

Penerapan *Response Surface Methodology* dalam Optimasi Kondisi Proses Ekstraksi Antosianin pada Limbah Kulit Kakao dengan Metode Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol

Istiqomah Rahmawati^{1*}, Boy Arief Fachri¹, Nurtsulutsiyah¹, Yakub Hendrikson Manurung¹, Muhammad Reza², Bekti Palupi¹, Meta Fitri Rizkiana¹, & Helda Wika Amini¹

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Jember, Jember, Indonesia

²Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Jember, Jember, Indonesia

Corresponding author: istiqomah.rahmawati@unej.ac.id

Article history

Received: 17 October 2021

Received in revised form:

16 June 2022

Accepted: 29 June 2022

DOI:

10.17977/um0260v6i12022p024

Kata-kata kunci:

Antosianin

Kulit Kakao

Maserasi

Response Surface Methodology

Abstrak

Antosianin dengan konsentrasi tinggi terdapat dalam kulit kakao. Tujuan dari penelitian ini adalah optimasi proses ekstraksi antosianin limbah kulit kakao dengan metode maserasi sehingga diperoleh ukuran partikel, rasio bahan/pelarut, dan waktu ekstraksi optimum untuk menghasilkan konsentrasi antosianin yang tinggi. Variable proses ekstraksi yang dioptimasi meliputi ukuran partikel (0,105; 0,125; 0,149; 0,177; 0,25 mm), rasio bahan/pelarut (0,0045; 0,0125; 0,0375; 0,0625; 0,0795 g/mL), dan waktu (7,5; 24; 48; 72; 79 jam). Program *Design Expert vs11* dengan *Response Surface Methodology* (RSM) *Box-Behnken Design* digunakan dalam penelitian dan dilakukan pemilihan kondisi proses dari kombinasi faktor-faktor yang menghasilkan respon yang optimal. Hubungan antar variabel terhadap respon konsentrasi antosianin yang dimodelkan: $Y = 0,2129 - 0,0483A + 0,0816B + 0,0069C - 0,0219AB - 0,0271AC + 0,0174BC + 0,0298A^2 - 0,0349B^2 + 0,0504C^2$. (A adalah ukuran partikel; B adalah rasio kulit kakao:pelarut; dan C adalah waktu). Nilai respon optimal konsentrasi antosianin adalah 0,479 M dengan kondisi ukuran partikel pada proses ekstraksi 0,105 mm, rasio kulit kakao/etanol adalah 0,0625 g/mL, dan waktu ekstraksi adalah 72 jam

Abstract

Anthocyanins are present in high concentration in cocoa peels. The purpose of this study is to identify the relationship between each input variables and to develop predictive models used in optimizing the conditions of the anthocyanin extraction process. Extraction of anthocyanins in cocoa peels was carried out using the maceration method. Extraction process conditions such as particle size (0,105; 0,125; 0,149; 0,177; 0,25 mm), material/solvent ratio (0,0045; 0,0125; 0,0375; 0,0625; 0,0795 g/mL), and optimum extraction time (7,5; 24; 48; 72; 79 hour) in the extraction process will affect the obtained concentration of anthocyanin. The Design Expert vs11 program with Response Surface Methodology (RSM) Box-Behnken Design was used for research and select process conditions from a combination of factors producing the optimal responses. Relationship between variables and the response of anthocyanin concentration was modeled by $Y = 0,2129 - 0,0483A + 0,0816B + 0,0069C - 0,0219AB - 0,0271AC + 0,0174BC + 0,0298A^2 - 0,0349B^2 + 0,0504C^2$ (A is particle size; B is the ratio of cocoa peel/ethanol; and C is extraction time). The optimal response value of anthocyanin concentration is 0,479 M, with the condition of the particle size at the extraction process of 0,105 mm; the ratio of cocoa peel/ethanol of 0.0625 w/v; extraction time of 72 hours.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara urutan ketiga sebagai penghasil kakao dibawah Pantai Gading dan Ghana. Tahun 2017 jumlah hasil panen kakao mencapai 590.684 ton dan mengalami kenaikan pada tahun 2021 hingga 728.046 ton (World Cocoa Foundation, 2019). Meningkatnya produksi kakao Indonesia mendorong nilai ekspor kakao Indonesia dalam bentuk padat maupun dalam bentuk olahan seperti cocoa butter dan coklat yang dikonsumsi menghasilkan devisa terbesar ketiga subsektor perkebunan dibawah komoditi kelapa sawit ataupun karet (Dirjen Bina Produksi Perkebunan, 2019). Kakao (*Theobroma cacao L.*), merupakan buah pohon yang ditanam di berbagai daerah tropis dan termasuk famili Malvaceae. Tanaman kakao berdaun lebar dengan buah berwarna kuning kemerahan. Kakao mengandung senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antiseptik, antioksidan, antiinflamasi, dan diuretik. Kakao juga digunakan sebagai obat tradisional yang berkhasiat untuk mengobati luka bakar, gigitan ular, demam, bibir kering, batuk, rematik, dan kelelahan (Albertini, dkk., 2015 ; Ganda, dkk., 2020 ; Muustanir, dkk., 2020).

Struktur buah kakao terbagi menjadi empat bagian utama yaitu biji, plasenta, daging buah, dan kulit. Kulit kakao merupakan komponen limbah terbesar pada pengolahan biji kakao. Massa kulit kakao mencapai 75% dari total massa buah. Kulit buah kakao belum dimanfaatkan secara optimal karena hanya digunakan sebagai pakan ternak, dibakar, bahkan dibuang sebagai limbah pertanian. Kulit kakao mengandung banyak zat aktif yaitu senyawa fenolik seperti pyrogallol, tanin, quercetin, resorsinol, dan lignin. Polifenol yang terkandung dalam kulit kakao adalah katekin, proantosianidin, dan antosianin. Kandungan antosianin dalam kulit kakao mencapai 39,82% (Lubis, dkk., 2018 dan Corcuera, dkk., 2012)

Metode maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode ini menggunakan pelarut yang akan berdifusi masuk kedalam sel bahan yang selanjutnya senyawa aktif akan keluar akibat dari tekanan osmosis. Kelebihan metode maserasi yaitu sederhana, mudah, biaya yang murah dan terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan

rusak (Ginting, dkk., 2013 ; Mukhrinin, 2014 dan Pratiwi, 2010).

Senyawa aktif yang terkandung pada kulit kakao akan lebih banyak dihasilkan jika menggunakan pelarut etanol dan air. Etanol dan air bersifat polar, universal, dan mudah didapat. Senyawa polar merupakan senyawa yang larut didalam air (Trifani, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Jessica, (2016) dijelaskan bahwa penggunaan pelarut etanol 96% pada metode maserasi diperoleh hasil antosianin dengan kadar sebesar 30,22 mg/L, dengan suhu optimum 100°C, dengan presentase degradasi sebesar 61,97%. Penelitian lain menyebutkan pada suhu 40 °C diperoleh hasil antosianin sebesar 4,499% dengan intensitas warna sebesar 0,430 (Alfrida, 2018).

Penelitian ini menggunakan desain Program 11 vs *Expert Design dengan Response Surface Methodology (RSM) Box-Behnken Design* yang digunakan untuk meneliti dan memilih kondisi proses ekstraksi dengan kombinasi faktor-faktor yang menghasilkan respon yang optimal. Berdasarkan *Box-Behnken RSM Design* diketahui bahwa pengaruh utama ukuran partikel, rasio bahan/pelarut, dan waktu ekstraksi yang optimal dalam proses ekstraksi merupakan faktor yang sangat mempengaruhi respon konsentrasi antosianin yang dihasilkan (Lee, L.S, dkk., 2013).

Keunggulan program ini dapat digunakan untuk analisis dan pemodelan suatu masalah dengan satu atau lebih perlakuan (Radojkovic, dkk., 2012 ; Jia, C, dkk., 2019 ; Zhan X, dkk. 2014). Menurut Liu, J, dkk., (2018) ; dan Panax G, dkk., (2018) RSM adalah kumpulan teknik statistik dan matematika yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses, yang dipengaruhi oleh beberapa faktor (variabel bebas). *Response Surface Methodology (RSM)* tidak hanya mendefinisikan pengaruh variabel independen tetapi juga menghasilkan model matematika, yang menjelaskan proses kimia atau biokimia. Ide utama dari metode ini adalah untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap respon, mendapatkan model hubungan antara variabel bebas dan respon serta mendapatkan kondisi proses yang menghasilkan respon terbaik (Yang, Z.D., dkk., 2010 ., dan Keshani, dkk ., 2010). Selain itu, kelebihan metode RSM antara lain tidak memerlukan data uji coba dalam jumlah besar dan tidak membutuhkan waktu

yang lama (Liu, X.L, dkk., 2013 dan Septiyaningsih, 2012)

METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kulit kakao dari Puslitbang Kopi dan Kakao Indonesia, ethanol (teknis), *aquadest* dan Spektrofotometer UV-VIS untuk analisis.

Metode

Metode penelitian ini terdiri dari 4 tahap, yaitu 1) pembuatan formulasi dan desain respon, 2) analisis respon, 3) optimasi, dan 4) verifikasi sebagai bukti prediksi nilai respon solusi formula optimum. Tahapan dalam metode penelitian ialah sebagai berikut :

Optimalisasi Kondisi ekstraksi antosianin pada kulit kakao

Tabel 1. Rancangan formulasi penelitian ekstraksi antosianin dengan metode maserasi

Formula	Ukuran Partikel (mm)	Rasio (g/mL)	Waktu (jam)
1	0,149	0,0375	48
2	0,149	0,0375	48
3	0,149	0,0375	48
4	0,250	0,0625	24
5	0,250	0,0125	24
6	0,149	0,0795	48
7	0,149	0,0375	79
8	0,149	0,0125	72
9	0,105	0,0625	24
10	0,149	0,0375	48
11	0,105	0,0625	72
12	0,149	0,0045	48
13	0,149	0,0375	48
14	0,088	0,0375	48
15	0,250	0,0125	72
16	0,105	0,0125	24
17	0,595	0,0375	48
18	0,149	0,0375	7,5
19	0,250	0,0625	72
20	0,149	0,0375	48

Ada empat tahapan dalam menerapkan RSM (Septiyaningsih, 2012). Desain formulasi penelitian dan analisis respon dilakukan dengan menggunakan program *Design-Expert* v11.

Variabel terikat pada penelitian ini adalah konsentrasi antosianin yang diekstraksi sedangkan variabel bebasnya adalah A. ukuran partikel (0,105; 0,125; 0,149; 0,177; 0,25 mm), B rasio kakao: pelarut (0,0045; 0,0125; 0,0375; 0,0625; 0,0795 g/mL), C waktu maserasi (7,5; 24; 48; 72; 79 jam). Rancangan penelitian dari program *design expert* diaplikasikan pada beberapa jenis pelarut etanol tercantum pada Tabel 1.

Nilai batas minimum dan maksimum dimasukkan ke dalam program *Box-Behnken Design Design-Expert v11 Response Surface Methodology* (RSM) untuk pengacakan. Setelah pengacakan kombinasi, 20 perlakuan dianalisis (Jia, C, dkk., 2019).

Ekstraksi Antosianin

Tahapan ekstraksi zat warna kulit kakao adalah: kulit kakao dipotong kecil-kecil lalu digiling, dihaluskan dan diayak dengan ukuran 60 mesh (0,250 mm), 100 mesh (0,149 mm), 140 mesh (0,105 mm) dan 170 mesh (0,088 mm). Rasio bahan/pelarut yang digunakan ialah sebanyak 0,45 gr; 1,25 gr; 3,75 gr; 6,25 gr; 7,95 gr lalu dimaserasi dalam larutan etanol sebanyak 100 mL (Lubis, dkk., 2018). Sampel yang berisi kulit kakao dengan pelarut dimasukkan ke dalam wadah sesuai desain penelitian pada Tabel 1. Hasil disaring kemudian disentrifugasi dan supernatan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 °C. Supernatan dikarakterisasi dengan spektrofotometri UV-Vis. Analisa kandungan antosinin dilakukan sebagai berikut: Sebanyak 1 ml hasil ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah etanol sebanyak 5 mL. Percobaan yang sama dilakukan untuk setiap run hasil ekstraksi. Diukur absorbansi larutan dengan panjang gelombang 400-500nm dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Visible. Larutan blanko yang digunakan adalah etanol. Setelah didapatkan nilai absorbansi tiap run, langkah selanjutnya adalah dihitung total antosianin menggunakan persamaan 1 (Triyastuti dan Djaelani 2019).

$$(mg/L) = \frac{A \times MW \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

A = Absorbansi maksimal; ϵ = koefisien ekstingsi molar (26,900); MW= berat molekul dihitung sebagai sianidin 3-glukosida (MW = 449,2 g/mol); FP = 10³

Analisis Respon

Nilai respon variabel dependen dianalisis dengan ANOVA. Model ANOVA yang digunakan dapat dipilih sesuai dengan saran program, yaitu model yang memiliki level tertinggi dan menghasilkan nilai ANOVA yang signifikan. Model ANOVA yang terdapat pada perancangan ini adalah *Linear*, *Quadratic*, *Special Cubic*, dan *Cubic*. Model yang memberikan signifikansi pada ANOVA dan non-signifikansi pada *Lack of fit* dipilih untuk menganalisis variabel. Selain itu, program DX v11 juga menyediakan plot normal fasilitas residual yang menunjukkan apakah residual (selisih antara respons aktual dan nilai respons yang diprediksi) mengikuti garis normalitas (garis lurus). Titik-titik data yang semakin mendekati garis normal menunjukkan sebaran data yang normal, artinya hasil yang sebenarnya akan mendekati hasil yang diprediksi oleh program (Liu, X.L, dkk., 2013).

Tahap optimasi

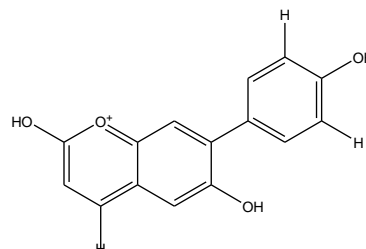
Pada tahap ini, respon (konsentrasi antioksidan) ditentukan oleh tujuan optimasi pada program DX v11. Program ini akan mengoptimalkan sesuai dengan data variabel dan data pengukuran respon yang dimasukkan. Keluaran dari tahap optimasi adalah rekomendasi beberapa formula optimal baru sesuai program. Rumus yang paling optimal adalah rumus dengan nilai *desirability* yang maksimal. Nilai *Desirability* adalah nilai fungsi tujuan optimasi yang menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir. Rentang nilai adalah dari 0 hingga 1,0. Nilai *desirability* yang semakin mendekati nilai 1,0 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang diinginkan semakin sempurna. Tujuan optimasi bukan untuk mendapatkan nilai *desirability* 1,0, tetapi untuk mencari kondisi terbaik yang mempertemukan semua fungsi tujuan (Ariyanti, dkk., 2014)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Optimal

Antosianin adalah senyawa polifenol yang memberi warna merah-biru pada tanaman. Warna terbentuk karena adanya penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu. Penyerapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu dari senyawa organik terjadi karena adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Struktur

senyawa organik yang dapat menghasilkan warna harus memiliki gugus tak jenuh yang dapat mengalami transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$ atau disebut kromofor. Jenis antosianin yang terkandung dalam kulit kakao adalah Pelargonidin (Pg) dengan warna kuning kecoklatan. Struktur kimia Pelargonidin (Pg) ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Pelargonidin (Pg).

Optimasi Kondisi Proses dengan RSM

Tabel 2. Hasil ekstraksi antosianin dengan metode maserasi.

Formula	Ukuran Partikel (mm)	Rasio (g/mL)	Waktu (jam)	Konsentrasi Antosianin (M)
1	0,149	0,0375	48	0,244
2	0,149	0,0375	48	0,233
3	0,149	0,0375	48	0,235
4	0,250	0,0625	24	0,259
5	0,250	0,0125	24	0,114
6	0,149	0,0795	48	0,268
7	0,149	0,0375	79	0,281
8	0,149	0,0125	72	0,123
9	0,105	0,0625	24	0,349
10	0,149	0,0375	48	0,296
11	0,105	0,0625	72	0,479
12	0,149	0,0045	48	0,08
13	0,149	0,0375	48	0,239
14	0,088	0,0375	48	0,290
15	0,250	0,0125	72	0,125
16	0,105	0,0125	24	0,164
17	0,595	0,0375	48	0,174
18	0,149	0,0375	7.5	0,269
19	0,250	0,0625	72	0,245
20	0,149	0,0375	48	0,244

Hasil analisis konsentrasi ekstraksi biji kakao terhadap respon dapat dilihat pada Tabel 2. Pengaruh kondisi ekstraksi terhadap respon konsentrasi antosianin dapat dilihat dari tabel 2

bahwa nilai respon konsentrasi antosianin adalah 0,08- 0,479 M.

Model persamaan matematika untuk memprediksi konsentrasi antosianin signifikan dengan nilai p lebih kecil dari 0,05. Hasil ANOVA juga menunjukkan bahwa masing-masing komponen yaitu ukuran partikel, rasio kulit kakao:pelarut, dan waktu maserasi berpengaruh nyata (signifikan) terhadap respon konsentrasi antosianin. Lack of Fit F-Value respon rendemen dengan nilai p lebih besar dari 0,05 menunjukkan *Lack of fit* yang tidak signifikan. Nilai *Lack of fit* yang tidak signifikan merupakan syarat untuk model yang baik karena menunjukkan adanya kesesuaian data respon konsentrasi antosianin dengan model (Bas dan Boyachi, 2017)

Table 3. Analisa model untuk respon konsentrasi antosianin.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model*	0,1456	9	0,0162	14,78	0,0001
A- Ukuran Partikel	0,0222	1	0,0222	20,31	0,0011
B-Rasio	0,0744	1	0,0744	68,02	<0.0001
C-Waktu	0,0003	1	0,0003	0,2301	0,6417
AB	0,0035	1	0,0035	3,24	0,1021
AC	0,0024	1	0,0024	2,22	0,1672
BC	0,001	1	0,001	0,9476	0,3533
A ²	0,0031	1	0,0031	2,86	0,1214
B ²	0,0127	1	0,0127	11,56	0,0068
C ²	0,0054	1	0,0054	4,94	0,0504
Residual	0,0109	110	0,0011		
Lack of Fit**	0,0081	55	0,0016	2,9	0,134
Pure Error	0,0028	55	0,0006		
Cor Total	0,1566	119			

* Significant
** Not significant

Analisis respon konsentrasi antosianin

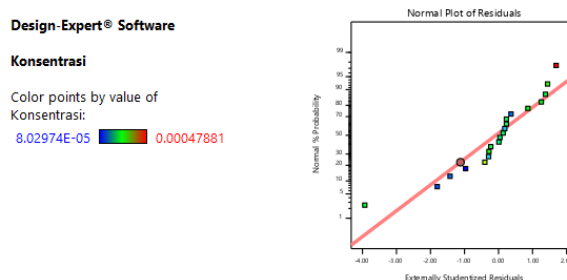
Persamaan RSM untuk optimasi kondisi proses ekstraksi antosianin dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol terhadap respon konsentrasi antosianin adalah sebagai berikut:

$$Y = 0,2129 - 0,0483A + 0,0816B + 0,0069C - 0,0219AB - 0,0271AC + 0,0174BC + 0,0298A^2 - 0,0349B^2 + 0,0504C^2$$

(A adalah ukuran partikel; B adalah rasio kulit kakao:pelarut; dan C adalah waktu).

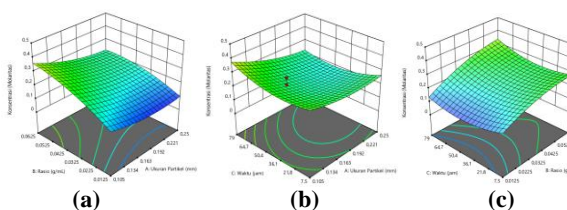
Nilai respon optimal konsentrasi antosianin adalah 0,479M (Tabel 2) dengan kondisi ukuran partikel pada proses ekstraksi 0,105 mm, perbandingan kulit kakao/etanol adalah 0,0625 g/mL, dan waktu ekstraksi adalah 72 jam.

Persamaan tersebut menunjukkan bahwa respon konsentrasi antosianin akan meningkat berbanding lurus dengan peningkatan ukuran partikel dan rasio kulit kakao:pelarut serta rasio kulit kakao:pelarut dan waktu maserasi. Grafik normal *plot of residual* yang mengindikasikan hubungan antara nilai aktual dan nilai yang diprediksikan pada Gambar 2, mendekati garis kenormalan yang menunjukkan data untuk respon rendemen menyebar normal. Hal ini berarti bahwa hasil aktual akan mendekati hasil yang diprediksikan oleh Program DX vs11.



Gambar 2. Plot kenormalan residual respon konsentrasi antosianin.

Bentuk permukaan interaksi antar berbagai komponen dapat dilihat lebih jelas pada grafik tiga dimensi yang ditunjukkan pada Gambar 3.

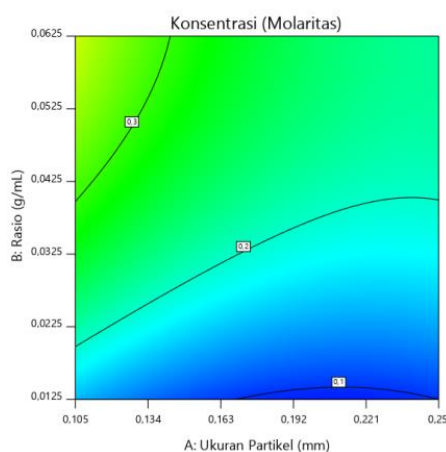


Gambar 3. (a).Grafik model 3D surface terhadap konsentrasi antosianin antara ukuran.

Partikel (mm) dengan rasio bahan/pelarut (g/mL) pada waktu (jam) konstan; (b) Grafik model 3D *surface* terhadap konsentrasi antosianin antara ukuran partikel (mm) dengan waktu (jam) pada rasio bahan/pelarut (g/mL) konstan; (c) Grafik model 3D *surface* terhadap konsentrasi antosianin rasio bahan/pelarut

(g/mL) dengan waktu (jam) pada ukuran partikel (mm) pada konstan.

Gambar 4 menjelaskan hasil optimasi secara kontur (2D). Plot kontur adalah gambaran dua dimensi dari respons yang disajikan menggunakan model prediksi untuk nilai konsentrasi. Garis-garis yang terdiri dari titik-titik pada grafik kontur plot menunjukkan kombinasi tiga komponen dengan jumlah berbeda yang menghasilkan nilai konsentrasi yang sama. Titik prediksi pada gambar menunjukkan kombinasi level ukuran 0,105 mm, rasio 0,0625 g/mL dan waktu 72 jam yang menghasilkan nilai konsentrasi 0,479 M. Grafik tiga dimensi (3-D) menunjukkan proyeksi dari grafik plot kontur. Area rendah pada grafik tiga dimensi menunjukkan nilai konsentrasi rendah, sedangkan area tinggi menunjukkan nilai konsentrasi tinggi.



Gambar 4. Grafik plot kontur untuk nilai keinginan formula yang optimal

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh rasio bahan:pelarut dapat meningkatkan hasil ekstraksi. Hal ini diduga karena semakin banyak jumlah kulit kakao dalam media ekstraksi semakin tinggi sumber zat aktif yang dapat diekstraksi, sehingga rendemen antosianin yang diperoleh juga semakin besar dengan meningkatkan rasio b/v kulit kakao/pelarut. Namun ketika jumlah kulit kakao meningkat secara signifikan maka akan terbentuk kondisi kejenuhan sehingga terjadi proses ekstraksi terbalik yang menyebabkan konsentrasi antosianin dalam produk menurun (Liu, X.L, dkk., 2013 dan Budiyanto, 2008

Waktu ekstraksi juga menunjukkan pengaruh terhadap konsentrasi antosianin dimana semakin lama waktu ekstraksi maka konsentrasi produk semakin tinggi. Hal ini disebabkan lamanya proses kontak antara antosianin dengan

pelarut menyebabkan jumlah zat aktif yang diekstrak meningkat (Budiyanto, 2008 ; Agustin, 2015)

Faktor lain yang dianalisis dalam proses ekstraksi antosianin adalah ukuran partikel kulit kakao. Semakin kecil ukuran partikel kakao menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi antosianin. Penurunan ukuran partikel akan menyebabkan luas permukaan kulit kakao menjadi lebih tinggi sehingga permukaan kontak antara antosianin yang terkandung dalam kulit kakao dengan pelarut meningkat. Hal ini menyebabkan peningkatan laju ekstraksi sehingga jumlah antosianin yang dihasilkan menjadi lebih besar. Peningkatan laju reaksi menyebabkan reaksi samping yang menghasilkan produk pengotor (Maulida, dkk., 2015 ; Wang, S, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan Design *Box-Behnken* RSM *Design* diketahui bahwa ukuran partikel, rasio bahan/pelarut, dan waktu ekstraksi memberikan pengaruh signifikan dalam proses ekstraksi antosianin. Nilai respon optimal konsentrasi antosianin adalah 0,479M pada ukuran partikel proses ekstraksi 0,105 mm, perbandingan kulit kakao/etanol adalah 0,0625 g/mL, dan waktu ekstraksi adalah 72 jam. Hubungan antar variabel terhadap respon konsentrasi antosianin dimodelkan $Y = 0,2129 - 0,0483A + 0,0816B + 0,0069C - 0,0219AB - 0,0271AC + 0,0174BC + 0,0298A^2 - 0,0349B^2 + 0,0504C^2$.

DAFTAR RUJUKAN

- Agustin, Dina, and Ismiyati Ismiyati. 2015. 'PENGARUH Konsentrasi Pelarut Pada Proses Ekstraksi Antosianin Dari Bunga Kembang Sepatu', *Jurnal Konversi*.
- Albertini, Schoubben, Guarnaccia, Pinelli, Vecchia, Ricci, Renzo, and Blasi. 2015. Effect of Fermentation and Drying on Cocoa Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63 (45) : 9948-9953.
- Alfrida Lullung Sempebarra. 2018. Karakteristik Zat Warna Antosianin Dari Biji Kakao Non Fermentasi Sebagai Sumber Zat
- Ariyanti D, Catarina SB and Cahyo A.2014 . Modifikasi Tepung Umbi Talas Bogor (*Colocasia penting L Schott*) dengan

- Teknik Oksidasi sebagai Bahan Pangan Pengganti Tepung Terigu Jurnal Reaktor Bas D dan Boyaci IH. 2007. Pemodelan dan optimasi I: kegunaan permukaan respon metodologi J. Food Eng **78** 836–845
- Budiyanto, Agus and Yulianingsih. 2008. Effect of Temperature and Extraction Time on Pectin Character from Siam Citrus (*Citrus nobilis* L). *Journal of Postharvest Agricultural Research*, 5 (2), 37-44
- Corcuera, L. A., S. Amézqueta, L. Arbillaga, A. Vettorazzi, S. Touriño, J. L. Torres, and A. López de Cerain. 2018. A Polyphenol-Enriched Cocoa Extract Reduces Free Radicals Produced by Mycotoxins. *Food and Chemical Toxicology* 50 (3–4). Elsevier Ltd: 989–995. doi:10.1016/j.fct.2011.11.052.
- Dirjen Bina Produksi Perkebunan, 2021
- Ganda Putra, G.P., Pratyasaka, I.P.L., Suhendrea, L. 2020. “Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut dan Ukuran Partikel”. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Vol. 8, No. 1, 28-38
- Ginting, E. 201. Carotenoid extraction of orange-fleshed sweet potato and its application as natural food colorant, *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 24.
- Hu Y, Cui X, Zhang Z, et al. 2014. Optimisation of Ethanol-Reflux Extraction of Saponins from Steamed
- Jessica A, Djaswir D, Mai E. 2016. “Ekstaksi dan Identifikasi Senyawa Antosianin dari Jantung Pisang Raja (*Musa X paradisiaca* L.) Serta Uji Aktivitas Antioksidannya”. Vol.9, No.2
- Jia, C., Han, F., Miao, X., Zhang, Q., Yan, A., Wu, P. 2019. Study on optimization of extraction process of anthocyanin from cherry wine lees, *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*,: 9
- Keshani, S., Chuah, A.L., Nourouzi, M.M., Russly, A.R., and Jamilah, B. 2010. Optimization of concentration process on pomelo fruit juice using response surface methodology (RSM)
- Lee, L. S., Lee, N., Kim, Y. H., Lee, C. H., Hong, S. P., Jeon, Y. W., & Kim, Y. E. 2013. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic antioxidants from green tea using response surface methodology. *Molecules*, 18(11), 13530-13545.
- Liu, J., Wang, J., Leung, C., & Gao, F. 2018. A multi-parameter optimization model for the evaluation of shale gas recovery enhancement. *Energies*, 11(3), 654.
- Liu, W., Yang, C., Zhou, C., Dong, X., 2018. Microwave assisted extraction of anthocyanins from purple sweet potato with phosphoric acid as solvent by response surface methodology. *Chem. Bioeng.* 35 (4), 35–40
- Liu, X.L., Mu h, T., Sun, H.N., Zhang, M., Chen, J.W., 2013. Optimisation of aqueous two-phase extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes by response surface methodology. *Food Chem.* 141 (3), 3034–3041.
- Lubis, S.S., Sulastri, E., dan Zubair, M.S. 2018. Mikroenkapsulasi Antosianin Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Metode Koaservasi Kompleks. *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(2): 106-112
- Maulida, Ria, and Any Guntarti. 2015. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Kandungan Total Antosianin’, *Pharmaciana*.
- Mukhrinin. 2014. “Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif”. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar. Vol. VII, No. 2
- Mustanir, Nurdin, Ginting, B., Purnama, A. 2020. Chemical composition and cytotoxic activities of n-Hexane extract from cacao pod husk (*Theobroma cacao* L.)”. *Chemical Data Collections*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100553>.
- Panax . 2018. Notoginseng by Response Surface Methodology and Evaluation of Hematopoiesis Effect. *Molecules*. ;23(5):1206
- Pratiwi, Endah. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees). *Journal of Agroindustrial Technology*. IPB Resipitory.
- Radojkovic, M., Zekovic, Z., Jokic, S., and Vidovic, S. 2012. Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using Response Surface Methodology (RSM). *Romanian Biotechnological Letters*. 17(3): 7295–7308
- Septiyaningsih L, dkk. 2012. Ekstraksi Minyak Nabati Dari *Scenedesmus* Sp.

- Menggunakan Gelombang Mikro Seminar fisika UNJ (Jakarta: UNJ)
- Trifani. 2012. Ekstraksi pelarut cair cair.<http://awjee.blog.com/2012/11/24/ekst-raks-pelarut-cair-cair/>.
- Triyastuti, M. S., Djaeni, M. 2019. Perbaikan Proses Produksi Antosianin Dari Kelopak Bunga Rosella Dengan Ekstraksi Berbantuan Ultrasound. 40(2): 115–21.
- Wang, S, Chen, F, Wu, J, Wang, Z, Liao, X and Hu, X.2017. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78, 693-700
- World Cocoa Foundation, 2019
- Yang, Z.D., Zhai, W.W., 2010. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 11 (3), 470–476.