

## Pengembangan minuman fungsional berbasis bubuk kakao lokal berkualitas tinggi dengan penambahan madu: analisis sifat fisik, kimia, dan umur simpan

Risma<sup>1</sup>, Feri Kusnandar<sup>1\*</sup>, Dian Herawati<sup>1</sup>, Yelin Adalina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ilmu dan Teknologi Pangan, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Bogor, Indonesia

### Article history

Diterima:

21 September 2024

Diperbaiki:

27 Januari 2025

Disetujui:

13 Februari 2025

### Keyword

antioxidant activity;

cocoa;

DPPH;

functional drinks.

### ABSTRACT

*This study aims to evaluate the effects of combining cocoa bean extract and honey in a functional beverage formulation, focusing on physical, chemical, and antioxidant properties. Cocoa beans used were of the Sulawesi 2 clone, sourced from Donggala, Palu, while honey was sourced from Sumbawa, East Nusa Tenggara. The research methods included analysis of total phenolics, flavonoids, catechin, epicatechin, theobromine, and caffeine content using HPLC, and antioxidant activity was assessed using the DPPH method. The functional beverage was formulated by mixing cocoa powder and honey in various doses, pasteurized at 75°C, and stored at 8-10°C. The addition of honey influenced the phenolic content and antioxidant effectiveness in formulations F1 and F2. Formulation F2 (10.17% cocoa powder, 8.47% honey, and 81.36% water) showed a total phenolic content of 9.36 mg GAE/g. Meanwhile, formulation F1 (10.34% cocoa powder, 6.90% honey, and 82.76% water) had a lower total phenolic content of 6.60 mg GAE/g. Although total phenolics and antioxidant activity decreased due to pasteurization and brewing, F2 (DPPH value of 0.30 mg TEAC/g) demonstrated higher antioxidant activity than F1 (DPPH value of 0.14 mg TEAC/g). Statistical analysis revealed significant differences in total phenolic content and pH between F1 and F2 ( $p < 0.05$ ). However, no significant differences were observed in antioxidant activity ( $p > 0.05$ ). Therefore, it is essential to consider processing methods to maintain the antioxidant activity of cocoa products derived from the Sulawesi 2 clone.*



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

\* Penulis korespondensi

Email : [fkusnandar@apps.ipb.ac.id](mailto:fkusnandar@apps.ipb.ac.id)

DOI 10.21107/agrointek.v19i4.27514

## PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas penting dalam sektor pertanian Indonesia, dengan produksi biji kakao mencapai 180 ribu ton pada tahun 2022-2023, menjadikan Indonesia produsen biji kakao terbesar keenam di dunia (ICCO 2023). Biji kakao kaya akan polifenol, terutama flavonoid seperti epikatekin dan katekin, yang dikenal memiliki efek antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan manusia (Alanon et al. 2016). Konsumsi produk kakao telah dikaitkan dengan penurunan risiko penyakit kardiovaskular, hipertensi, dan diabetes (Cordero-Herrera et al. 2014; Ramos et al. 2017). Sulawesi Tengah merupakan salah satu wilayah penghasil kakao utama di Indonesia, dengan produksi yang mencapai 128,62 ribu ton pada tahun 2020, atau sekitar 17,85% dari total produksi nasional (BPS 2020). Biji kakao dari daerah ini dikenal memiliki kualitas yang baik, menjadikannya bahan baku yang ideal untuk pengembangan minuman fungsional berbasis kakao. Biji kakao yang digunakan dalam penelitian ini merupakan klon Sulawesi 2 yang berasal dari Donggala, Palu, sedangkan madu diperoleh dari Sumbawa, Nusa Tenggara Timur.

Seiring dengan meningkatnya minat konsumen terhadap produk pangan yang tidak hanya memiliki kualitas rasa yang baik tetapi juga memberikan manfaat kesehatan, minuman fungsional berbasis kakao mendapatkan perhatian yang semakin besar. Minuman fungsional merupakan produk yang diformulasikan dengan bahan-bahan yang memiliki efek kesehatan spesifik, yang dalam kasus ini adalah kakao sebagai sumber antioksidan alami (Tzounis et al. 2011). Kakao dikenal kaya polifenol, terutama flavonoid seperti epikatekin dan katekin, yang berperan penting dalam pencegahan penyakit kronis melalui mekanisme antioksidan dan antiinflamasi (Martin et al. 2013; Katz et al. 2011). Flavonoid pada kakao telah terbukti dapat mengurangi risiko penyakit kardiovaskular dengan meningkatkan aliran darah dan mengurangi tekanan darah melalui peningkatan produksi oksida nitrat (Katz et al. 2011; Sansone et al. 2015). Selain itu, konsumsi rutin kakao juga dapat berkontribusi pada pengendalian resistensi insulin dan perbaikan fungsi endotelial, yang dapat mendukung pencegahan penyakit diabetes tipe 2 (Martin dan ramos 2021).

Penambahan madu dalam minuman fungsional kakao diharapkan dapat meningkatkan nilai fungsional dan sensoris produk. Madu dikenal memiliki berbagai sifat terapeutik, seperti efek antiinflamasi, antibakteri, dan antidiabetes (Nanda et al. 2017). Kandungan antioksidan pada madu, termasuk flavonoid dan senyawa fenolik, dapat berkontribusi dalam meningkatkan stabilitas serta efektivitas senyawa bioaktif dalam kakao, sehingga menghasilkan produk dengan nilai gizi tinggi dan manfaat kesehatan yang optimal (Daniel et al. 2022). Namun, tantangan dalam penggunaan madu adalah viskositas dan kepadatan yang tinggi, serta risiko kristalisasi selama penyimpanan, yang dapat mempengaruhi penerimaan konsumen (Samborska 2019). Untuk mengatasi tantangan ini, madu dalam bentuk bubuk dapat digunakan karena memiliki umur simpan lebih lama dan lebih mudah diolah dalam produk minuman.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek kombinasi ekstrak biji kakao dan madu dalam formulasi minuman fungsional, dengan fokus pada sifat fisik, kimia, dan aktivitas antioksidan. Dengan memahami interaksi antara kedua bahan ini, diharapkan dapat diperoleh formulasi minuman fungsional yang tidak hanya kaya akan antioksidan tetapi juga memiliki stabilitas yang baik selama penyimpanan serta cita rasa yang menarik bagi konsumen. Dengan demikian, penelitian ini berkontribusi dalam pengembangan produk minuman fungsional berkualitas tinggi yang bermanfaat bagi kesehatan masyarakat.

## METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah Biji kakao yang digunakan diperoleh dari kebun petani kakao di Kabupaten Donggala, Palu, Sulawesi Tengah. Biji kakao berasal dari klon Sulawesi 2 dengan kadar air sekitar 7%. Kakao ini dipanen dari tanaman berusia 5-10 tahun dan tidak melalui proses fermentasi, sehingga karakteristik alaminya tetap terjaga untuk analisis lebih lanjut. Sampel madu diambil langsung dari pengumpul madu di Kabupaten Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Madu ini berasal dari lebah liar yang mengumpulkan nektar dari tumbuhan berbunga di hutan sekitar, terutama dari kayu kukin (*Melicope glabra*) dan bunga kenunung (*Eugenia* sp.). Dalam penelitian ini, digunakan beberapa reagen dan bahan lainnya, termasuk reagen Folin Ciocalteu, untuk uji

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), aseton, aquades (air murni), asam asetat, natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ), aluminum klorida ( $\text{AlCl}_3$ ), natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ), asam galat, asetonitril, kertas Whatman no. 1, kertas Whatman no. 14, bahan PTFE, serta standar katekin, epikatekin, teobromin, dan kafein. Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini timbangan analitik, sonikator (Ultrasonic LC 30 H), rotary evaporator, HPLC, spektrofotometer UV- VIS, Spray drying, vial, dan sendok.

### Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini mencakup tiga bagian utama, yakni preparasi sampel, analisis sampel, dan pengolahan data. Preparasi sampel meliputi serangkaian langkah, termasuk pengeringan, pengupasan, penyangraian, pemastaan, pembebasan lemak, dan ekstraksi pasta kakao. Analisis sampel mencakup beberapa pendekatan, seperti pengukuran total polifenol dan total flavonoid menggunakan spektrofotometer, serta analisis kandungan epikatekin, katekin, teobromin, kafein menggunakan HPLC dan aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH. Pengolahan data mencakup analisis uji t untuk pengolahan hasil yang diperoleh.

### Pembuatan bubuk Kakao

Tahap awal penelitian pembuatan bubuk kakao. Buah kakao yang sudah masak fisiologis sesuai klonnya dibelah untuk mengambil bijinya. Biji kakao yang terpilih dikeringkan dengan cara alami menggunakan sinar matahari. Biji kering ini kemudian diroasting pada suhu  $116^\circ\text{C}$  selama 25 menit untuk menghasilkan rasa khas dan mengurangi kadar air. Setelah roasting, biji kakao dikupas untuk mendapatkan nib, bagian dalam biji yang terlepas dari kulit. Nib ini digiling hingga menjadi pasta coklat menggunakan alat pemasta. Pasta coklat yang dihasilkan kemudian dilakukan pengempaan lemak untuk menghilangkan lemak kakao setelah itu akan diperoleh bungkil coklat dengan kandungan lemak berkisar antara 10-20%. Bungkil digunakan sebagai bahan baku utama dalam produksi bubuk kakao. Setelah melalui proses penghalusan pada suhu  $34-40^\circ\text{C}$ , bungkil diproses menggunakan mesin pengayak berukuran 120 mesh untuk memperoleh bubuk kakao dengan tekstur halus (Benković et al. 2019).

### Bubuk madu

Persiapan dan pengeringan bubuk madu berdasarkan penelitian Samborska dan

Bieńkowska (2015) dimulai dengan pemilihan madu berkualitas tinggi sebagai bahan baku. Madu yang digunakan berasal dari sumber terpercaya dan disimpan dalam wadah kaca yang bersih serta kedap cahaya. Penyimpanan dilakukan pada suhu kamar  $25^\circ\text{C}$  di tempat gelap, dengan durasi maksimal 3 bulan, untuk menjaga kualitas madu sebelum diproses menjadi bentuk bubuk.

Tahap berikutnya adalah persiapan larutan, yang terdiri dari madu dan bahan pengisi berupa maltosa. Campuran madu dan maltosa dibuat dengan proporsi 1:1 berdasarkan berat bahan kering. Dalam hal ini, proporsi 1 bagian terdiri dari campuran madu (20%) dan maltosa (30%), sedangkan 1 bagian lainnya adalah air (50%). Proses ini melibatkan penggunaan alat homogenisasi laboratorium selama kurang lebih 10 menit atau lebih untuk memastikan larutan tercampur secara merata dan semua komponen menyatu dengan baik.

Setelah larutan homogen, langkah berikutnya adalah proses pengeringan. Proses ini mengacu pada metode yang telah dijelaskan dalam penelitian Samborska et al. 2015 dengan beberapa modifikasi pada model pengering yang digunakan, yaitu model Mini Spray Dryer Buchi B-290. Suhu udara masuk diatur pada  $120^\circ\text{C}$ , suhu udara keluar pada  $80^\circ\text{C}$ , dan laju aliran cairan (larutan madu dan maltosa) diatur sebesar 4 ml per menit. Hasil dari proses pengeringan ini adalah bubuk madu berkualitas. Terakhir, bubuk madu yang dihasilkan disimpan dalam wadah kaca yang tertutup rapat dan ditempatkan dalam kegelapan.

### Formulasi minuman

Proses pembuatan formulasi minuman fungsional dimulai dengan mempersiapkan bahan baku, yaitu bubuk kakao, bubuk madu, dan air. Komposisi bahan pada formulasi F1 terdiri atas bubuk kakao sebesar 10,34%, bubuk madu 6,90%, dan air 82,76%. Sementara itu, formulasi F2 terdiri atas bubuk kakao sebesar 10,17%, bubuk madu 8,47%, dan air 81,36%. Setiap formulasi dibuat dengan mencampur bahan-bahan kering (bubuk kakao dan bubuk madu) dengan 240 mL air mendidih ( $\pm 98^\circ\text{C}$ ). Proses pencampuran dilakukan hingga menghasilkan campuran homogen yang merata sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan (Restuti et al. 2019). Selanjutnya, campuran dipasteurisasi pada suhu  $75^\circ\text{C}$  selama masing-masing 20 dan 30 menit per batch untuk menjamin keamanan serta kualitas

minuman. Setelah pasteurisasi selesai, minuman didinginkan dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 8-10°C guna menjaga kesegarannya (Wisnu et al. 2015).

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini diarahkan untuk menganalisis efek kombinasi ekstrak biji kakao dan madu dalam formulasi minuman fungsional. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan dua faktor perlakuan (RAL 2 faktorial), dengan Variabel Faktor Pertama yaitu Jenis Ekstrak Biji Kakao, Ekstrak Biji Kakao (A1), Variabel Faktor Kedua yaitu Jenis dosis Madu, dosis Madu 1 (B1), dan dosis Madu Klon 2 (B2), serta ulangan untuk setiap kombinasi perlakuan sebanyak 3 kali (Girsang et al., 2023). Analisis data dilakukan menggunakan uji t untuk menentukan perbedaan signifikan antar parameter yang diukur. Uji ini menggunakan nilai p untuk menilai signifikansi perbedaan antar perlakuan. Jika nilai  $p > 0.05$ , perbedaan dianggap tidak signifikan. Sebaliknya, nilai  $p < 0.05$  menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

### Uji total fenolik

Kandungan Total Fenolik Untuk menentukan kadar total fenol dalam sampel madu, digunakan metode dengan menggunakan reagen Follin- Ciocalteu. Pertama, ambil 300 µl sampel madu dan campurkan dengan 600 µl reagen Folin-Ciocalteu kemudian tambahkan 2,46 µl aquades. Selanjutnya, tambahkan 180 µl larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15% ke dalam campuran tersebut. Setelah itu, inkubasikan campuran selama 2 jam pada suhu 25°C. Setelah inkubasi, ukur absorbansi campuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm. Absorbansi yang dihasilkan akan berkorelasi dengan konsentrasi fenol total dalam sampel. Untuk menghitung kadar fenolik madu, dilakukan kalibrasi menggunakan standar asam galat pada berbagai konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/l (Silva et al. 2013). Berdasarkan hasil kalibrasi, dapat diketahui hubungan antara absorbansi dan konsentrasi fenolik. Dengan mengukur absorbansi sampel madu pada panjang gelombang yang sama, dapat ditentukan kadar fenolik madu dalam sampel, yang dinyatakan dalam miligram (mg) asam galat ekuivalen per gram bobot ekstrak kering (mg GAE/g sampel).

### Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan uji DPPH dilakukan dengan memodifikasi metode Vignoli et al. (2014), Pengenceran dari hasil seduhan coklat hanya dilakukan satu kali tanpa adanya rangkaian pengenceran. Sampel coklat yang telah diseduh (10µl) yang telah diencerkan ditambahkan ke dalam campuran 0.5 ml reagen DPPH etanol 250 µM, 1 ml buffer asetat (100 mM; pH 5.5) dan 1 ml etanol. Absorbansi diukur pada panjang gelombang  $\lambda = 517$  nm menggunakan instrumen spectrophotometer (Shimadzu Corp, UV-Vis 2450, Jepang). Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai mg kapasitas antioksidan setara trolox (TEAC)/100 ml. Perhitungan dilakukan dengan kurva standar trolox (Sigma Aldrich, USA) berkisar antara 1-0.2 mg/ml ( $R^2=0.952$ ) yang diperlukan sebagai acuan dan linearitas.

### Warna

Untuk menganalisis perbedaan karakteristik warna antar sampel, kami melakukan pengukuran warna menggunakan kromameter pada suhu ruangan. Pada langkah ini, kami dengan cermat mengevaluasi masing-masing formulasi berdasarkan nilai L\*, a\*, dan b\*. Nilai L\* digunakan untuk mengukur tingkat kecerahan, nilai a\* untuk menilai tingkat kemerahan, dan nilai b\* untuk menggambarkan tingkat warna kuning pada setiap formulasi (Dogan et al. 2013). Langkah analisis ini memberikan pemahaman yang penting dalam aspek visual dan estetika yang mungkin memiliki peran yang signifikan dalam penilaian produk.

### Nilai pH

Analisis pH pada minuman fungsional berbahan dasar campuran kakao dan madu bubuk dilakukan menggunakan pH meter Accumet AR15 (Fisher Scientific). Setelah menyiapkan minuman sesuai dengan formula yang telah ditentukan, pengukuran pH dilakukan segera setelah persiapan. Pengukuran dilakukan tiga kali (*triplicate*) pada suhu konstan 25°C untuk memastikan konsistensi dan akurasi hasil. Data pH yang diperoleh dicatat sebagai rentang dan rata-rata (mean) dengan deviasi standar (SD). Metode ini memungkinkan evaluasi yang akurat terhadap sifat keasaman minuman fungsional yang diformulasi (Reddy et al. 2015).

## Umur Simpan

Metode ini mengacu pada penelitian Moldakarimov et al. (2024) dengan modifikasi dalam frekuensi pengamatan untuk menilai umur simpan minuman fungsional berbasis kakao dan madu. Minuman disimpan pada suhu 8–10°C dalam kemasan tertutup, dan dilakukan observasi sensoris serta visual setiap satu minggu sekali, yaitu pada hari ke-1, 7, 14, dan 19. Parameter yang diamati meliputi aroma, endapan, warna, dan potensi tanda-tanda kerusakan. Aroma dinilai berdasarkan intensitasnya, dengan fokus pada perubahan aroma khas cokelat dan madu yang dapat mengindikasikan degradasi senyawa volatil. Endapan diamati dari jumlah dan teksturnya, terutama jika terjadi pengendapan yang lebih kental, yang dapat menandakan perubahan struktur koloid atau aktivitas mikroba. Perubahan warna dianalisis secara visual sebagai indikator degradasi senyawa fenolik atau reaksi oksidasi selama penyimpanan. Selain itu, bau asam juga dicatat sebagai indikasi fermentasi mikroba yang dapat menandakan akhir umur simpan. Bagian ini berisi uraian jelas tentang bahan dan prosedur, serta metode khusus yang dipergunakan dalam penelitian.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kimia dan Fisik

Hasil analisis parameter formulasi F1 dan F2 yang disajikan dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa formulasi dengan kandungan madu lebih tinggi, cenderung lebih unggul dalam hal kandungan fenol dan efektivitas antioksidan dibandingkan F1. Meskipun ada sedikit perbedaan dalam pH dan warna, hal ini tidak terlalu mempengaruhi kualitas produk.

Berbagai parameter yang diukur meliputi kandungan total fenol, pH, atribut warna ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) dan antioksidan. Kandungan total fenol dalam

formulasi F1 tercatat 6,60 mg GAE/g, lebih rendah dibandingkan dengan F2 yang memiliki kandungan fenol 9,36 mg GAE/g. Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh jumlah madu yang lebih tinggi dalam F2, yang mengandung senyawa bioaktif tetapi dapat mengencerkan konsentrasi fenol kakao ketika ditambahkan dalam jumlah lebih banyak. Hasil analisis uji t menunjukkan bahwa perbedaan kandungan fenol antara F1 dan F2 signifikan dengan nilai  $p < 0,05$ , yang mengindikasikan bahwa F2 memiliki kandungan fenol yang lebih tinggi dibandingkan F1. Penurunan kandungan fenol dalam F1 dapat dijelaskan oleh efek pengenceran dari dosis madu yang lebih rendah, yang menyebabkan penurunan konsentrasi fenol yang terukur dalam formulasi tersebut (Abhay et al. 2016; Bustos et al. 2018). Selain itu, proses pemanasan dalam pembuatan produk berbasis kakao juga dapat menyebabkan degradasi sebagian senyawa fenolik, yang berpotensi menurunkan kandungannya dalam produk akhir (Liu et al. 2018).

Walaupun F2 mengandung lebih banyak fenol, peningkatan kandungan fenol tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidan. Hal ini disebabkan oleh interaksi antara senyawa fenolik dalam kakao dan senyawa lain yang terdapat dalam formulasi, termasuk komponen yang ada dalam madu. Meskipun kandungan fenol lebih rendah, aktivitas antioksidan yang diukur dengan metode DPPH justru lebih tinggi pada F2 (0,30 mg TEAC/g) dibandingkan dengan F1 (0,14 mg TEAC/g). Hasil uji t tidak menunjukkan perbedaan signifikan pada efektivitas antioksidan antara kedua formulasi ( $p > 0,05$ ), meskipun F2 lebih efektif sebagai antioksidan. Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh kontribusi senyawa bioaktif dalam madu, seperti flavonoid dan asam fenolat, yang diketahui dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam produk berbasis kakao (Daniel et al. 2022).

Tabel 1 Analisis Parameter dari Formulasi 1 dan Formulasi 2

Sampel	Total Fenol (mg GAE/g ekstrak)	pH	$L^*$	$a^*$	$b^*$	DPPH (mg TEAC/g ekstrak)
F1	6,60±0,14 <sup>a</sup>	5,95±0,02 <sup>a</sup>	28,80±0,52 <sup>a</sup>	13,41±1,98 <sup>a</sup>	17,50±3,41 <sup>a</sup>	0,14±0,1 <sup>a</sup>
F2	9,36±0,21 <sup>b</sup>	5,80±0,02 <sup>b</sup>	27,29±2,23 <sup>a</sup>	13,19±1,46 <sup>a</sup>	16,58±2,58 <sup>a</sup>	0,30±0,0 <sup>a</sup>

- Angka dalam kolom yang sama dengan diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada  $p < 0,05$
- F1 = 10,34% kakao, 6,90% madu, 82,76% air
- F2 = 10,17% kakao, 8,47% madu, 81,36%.



Gambar 1 a) Formulasi 1 dan Formulasi 2 Hari ke-1, b) ) Formulasi 1 dan Formulasi 2 Hari ke-7, c) ) Formulasi 1 dan Formulasi 2 Hari ke-14 dan d) ) Formulasi 1 dan Formulasi 2 Hari ke-19

Formulasi F1 memiliki pH 5,95, sedangkan F2 sedikit lebih rendah dengan pH 5,80. Penurunan pH ini disebabkan oleh penambahan dosis madu yang lebih tinggi pada F2, karena madu bersifat asam dan dapat menurunkan pH dalam formulasi. Hasil uji t menunjukkan bahwa perbedaan pH antara F1 dan F2 signifikan dengan nilai  $p < 0,05$ . Penurunan pH ini dapat mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa fenolik, yang umumnya lebih stabil pada pH netral atau sedikit basa (Bustos et al. 2018). Namun, perubahan kecil ini tidak cukup signifikan untuk mempengaruhi aktivitas antioksidan yang diukur.

Untuk atribut warna, perubahan kecil pada nilai  $L^*$ ,  $a^*$ , dan  $b^*$  pada F2 dapat disebabkan oleh interaksi kimia selama pemrosesan. Nilai kecerahan ( $L^*$ ) pada F2 adalah 27,49, sedikit lebih rendah dibandingkan dengan F1 yang memiliki nilai  $L^*$  28,80. Perbedaan ini mungkin terjadi akibat reaksi pencoklatan yang disebabkan oleh penambahan madu dalam jumlah lebih tinggi. Nilai  $a^*$  (merah-hijau) pada F1 adalah 13,41, lebih tinggi dibandingkan F2 yang memiliki nilai  $a^*$  13,19. Nilai  $b^*$  pada F1 adalah 17,50, lebih tinggi dibandingkan F2 yang memiliki nilai  $b^*$  16,58. Meskipun perbedaan ini ada, hasil uji t

menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada atribut warna antara F1 dan F2 ( $p > 0,05$ ), yang mengindikasikan bahwa perubahan kecil pada warna tidak dipengaruhi secara substansial oleh perbedaan formulasi (Liu et al. 2018).

Dengan demikian, meskipun ada perbedaan signifikan pada kandungan fenol dan pH antara F1 dan F2, perbedaan tersebut tidak memengaruhi secara substansial efektivitas antioksidan dan atribut warna. Penurunan kandungan fenolik dalam F1 yang mengandung dosis madu lebih rendah, serta perubahan pH, perlu dipertimbangkan dalam pengembangan minuman fungsional yang mempertahankan sifat kimia dan sensorik yang diinginkan (Abhay et al. 2016; Bustos et al. 2018; Liu et al. 2018).

### Umur simpan

Proses pasteurisasi pada suhu  $75^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dirancang untuk membunuh mikroorganisme patogen dan memperpanjang masa simpan produk minuman fungsional. Namun, seperti yang dilaporkan oleh Techakanon dan Sirimuangmoon (2020), meskipun pasteurisasi efektif dalam mengurangi

mikroorganisme, perubahan kualitas seperti aroma, warna, dan aktivitas antioksidan tetap terjadi selama penyimpanan. Berdasarkan pengamatan, pada hari pertama, kedua sampel menunjukkan aroma coklat dan madu yang sangat kuat tanpa adanya endapan, menunjukkan bahwa proses awal pasteurisasi berhasil mempertahankan sifat sensori (Gambar 1a). Namun, pada hari ketujuh, mulai muncul banyak endapan di bagian bawah minuman (Gambar 1b). Endapan ini kemungkinan berasal dari partikel-partikel yang mengendap akibat gravitasi atau interaksi antara komponen minuman selama penyimpanan dingin, seperti protein atau senyawa fenolik yang teragregasi, seperti dijelaskan oleh Bao et al. (2022). Selain itu, penurunan aroma coklat dan madu yang terdeteksi mengindikasikan bahwa senyawa volatil mulai berkurang akibat proses oksidasi atau penguapan dalam kondisi penyimpanan.

Penurunan jumlah endapan terlihat pada hari ke-14, seiring dengan semakin jelasnya pemisahan fase cair dan padat, yang menyebabkan lapisan atas minuman tampak lebih jernih (Gambar 1c). Aroma dan warna juga mengalami penurunan lebih lanjut. Pada hari ke-19, aroma coklat dan madu hampir sepenuhnya hilang, dan meskipun endapan mengisi sebagian volume, terlihat lebih sedikit endapan yang mengental di bagian bawah (Gambar 1d). Kondisi ini menunjukkan bahwa kemungkinan terjadi pertumbuhan mikroorganisme selama penyimpanan, meskipun tidak tercium bau asam yang biasa muncul sebagai tanda kerusakan. Seperti yang dilaporkan Bao et al. (2022), kondisi penyimpanan yang tidak optimal atau kemungkinan kontaminasi pasca-pasteurisasi dapat memengaruhi stabilitas produk. Hal ini konsisten dengan penelitian Techakanon dan Sirimuangmoon (2020) pada cider jambu mawar, di mana penurunan kualitas sensori dan aktivitas antioksidan terjadi seiring waktu meskipun produk telah dipasteurisasi.

### KESIMPULAN

Penambahan madu memengaruhi kandungan fenol dan efektivitas antioksidan pada formulasi F1 dan F2. Pada formulasi F2, yang terdiri atas 10,17% bubuk kakao, 8,47% madu, dan 81,36% air, total fenol turun menjadi 9,36 mg GAE/g. Sementara itu, pada formulasi F1, yang terdiri atas 10,34% bubuk kakao, 6,90% madu, dan 82,76% air, total fenol turun menjadi 6,60 mg GAE/g. Meskipun total fenol dan aktivitas antioksidan

menurun akibat proses pasteurisasi dan penyeduhan, F2 menunjukkan efektivitas antioksidan yang lebih tinggi dengan nilai DPPH sebesar 0,30 mg TEAC/g dibandingkan F1 yang hanya 0,14 mg TEAC/g. Analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan pada kandungan total fenol dan pH antara F1 dan F2 ( $p < 0,05$ ), namun tidak ada perbedaan nyata pada aktivitas antioksidan ( $p > 0,05$ ). Oleh karena itu, penting untuk mempertimbangkan proses pengolahan untuk menjaga manfaat kesehatan produk olahan kakao dari klon Sulawesi 2.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abhay, S., C. Hii, C. Law, S. Suzannah, and M. Djaeni. 2016. Effect of hot-air drying temperature on the polyphenol content and the sensory properties of cocoa beans. *International Food Research Journal* 23:1479-1484.
- Alanon, M. E., S. M. Castle, P. J. Siswanto, C. Gomez, and J. P. E. Spencer. 2016. Assessment of flavanol stereoisomers and caffeine and theobromine content in commercial chocolate. *Food Chemistry* 208:177-184.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2020. *Statistik Kakao Indonesia*. Jakarta, Indonesia.
- Bao, X., Zhang, S., Zhang, X., Jiang, Y., Liu, Z., Hu, X., and Yi, J. 2022. Effects of pasteurization technologies and storage conditions on the flavor changes in acidified chili pepper. *Current Research in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.08.007>.
- Benković, M., M. Pižeta, A. Jurinjak Tušek, T. Jurina, J. Gajdoš Kljusurić, and D. Valinger. 2019. Optimization of the foam mat drying process for production of cocoa powder enriched with peppermint extract. *Food Chemistry* 115:108440. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108440>.
- Bustos, M. C., D. Rocha-Parra, I. Sampedro, S. De Pascual-Teresa, and A. E. León. 2018. The influence of different air-drying conditions on bioactive compounds and antioxidant activity of berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66:2714-2723.
- Choudhary, S., B. S. Tanwer, T. Singh, and R. Vijayvergia. 2013. Total phenolic, total flavonoid content and the DPPH free radical scavenging activity of *Melothria maderaspatana* (Linn.) Cogn. *International*

- Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(1):296-298.
- Cordero-Herrera, I., M. A. Martín, L. Goya, and S. Ramos. 2014. Title of the article. *Molecular Nutrition and Food Research* 1-32. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400492>.
- Daniel, O. C., and L. F. Guido. 2022. A review on the fate of phenolic compounds during malting and brewing: technological strategies and beer styles. *Food Chemistry* 372:131093. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131093>.
- Dogan, M., O. S. Toker, T. Aktar, and M. Goksel. 2013. Optimization of gum combination in prebiotic instant hot chocolate beverage model system in terms of rheological aspect: mixture design approach. *Food and Bioprocess Technology* 6:783-794. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0736-y>.
- Febrianto, N. A., S. Wang, and F. Zhu. 2021. Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1928597>.
- García-Alamilla, P., L. M. Lagunes-Gálvez, J. Barajas-Fernández, and R. García-Alamilla. 2017. Physicochemical changes of cocoa beans during roasting process. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2017/6508617>.
- International Cocoa Organization (ICCO). 2023. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLIX, No. 2, Cocoa Year 2022/23. Published 31 May 2023.
- Katz, D. L., K. Doughty, and A. Ali. 2011. Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling* 15(10):2779-2811.
- Lavorgna, M., S. Pacifico, R. Nugnes, C. Russo, E. Orlo, S. Piccolella, and M. Isidori. 2021. *Theobroma cacao* Criollo var. beans: biological properties and chemical profile. *Foods* 10(3):571. <https://doi.org/10.3390/foods10030571>.
- Liu, P., Lu, X., Li, N., Zheng, Z., and Qiao, X. 2018. Characterization, variables, and antioxidant activity of the Maillard reaction in a fructose-histidine model system. *Molecules*, 23(12): 3375. <https://doi.org/10.3390/molecules23123375>.
- Martin, M. A., and Ramos, S. 2021. Impact of cocoa flavanols on human health. *Food and Chemical Toxicology*, 151: 112121, 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112121>.
- Martin, M. A., Goya, L., and Ramos, S. 2013. Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cancer. *Food and Chemical Toxicology*, 56: 336-351.
- Moldakarimov, A., Iztayev, A., Muslimov, N., Yakiyayeva, M., Muldabekova, B., Tursunbayeva, S., Dikhanbayeva, F., Shintassova, S., and Dyusembaeva, Z. 2024. Determination of the optimal storage zone of functional beverages based on sprouted grain extracts using mathematical models. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 18: 1006-1027. <https://doi.org/10.5219/2028>.
- Nanda, M., Mittal, S., and Gupta, V. 2017. Role of honey as adjuvant therapy in patients with sore throat. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 7(4): 1-4.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao (Puslitkoka). 2008. *Pedoman teknis budidaya tanaman kakao (Theobroma cacao L.)*. Jember, Indonesia: Puslitkoka.
- Ramos, S., Martín, M. A., and Goya, L. 2017. The antioxidant effects of cocoa in type 2 diabetes mellitus. *Antioxidants*, 6(4): 84.
- Reddy, A., Norris, D. F., Momeni, S. S., Waldo, B., and Ruby, J. D. 2015. The pH of beverages in the United States. *The Journal of the American Dental Association*, 146(12): 848-854. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2015.10.019>.
- Samborska, K., Gajek, P., and Kamińska-Dwórznicza, A. 2015. Spray drying of honey: The effect of drying agents on powder properties. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, 65(2): 109-118. <https://doi.org/10.2478/pjfn.2013-0012>.
- Samborska, K., Jedlińska, A., Wiktor, A., Derewiaka, D., Wołosiak, R., Matwijczuk, A., Jamróz, W., Skwarczyńska-Maj, K., Kielczewski, D., Błażowski, Ł., Tułodziecki, M., and Witrowa-Rajchert, D. 2019. The effect of low-temperature spray drying with dehumidified air on phenolic compounds, antioxidant activity, and aroma compounds of rapeseed honey powders. *Journal of Food Science and Technology*,

- 56(6): 2695-2705.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03759-2>.
- Sansone, R., Rodriguez-Mateos, A., Heuel, J., Falk, D., Schuler, D., Wagstaff, R., and Spencer, J. P. 2015. Cocoa flavanol intake improves endothelial function and Framingham risk score in healthy men and women: A randomised, controlled, double-masked trial: The Flaviola health study. *British Journal of Nutrition*, 114(2): 1246-1255.
- Silva, I. A. A., da Silva, T. M. S., da Camara, C. A., Queiroz, N., Magnani, M., Novais, J. S., de Soledade, L. E. B., Lima, E. de O., Souza, A. L. de, and Souza, A. G. de. 2013. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, northern Brazil. *Food Chemistry*, 141: 3552-3558.
- Techakanon, C., and Sirimuangmoon, C. 2020. The effect of pasteurization and shelf life on the physicochemical, microbiological, antioxidant, and sensory properties of rose apple cider during cold storage. *Beverages*, 6(3): 43.  
<https://doi.org/10.3390/beverages6030043>.
- Tzounis, X., Rodriguez-Mateos, A., Vulevic, J., Gibson, G. R., Kwik-Urbe, C., and Spencer, J. P. 2011. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by a randomized, controlled, double-masked, cross-over intervention study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93(1): 62-72.
- Vignoli, J. A., Viegas, M. C., Bassoli, D. G., and Benassi, M. de T. 2014. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of Arabica and Robusta coffees. *Food Research International*, 61: 279-285.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.006>.
- Wisnu, L., Kawiji, K., and Atmaka, W. 2015. Pengaruh suhu dan waktu pasteurisasi terhadap perubahan kadar total fenol pada Wedang Uwuh ready to drink dan kinetika perubahan kadar total fenol selama penyimpanan. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 8(2).