

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
DAFTAR PUBLIKASI.....	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xix
INTISARI	xxiv
ABSTRACT.....	xxv
1. BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah.....	7
1.3. Tujuan penelitian	7
1.3.1. Tujuan umum.....	7
1.3.2. Tujuan khusus.....	8
1.4. Kebaruan penelitian.....	9
1.5. Manfaat penelitian	10
2. BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. Kakao.....	11
2.1.2. Polifenol biji kakao.....	12
2.1.3. Keamanan polifenol kakao	15
2.1.4. Stabilitas polifenol biji kakao	15
2.1.5. Ekstraksi polifenol kakao	17
2.2. Antioksidan.....	19
2.2.2. Mekanisme antioksidasi flavonoid	21
a. Aktivitas penangkapan <i>reactive oxygen species</i> (ROS)	23
b. Aktivitas pengkelat logam	24
2.2.3. Sifat fungsional kakao sebagai antioksidan alami.....	25
2.3. <i>Blanching</i>	27
2.3.2. Teknologi <i>blanching</i> air panas	28
2.3.3. Penentuan efektivitas proses <i>blanching</i>	29
a. Aktivitas polifenol oksidase	29

b. Warna sebagai indikator perubahan kualitas produk selama <i>blanching</i>	29
2.3.4. Pengaruh <i>blanching</i> terhadap aktivitas antioksidan	30
a. Menurunkan aktivitas antioksidan	30
b. Meningkatkan aktivitas antioksidan	31
2.4. Gelatin nanopartikel	31
2.4.1. Gelatin	32
2.4.2. Kimia gelatin	33
2.4.3. Poloksamer	34
2.4.4. Preparasi gelatin nanopartikel	36
a. Evaporasi pelarut	36
b. Koaservasi sederhana	36
c. Mikroemulsi	37
d. Desolvasi dua langkah	37
2.4.5. Nanopresipitasi	38
a. Pengembangan nanopartikel melalui nanopresipitasi sederhana	39
2.4.6. Karakteristik gelatin nanopartikel	40
a. Ukuran partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta	40
b. Pengaruh konsentrasi agen <i>crosslinking</i>	42
c. Pengaruh suhu	44
d. Pengaruh agen desolvasi	45
e. Pengaruh pH larutan	46
f. <i>Loading capacity</i> dan <i>entrapment efficiency</i>	46
2.5. Enkapsulasi senyawa bioaktif dan pentingnya dalam ilmu pangan	47
2.5.2. Pengeringan semprot (<i>spray drying</i>)	49
2.5.3. Maltodekstrin	52
2.5.4. Gum arab	53
2.6. Landasan teori	54
2.7. Hipotesis	58
2.8. Matrik hubungan antara rumusan masalah, tujuan, hipotesis dan pendekatan metode	59
3.1. BAB III. METODE PENELITIAN	61
3.1. Bahan dan alat penelitian	61
a. Bahan penelitian	61
b. Alat penelitian	62
3.2. Pelaksanaan penelitian	63
a. Tempat penelitian	63
b. Waktu penelitian	63
c. Tahapan penelitian	63
3.2.1. Penelitian tahap 1. Ekstraksi biji kakao kaya-polifenol	65
a. Tujuan umum	65
b. Tujuan khusus	65
c. Metode penelitian	65
d. Rancangan percobaan	68

e. Parameter analisis	69
3.2.2. Penelitian tahap 2. Fraksinasi bertingkat ekstrak biji kakao menggunakan berbagai jenis pelarut.....	70
a. Tujuan umum.....	70
b. Tujuan khusus.....	70
c. Metode penelitian	70
d. Rancangan percobaan	73
e. Parameter analisis	73
3.2.3. Penelitian tahap 3. Dispersi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan metode nanopresipitasi.....	74
a. Tujuan umum.....	74
b. Tujuan khusus.....	74
c. Metode penelitian	75
d. Rancangan percobaan	77
e. Parameter analisis	78
3.2.4. Penelitian tahap 4. Enkapsulasi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan <i>spray drying</i>	79
a. Tujuan umum.....	79
b. Tujuan khusus.....	79
c. Metode penelitian	79
d. Rancangan percobaan	81
e. Parameter analisis	82
3.3. Analisis data	82
4. BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	83
4.1. Tahap 1. Ekstraksi biji kakao kaya-polifenol	83
4.1.1. Aktivitas polifenol oksidase biji kakao pada berbagai lama waktu <i>blanching</i>	83
4.1.2. Pengukuran warna biji kakao segar pada berbagai lama waktu <i>blanching</i>	85
a. Pengukuran warna L*, a* dan b*	85
b. Total perbedaan warna (ΔE).....	86
4.1.3. Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao.....	89
a. Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao segar pada berbagai lama waktu <i>blanching</i> tanpa- dan dengan <i>defatting</i>	89
b. Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i>	91
c. Korelasi <i>Pearson</i> aktivitas relatif enzim dan warna dengan total polifenol dan total flavonoid biji kakao	93
4.1.4. Aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i>	94
a. Aktivitas penangkapan radikal DPPH	94
b. Aktivitas pereduksi ion ferri (Fe^{3+})	96
c. Aktivitas pengkelat ion ferro (Fe^{2+})	97
d. Korelasi <i>Pearson</i> total polifenol, total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao.....	100

4.1.5. Kandungan dan aktivitas antioksidan kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin tanpa- dan dengan <i>blanching</i>	101
a. Kromatogram kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin standar	101
b. Pengaruh <i>blanching</i> terhadap Kandungan kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao	102
c. Pengaruh <i>blanching</i> terhadap aktivitas antioksidan kuersetin-3-rutinosida standar	104
4.1.6. Kesimpulan tahap 1	106
4.2. Tahap 2. Fraksinasi bertingkat ekstrak biji kakao menggunakan berbagai jenis pelarut	107
4.2.1. <i>Yield</i> ekstrak biji kakao dan fraksinya	107
4.2.2. Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao dan fraksinya	108
4.2.3. Aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao dan fraksinya	109
a. Aktivitas penangkapan radikal DPPH	109
b. Aktivitas pereduksi ion ferri (Fe^{2+})	111
c. Korelasi total polifenol, total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao dan fraksinya	112
4.2.4. Identifikasi gugus fungsional ekstrak biji kakao dan fraksinya	112
4.2.5. Identifikasi komponen flavonoid biji kakao menggunakan <i>UHPLC-MS/MS</i>	114
4.2.6. Kesimpulan tahap 2	122
4.3. Tahap 3. Dispersi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan metode nanopresipitasi	123
4.3.1. <i>Yield</i> gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	123
4.3.2. Ukuran diameter partikel dan indeks polidispersitas gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	124
4.3.3. Potensial zeta dan pH gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	127
4.3.4. <i>Entrapment efficiency</i> dan <i>loading capacity</i> gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	130
a. Pengaruh konsentrasi gelatin dan poloksamer	130
b. Pengaruh penambahan glutaraldehid sebagai agen <i>crosslinking</i>	133
c. Pengaruh konsentrasi bahan inti	134
4.3.5. Morfologi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	136
a. <i>Scanning electron microscope (SEM)</i>	136
b. <i>Transmission electron microscope (TEM)</i>	139
4.3.6. Identifikasi gugus fungsional gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	140
4.3.7. Difraksi sinar X gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	142
4.3.8. Profil termal gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao	143
4.3.9. Kesimpulan tahap 3	144
4.4. Tahap 4. Enkapsulasi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan kombinasi metode nanopresipitasi dan <i>spray drying</i>	145
4.4.1. Kadar air dan kelarutan nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet spray drying</i>	145
a. Kadar air	145

b. Kelarutan	147
4.4.2. Total flavonoid nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet spray drying</i>	148
4.4.3. Aktivitas antioksidan nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet spray drying</i>	150
a. Aktivitas penangkapan radikal DPPH	150
b. Aktivitas pereduksi ion ferri	151
4.4.4. Kadar air dan kelarutan dalam air nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan	152
a. Kadar air	152
b. Kelarutan	153
4.4.5. Total flavonoid dan efisiensi enkapsulasi nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan	155
a. Total flavonoid	155
b. Efisiensi enkapsulasi	156
4.4.6. Aktivitas antioksidan nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan	158
a. Aktivitas penangkapan radikal DPPH	158
b. Aktivitas pereduksi ion ferri	159
4.4.7. Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta dispersi nanokapsul flavonoid biji kakao	161
a. Ukuran diameter partikel	161
b. Indeks polidispersitas	162
c. Potensial zeta	162
4.4.8. Morfologi nanokapsul flavonoid biji kakao	163
4.4.9. Difraksi sinar X nanokapsul flavonoid biji kakao	166
4.4.10. Profil termal nanokapsul flavonoid biji kakao	167
4.4.11. Kesimpulan tahap 4	168
4.4.12. Pembahasan umum	169
5. BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	180
5.1. Kesimpulan	180
5.2. Saran	181
DAFTAR PUSTAKA	182
LAMPIRAN	203
RINGKASAN	296
1. Pendahuluan	296
2. Bahan dan metode	299
2.1. Bahan penelitian	299
2.2. Tahap penelitian	300
2.2.1. Tahap 1. Ekstraksi biji kakao kaya-polifenol	300
2.2.2. Tahap 2. Fraksinasi bertingkat ekstrak biji kakao menggunakan berbagai jenis pelarut	302

2.2.3. Tahap 3. Dispersi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan metode nanopresipitasi.....	303
2.2.4. Tahap 4. Enkapsulasi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan kombinasi metode nanopresipitasi dan <i>spray drying</i> ..	304
3. Hasil dan pembahasan	305
3.1. Tahap 1. Ekstraksi biji kakao kaya-polifenol	305
3.2. Tahap 2. Fraksinasi bertingkat ekstrak biji kakao menggunakan berbagai jenis pelarut	308
3.3. Tahap 3. Dispersi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan metode nanopresipitasi.....	310
3.4. Tahap 4. Enkapsulasi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao menggunakan kombinasi metode nanopresipitasi dan <i>spray drying</i> ..	313
4. Kesimpulan.....	315
Daftar Pustaka	316
SUMMARY	320
1. Introduction	320
2. Materials and methods.....	323
2.1. Materials	323
2.2. Research stages.....	324
2.2.1. Stage 1. Extraction of polyphenol-rich cocoa beans	324
2.2.2. Stage 2. Multilevel fractionation of cocoa bean extract using various types of solvents	325
2.2.3. Stage 3. Dispersion of cocoa flavonoid nanoparticles using cocoa precipitation method.....	326
2.2.4. Stage 4. Gelatin encapsulation of cocoa flavonoid nanoparticles using spray drying	327
3. Results and discussion.....	328
3.1. Stage 1. Extraction of polyphenol-rich cocoa beans	328
3.2. Stage 2. Multilevel fractionation of cocoa bean extract using various types of solvents	331
3.3. Stage 3. Dispersion of cocoa flavonoid nanoparticles using cocoa precipitation method.....	333
3.4. Stage 4. Gelatin encapsulation of cocoa flavonoid nanoparticles using spray drying	336
4. Conclusion.....	338
References.....	339

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Kebaruan penelitian dibandingkan penelitian sebelumnya....	9
Tabel 2.1.	Fungsionalitas mikro- dan nano-enkapsulasi (Shishir et al., 2018).....	48
Tabel 2.2.	Matrik hubungan antara rumusan masalah, tujuan, hipotesis dan pendekatan metode.....	59
Tabel 3.1.	Parameter analisis tahap 1.....	69
Tabel 3.2.	Parameter analisis tahap 2.....	73
Tabel 3.3.	Parameter analisis tahap 3.....	78
Tabel 3.4.	Parameter analisis tahap 4.....	82
Tabel 4.1.	Pengukuran warna biji kakao segar pada berbagai lama waktu <i>blanching</i>	86
Tabel 4.2.	Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao segar pada berbagai lama waktu <i>blanching</i> tanpa- dan dengan <i>defatting</i>	89
Tabel 4.3.	Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i> 5 menit.....	92
Tabel 4.4.	Korelasi <i>Pearson</i> antara parameter warna L*, a*, b* dengan total polifenol dan total flavonoid biji kakao.....	93
Tabel 4.5.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i> 5 menit.....	96
Tabel 4.6.	Aktivitas pereduksi ion ferri ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i> 5 menit.....	97
Tabel 4.7.	Aktivitas pengkelat ion ferro ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i> 5 menit.....	100
Tabel 4.8.	Korelasi <i>Pearson</i> antara total polifenol dan total flavonoid terhadap aktivitas penangkapan radikal DPPH, pereduksi ion ferri dan pengkelat ion ferro ekstrak biji kakao.....	101
Tabel 4.9.	Pengaruh <i>blanching</i> terhadap kandungan kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao <i>defatting</i>	104
Tabel 4.10.	Pengaruh <i>blanching</i> terhadap aktivitas penangkapan radikal DPPH dan reduksi ion ferri standar kuersetin-3-rutinosida....	106
Tabel 4.11.	<i>Yield</i> ekstrak biji kakao dan fraksinya.....	107
Tabel 4.12.	Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao dan fraksinya.....	108
Tabel 4.13.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH dan pereduksi ion ferri ekstrak biji kakao dan fraksinya.....	110
Tabel 4.14.	Korelasi <i>Pearson</i> antara total polifenol dan total flavonoid terhadap aktivitas penangkapan radikal DPPH dan pereduksi ion ferri ekstrak biji kakao dan fraksinya.....	112

Tabel 4.15.	Optimasi parameter massa analit menggunakan metode <i>selected reaction monitoring</i> (SRM).....	115
Tabel 4.16.	Kuantifikasi flavonoid ekstrak biji kakao dan fraksinya menggunakan UHPLC-MS/MS.....	122
Tabel 4.17.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta dispersi nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai jenis enkapsulan.....	161

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur dasar flavonoid (Procházková et al., 2011).....	12
Gambar 2.2.	Struktur kimia polifenol kakao (Rimbach et al., 2009), (Aprotosoaie, Miron, et al., 2016).....	14
Gambar 2.3.	Penangkapan <i>reactive oxygen species</i> (R) oleh flavonoid. Fl-O radikal bebas dapat bereaksi dengan radikal kedua, diperoleh struktur kuinon yang stabil (Pietta, 2000), (Procházková et al., 2011).....	22
Gambar 2.4.	Struktur flavonoid dengan aktivitas antioksidan tinggi (Amic et al., 2007). Garis putus-putus menunjukkan sisi aktif yang berperan pada aktivitas antioksidan flavonoid....	24
Gambar 2.5.	Sisi pengikatan untuk menandai logam (Amic et al., 2007), (Pietta, 2000).....	25
Gambar 2.6.	Struktur kimia gelatin (Sahoo et al., 2015).....	34
Gambar 2.7.	Struktur kimia poloksamer (Owens and Peppas, 2006).....	35
Gambar 2.8.	Ilustrasi skematik teknik nanopresipitasi untuk pembentukan gelatin nanopartikel (Khan and Schneider, 2013).....	39
Gambar 2.9.	Nukleasi, pertumbuhan dan agregasi selama pembentukan nanopartikel (Bareras-Urbina et al., 2016).....	40
Gambar 2.10.	Representasi skematis gelatin nanopartikel yang berikatan silang (<i>crosslinked</i>) dengan glutaraldehid <i>intraparticular crosslinks</i> (a); <i>interparticular crosslinks</i> (b).....	44
Gambar 2.11.	Skema diagram <i>spray drying</i> (Ozkan et al., 2019).....	52
Gambar 3.1.	Skema penelitian secara keseluruhan.....	64
Gambar 3.2.	Diagram proses ekstraksi biji kakao kaya-polifenol.....	67
Gambar 3.3.	Diagram proses fraksinasi ekstrak biji kakao.....	72
Gambar 3.4.	Diagram proses pembuatan gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao.....	76
Gambar 3.15.	Diagram proses enkapsulasi gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao.....	80
Gambar 4.1.	Aktivitas relatif polifenol oksidase biji kakao segar pada berbagai lama waktu <i>blanching</i> . *) Garis putus-putus menunjukkan biji kakao tanpa <i>blanching</i> . Huruf kecil berbeda pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji Tukey.....	83
Gambar 4.2.	Warna biji kakao segar tanpa- (a) dan dengan <i>blanching</i> air panas pada suhu 95 °C selama (menit) 1 (b), 3 (c), 5 (d) dan 7 (e).....	87

Gambar 4.3.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i> 5 menit pada berbagai konsentrasi. NF= non-fermentasi; F= fermentasi; PB=pengeringan beku; PP= pengeringan udara panas; B5= <i>blanching</i> 5 menit; BHT= butylated hydroxytoluene.....	95
Gambar 4.4.	Aktivitas pengkelat ion ferro ekstrak biji kakao <i>defatting</i> tanpa- dan dengan <i>blanching</i> 5 menit pada berbagai konsentrasi. F= fermentasi; NF= non-fermentasi; PB= pengeringan beku; PP= pengeringan udara panas; B5= <i>blanching</i> 5 menit; EDTA= <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>	98
Gambar 4.5.	Kromatogram kuersetin-3-glikosida dan kuersetin standar pada konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) 1 (a); 20 (b); 40 (c); 60 (d); 80 (e).....	102
Gambar 4.6.	Kromatogram kuersetin-3-glikosida dan kuersetin ekstrak biji kakao. NF= non-fermentasi; F= biji kakao fermentasi; PB=pengeringan beku; PP=pengeringan udara panas; B5= <i>blanching</i> 5 menit.....	103
Gambar 4.7.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH kuersetin-3-rutinosida tanpa <i>blanching</i> dan dengan <i>blanching</i> 5 menit pada berbagai konsentrasi.....	105
Gambar 4.8.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH ekstrak biji kakao non-fermentasi dan fraksinya pada berbagai konsentrasi	109
Gambar 4.9.	Spektra FTIR ekstrak biji kakao dan fraksinya NF: PB (a); NF: B5, PB (b); fraksi etil asetat (c); fraksi n-butanol (d); fraksi air (e). F= fermentasi, NF= biji non-fermentasi, B5= <i>blanching</i> 5 menit, PB= pengeringan beku.....	114
Gambar 4.10.	Kromatogram LC-MS/MS fraksi etil asetat biji kakao segar a) ESI + dan b) ESI -.....	120
Gambar 4.11.	<i>Yield</i> gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	123
Gambar 4.12.	Ukuran diameter partikel (nm) gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	125
Gambar 4.13.	Indeks polidispersitas gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	126
Gambar 4.14.	Distribusi ukuran gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer 2:3.....	127
Gambar 4.15.	Potensial zeta (mV) gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	128

Gambar 4.16.	pH formula gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	129
Gambar 4.17.	<i>Entrapment efficiency</i> (%) gelatin nanopartikel pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	131
Gambar 4.18.	<i>Loading capacity</i> (%) gelatin nanopartikel pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	132
Gambar 4.19.	<i>Entrapment efficiency</i> gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao tanpa- dan dengan penambahan glutaraldehid. Huruf berbeda pada diagram batang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji Tukey.....	133
Gambar 4.20.	<i>Entrapment efficiency</i> dan <i>loading capacity</i> gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada berbagai perbandingan konsentrasi bahan inti. Huruf berbeda pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji Tukey.....	135
Gambar 4.21.	Nanograf SEM gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada perbandingan konsentrasi gelatin:poloksamer masing-masing 2:3 (tanpa glutaraldehid) (a), 1:3 (b), 2:3 (c) dan 3:3 (d), 1:5 (e) dan 2:5 (f), bahan inti 2,0 mg/mL dan glutaraldehid 2% (b/v) dengan perbesaran 20.000x.....	138
Gambar 4.22.	Nanograf TEM gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao pada perbandingan konsentrasi gelatin: poloksamer 2:3, bahan inti 2,0 mg/mL dan agen <i>crosslinking</i> 2% (b/v) dengan skala 200 nm (a); 100 nm (b); 50 nm (c) dan 20 nm (d).....	140
Gambar 4.23.	Spektra FTIR gelatin (a); fraksi etil asetat (b); poloksamer (c); gelatin nanopartikel (tanpa <i>crosslinking</i>) (d); gelatin nanopartikel (dengan <i>crosslinking</i>) (e).....	141
Gambar 4.24.	Spektra XRD gelatin (a); fraksi etil asetat ekstrak biji kakao (b); poloksamer (c); gelatin nanopartikel (tanpa <i>crosslinking</i>) (d); gelatin nanopartikel (dengan <i>crosslinking</i>) (e).....	143
Gambar 4.25.	Profil DSC gelatin nanopartikel (tanpa <i>crosslinking</i>) (a); gelatin nanopartikel (dengan <i>crosslinking</i>) (b).....	144
Gambar 4.26.	Kadar air (a) dan kelarutan dalam air (b) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet spray drying</i> . Huruf kecil berbeda pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji Tukey.....	146
Gambar 4.27.	Total flavonoid nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet spray drying</i> . Huruf kecil berbeda pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji Tukey.....	149

Gambar 4.28.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH pada konsentrasi 10 mg/mL (a); dan aktivitas pereduksi ion ferri (b) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet spray drying</i> . Huruf kecil berbeda pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji Tukey.....	151
Gambar 4.29.	Kadar air (%) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan dengan suhu <i>inlet spray drying</i> 110 °C.....	153
Gambar 4.30.	Kelarutan dalam air (%) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan dengan suhu <i>inlet spray drying</i> 110 °C.....	154
Gambar 4.31.	Total flavonoid ($\mu\text{g EK/g}$) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan dengan suhu <i>inlet spray drying</i> 110 °C.....	155
Gambar 4.32.	Efisiensi enkapsulasi (%) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan dengan suhu <i>inlet spray drying</i> 110 °C.....	157
Gambar 4.33.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH (%) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan pada konsentrasi 10 mg/mL dengan suhu <i>inlet spray drying</i> 110 °C.....	159
Gambar 4.34.	Aktivitas pereduksi ion ferri ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$) nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan. Suhu <i>inlet spray drying</i> 110 °C.....	160
Gambar 4.35.	Distribusi ukuran nanokapsul flavonoid biji kakao menggunakan maltodekstrin (a); campuran maltodekstrin dan gum arab 1:1 (b); gum arab (c) sebagai enkapsulan.....	163
Gambar 4.36.	SEM gelatin nanopartikel yang dienkapsulasi dengan maltodekstrin (a), (b); campuran maltodekstrin: gum arab 1:1 (c), (d) dan gum arab (e), (f) pada perbesaran 1000x, 8000x dan 10000x.....	165
Gambar 4.37.	Spektra difraksi sinar X gelatin nanopartikel dengan enkapsulan maltodekstrin (a); maltodekstrin: gum arab 1:1 (b) dan gum arab (c).....	167
Gambar 4.38.	Termogram <i>differential scanning calorimetry</i> (DSC) gelatin nanopartikel dengan enkapsulan maltodekstrin (a); maltodekstrin: gum arab 1:1 (b) dan gum arab (c).....	168
Gambar 4.39.	Skema representasi nanoenkapsulasi flavonoid biji kakao menggunakan kombinasi metode nanopresipitasi dan <i>spray drying</i>	179

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Prosedur analisis.....	203
Lampiran 1.1.	Kadar air.....	203
Lampiran 1.2.	Kelarutan dalam air.....	203
Lampiran 1.3.	<i>Yield</i>	204
Lampiran 1.4.	Ekstraksi enzim dan aktivitas polifenol oksidase.....	204
Lampiran 1.5.	Warna.....	205
Lampiran 1.6.	Total polifenol.....	206
Lampiran 1.7.	Total flavonoid.....	206
Lampiran 1.8.	Aktivitas aktivitas penangkapan radikal DPPH.....	207
Lampiran 1.9.	Aktivitas pereduksi ion ferri (Fe^{3+}).....	207
Lampiran 1.10.	Aktivitas aktivitas pengkelat ion ferro.....	208
Lampiran 1.11.	Identifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR.....	209
Lampiran 1.12.	Analisis ekstrak biji kakao menggunakan <i>ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer</i> (UHPLC-MS/MS).....	209
Lampiran 1.13.	Analisis kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin menggunakan <i>ultra fast liquid chromatograph</i> (UFLC)....	210
Lampiran 1.14.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta (ζ).....	211
Lampiran 1.15.	<i>Entrapment efficiency</i> dan <i>loading capacity</i>	211
Lampiran 1.16.	Morfologi nanokapsul menggunakan <i>scanning electron microscope</i> (SEM).....	212
Lampiran 1.17.	Morfologi nanopartikel menggunakan <i>transmission electron microscopy</i> (TEM).....	212
Lampiran 1.18.	Difraksi sinar X/ <i>X-ray diffraction</i> (XRD) nanokapsul.....	212
Lampiran 1.19.	Profil termal nanokapsul menggunakan <i>differential scanning calorimetry</i> (DSC).....	213
Lampiran 2.	Analisis statistik hasil penelitian.....	214
Lampiran 2.1.	Aktivitas polifenol oksidase dan warna pada berbagai lama waktu <i>blanching</i>	214
2.1.1.	Aktivitas relatif polifenol oksidase.....	214
2.1.2.	L^*	214
2.1.3.	a^*	215
2.1.4.	b^*	215
2.1.5.	ΔE	216
Lampiran 2.2.	Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao tanpa- dan dengan <i>defatting</i> pada berbagai lama waktu <i>blanching</i> ..	216
2.2.1.	Total polifenol.....	216
2.2.2.	Total flavonoid.....	218

Lampiran 2.3.	Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao <i>defatting</i> pada berbagai perlakuan.....	219
2.3.1.	Total polifenol.....	219
2.3.2.	Total flavonoid.....	220
Lampiran 2.4.	Aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao <i>defatting</i> pada berbagai perlakuan.....	221
2.4.1.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH, IC ₅₀	221
2.4.2.	Aktivitas pereduksi ion ferri.....	222
Lampiran 2.5.	Kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao <i>defatting</i> pada berbagai perlakuan.....	224
2.5.1.	Kuersetin-3-rutinosida.....	224
2.5.2.	Kuersetin.....	224
Lampiran 2.6.	Aktivitas antioksidan standar kuersetin-3-rutinosida pada berbagai perlakuan.....	225
2.6.1.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH, IC ₅₀	225
2.6.2.	Aktivitas pereduksi ion ferri.....	225
Lampiran 2.7.	Total polifenol dan total flavonoid ekstrak biji kakao <i>defatting</i> dan fraksinya.....	226
2.7.1.	Total polifenol.....	226
2.7.2.	Total flavonoid.....	226
Lampiran 2.8.	Aktivitas antioksidan ekstrak biji kakao <i>defatting</i> dan fraksinya.....	227
2.8.1.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH IC ₅₀	227
2.8.2.	Aktivitas pereduksi ion ferri.....	227
Lampiran 2.9.	Komponen flavonoid ESI- pada ekstrak biji kakao <i>defatting</i> dan fraksinya.....	228
2.9.1.	Katekin.....	228
2.9.2.	Epikatekin.....	229
2.9.3.	Epikatekin-3-galat.....	230
2.9.4.	Dimer B2.....	230
2.9.5.	Trimer.....	231
2.9.6.	Tetramer.....	232
2.9.7.	Pentamer.....	233
2.9.8.	Heksamer.....	233
2.9.9.	Heptamer.....	234
2.9.10.	Oktamer.....	235
2.9.11.	Nonamer.....	236
2.9.12.	Kuersetin glikosida.....	236
Lampiran 2.10.	Komponen flavonoid ESI+ pada ekstrak biji kakao <i>defatting</i> dan fraksinya.....	237
2.10.1.	Teobromin.....	237
2.10.2.	Kafein.....	238
Lampiran 2.11.	<i>Yield</i> gelatin nanopartikel pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	239

Lampiran 2.12.	<i>Entrapment efficiency</i> dan <i>loading capacity</i> gelatin nanopartikel pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer.....	240
2.12.1.	<i>Entrapment efficiency</i>	240
2.12.2.	<i>Loading capacity</i>	241
Lampiran 2.13.	<i>Entrapment efficiency</i> dan <i>loading capacity</i> gelatin nanopartikel (gelatin:poloksamer 2:3) pada berbagai perlakuan.....	242
2.13.1.	<i>Entrapment efficiency</i> tanpa- dan dengan penambahan glutaraldehid.....	242
2.13.2.	<i>Entrapment efficiency</i> pada berbagai konsentrasi.....	242
2.13.3.	<i>Loading capacity</i> pada berbagai konsentrasi.....	243
Lampiran 2.14.	Ukuran diameter partikel; indeks polidispersitas; potensial zeta; pH gelatin dan formula gelatin nanopartikel pada berbagai perbandingan konsentrasi gelatin dan poloksamer	243
2.14.1.	Ukuran diameter partikel.....	243
2.14.2.	Indeks polidispersitas.....	244
2.14.3.	Potensial zeta.....	245
2.14.4.	pH gelatin.....	246
2.14.5.	pH formula.....	246
Lampiran 2.15.	Kadar air dan kelarutan nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai suhu <i>inlet</i>	247
2.15.1.	Kadar air.....	247
2.15.2.	Kelarutan.....	248
Lampiran 2.16.	Total flavonoid dan aktivitas antioksidan nanokapsul pada berbagai suhu <i>inlet</i>	248
2.16.1.	Total flavonoid.....	248
2.16.2.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH.....	249
2.16.3.	Aktivitas pereduksi ion ferri.....	250
Lampiran 2.17.	Kadar air dan kelarutan dalam air nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan.....	250
2.17.1.	Kadar air.....	250
2.17.2.	Kelarutan.....	251
Lampiran 2.18.	Total flavonoid, efisiensi enkapsulasi nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan.....	252
2.18.1.	Total flavonoid.....	252
2.18.2.	Efisiensi enkapsulasi.....	253
Lampiran 2.19.	Aktivitas antioksidan nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai konsentrasi dan jenis enkapsulan.....	254
2.19.1.	Aktivitas penangkapan radikal DPPH.....	254
2.19.2.	Aktivitas pereduksi ion ferri.....	254
Lampiran 2.20.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta nanokapsul flavonoid biji kakao pada berbagai jenis enkapsulan.....	255

2.20.1.	Ukuran diameter partikel.....	255
2.20.2.	Indeks polidispersitas.....	256
2.20.3.	Potensial zeta.....	256
Lampiran 3.	Identifikasi gugus fungsi menggunakan <i>fourier-transform infrared spectroscopy</i> (FTIR).....	258
Lampiran 3.1.	Spektra FTIR ekstrak biji kakao non-fermentasi tanpa <i>blanching</i>	258
Lampiran 3.2.	Spektra FTIR ekstrak biji kakao non-fermentasi <i>blanching</i> 5 menit.....	259
Lampiran 3.3.	Spektra FTIR fraksi etil asetat.....	260
Lampiran 3.4.	Spektra FTIR fraksi n-butanol.....	261
Lampiran 3.5.	Spektra FTIR fraksi air.....	262
Lampiran 3.6.	Spektra FTIR gelatin tipe B, bloom ~225.....	263
Lampiran 3.7.	Spektra FTIR poloksamer 407.....	264
Lampiran 3.8.	Spektra FTIR gelatin nanopartikel 2:3 (dengan <i>crosslinking</i>).....	265
Lampiran 3.9.	Spektra FTIR gelatin nanopartikel 2:3 (tanpa <i>crosslinking</i>).....	266
Lampiran 4.	Analisis <i>differential scanning calorimetry</i> (DSC).....	267
Lampiran 4.1.	DSC gelatin nanopartikel tanpa penambahan glutaraldehid.....	267
Lampiran 4.2.	DSC gelatin nanopartikel tanpa penambahan glutaraldehid.....	268
Lampiran 4.3.	DSC nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan maltodekstrin.....	269
Lampiran 4.4.	DSC nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan gum arab.....	270
Lampiran 4.5.	DSC nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan maltodekstrin: gum arab (1:1).....	271
Lampiran 5.	Analisis komponen flavonoid biji kakao.....	272
Lampiran 5.1.	Kurva standar epikatekin.....	272
Lampiran 5.2.	Kurva standar kafein.....	273
Lampiran 5.3.	Kurva standar teobromin.....	274
Lampiran 5.4.	Kromatogram ekstrak biji kakao fermentasi (ESI-).....	275
Lampiran 5.5.	Kromatogram ekstrak biji kakao fermentasi (ESI+).....	277
Lampiran 5.6.	Kromatogram ekstrak biji kakao non-fermentasi (ESI-).....	278
Lampiran 5.7.	Kromatogram ekstrak biji kakao non-fermentasi (ESI+).....	280
Lampiran 5.8.	Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak biji kakao non-fermentasi (ESI-).....	281
Lampiran 5.9.	Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak biji kakao non-fermentasi (ESI-).....	283
Lampiran 5.10.	Kromatogram kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao fermentasi, tanpa <i>blanching</i>	284
Lampiran 5.11.	Kromatogram kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao fermentasi, dengan <i>blanching</i> 5 menit.....	285

Lampiran 5.12.	Kromatogram kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao non-fermentasi, tanpa <i>blanching</i>	286
Lampiran 5.13.	Kromatogram kuersetin-3-rutinosida dan kuersetin ekstrak biji kakao non-fermentasi, dengan <i>blanching</i> 5 menit.....	287
Lampiran 6.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta gelatin nanopartikel dan nanokapsul flavonoid biji kakao.....	288
Lampiran 6.1.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao, konsentrasi gelatin:poloksamer (2:3).....	288
Lampiran 6.2.	Potensial zeta gelatin nanopartikel flavonoid biji kakao, konsentrasi gelatin:poloksamer (2:3).....	289
Lampiran 6.3.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dispersi nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan maltodekstrin.....	290
Lampiran 6.4.	Potensial zeta nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan maltodekstrin.....	291
Lampiran 6.5.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dispersi nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan maltodekstrin : gum arab (1:1).....	292
Lampiran 6.6.	Potensial zeta nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan maltodekstrin : gum arab (1:1).....	293
Lampiran 6.7.	Ukuran diameter partikel, indeks polidispersitas dispersi nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan gum arab.....	294
Lampiran 6.8.	Potensial zeta nanokapsul flavonoid biji kakao dengan enkapsulan gum arab.....	295