

Pengawetan Ekstrak Pewarna Alami dari Daun dan Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Veni Tri Agustin¹, Edia Rahayuningsih^{2*,3}, dan Aswati Mindaryani²

¹Program Studi Magister Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Jl. Grafika No.2, Kampus UGM, Yogyakarta, 55281, Indonesia

²Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Jl. Grafika No.2, Kampus UGM, Yogyakarta, 55281, Indonesia

³Indonesia Natural Dye Institute, Universitas Gadjah Mada, Jl. Kaliurang Km.4 Sekip Utara Yogyakarta, Kampus UGM, Yogyakarta, 55281, Indonesia

*E-mail: edia_rahayu@ugm.ac.id

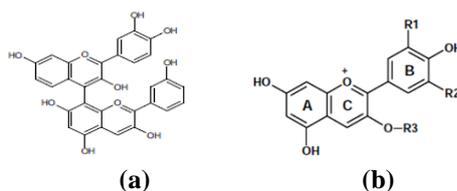
Abstract

Indonesia has abundant natural resources that are very potential and prospective as raw materials for natural dyes, one of which is the leaves and skins of cocoa pods (*Theobroma cacao L.*). The purpose of this study is to determine the concentration of preservatives that can effectively inhibit the biodegradation reaction of natural dyes in the extract of leaves and skins of cocoa pods. Extracts of natural dyes that have been centrifuged and preservatives was added, then stored in a closed reactor. The preservatives used are benzoic acid and chitosan. Extraction is carried out for 20 days. Every 2 days, extract was analyzed from the reactor to determine the colorant concentration using gravimetric method. Besides benzoic acid, the same experiments was also carried out on another chitosan dissolved in 2% acetic acid solution. The results showed that the addition of benzoic acid and chitosan dissolved in 2% acetic acid solution can inhibit the biodegradation of leaves and skins of cocoa pods extract. Preservative concentrations of 0.50% benzoic acid and 0.25% chitosan are effective preservatives to inhibit the biodegradation reaction.

Keywords: biodegradation; preservative; natural dyes; cacao

Pendahuluan

Pewarna alami menjadi sebuah budaya adiluhung bangsa Indonesia. Terdapat berbagai sumber pewarna alami yang belum dimanfaatkan secara optimal, diantaranya yaitu limbah daun dan kulit buah-buahan. Daun dan kulit buah kakao menjadi salah satu sumber yang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Kakao merupakan salah satu komoditas hasil perkebunan unggulan di Indonesia. Kulit buah kakao mengandung senyawa pembawa zat warna alami antara lain flavonoid, tanin dan saponin (Pappa, 2019). Kulit buah kakao juga mengandung alkaloid theobromine (3,7-dimethylxanthine) sebanyak 0.17- 0.22% dan tanin sebanyak 0.84% (Haerudin, 2020). Kandungan yang terdapat pada daun kakao antara lain *caffeine*, *theobromine*, *leucanthocyabi*, *anthocyanin*, dan *catechol*. *Anthocyanin* merupakan senyawa pembawa warna yang dapat dimanfaatkan menjadi pewarna alami (Arta dan Ekarini, 2021). Struktur kimia senyawa tanin dan antosianin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur senyawa kimia (a) tanin (b) antosianin

Larutan pewarna berbasis air biasanya mudah ditangani selama ekstraksi dan aplikasi, tetapi mudah rusak selama waktu penyimpanan. Senyawa organik yang tersimpan dalam bentuk larutan dalam jangka waktu cukup lama rentan mengalami degradasi karena dapat menjadi sarana tumbuh mikroorganisme akibat adanya air dan kondisi penyimpanan yang kurang baik (Rahayuningsih, 2019). Produk yang mengandung air lebih dari 0,85% mudah ditumbuhi mikroorganisme (Dahlan, 2018). Biodegradasi adalah proses perombakan suatu bahan disebabkan oleh pengaruh mikroorganisme (biologis) sehingga bahan terurai atau berkurang konsentrasinya. Proses ini dapat terjadi secara anaerob (tanpa udara) atau aerob (dengan udara). Pada penelitian ini digunakan analisis pengawetan secara

aerob. Cara mencegah pertumbuhan mikroba dan degradasi pewarna alami yaitu dengan menambahkan senyawa antimikroba ke dalam larutan pewarna alami. Berdasarkan kajian pustaka terdapat senyawa alami antimikroba yang potensial digunakan sebagai bahan pengawet yaitu kitosan dan asam benzoat. Degradasi biotik terjadi karena adanya interaksi antara substrat atau pewarna alami dan mikroorganisme membentuk sel-sel baru. Pembentukan sel baru membutuhkan substrat, sehingga pada proses ini konsentrasi mikroorganisme bertambah dan konsentrasi substrat berkurang. Larutan kitosan dalam larutan asam asetat 2% dengan konsentrasi 0,25% efektif dapat menghambat reaksi biodegradasi pewarna alami dalam ekstrak gambir dalam pelarut air (Rahayuningsih, 2019).

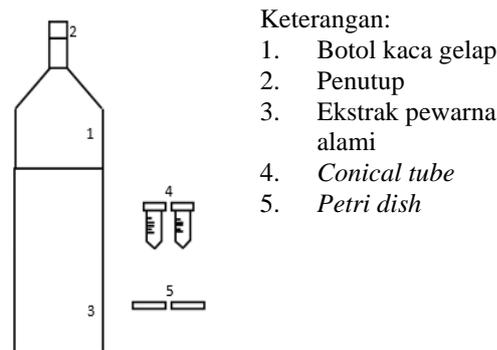
Kitosan yaitu senyawa polisakarida alami, kopolimer dengan N-asetil-D-glukosamin dan D-glukosamin bersifat antioksidan, antitumor, antibakteri, dan antijamur (Reningtyas, 2019). Kitosan bersifat antibakteri karena memiliki gugus amina yang menjadikan kitosan bersifat polikationik dan lebih aktif, sehingga dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri yang mengandung gugus bermuatan negatif. Asam organik merupakan bahan antioksidan dan antimikroba yang digunakan dalam pengawetan makanan dan minuman, diantaranya yaitu asam asetat, askorbat, sitrat, dan benzoat. Penambahan asam benzoat terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroba (Ulya, 2020). Asam benzoat berikatan dengan membran sel mikroba yang mampu menurunkan kemampuan mikroorganisme untuk mentransportasikan bahan-bahan penting bagi sel sehingga akan mengganggu proses metabolisme, pertumbuhan dan perkembangan sel mikroba. Penelitian terdahulu mengenai pengawetan larutan ekstrak daun noja menggunakan asam organik didapatkan bahwa asam organik dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi (Atika, 2021). Pengawetan ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao dilakukan selama 20 hari penyimpanan kemudian dievaluasi berdasarkan konsentrasi pewarna alami selama penyimpanan secara gravimetri. Hasil evaluasi ini digunakan sebagai *screening* awal untuk menentukan bahan pengawet efektif digunakan dalam proses pengawetan ekstrak daun dan kulit buah kakao.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun dan kulit buah kakao (diperoleh dari Bangunrejo, Lampung Tengah), kitosan (CV Progo Mulyo), asam benzoat (CV Progo Mulyo), asam asetat (CV Progo Mulyo), dan akuades (CV Progo Mulyo).

Alat



Gambar 2. Rangkaian alat pengawetan ekstrak

Cara Kerja

Ekstrak pewarna alami disimpan selama 20 hari ditambah dengan bahan pengawet tertentu. Setelah 20 hari penyimpanan, konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak dibandingkan dengan konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak mula-mula sehingga diperoleh data penurunan konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak. Pengukuran konsentrasi dalam ekstrak dilakukan secara gravimetri. Data analisis kuantitatif tersebut digunakan untuk *screening* bahan pengawet ekstrak pewarna alami. Prosedur pengawetan ekstrak dilakukan dengan memasukkan sebanyak 450 ml ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao yang bebas padatan kedalam botol kaca gelap, lalu ditambahkan bahan pengawet dengan variasi konsentrasi seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Ekstrak tersebut kemudian disimpan di tempat yang gelap. Penentuan konsentrasi pewarna alami atau substrat total dan biomassa dalam larutan ekstrak dilakukan pada hari ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, dan 20. Sebelum pengambilan sampel, larutan diaduk sempurna dan diambil 10 ml larutan menggunakan pipet volume, kemudian disentrifugasi selama 10 menit. Beningan diambil sebanyak 5 ml untuk dianalisis kadar pewarna alami atau kadar substrat secara gravimetri untuk menentukan konsentrasi substrat. Selanjutnya endapan yang terbentuk yang merupakan biomassa dipisahkan dari ekstrak dan dianalisis kandungan biomassa secara gravimetri sebagai konsentrasi mikroorganisme. Cara yang sama dilakukan untuk waktu berbeda dan variasi jenis dan konsentrasi pengawet.

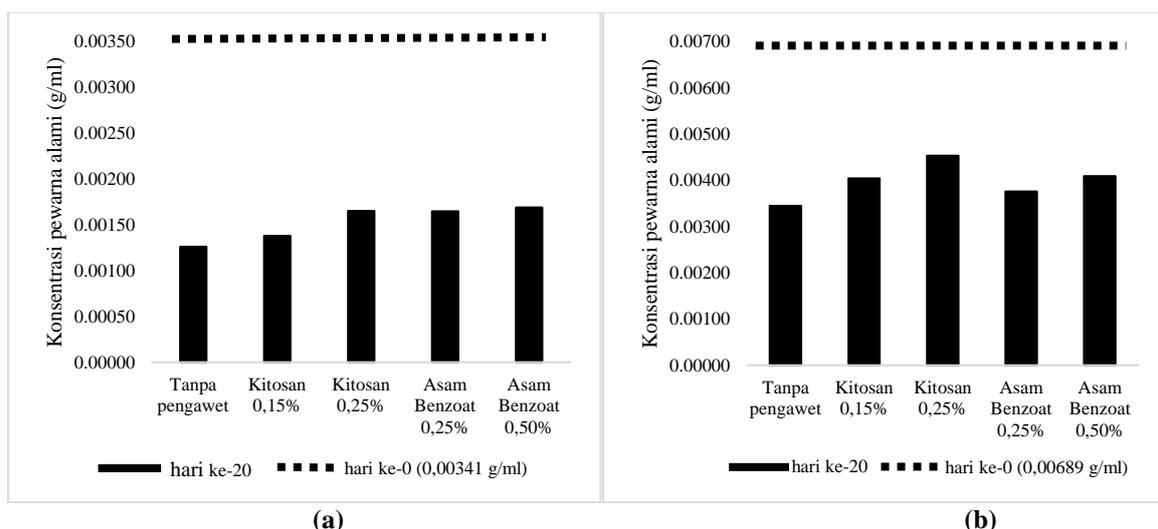
Tabel 1. Jenis dan Konsentrasi Pengawet pada Proses Pengawetan

No.	Jenis Bahan Pengawet	Komposisi Bahan Pengawet	Komposisi Bahan Pengawet Ekstrak dalam 100 ml Ekstrak Daun atau Kulit Buah Kakao, ml	Pengawet dalam Ekstrak
1	Kitosan	2,5 gram kitosan dalam 100 ml asam asetat 2%	0	0,00%
			6	0,15%
			10	0,25%
2	Asam Benzoat	1 gram dalam 100 ml aquades	0	0,00%
			0,25	0,25%
			0,5	0,50%

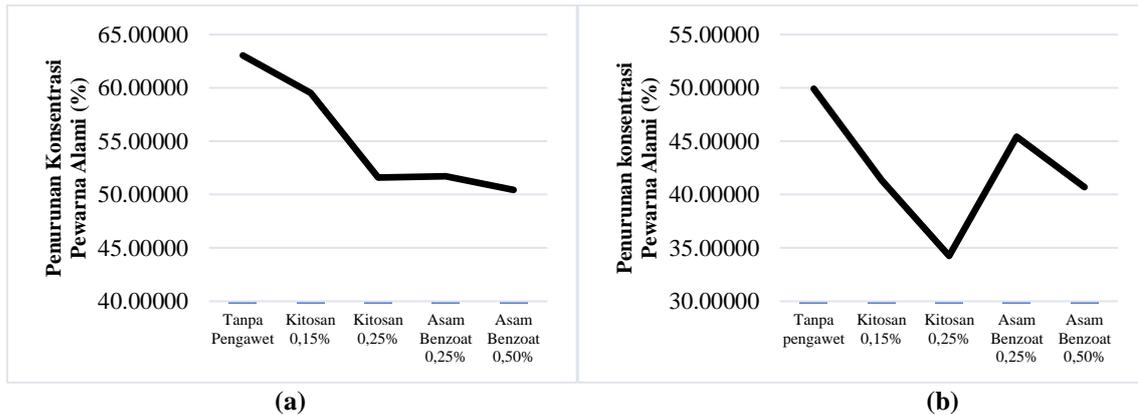
Hasil dan Pembahasan

Screening Bahan Pengawet

Percobaan dilakukan selama 20 hari penyimpanan dengan penambahan jenis dan jumlah bahan pengawet dengan konsentrasi tertentu. Konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak daun dan kulit buah kakao hasil penyimpanan selama 20 hari dibandingkan dengan konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak daun dan kulit buah kakao mula-mula. Konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak dari daun dan kulit buah kakao mula-mula sebesar 0,00342 g/ml dan 0,00689 g/ml. Data kuantitatif penurunan konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak disajikan pada Gambar 3. Dapat dilihat data kuantitatif persentase penurunan ekstrak pewarna alami dari daun kakao disajikan pada Gambar 4. Berdasarkan data kuantitatif tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak daun dan kulit buah kakao menurun tajam jika dibandingkan dengan ekstrak pewarna alami yang ditambahkan bahan pengawet. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao membutuhkan pengawetan selama penyimpanan. Penambahan bahan pengawet berupa kitosan dan asam benzoat dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam ekstrak. Hasil tahap *screening* dapat dinyatakan bahwa kitosan dan asam benzoat efektif digunakan sebagai pengawet ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao. Hasil ini sesuai dengan penelitian Rahayuningsih dkk. (2019) yang menyatakan kitosan merupakan pengawet yang baik untuk ekstrak dari Gambir.



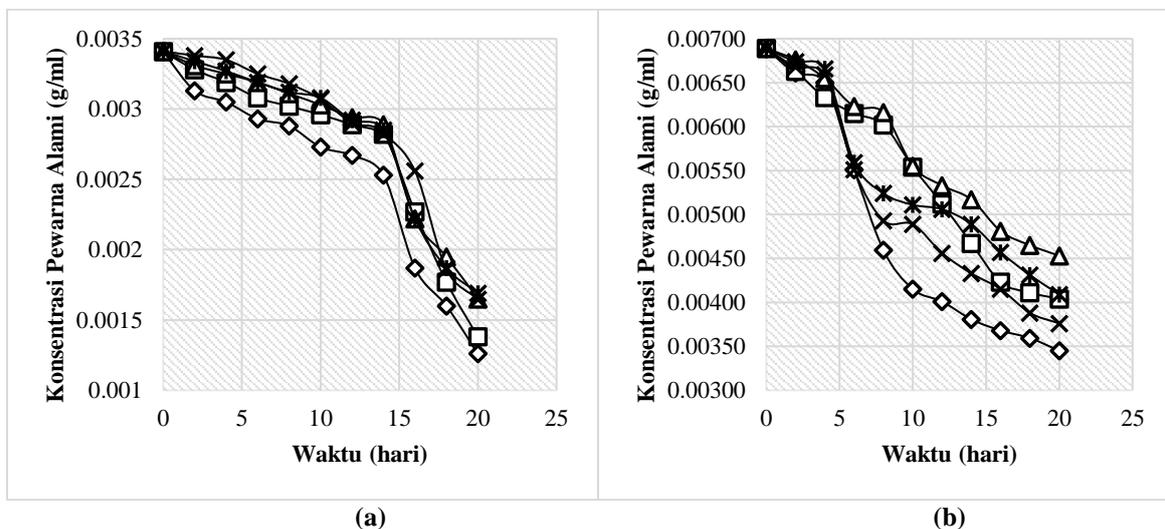
Gambar 3. Konsentrasi ekstrak pewarna alami selama 20 hari penyimpanan (a) daun kakao (b) kulit buah kakao



Gambar 4. Persentase penurunan konsentrasi pewarna alami dalam ekstrak selama 20 hari penyimpanan (a) daun kakao (b) kulit buah kakao

Penentuan Konsentrasi Pengawet Efektif dalam Ekstrak

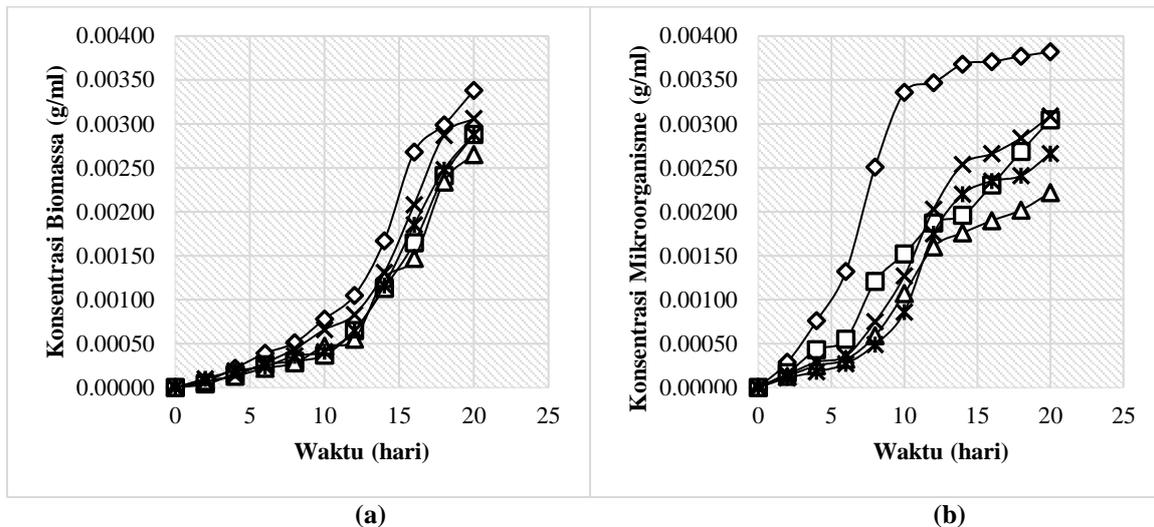
Konsentrasi pewarna alami pada ekstrak daun dan kulit buah kakao terhadap waktu untuk konsentrasi kitosan 0,25% dalam larutan asam asetat 2% pada waktu 6 hari sudah mulai landai dan lebih tinggi dari konsentrasi lainnya ditunjukkan pada Gambar 5. Konsentrasi pewarna alami dengan penambahan bahan pengawet berupa asam benzoat pada berbagai konsentrasi memberikan kurva yang landai mulai hari ke 6 pada ekstrak daun kakao dan kulit buah kakao. Ekstrak pewarna alami dengan konsentrasi asam benzoat memiliki penurunan yang hampir sama, tetapi asam benzoat dengan konsentrasi 0,50% memberikan tren penurunan lebih landai jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya pada ekstrak daun dan kulit buah kakao.



Gambar 5. Hubungan Konsentrasi Pewarna Alami vs Waktu Penyimpanan pada Ekstrak Pewarna Alami (a) Daun Kakao (b) Kulit Buah Kakao. *Note* ◇=tanpa pengawet, □=kitosan 0,15%, Δ=kitosan 0,25%, x= asam benzoat 0,25%, ⊗=asam benzoat 0,50%.

Pada Gambar 6 ditampilkan pertumbuhan konsentrasi mikroorganisme selama 20 hari penyimpanan ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao. Fase pertumbuhan mikroorganisme dibagi menjadi lima antara lain fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase logaritmik, fase pertumbuhan statis, dan fase kematian. Pada fase pertumbuhan awal, mikroorganisme mulai muncul dan bertumbuh dengan kenaikan yang masih kecil. Pertumbuhan mikroorganisme kemudian memasuki fase logaritmik, dimana jumlah mikroorganisme mengalami kenaikan dengan percepatan sebanding dengan jumlah sel. Pada kurun waktu tertentu, mikroorganisme mencapai jumlah optimum dan memasuki fase pertumbuhan statis. Pada fase tersebut, pertumbuhan mikroorganisme akan berhenti. Pada Gambar 6 pertumbuhan mikroorganisme masih landai sampai hari ke 8, kemudian pertumbuhan mikroorganisme meningkat tajam. Pada hari ke 18 masa pertumbuhan mikroorganisme mulai menurun dan memasuki fase pertumbuhan statis. Pada masa pertumbuhan, mikroorganisme akan mengonsumsi nutrient baik untuk bertumbuh maupun regenerasi. Pada suatu waktu nutrient akan habis dikonsumsi. Jika nutrient habis, maka mikroorganismenya akan kekurangan makanan, sehingga beberapa dari mereka akan mengalami kematian. Peristiwa mulai matinya mikroorganisme disebut fase kematian. Pada fase kematian, jumlah mikroorganisme akan menurun sejalan dengan bertambahnya waktu.

Berdasarkan Gambar 6 dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin besar pertumbuhan mikroorganisme maka semakin besar penurunan konsentrasi pewarna alami. Hal tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa nutrisi pertumbuhan mikroorganisme berasal dari ekstrak pewarna alami pada ekstrak daun dan kulit buah kakao.



Gambar 6. Hubungan Konsentrasi Mikroorganisme vs Waktu Penyimpanan pada Ekstrak Pewarna Alami (a) Daun Kakao (b) Kulit Buah Kakao. Note \diamond =tanpa pengawet, \square =kitosan 0,15%, Δ =kitosan 0,25%, \times = asam benzoat 0,25%, \otimes =asam benzoat 0,50%.

Berdasarkan Gambar 5 dan Gambar 6 dapat dinyatakan bahwa konsentrasi pewarna alami terhadap waktu pada ekstrak daun dan kulit buah kakao dengan penambahan kitosan 0,25% dalam larutan asam asetat 2% memiliki laju penurunan lebih landai jika dibandingkan dengan ekstrak dengan pengawet asam benzoat. Sedangkan konsentrasi pewarna alami terhadap waktu pada ekstrak daun dan kulit buah kakao dengan konsentrasi asam benzoat 0,50% mulai landai setelah 6 hari penyimpanan dibandingkan dengan ekstrak tanpa pengawet. Pada penelitian ini konsentrasi kitosan 0,25% dalam larutan asam asetat 2% dan konsentrasi asam benzoat 50% merupakan konsentrasi yang efektif untuk pengawet ekstrak daun dan kulit buah kakao. Larutan kitosan dalam larutan asam asetat 2% dengan konsentrasi 0,25% efektif dapat menghambat reaksi biodegradasi pewarna alami dalam ekstrak gambir dalam pelarut air (Rahayuningsih, 2019).

Laju biodegradasi ekstrak pewarna alami dalam ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi zat aditif kitosan 0,25% dalam larutan asam asetat 2% dan asam benzoat 0,50% ditentukan berdasarkan data hubungan konsentrasi pewarna alami dan mikroorganisme terhadap waktu. Analisis laju degradasi ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao dilakukan dengan mencari empat konstanta yaitu μ_0 , K_s , K_d , dan Y_i dengan fitting kurva konsentrasi pewarna alami dan konsentrasi mikroorganisme.

Kesimpulan

Penambahan kitosan dan asam benzoat sebagai bahan pengawet efektif dapat menghambat reaksi biodegradasi ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao. Konsentrasi kitosan 0,25% dalam larutan asam asetat 2% dan konsentrasi asam benzoat 0,50% merupakan konsentrasi bahan pengawet efektif sebagai pengawet ekstrak daun dan kulit buah kakao. Konsentrasi bahan pengawet tersebut kemudian akan digunakan untuk analisis laju degradasi ekstrak pewarna alami dari daun dan kulit buah kakao.

Daftar Pustaka

- Arta, T. K. & Ekarini, N. *Pewarna Alam Dari Daun Kakao (Theobroma cacao) Untuk Produk Fesyen Zero Waste*. Indonesia, Seminar Nasional Industri Kerajinan Dan Batik. 2021.
- Atika, V., Rahayuningsih, E. & B. Pengaruh Penambahan Asam organik Terhadap Perubahan Kualitas Ekstrak Daun Noja (*Peristrophe Bivalvis*) karena terjadinya Reaksi Oksidasi. *ejournal.kemenperin.go.id/dkb*. 2021; 30: 101-108.
- Dahlan, Z. A. J., Rahayuningsih, E., & Yulianto, A. T. Optimasi Kondisi Operasi Ekstraksi Zat Warna Alami dari Daun Ketepeng (*Terminalia Catappa*) Menggunakan Response Surface Method. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan". 2018.
- Haerudin, A. Atika, V. Isnaini. Masiswo. Mandegani, G.B. Satria, Y. Lestari, D.W. Arta, T.K. Fitriani, A. dan Hardjanto, P. Pengaruh Variasi Suhu, pH, dan Waktu Ekstraksi terhadap Kualitas Pewarnaan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) Pada Batik Katun dan Sutera. *ejournal.kemenperin.go.id/dkb*. 2020: 25-40.



- Pappa, S., Jamaluddin, A. W. & Ris, A. Kadar Tanin Pada Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Kabupaten Paliwlimandar dan Toraja Utara. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. 2019; 7(2): 92-101.
- Rahayuningsih, E., Budhijanto, W., Rosyid, R. I. & Ayuningtyas, Y. I. Pengawetan Ekstrak Zat Warna Alami dari Gambir (*Uncaria gambir*) dalam Pelarut Air. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 2019; 18 (1): 22-29.
- Rahayuningsih, E., Wijayanto, A. & Nurfitasari, P. Preservation of Natural Colorant Extract of Jalawe Fruit Peel (*Terminalia bellirica*) in Water-Based Solution. *Indonesian J.Chem*. 2016; 16 (3): 315-321.
- Reningtyas, R., Octavianto, M. R. & Septiyansi, R.,. *Efek Penambahan Nano Kitosan terhadap Aktivitas Anti Bakteri dan Ketahanan Warna dari Kain Katun Yang Dichelup Dengan Ekstrak Biji Bixa Orellana*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan". 2019.
- Ulya, M., Aronika, N. F. & Hidayat, K.,. Pengaruh Penambahan Natrium Bnezoat dan suhu Penyimpanan terhadap Mutu Minuman Herbal Cabe Jamu Cair. *Journal of Science and Technology*. 2020; 13 (1): 77-81. <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v13i1.5385>