 3 merk berbeda, masing – masing merk tersebut terdiri dari dua jenis, yaitu *dark chocolate* dan *milk chocolate*. Merk A merupakan sampel cokelat yang di dalamnya terdapat bahan tambahan madu dan kacang almond. Merk B merupakan sampel cokelat yang di dalamnya terdapat bahan tambahan kacang mete. Sedangkan merk C merupakan sampel cokelat yang tidak terdapat madu, kacang almond maupun kacang mete sebagai bahan tambahan.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : neraca analitik, labu ukur, piala gelas, pipet volumetrik, kertas karbon, *ultrasonic*, penyaring 0,45µm, labu semprot, 8453.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental, terdiri dari empat tahap, yaitu :

1. Preparasi Sampel

- Sampel *Dark Chocolate*

Sejumlah sampel *dark chocolate* ditimbang ± 1.00 gram dengan teliti menggunakan neraca analitik, dimasukkan ke dalam labu ukur 100mL, dilarutkan dengan etanol 96 %, diultrasonik selama ± 15 menit, sampai semua sampel larut, didiamkan sampai tercapai suhu ruang, diimpitkan dengan etanol, dihomogenkan kemudian disaring menggunakan penyaring 0,45 μ m. Larutan hasil saringan dipipet 4mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 20mL, diencerkan dan diimpitkan dengan etanol 96 %, dihomogenkan (konsentrasi sample 2×10^{-3} mg/mL). Larutan tersebut dipipet 2mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup yang telah dilapisi dengan kertas karbon dan telah berisi 2mL larutan DPPH (konsentrasi larutan DPPH yang dipakai 5×10^{-2} mg/mL), dihomogenkan, kemudian di diamkan selama ± 30 menit. Diukur absorbans sampel (A spl) menggunakan spektrofotometer UV – VIS *Agilent* 8453 di λ maksimum dengan etanol sebagai blanko.

- Sampel *Milk Chocolate*

Pengerjaan sampel *milk chocolate* sama dengan sampel *dark chocolate*.

- Larutan kontrol terdiri dari 2mL larutan DPPH dengan konsentrasi 5×10^{-2} mg/mL ditambah 2mL etanol 96 %, yang direaksikan dalam tabung reaksi bertutup dan telah dilapisi oleh kertas karbon. Setelah dihomogenkan, didiamkan selama ± 30 menit, kemudian diukur absorbansnya (A ctrl) menggunakan spektrofotometer

UV – VIS *Agilent* 8453 di λ maksimum.

- Sebagai pembanding, ditetapkan juga persentase total aktifitas antioksidan terhadap asam askorbat. Tahapan kerja yang dilakukan sama dengan tahapan kerja pada sampel cokelat, baik *dark chocolate* maupun *milk chocolate*.
- Semua tahapan preparasi sampel dilakukan secara triplo dan dilakukan di ruang gelap (ruang preparasi dengan pencahayaan lampu neon yang diberi cat berwarna kuning gelap). Semua labu ukur yang dipakai adalah labu ukur berwarna coklat (*amber glass*) dan dilapisi kertas karbon dibagian luarnya.

2. Penetapan λ (panjang gelombang) maksimum :

Spektrum dibuat dari larutan standard DPPH dalam etanol 96 %, antara panjang gelombang (λ) 400 – 900 nm, sehingga didapatkan absorbans maksimum pada λ tertentu.

3. Kurva standard DPPH :

DPPH ditimbang ± 5.00 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 50mL yang telah dilapisi kertas karbon, dilarutkan dan diimpitkan sampai tanda garis dengan etanol 96 %, kemudian dihomogenkan. Pengenceran dibuat serial dengan beberapa konsentrasi, yaitu memipet larutan tersebut 2mL, 3mL, 4mL, 5mL dan 6mL ke dalam masing – masing labu ukur 20mL yang telah dilapisi oleh kertas karbon, kemudian diencerkan dan diimpitkan dengan etanol 96 %, dihomogenkan. Sehingga didapat deret konsentrasi larutan standard 1×10^{-2} mg/mL, 1.5×10^{-2} mg/mL, 2×10^{-2} mg/mL, 2.5×10^{-2} mg/mL dan 3×10^{-2} mg/mL. Selanjutnya, diukur absorbans deret larutan standard tersebut pada λ maksimum yang telah didapat.

4. Penentuan waktu reaksi optimum :

Asam askorbat ditimbang ± 60.00 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100mL, dilarutkan dengan etanol 96 %, diultrasonic selama ± 15 menit, sampai larut sempurna, didiamkan sampai tercapai suhu ruang, diimpitkan dengan etanol. Selanjutnya, dipipet 5mL larutan tersebut, dimasukkan ke dalam labu ukur 50mL, diencerkan dan diimpitkan dengan etanol 96 %, dihomogenkan. Kemudian, 2 mL larutan tersebut dipipet, dimasukkan ke dalam labu ukur 20mL, diencerkan dan diimpitkan dengan etanol 96 %, dihomogenkan (konsentrasi larutan 6×10^{-3} mg/ml). Larutan tersebut dipipet 2mL sebanyak empat kali, dimasukkan masing – masing ke dalam empat tabung reaksi bertutup yang telah dilapisi oleh kertas karbon dan telah berisi 2mL larutan DPPH dalam etanol 96 % (konsentrasi larutan DPPH yang dipakai 5×10^{-2} mg/mL), dihomogenkan dan didiamkan dalam ruang gelap, kemudian setiap 10 menit sekali (10, 20, 30 dan 40 menit) diambil satu tabung tersebut, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV – VIS Agilent 8453 di λ maksimum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Panjang gelombang (λ) maksimum

Berdasarkan hasil *scanning* yang telah dilakukan terhadap larutan standard 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dalam etanol 96 %, antara λ 400 – 900nm, didapatkan absorbans maksimum pada λ 518nm (Gambar 1), spektrum dari hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer UV – VIS Agilent 8453.

Hasil pengukuran λ maksimum DPPH dapat berbeda pada beberapa penelitian. Pada penelitian ini, diperoleh 518 nm, menggunakan pelarut etanol 96%, labu ukur berwarna coklat yang dilapisi dengan kertas karbon dan melakukan tahapan analisis dalam ruang gelap. Kondisi ruang mempengaruhi hasil pengukuran, karena ruang yang gelap akan

meminimal kan reaksi oksidasi DPPH oleh cahaya, begitu juga dengan pemakaian labu ukur berwarna coklat dan dilapisi oleh kertas karbon, sehingga akan diperoleh kestabilan pengukuran DPPH. Kurva absorbansi sampel pun menghasilkan bentuk spektrum yang sama dengan kurva absorbansi larutan DPPH. Sedangkan, penelitian yang dilaku kan pada uji aktifitas antioksidan propolis lebah madu yang dilakukan oleh Liempah (2008), λ maksimum yang didapatkan adalah 520nm, pelarut yang digunakan etanol 96%, dengan labu ukur yang digunakan tidak berwarna dan hanya dilapisi dengan *aluminium foil*. Kuncahyo (2007), uji aktifitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh λ maksimum yang didapatkan adalah 517nm, pelarut yang digunakan metanol dan eter. Ketidakstabilan ini disebabkan perbedaan penggunaan pelarut, kondisi ruang dan perangkat analisisnya.

B. Perhitungan Aktifitas Antioksidan :

Nilai Aktifitas Antioksidan sampel dapat dihitung melalui rumus berikut ini :

$$AA (\%) = \frac{100 - (A_{spl} \times 100)}{A_{ctrl}}$$

Keterangan :

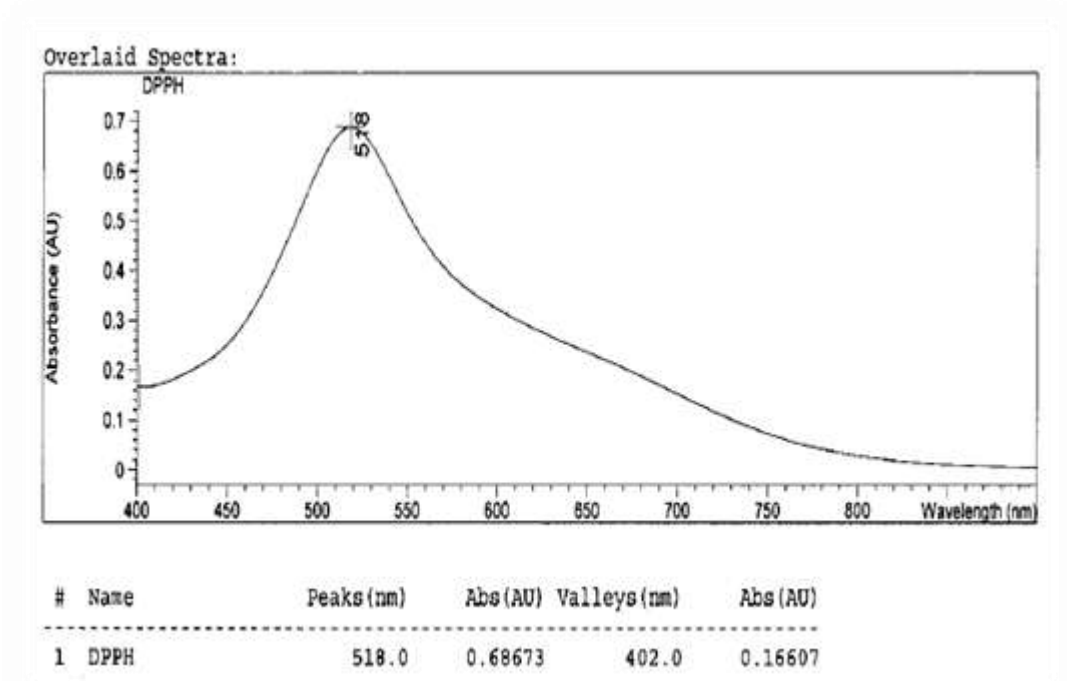
- AA(%) : Nilai Aktifitas Antioksidan (%)
- A spl : Absorbans larutan sampel (*dark chocolate* atau *milk chocolate* dalam etanol 96 % yang direaksikan dengan larutan DPPH dalam etanol 96 %).
- A ctrl : Absorbans larutan standard 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dengan konsentrasi 5×10^{-2} mg/mL ditambah 2mL etanol 96 %

C. Kurva kalibrasi larutan standard

Deret larutan standard yang terdiri dari 5 titik konsentrasi (1×10^{-2} mg/ml ; 1.5×10^{-2} mg/ml; 2×10^{-2} mg/ml; 2.5×10^{-2} mg/ml dan 3×10^{-2} mg/ml) memberikan

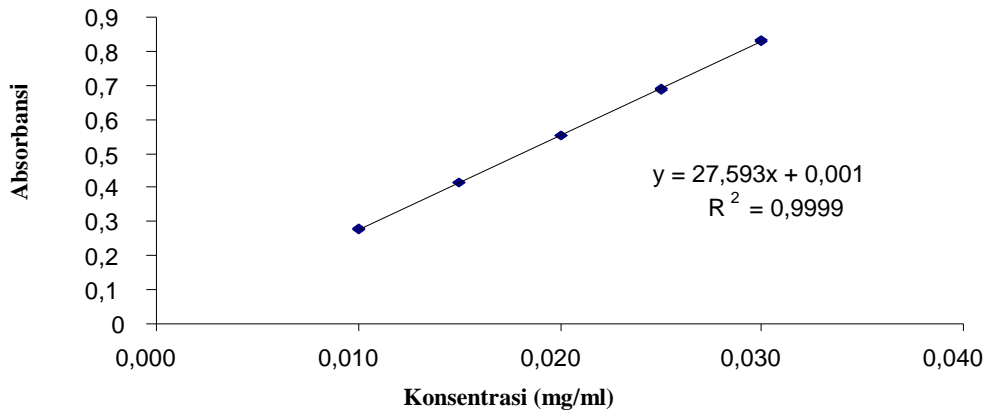
hasil berupa garis linier dengan persamaan garis $Y = 27,593x + 0,001$ dan $R^2 = 0,9999$ (Gambar 2).

Hasil pengukuran tersebut membuktikan bahwa DPPH merupakan radikal bebas stabil pada berbagai konsentrasi.



Gambar 1. Spektrum Larutan DPPH dalam Etanol 96 %

Kurva Kalibrasi Larutan Standard DPPH



Gambar 2. Kurva kalibrasi larutan standard DPP

D. Waktu reaksi optimum

Pengukuran waktu reaksi optimum dilakukan terhadap reaksi antara DPPH dengan salah satu antioksidan yang telah diketahui kemurniannya secara pasti, yaitu Asam askorbat. Hasil pengukuran tersebut mendapatkan waktu reaksi optimum pada menit ke 30 (Gambar 3).

Hasil pengukuran tersebut ditandai dengan tidak adanya penurunan yang signifikan antara besarnya absorbans yang dihasilkan pada pengukuran menit ke 20 dengan menit ke 30.

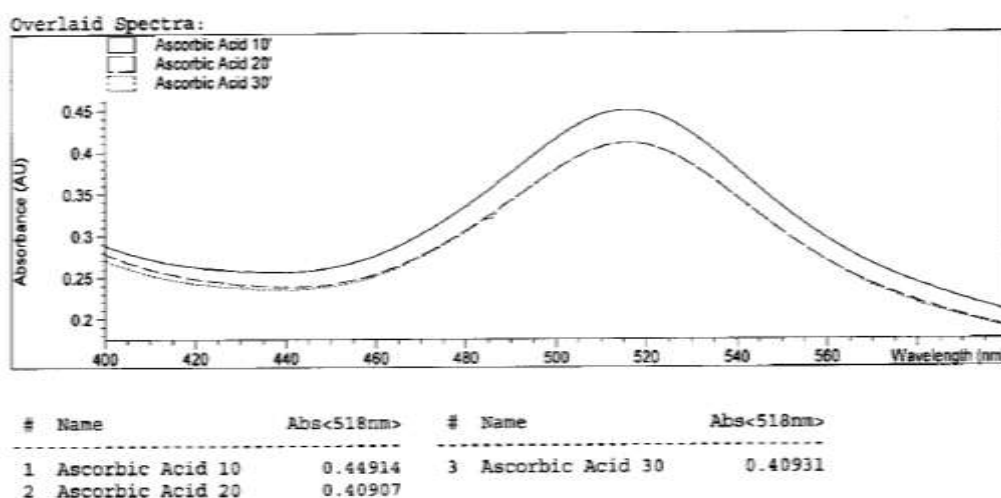
E. Persentase total aktifitas antioksidan pada beberapa jenis dan merk cokelat

Penelitian terhadap persentase total aktifitas antioksidan pada beberapa jenis dan merk cokelat menghasilkan kandungan yang bervariasi (Gambar 4).

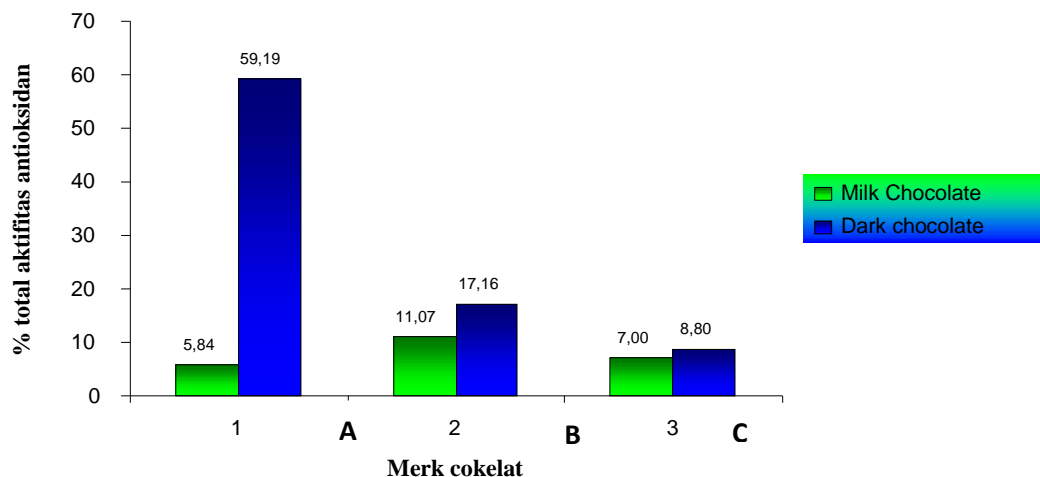
Hasil penelitian terhadap persentase total aktifitas antioksidan pada beberapa jenis dan merk cokelat didapatkan hasil terbesar pada sampel *dark chocolate* merk A, yaitu sebesar 59.19 %. Sampel merk A merupakan sampel cokelat yang di dalamnya terdapat bahan tambahan madu dan kacang almond. Madu dan kacang-kacangan termasuk bahan makanan yang banyak mengandung

antioksidan, sehingga antioksidan yang terdapat dalam sampel merk A tidak hanya berasal dari katekin dan antioksidan lain dalam cokelat itu sendiri, tapi madu dan kacang almond yang terdapat di dalamnya juga memberikan aktifitas antioksidan. Semua jenis madu mengandung antioksidan, seperti vitamin E dan vitamin C. Sedangkan kacang almond mengandung riboflavin dan vitamin E yang sangat tinggi (Joseph, 2008).

Hasil persentase total aktifitas antioksidan pada sampel merk B menempati urutan kedua, dengan hasil pada *dark chocolate* sebesar 17.16 %. Sampel B merupakan sampel cokelat yang di dalamnya terdapat bahan tambahan kacang mete. Kacang mete berisi banyak magnesium dan tembaga (Joseph, 2008). Magnesium dan tembaga merupakan mineral – mineral yang termasuk dalam antioksidan, sehingga aktifitas antioksidan yang dihasilkan pada sampel merk B tidak hanya berasal dari katekin dan antioksidan lain dalam cokelat itu sendiri, tapi magnesium dan tembaga yang terkandung dalam kacang mete pun ternyata memberikan aktifitas antioksidan. Reaksi antara DPPH dengan antioksidan katekin, riboflavin, vitamin E dan vitamin C maupun dengan mineral magnesium (Mg) dan tembaga (Cu) (Gambar 5).



Gambar 3. Waktu reaksi optimum antara DPPH dengan Asam askorbat



Gambar 4. Grafik perbandingan persentase total aktifitas antioksidan pada beberapa jenis dan merk coklat

Radikal bebas dikenal sebagai faktor utama dalam kerusakan biologi, dan DPPH digunakan untuk mengevaluasi aktivitas peredaman radikal bebas dari suatu antioksidan alami. Elektron tak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorpsi yang kuat, maksimum pada λ 517 nm dan berwarna ungu. DPPH merupakan senyawa radikal bebas stabil yang akan saling menetralkan, jika direaksikan dengan senyawa antioksidan sebagai penangkap radikal bebas ini dengan adanya sebuah donor hidrogen. Antioksidan yang terkandung dalam sampel (senyawa x pada Gambar 5) menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna sebanding dengan elektron yang diambil, sehingga terdapat perbedaan besarnya nilai serapan (absorbans) dari masing-masing sampel. Perbedaan ini berbanding lurus dengan banyaknya kandungan antioksidan dalam sampel tersebut. Senyawa antioksidan dapat mengubah warna urutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour etl al., 2009). Semakin banyak jumlah antioksidan dalam sampel maka akan semakin banyak juga penghilangan warna yang dihasilkan dari reaksi antara DPPH dengan sampel. Warna akhir yang diukur sebagai nilai serapan sampel merupakan

warna dari sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan antioksidan dalam sampel.

Sampel merk C, coklat yang tidak terdapat madu, kacang almond maupun kacang mete di dalamnya sebagai bahan tambahan, sehingga aktifitas antioksidan yang diperoleh dari sampel merk C hanya berasal dari katekin dan antioksidan lain dalam coklat itu sendiri (Gambar 1), menempati urutan ketiga dengan hasil persentase total aktifitas antioksidan pada *dark chocolate* sebesar 8.80 %. Sampel *dark chocolate* merk A memberikan rasa yang paling pahit jika dibandingkan dengan sampel *dark chocolate* merk B dan C. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi coklat terbesar terkandung dalam sampel *dark chocolate* merk A tersebut. Selain itu, warna pada sampel *dark chocolate* merk A paling gelap jika dibandingkan dengan warna pada sampel *dark chocolate* merk B dan C.

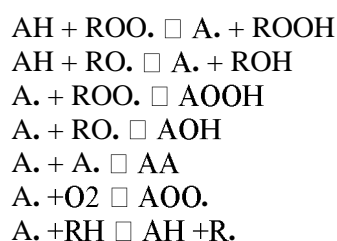
Berbeda halnya dengan sampel *milk chocolate*, persentase total aktifitas antioksidan terbesar dihasilkan oleh sampel *milk chocolate* merk B, sebesar 11.07 %, urutan kedua dihasilkan oleh sampel *milk chocolate* merk C sebesar 7.00 % dan hasil terkecil pada sampel *milk chocolate* merk A sebesar 5.84 %. Hal ini terjadi karena perbedaan besarnya jumlah coklat di dalam masing – masing sampel. Warna pada sampel *milk chocolate* merk B

paling gelap jika dibandingkan dengan warna pada sampel *milk chocolate* merk C, apalagi jika dibandingkan dengan sampel *milk chocolate* merk A yang terlihat paling pucat. Meskipun sampel *milk chocolate* merk A mengandung bahan tambahan yang sama dengan yang terdapat pada sampel *dark chocolate* merk A, tetapi kandungan cokelat di dalamnya sangat sedikit, dapat dilihat dari warnanya yang sangat pucat tersebut, sehingga semakin menguatkan bahwa jumlah katekin dan antioksidan lain yang terkandung dalam cokelat memberikan aktifitas antioksidan sesuai dengan besarnya jumlah kandungan zat tersebut di dalam masing – masing sampel cokelat.

Besarnya aktivitas antioksidan juga sangat dipengaruhi oleh jenis bahan tambahan yang terkandung dalam cokelat. Madu, kacang almon dan kacang mete sebagai bahan tambahan dalam cokelat ternyata memberikan aktifitas antioksidan juga. Sehingga aktifitas antioksidan dalam cokelat tidak hanya berasal dari katekin dan antioksidan lain dalam cokelat itu sendiri, tapi juga berasal dari bahan tambahannya. Sampel *dark chocolate*

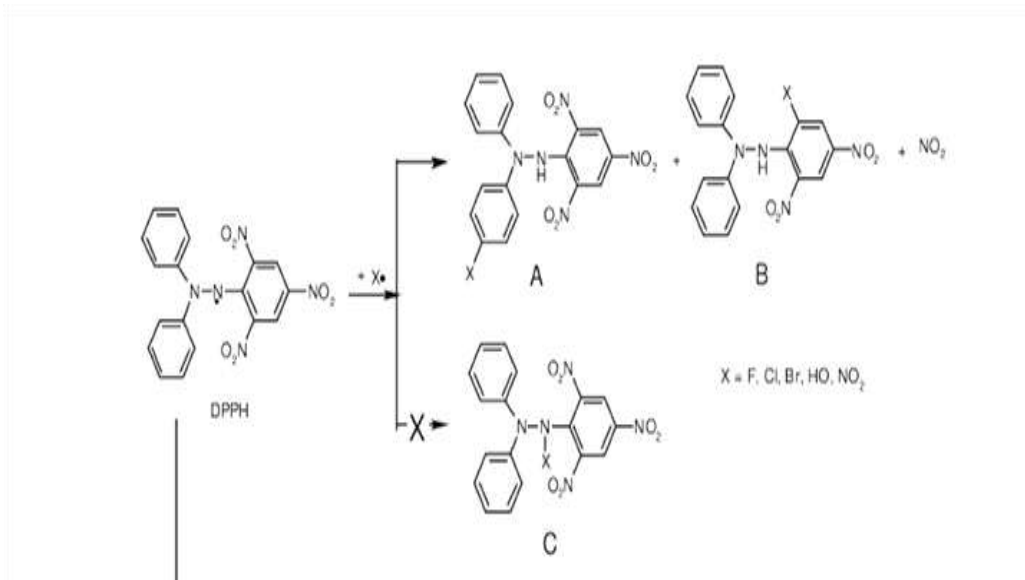
memberikan hasil persentase total aktifitas antioksidan lebih besar daripada yang dihasilkan oleh sampel *milk chocolate* pada masing – masing merk.

Menurut Eskin dan Przybylski (2001) dalam Sari (2005), mekanisme kerja senyawa antioksidan adalah mengkelat ion logam, menghilangkan oksigen radikal, memecah reaksi rantai inisiasi, menyerap energi oksigen singlet, mencegah pembentukan radikal, menghilangkan dan atau mengurangi jumlah oksigen yang ada. Mekanisme reaksi senyawa antioksidan sebagai berikut :



Keterangan :

AH = antioksidan
 ROO. = radikal peroksil
 RH = lemak atau minyak tak jenuh
 R. = radikal asam lemak tak jenuh



Gambar 5. Reaksi antara DPPH dengan senyawa x (katekin, riboflavin, vitamin E, vitamin C, Mg dan Cu)



Gambar 6. Perubahan warna larutan pada reaksi radikal DPPH dengan antioksidan (Witt *et al.*, 2010)

Menurut Hartanto (2012), hasil penelitian terhadap potensi antioksidan minuman coklat menggunakan metode radikal bebas DPPH, menunjukkan bahwa minuman coklat yang mengalami berbagai preparasi seperti penambahan air mendidih (100 °C) langsung dan penambahan air suhu ruang kemudian dipanaskan sampai mendidih, menunjukkan aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH tidak berbeda nyata dibanding dengan vitamin E sebagai kontrol pada taraf 5%.

Asam askorbat sebagai pembanding pada penelitian ini, menghasilkan persentase total aktifitas antioksidan sebesar 45.13 %. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antioksidan dalam coklat tidak kalah pentingnya dengan antioksidan yang terkandung dalam asam askorbat. Angka ini masih jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan angka yang dihasilkan dari persentase total aktifitas antioksidan sampel *dark chocolate* merk A, yaitu sebesar 59.19 %.

Asam askorbat (vitamin C) mudah dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat, dengan demikian maka vitamin C juga berperan dalam menghambat reaksi oksidasi yang berlebihan dalam tubuh dengan cara bertindak sebagai antioksidan. Vitamin C terkandung dalam sayuran

berwarna hijau dan buah – buahan (Sofia, 2005).

Selain vitamin C, coklat memiliki senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dan pengawet alami dari coklat. Aktivitas antioksidan polifenol berkaitan erat dengan struktur samping dan substitusi pada cincin aromatiknyanya, serta jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Dengan demikian, aktivitas antioksidan tinggi karena memiliki jumlah gugus hidroksi yang lebih banyak pada inti flavonoidnya (Es-Safi *et al.* 2007., dalam Yuhernita dan Juniarti, 2011). Senyawa fenolik ini memiliki kemampuan untuk menyumbangkan hidrogen, maka aktivitas antioksidan senyawa fenolik dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas, yang mengawali proses oksidasi atau pada penghentian reaksi radikal berantai yang terjadi.

Hasil penelitian ini menambah informasi bahwa ternyata coklat mengandung banyak antioksidan yang dapat disejajarkan dengan bahan makanan sehat lain yang merupakan sumber utama antioksidan, salah satunya yaitu makanan yang banyak mengandung vitamin C. Sehingga coklat (*dark chocolate* merk A khususnya) dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriansyah, N. 2005. *Cokelat, Sarat Antioksidan Penyehat Jantung*. <http://www2.kompas.com/kompas-cetak/0503/30/ilpeng/1652470.htm>. (Rabu, 30 Maret 2005)
- Amrun, M. 2005. *Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (Chrysophyllum cainito, L.) Dari Daerah Sekitar Jember*. *Jurnal Ilmu Dasar* Vol. 6. No. 2, 2005 : 110 – 114.
- Anonim, 2008. *Antioksidan Tinggi dalam Coklat Hitam*. <http://www.qvida.co.id/index.php/news/detil/145>. (17 Oct 2008).
- Anonim, 2009. *Coklat Membuat Hidup Lebih Sehat*. <http://kumpulan.info/sehat/artikel-kesehatan/48-artikel-kesehatan/161-cokelat-membuat-hidup-lebih-sehat.html> (Selasa, 17 Maret 2009)
- Anonim, (Tanpa Tahun). *Antioksidan*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Antioksidan>
- Astawan, M. 2009. *Cokelat, Tanda Sayang Sehatkan Jantung*. <http://perempuan.kompas.com/read/xml/2009/02/12/22155938/cokelat.tak.selam.anya.merugikan>. (*Nutrition Thu*, 26 Feb 2009 15:30:00 WIB)
- Brotodjogo, LC. 2008. *All About Chocolate*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama.
- Dehpour, A. A., M. A. Ebrahimzadeh, N. S. Fazel, dan N. S. Mohammad, 2009. *Antioxidant Activity of Methanol Extract of Ferula assafoetida and Its Essential Oil Composition*. *Grass Aceites*, 60 (4), 405 – 412.
- Hartanto, H. 2012. *Identifikasi potensi antioksidan minuman cokelat dari kakao lindak (Theobroma cacao L.) dengan berbagai cara preparasi metode radikal bebas 1,1 diphenyl-2 picrylhidrazil (DPPH)*. Skripsi. Fak.Teknologi Pertanian. Univ. Katolik Widya Mandala. Surabaya.
- Joseph, JA., 2008. *Diet Sehat Dengan Kode Warna Makanan*. PT. Mizan Publika : Jakarta.
- Kuncahyo, I., 2007. *Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi, L.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH)*. Makalah pada Seminar Nasional Teknologi (SNT 2007) : Yogyakarta.
- Liempah, MVL., 2008. *Production Of Bee-Propolis Extract Powder As Antibacterial Material For Pharmaceutical Industry*. Swiss German University : Tangerang.
- Nur, MA. 1989. *Spektroskopi*. Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Rusdiana, T. 2007. *Formulasi Gel Antioksidan Dari Ekstrak Seledri (Apium graveolens, L.) Dengan Menggunakan AQUPEC HV-505*. Makalah pada Kongres Ilmiah XV ISFI : Jakarta.
- Sari, D., 2009. *Aktivitas Antioksidan Daun Belantas dalam Sistem Model Asam Linoleat Beta Karoten*. Skripsi S-1. Surabaya : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

- Sofia, D., 2005. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. Situs Web Kimia (online). <http://www.chemistry.org>.(diakses Maret 2009).
- Tahir, I. 2003. *Terapan Analisis HANSCH Untuk Aktifitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon / Flavonol*. Makalah Seminar Khemometri. 25 Januari 2003. Jurusan Kimia FMIPA UGM : Yogyakarta.
- Tim Bina Karya Tani., 2008. *Pedoman Bertanam Cokelat*. Yrama Widya : Bandung.
- Witt, S., M. Lalk, C. Hager dan B. Voigt, 2010. Determination of Scavenger properties, <http://www.baltic-analytics./index.php?id=7&L-1>, diakses tanggal 14 September 2010.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. *Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan*. Makara, Sains. Vol. 15, No. 1, April 2011 : 48–52.