

Analisis Kandungan Senyawa Kimia Pada Biji Kakao Panggang Terfermentasi Asal Sulawesi Selatan Menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

Analysis Chemical Compound Content of Roasted Fermented Cocoa Beans from South Sulawesi Using Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

Dian Magfirah Hala^{1*}, Abdul Mutalib², Susi Indriani³, Andi Besse Poleuleng¹, Andi Ayu Nurnawati¹

¹ Teknologi Produksi Tanaman Perkebunan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Pangkep, 90655

² Pengelolaan Perkebunan Kopi, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Pangkep, 90655

³ Teknologi Produksi Tanaman Pangan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Pangkep, 90655

*Corresponden Author Email: dianmagfirahhala@polipangkep.ac.id

ABSTRAK

Biji kakao merupakan bahan baku utama dalam pengolahan coklat batang. Kualitas dan rasa produk coklat sangat bergantung pada kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam biji kakao yang digunakan. Selain itu, penanganan pasca panen pada biji kakao berupa fermentasi dan pemanggangan menyebabkan munculnya citarasa coklat yang khas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam biji kakao panggang terfermentasi menggunakan instrument Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Hasil analisis GC-MS menunjukkan munculnya 19 puncak (peak) yang mewakili 13 senyawa kimia. Terdapat 5 senyawa yang secara signifikan memiliki persen area puncak terbesar, yang secara berurutan terdiri dari senyawa Tetrapentacontane sebesar 8,44% dan 5,85%, senyawa Nonadecane (CAS) sebesar 7,10%, senyawa 14-beta-h-pregna sebesar 6,50%, senyawa Hahnfett 5,75%, dan senyawa Tetratriacontane sebesar 4,12%.

Keyword : Biji Coklat, Fermentasi, Panggang, GC-MS, Senyawa.

ABSTRACT

Cocoa beans are the main raw material in chocolate bar processing. The quality and flavor of chocolate product are highly dependent on the chemical compounds contained the cocoa beans used. In addition, post-harvest handling of cocoa beans in the form of fermentation and roasting causes the appearance of a distinctive chocolate flavor. This research aims to analyze the content of chemical compounds contained in fermented roasted cocoa beans using gas chromatography- mass spectrometry (GC-MS) instruments. The results of GS-MS analysis showed 19 peaks that are representing 13 chemical compounds. Based on the result, there are 5 compounds that significantly have the largest percent peak's area, which sequentially consist of Tetrapentacontane compounds of 8,44% and 5, 85%, Nondecane (CAS) as many as 7,10%, 14-beta-h-pregna compounds of 6.50%, Hahnfett compounds of 5,75%, and Tetratriacontane compounds as many as 4,12%.

Keyword : cocoa beans, fermented, roasted, GC-MS, compound

PENDAHULUAN

Coklat merupakan produk olahan yang banyak diminati masyarakat dari berbagai kalangan. Biji kakao merupakan bahan baku utama dalam industri pembuatan coklat (Olivia- Cruz *et al.*, 2021). Untuk menghasilkan produk coklat, biji kakao melalui serangkaian proses pengolahan menjadi pasta coklat, lemak dan bubuk coklat terlebih dahulu. Umumnya, biji kakao mengandung banyak sekali senyawa kimia dan asam lemak yang bernilai nutrisi dan memberi rasa unik hasil olahan biji kakao. Senyawa kimia yang umum ditemukan pada biji kakao adalah karbohidrat, lemak, protein, antioksidan, senyawa

penyegar, dan vitamin mineral (Mulato dan Edy, 2017). Senyawa kimia yang terdapat di dalam biji jenis dan jumlahnya bisa sangat dinamis dipengaruhi oleh beberapa factor, diantaranya yaitu jenis varietas kakao, treatment yang diberikan pasca panen kepada biji kakao, tahapan dalam processing biji cacao menjadi coklat, serta oleh kondisi tanah tempat (Marseglia *et al.*, 2020). Media GrainPro (2021) menyatakan bahwa terdapat 4 parameter yang harus dipenuhi dalam memenuhi kualitas biji coklat yang diterima industri, yaitu rasa (flavor), kondisi fisik biji, traceability dari biji, dan kandungan asam lemak bebas (Free Fatty Acid/FFA).

Indonesia adalah salah satu daerah produsen biji kakao terbesar di dunia dengan daerah sentra produksi kakao terletak salah satunya di Sulawesi Selatan. Terdapat beberapa daerah sentra kakao di Sulawesi Selatan, antara lain adalah biji kakao yang berasal dari Kab. Bantaeng. Penelitian mengenai kandungan senyawa kimia biji kakao dari berbagai tempat di Indonesia masih terbatas dilakukan. Sementara itu, beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan adanya perbedaan kandungan senyawa kimia pada biji kakao yang dikumpulkan dari tempat asal yang berbeda. Penggunaan instrument Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan instrumentasi yang banyak digunakan untuk melakukan analisis kandungan kimia suatu sampel. Metode ini Oleh karena itu kajian mengenai kandungan senyawa kimia dalam biji kakao yang berasal dari berbagai daerah berbeda perlu dilakukan menggunakan GC-MS.

METODE

Preparasi Sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan biji kakao yang diperoleh dari perkebunan rakyat yang berasal dari Kab. Bantaeng, Sulawesi Selatan. Biji kakao tersebut telah difermentasi sebelumnya oleh petani selama 7-10 hari menggunakan metode fermentasi tradisional. Tahapan pertama yang dilakukan adalah mengeringkan biji kakao hasil fermentasi selama 2-3 hari di bawah sinar matahari hingga diperoleh kadar air biji berkisar <10%, yaitu sebesar 2,3%. Tahapan berikutnya adalah melakukan pemanggangan biji kakao selama 30 menit pada suhu 150 °C menggunakan oven, kemudian kulit biji (*shell*) dipisahkan dari nibs.

Ekstraksi Senyawa Kimia Sampel

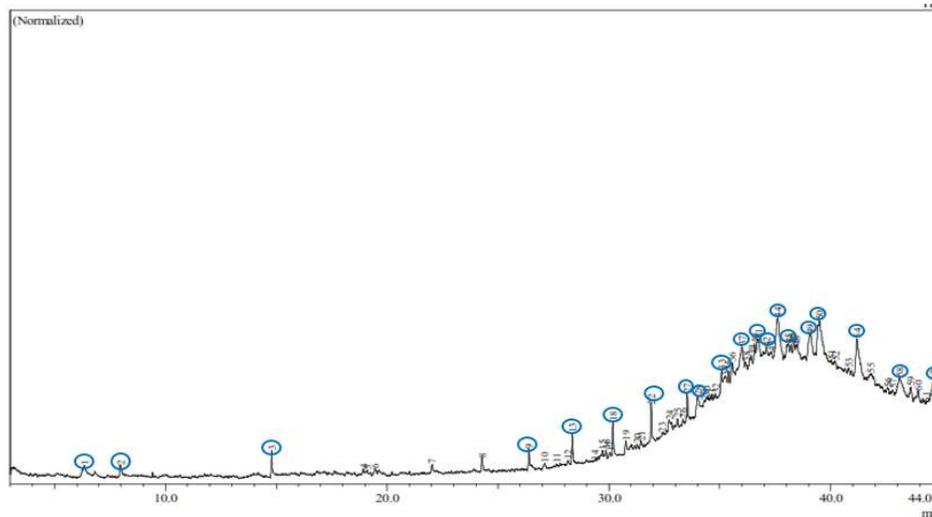
Sebanyak 50 gr nibs (biji) kakao dihaluskan menggunakan blender lalu kemudian dimaserasi dengan senyawa n-Hexan selama 3 jam. Filtrate yang diperoleh kemudian dievaporasi pada suhu 40 °C menggunakan pelarut methanol. Sebanyak 50 ml filtrate ditambahkan aquadest lalu didestilasi pada suhu 100-150 °C. Uap destilat ditampung pada wadah kedap udara yang telah berisi larutan n-Pentane sebanyak 10 ml.

Analisis GC-MS Sampel

Analisis GC-MS ini dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang (PNUP). Sebanyak 3 mL sampel dimasukkan ke dalam vial GCMS kemudian diuji dengan menggunakan mesin instrument GC-MS (Shimadzu). Kondisi kromatogram yang digunakan terdiri dari suhu injector 250 °C dengan mode Splitless, tekanan 76, 9 kPa dan laju alir 14 mL/min dengan rasio 1:10. Jenis kolom yang digunakan adalah SH-Rxi-5Sil MS dengan panjang 30 m dan diameter dalam 0,25 mm. Temperatur awal kolom adalah 70 °C dengan waktu tahan 2 menit, kemudian meningkat hingga 200 °C dengan laju 10 °C/ menit dan suhu akhir kolom mencapai 280 °C selama 9 menit dengan laju 50 °C/ menit, sehingga total waktu analisa adalah 36 menit. Data kromatogram kemudian dibaca menggunakan *library* NIST dan Wiley 9.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis GC-MS umumnya dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa kimia yang terdapat di dalam sampel uji. Selain itu, metode ini juga dapat memberikan informasi terkait berta molekul yang terkandung di dalam sampel uji.



Gambar 1. Kromatogram GCMS biji kakao panggang terfermentasi

Hasil analisis GC-MS pada biji kakao fermentasi yang telah dipanggang ditunjukkan pada kromatogram Gambar 1. Berdasarkan hasil kromatogram tersebut diketahui bahwa terdapat 19 puncak (*peak*) yang mewakili 14 senyawa pada biji kakao berhasil diidentifikasi. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya: (1) heptadecane-1-bromo, (2) Dodecane (CAS), (3) Oxalic acid, cyslohexylmethyk tridecyl ester, (4) Heneicosane, (5) Tetracosane (2 puncak/ *peak*), (6) Hexatriacontane (2 puncak/ *peak*), (7) Celidoniol, deoxy, (8) Nonacosane, (9) 14-Beta-H-pregna, (10) Tetratriacontane, (11) Hanhfett (2 puncak/ *peak*), (12) octadecane, 3 ethyl -5-(2- ethylbutyl)-, (13) Tetrapentacontane (4 puncak/ *peak*), dan (14) Nonadecane (CAS).

Kromatogram juga menunjukkan bahwa telah terdeteksi atau diperoleh lima senyawa yang memiliki persen area yang paling signifikan dibandingkan dengan senyawa lainnya. Secara berurutan, kelima senyawa tersebut terdiri dari Tetrapentacontane, Nonadecane (CAS), 14-beta-h-pregna, Hanhfett, dan Tetratriacontane dengan persen luas area secara berurutan yaitu 8,44% dan 5,85% (waktu retensi 37.607 menit dan 39.064 menit), 7,10% (waktu retensi 39.498 menit), 6,50%, 5,75%, dan 4,12%. Luas area puncak pada kromatogram pada hasil analisis GC-MS menunjukkan kelimpahan suatu senyawa pada sampel uji, sehingga semakin luas area puncak (*peak*) yang nampak pada grafik kromatogram tersebut, menunjukkan bahwa maka semakin tinggi pula konsentrasi senyawa tersebut di dalam sampel yang diuji.

Secara keseluruhan senyawa-senyawa yang terdeteksi pada biji kakao panggang terfermentasi dari Sulawesi Selatan yang dianalisis menggunakan GC-MS ada 19 jenis senyawa dengan *peak area* berbeda-beda. Senyawa-senyawa tersebut terdeteksi pada retensi waktu berbeda seperti ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komponen senyawa yang terdeteksi pada biji kakao panggang terfermentasi Sulawesi Selatan menggunakan GC-MS

No.	Peak	Waktu Retensi (menit)	Nama senyawa	Peak Area (%)	Rumus Kimia	Berat Molekul (g/mol)
1	1	6.346	Heptadecane, 1- bromo	0.76	C ₁₇ H ₃₅ Br	319.364
2	2	7.972	Dodecane (CAS)	0.30	C ₁₂ H ₂₆	170.33
3	3	14.794	Oxalic acid, cyclohexylmethyl tridecyl ester	0.52	C ₂₂ H ₄ O ₄	368.5
4	9	26.391	Heneicosane	0.75	C ₂₁ H ₄₄	296.6
5	13	28.353	Tetracosane	0.61	C ₂₄ H ₅₀	338.7
6	18	30.184	Tetracosane	0.78	C ₂₄ H ₅₀	338.7
7	22	31.906	Hexatriacontane	1.09	C ₃₆ H ₇₄	507
8	27	33.531	Celidoniol, deoxy-	1.32	C ₂₉ H ₆₀	408.8
9	28	34.007	Hexatriacontane	2.79	C ₃₆ H ₇₄	507
10	33	35.080	Nonacosane	2.60	C ₂₉ H ₆₀	408.8
11	37	36.001	14-beta.-H-pregna	6.50	C ₂₁ H ₃₆	288.5
12	41	36.742	Tetratriacontane	4.12	C ₃₄ H ₇₀	478.9
13	42	37.099	Hahnfett	5.75	<i>unidentified</i>	<i>unidentified</i>
14	44	37.607	Tetrapentacontane	8.44	C ₅₄ H ₁₁₀	759.4512
15	49	39.064	Tetrapentacontane	5.85	C ₅₄ H ₁₁₀	759.4512
16	50	39.498	Nonadecane (CAS)	7.10	C ₁₉ H ₄₀	268.5
17	54	41.186	Hahnfett	2.54	<i>unidentified</i>	<i>unidentified</i>
18	58	43.108	Tetracosane, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-	1.58	C ₃₀ H ₆₂	422.8
19	62	44.644	Tetrapentacontane	2.23	C ₅₄ H ₁₁₀	759.4512

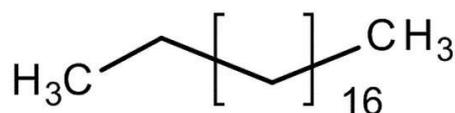
Keterangan : Bagian yang diblock menunjukkan komponen dengan peak area terbesar; Data rumus kimia dan berat molekul diperoleh dari Pub Med Chem (NCBI, 2023)

Senyawa kimia yang terdeteksi memiliki persen *peak area* terbesar pada kromatogram adalah senyawa *tetrapentacontane*. Senyawa ini termasuk ke dalam golongan alkane yang terdiri dari rantai hidrokarbon yang panjang. Sharma dan Mallubthola (2022) menjelaskan dalam penelitiannya bahwa senyawa *tetrapentacontane* ini ditemukan pada hasil analisis GC-MS ekstrak kasar bakteri *B. thuringensis* OM320575 yang isolasi dari tanaman medis *Cordia dichotoma* di India. Tetrapentacontane dilaporkan terdeteksi pada analisis *essential oil* tanaman *Eugenia aromatica* (Salem, 2019). Dalam tulisannya, Sharma dan Mallubthola (2022) juga menyebutkan bahwa senyawa ini dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri alami. Di dalam kromatogram, senyawa ini ditemukan kemunculannya sebanyak 2 kali pada waktu retensi yang berbeda, yaitu pada menit 37.607 dan 39.064. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kedua senyawa tersebut memiliki kemiripan struktur kimia satu sama lain, namun tidak serupa sehingga terdeteksi pada waktu retensi yang berbeda. Kemungkinan tersebut dapat terjadi, karena dalam analisis GC-MS, data sampel yang diperoleh dibandingkan dengan data yang tersimpan di dalam *library* sehingga sifatnya masih dugaan dan membutuhkan investigasi lanjutan.



Gambar 2. Struktur kimia molekul *Tetrapentacontane* (NCBI, 2023)

Senyawa kimia berikutnya yang memiliki persen area terbesar kedua adalah senyawa *Nonadecane* (CAS) yang juga termasuk ke dalam golongan alkana sebab memiliki rantai karbon yang panjang dan lurus, yaitu terdiri dari 19 unsur karbon. *Nonadecane* diketahui merupakan senyawa metabolit sekunder yang juga berperan sebagai penyusun *volatile essential oil* yang terdapat pada *Artemisia armeniaca* (NCBI, 2023) dan pada tanaman mawar (Shabbir *et al.*, 2020). Senyawa ini juga dapat ditemukan sebagai produk alami pada *Erucaria microcarpa*, dan *Microcystis aeruginosa* (NCBI, 2024). Senyawa nonadecane ini juga diketahui dapat digunakan sebagai *fragrance agent* pada kosmetik dan parfum (Thermo Fisher, 2024).



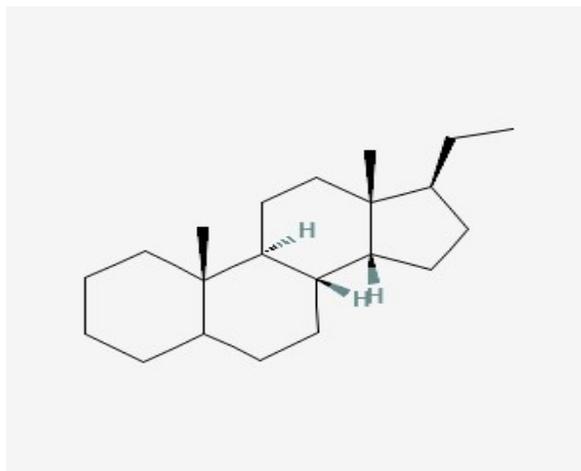
Gambar 3. Struktur kimia molekul *Nanodecane* (NCBI, 2023)

Senyawa *14-beta-h-pregna* merupakan senyawa yang memiliki persen peak area terbesar ketiga pada kromatogram. Senyawa ini termasuk dalam kelompok senyawa steroid yang dilaporkan juga terdeteksi pada bagian batang tanaman mangrove jenis *R. mucronata* (Mahmiah *et al.*, 2017) dan rumput laut (Gazali *et al.*, 2022). Senyawa *14-beta-h-pregna* dilaporkan memiliki kemampuan antagonistik menghambat *alpha-amilase* dan *alpha-glucosidase* pada penyakit diabetes sehingga dapat digunakan sebagai alternative bahan alam untuk obat (Gazali *et al.*, 2022).



Gambar 4. Struktur kimia molekul *Hahnfett* (NCBI, 2023)

Pada kromatogram yang dihasilkan, senyawa *Hahnfett* memiliki persen *peak area* sebesar 5,75%. Senyawa ini merupakan senyawa hydrocarbon aromatic yang dikelompokkan di dalam kelompok lipid. *Hahnfett* diketahui sebagai senyawa yang memiliki aktivitas anti mikroba dan anti peradangan (Natasia, *et al.*, 2021) terutama terhadap bakteri *E. coli*, *Klabsiella pneumonia*, dan *Staphylococci aureus* (Lotfy dan El-Moaty, 2016). Selain itu, senyawa ini juga termasuk di dalam kandungan *essential oil* pada tanaman *Eugenia aromatica* (Salem, 2019).



Gambar 5. Struktur kimia molekul *14-beta-h-pregna* (NCBI, 2023)

Senyawa terakhir yang terdeteksi memiliki area dengan persentase yang tinggi, yaitu sebesar 4,12 % adalah senyawa *Tetratriacontane*. Senyawa ini termasuk kedalam senyawa organik hidrokarbon alkana berantai panjang, yaitu terdiri dari 34 atom karbon. *Tetratriacontane* termasuk salah satu jenis metabolit yang dihasilkan oleh tanaman seperti *Artemisia*, *Synechocystis* dan jenis tanaman lain (NCBI, 2023). Senyawa ini dilaporkan menjadi salah satu komponen penyusun dalam *volatile oil* pada tanaman, serta memiliki kemampuan anti serangga (Revathi *et al.*, 2013)

KESIMPULAN

Hasil analisis GC-MS terhadap biji kakao panggang terfermentasi menunjukkan munculnya 19 puncak (*peak*) yang mewakili 13 senyawa kimia. Dari 13 senyawa tersebut, terdapat 5 senyawa yang secara signifikan memiliki persen area puncak terbesar, secara berurutan terdiri dari *Tetrapentacontane* sebesar 8,44% dan 5,85%, senyawa *Nonadecane (CAS)* sebesar 7,10%, senyawa *14-beta-h-pregna* sebesar 6,50%, senyawa *Hahnfett* 5,75%, dan senyawa *Tetratriacontane* sebesar 4,12%.

DAFTAR PUSTAKA

- Gazali, M., Jolanda, O., Husni, A., Nurjanah, Majid, F.A.A., Zuriat; Syafitri, R. 2023. In Vitro α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Green Seaweed Halimeda tuna Extract from the Coast of Lhok Bubon, Aceh. *Plants*, 12, 393. <https://doi.org/10.3390/plants12020393>
- Lotfy, RA., dan El-Moaty, Heba I. Abd., 2016. Antibacterial activities of some active constituents isolated from *Phlomis floccose* D.Don., *Egyptian J Desert Res*, 66 (1): 69-78.
- Mahmiah, Giftania Wardani Sudjarwo, dan Febby Andriani. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis GC-MS hasil Fraksi Heksana Kulit Batang *Rhizophora mucronata* L., Seminar Nasional Kelautan XII Universitas Hangtuah. PP: b44-51

- Marseglia, Angela, Marilena Musci, Massimiliano Rinaldi, Gerardo Palla, Augusta Caligiani. 2020. Volatile fingerprint of unroasted and roasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from different geographical origins, Food Research International, Volume 132: 109101, ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109101>
- Mulato, Sri, & Edy Suharyanto. 2017. Kopi, seduhan dan kesehatan. Penerbit Dempo Laserindo, Surabaya. Cctcid.com
- Natasia, K., Dono Indarto, dan Brian Wasita. 2021. Fractination of Snake Fruit Seed Pondoh for Development of Anemia Treatment. ISTE. DOI: 10.4108/eai.17-7-2021.2312402
- [NCBI]. National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 12409, Nonacosane. Retrieved September 7, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nonacosane>.
- _____. 2023b. PubChem Compound Summary for CID 12409, 14b-h-pragna. Retrieved September 7, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14b-h-pragna>.
- _____. 2023c. PubChem Compound Summary for CID 12409, Tetrapentacosane. Retrieved September 7, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tetrapentacosane>.
- _____. 2023c. PubChem Compound Summary for CID 12409, Hahnfett. Retrieved September 7, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hahnfett>.
- Olivia-Cruz, M., Mori-Culqui P, Caetano AC, Gonas, M, Vilca-Valqui NC, dan Chavez SG. (2021). Total Fat Content and Fatty Acid Profile of Fine-Aroma Cocoa From Northeastern Peru. Front. Nutr..8:677000.
- Revathi, Kannan, Rajamanickam Chandrasekaran, Annamalai Thanigaivel, Suyambulingam Arunachalam Kirubakaran, Subbiah Sathish-Narayanan, Sengottayan Senthil-Nathan. 2013. Effects of *Bacillus subtilis* metabolites on larval *Aedes aegypti* L, Pesticide Biochemistry and Physiology, Volume 107, Issue 3: 369-376, ISSN 0048-3575, <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.10.005>.
- Salem, Abeer. A. 2019. Identification of Chemical Composition of *Eugenia aromatica* and its bio-efficacy against *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (herbst). The Future Journal of Biology, 4, 26-35. DOI: 10.37229/fsa.fjb.2019.11.07
- Shabbir, Fariha., Muhammad Asif Hanif, Muhammad Adnan Ayub, Muhammad Idrees Jilani, Shafiqur Rahman, 2020, Chapter 17 - Damask Rose, Medicinal Plants of South Asia, Elsevier: 217-230, ISBN 9780081026595, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102659-5.00017-3>.
- Sharma M and Mallubhotla S. 2022. Diversity, Antimicrobial Activity, and Antibiotic Susceptibility Pattern of Endophytic Bacteria Sourced From *Cordia dichotoma* L. Front. Microbiol. 13 :879386. Doi: 10.3389/fmicb.2022.879386
- Thermo Fisher Inc. 2023. n-Nanodecane, Fisher Scientific. Retrieved Oktober 10, 2023 from <https://www.fishersci.com/shop/products/n-nonadecane-99-thermo-scientific/AAL0570114>