

PERAN COKELAT SEBAGAI PRODUK PANGAN DERIVAT KAKAO YANG MENYEHATKAN

(THE ROLE OF CHOCOLATE AS HEALTHY COCOA-DERIVED FOODS PRODUCTS)

Agus Sudibyo

Balai Besar Industri Agro (BBIA)
Jl. Ir. H. Juanda No. 11 Bogor – 16122

ABSTRAK

Pangan derivat dari kakao (bubuk kakao, coklat dan produk-produk olahan kakao) telah dikenal selama ratusan tahun. Produk-produk tersebut telah banyak dikonsumsi di seluruh dunia dan telah dipelajari secara luas karena kakao diketahui sebagai sumber senyawa fitokimia (procyanidin, flavonoid, katekin dan epikatekin) yang signifikan dan berpengaruh baik terhadap kesehatan manusia. Beberapa tulisan artikel ilmiah terakhir menunjukkan bahwa kuantitas dan kualitas antioksidan di dalam produk olahan kakao dan coklat sangat tinggi dan senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya dipercaya dapat mengurangi sejumlah gugus radikal bebas dalam tubuh yang berkontribusi baik terhadap masalah kesehatan manusia seperti penyakit kardiovaskular, kanker dan juga mempunyai keuntungan untuk mencegah terjadinya penuaan atau sebagai antipenuaan. Tujuan dari penulisan ini adalah : (1) Memberi informasi ilmiah kepada ilmuwan dan peneliti untuk melakukan eksplorasi dalam kegiatan penelitian dan pengembangan produk olahan pangan berbasis kakao sebagai produk pangan untuk kesehatan; (2) Memberi informasi kepada lembaga penelitian dan pengembangan yang berhubungan dengan pangan dalam mengembangkan produk yang lebih komprehensif untuk memahami interaksi yang terjadi antara pangan derivat dari kakao, medisn (obat-obatan) dan suplemen pangan untuk diet; dan (3) Memberi informasi kepada masyarakat untuk lebih meningkatkan konsumsi kakao dan coklat dengan memahami keuntungan dan kelemahannya sebagai produk pangan yang menyehatkan. Dalam tulisan ilmiah ini akan dibahas secara ringkas tentang potensi keunggulan produk olahan kakao dan coklat dan pengaruhnya terhadap kesehatan serta kelemahan dan kendala produk coklat sebagai produk pangan untuk kesehatan.

Kata kunci : kakao, coklat, flavonoid, katekin, epikatekin, antioksidan, antiradikal, pangan kesehatan

ABSTRACT

Cocoa-derived foods (cocoa powders, chocolate, cocoa related products) have been delicacies for hundred of years. These products, consumed all over the world are largely studied because of they have been recognized significant sources of phytochemicals (procyanidin, flavonoids, catechin, epicatechin) with health full effects. Recent published articles demonstrate that the quality and quantity of antioxidants in cocoa and chocolate are very high and their flavonoids are believed to reduce the number of the radicals in the body that contribute to medical problems, such as cardiovascular diseases and cancer and also to offer some anti-aging health benefits. The aim of this paper were : (1) Given scientific information to scientist and researcher for conduct exploration in R & D of food processed products based on cacao as healthy food; (2) Given information to R & D institution dealing with food in developing more comprehensive understanding of interactions that occur among cocoa derived foods, medicines and dietary supplement; and (3) Given information to society for more increasing cacao and chocolate consumption with understanding the benefits and disadvantages as healthy food products. This article offer a brief review of the potential competitive advantages of cocoa and chocolate and its effects on health for human being and the disadvantages of cocoa and chocolate products as healthy food products.

Keywords : cacao, chocolate, flavonoids, catechin, epicatechin, antioxidants, antiradicals, healthy food

PENDAHULUAN

Dalam beberapa tahun terakhir ini, peningkatan penyakit yang disebabkan oleh gaya hidup manusia seperti tekanan darah tinggi (hipertensi), diabetes-milites dan kegemukan, penyakit jantung

kardiovaskular dan kanker telah ditengarai sebagai penyakit sosial yang menyebabkan hilangnya kualitas kehidupan dan meningkatnya biaya perawatan untuk kesehatan. Sebaliknya, untuk menjamin harapan hidup yang panjang secara positif dalam masyarakat

yang sudah tua usianya merupakan salah satu masalah yang signifikan di dunia (Hsieh dan Ofori, 2007). Konsekuensinya, dalam ilmu gizi modern perlu menyediakan lebih banyak informasi tentang fungsi dan mekanisme komponen pangan yang spesifik dalam mempromosikan kesehatan dan/atau pencegahan penyakit (Fraga, 2005). Sebagai contoh, beberapa jenis produk pangan telah diidentifikasi dan dimanfaatkan sebagai bahan pangan untuk menjaga dan mencegah kesehatan, misalnya buah-buahan dan sayuran karena berpotensi bermanfaat mencegah atau mengurangi terjadinya beberapa jenis penyakit yang disebutkan di atas (Hung *et al.*, 2004; Heiss *et al.*, 2003; Schramm *et al.*, 2001). Namun demikian, secara fisiologis dan mekanisme molekuler produk pangan buah-buahan dan sayuran tersebut untuk bertindak mengurangi risiko penyakit vascular tersebut masih menyisakan suatu pertanyaan yang sukar dipahami. Disamping itu, keberadaan data dan informasi yang menunjukkan manfaat kesehatan dari buah dan sayuran karena kaitannya dengan kandungan flavonoid yang dikenal sebagai flavanol merupakan titik awal dari ketidakpastian mekanistik komponen flavonoid tersebut untuk diteliti lebih mendalam pada produk pangan lainnya (Fraga, 2005). Oleh karena itu, berbagai produk pangan yang mengandung flavonoid (flavanol) telah diidentifikasi seperti apel, anggur ungu, anggur merah, *cranberries*, dan teh; tetapi salah satu produk pangan yang kaya senyawa flavanol adalah produk olahan kakao dan cokelat (Fisher *et al.*, 2003; Liwei *et al.*, 2004).

Cokelat merupakan produk pangan hasil olahan derivat biji kakao yang berasal dari tanaman kakao atau *Theobroma cacao*, L. (Ensminger *et al.*, 1995). Biji kakao diproduksi di Amerika Selatan (Ekuador, Kolombia, Brazil, Venezuela dan Guiana), Amerika Tengah, India Barat, Afrika Barat (Nigeria dan Ghana), Sri Lanka dan Indonesia (Evans, 1998). Biji kakao sendiri berbentuk datar/pipih dengan panjang 2-3 cm dan lebarnya 1,5 cm. Biji kakao

mengandung 35-50% minyak/ lemak, 15% pati, 15% protein, 1-4% theobromin dan 0,07-0,36% kafein (Rizza *et al.*, 2000). Kernel kakao mengandung 0,19-0,30% theobromin dan kulit arinya mengandung sekitar 0,19-2,98% senyawa alkaloid (Kelishadi, 2005). Biji kakao juga mengandung 0,05-0,36% senyawa kafein dan lemak kakao yang berasal dari nib kakao sebanyak 45-53% (Ensminger *et al.*, 1995; Evans, 1998; Rizza *et al.*, 2000).

Cokelat merupakan produk pangan olahan yang bahan ingrediennya terdiri campuran kombinasi dari pasta cokelat (*chocolate liquor*), gula, lemak kakao dan beberapa jenis bahan tambahan citarasa (Kelishadi, 2005). Menurut Rizza *et al.* (2000), terdapat beberapa jenis produk cokelat, yaitu cokelat pahit (*bitter chocolate*), cokelat susu (*milk chocolate*) dan cokelat putih (*white chocolate*). Cokelat pahit dibuat dari pasta kakao dengan penambahan gula sedikit, dan cokelat susu dibuat dari campuran pasta kakao, lemak kakao, gula dan susu bubuk dalam jumlah yang substansial. Sedangkan cokelat putih dibuat dari pencampuran lemak kakao, gula dan susu bubuk.

Cokelat sebagai produk pangan derivat dari kakao merupakan produk pangan yang mengandung kaya senyawa fenolik dari biji tanaman *Theobroma cacao*, L (Arlorio *et al.*, 2000) dan merupakan salah satu sumber konsentrat senyawa flavanol, yang berfungsi sebagai antioksidan alami yang disebut flavonoid dan banyak ditemukan pula pada teh, anggur merah (Raloff, 2000), tomat dan produk pangan lain yang dipercaya dapat mengurangi risiko penyakit jantung atau kardiovaskular (Alspach, 2007). Senyawa fenolik dalam kakao ini memiliki beberapa kelompok kelas molekul, yaitu : katekin, epikatekin, anthosianin, pro-anthosianidin, asam fenolik, tannin terkondensasi, flavonoid lain dan beberapa komponen minor lainnya (Sanchez-Rabaneda *et al.*, 2003).

Menurut Wollgast dan Anklam (2000a), saat ini cokelat banyak dikonsumsi hamper di seluruh dunia dan

banyak dipelajari atau diteliti karena secara *in vivo* memiliki sifat-sifat sebagai antioksidan dan antiradikal dari konstituen kandungan senyawa fenoliknya, yang terdiri dari asam fenolik, procianidin dan flavonoid. Senyawa fenolik dari kakao seperti halnya senyawa fenolik dari tanaman lainnya telah banyak diteliti dan dilaporkan mengandung senyawa komponen bio-aktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, yaitu mempunyai sifat sebagai antioksidan, antiradikal dan antikarsinogenik (Ren *et al.*, 2003; Sanbongi *et al.*, 1998; Wollgast dan Anklam, 2000b). Hasil penelitian Osawa *et al.* (1990) menunjukkan bahwa senyawa fenolik pada kakao yang mempunyai sifat sebagai antimikroba juga dapat berfungsi baik untuk melawan beberapa jenis bakteri patogen yang terdapat pada bahan pangan tetapi juga mampu melawan beberapa jenis bakteri karsinogenik. Aktifitas antimikroba ini secara langsung berkaitan erat dengan sifat kemampuan senyawa bioaktif tersebut untuk menembus dinding sel bakteri (Arlorio *et al.*, 2000). Bioaktifitas secara *in vivo* dari senyawa fenolik kakao seperti halnya senyawa fenolik dari produk pangan lain (kopi, teh, sayuran) telah banyak diteliti dan dipelajari dengan seksama. Aktifitas ini berhubungan erat sekali dengan kemampuan absorpsi dan metabolisme senyawa fenolik tersebut (Shahidi dan Nacz, 2003).

Mengingat Indonesia sebagai Negara produsen kakao ketiga terbesar di dunia setelah Negara Pantai Gading dan Ghana di Afrika Barat serta konsumsi cokelat per kapita di Indonesia relatif masih rendah dan informasi tentang produk olahan kakao dan cokelat untuk kesehatan juga masih sedikit; maka dalam tulisan ini akan dibahas tentang potensi keunggulan produk kakao dan pengaruhnya terhadap kesehatan manusia, serta kekurangan dan kendala produk cokelat sebagai produk pangan untuk kesehatan. Tujuan penulisan ini adalah : (1) Memberikan informasi kepada para ilmuwan dan peneliti untuk melakukan kegiatan eksplorasi penelitian dan pengembangan terhadap produk pangan olahan berbasis kakao sebagai

produk pangan kesehatan; (2) Memberikan informasi kepada lembaga penelitian dan pengembangan yang berhubungan dengan pangan dalam mengembangkan interaksi pengertian yang lebih komprehensif pada produk pangan (khususnya kakao, cokelat dan hasil olahannya), obat-obatan (medisin) dan pangan untuk suplemen yang berkontribusi terhadap kesehatan manusia, misalnya untuk promosi penelitian dalam biomarkers, bio-informatika dan nutrigenomika; dan (3) Memberikan informasi kepada masyarakat untuk lebih meningkatkan konsumsi cokelat dengan diketahui manfaat dan keunggulannya sebagai produk pangan untuk kesehatan.

POTENSI KEUNGGULAN PRODUK OLAHAN KAKAO DAN COKELAT DAN PENGARUHNYA TERHADAP KESEHATAN MANUSIA

Potensi keunggulan produk olahan kakao dan cokelat serta pengaruhnya terhadap kesehatan sebenarnya bukanlah hal yang baru sama sekali, karena sudah sejak lama (tahun 1600-1700-an) digunakan sebagai perlakuan untuk pengobatan masyarakat di Amerika Tengah dan Eropa. Kemudian berkembang konsep bahwa minuman hasil produk olahan kakao dan cokelat mempunyai keunggulan terhadap kesehatan diterima secara luas hingga kira-kira tahun 1850-1900-an (Keen, 2001). Dalam kurun waktu 30-40 tahun kemudian, persepsi masyarakat terhadap kakao dan cokelat telah berubah karena diyakini mempunyai peran yang penting dalam menjaga kesehatan setelah banyak diteliti dan ditemukan adanya beberapa zat yang bermanfaat dalam produk olahan kakao dan cokelat (Kelishadi, 2005); dan salah satu zat tersebut di antaranya adalah senyawa flavonoid yang termasuk dalam sub-kelompok senyawa polifenol (De Noon, 2003). Potensi keunggulan produk olahan kakao dan cokelat serta pengaruhnya terhadap kesehatan manusia adalah sebagai berikut:

Sebagai Sumber Yang Kaya Antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kakao yang diolah menjadi produk olahan kakao seperti cokelat dan minuman kakao merupakan sumber yang kaya antioksidan khusus/spesifik dalam bentuk senyawa katekin, epikatekin, procianidin dan polifenol seperti halnya yang banyak ditemukan pada sayuran, anggur dan teh (Raloff, 2000; Kelishadi, 2005; Fraga, 2005). Senyawa katekin dan epikatekin dikenal sebagai senyawa flavanol monomerik, sedang senyawa procianidin dikenal sebagai senyawa flavanol oligomerik yang terdapat dalam produk olahan kakao dan cokelat berada dalam kisaran yang luas (Al-Faris, 2008). Senyawa antioksidan alami ini dipercaya dapat mengurangi sejumlah gugus radikal bebas dalam tubuh manusia dan dapat menyediakan pertahanan terhadap serangan spesies oksigenn yang reaktif atau *reactive oxygen species*/ROS (Visioli *et al.*, 2000). Kandungan senyawa antioksidan tinggi pada beberapa jenis produk pangan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Cokelat merupakan salah satu sumber antioksidan nomor 3 tertinggi tiap hari yang dikonsumsi oleh konsumen di

Amerika Serikat setelah kopi dan teh (Vinson *et al.*, 2006); sedangkan teh dan produk olahan kakao merupakan produk pangan sebagai sumber antioksidan yang banyak dikonsumsi oleh konsumen di negara-negara Eropa (Weissburger, 2002; Arts *et al.*, 1999). Hingga saat ini diperkirakan sudah teridentifikasi ada 6000 jenis antioksidan dan 4000 di antaranya dikategorikan sebagai senyawa polifenol (Alspach, 2007).

Hasil penelitian baik penelitian secara *in vitro* dengan menggunakan model hewan maupun secara *in vivo* pada manusia, dinyatakan bahwa epikatekin merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan pada cokelat dalam jumlah besar (Alspach, 2009) sehingga dapat menghambat proses oksidasi plasma lemak (lipida) karena kemampuannya untuk mengikat senyawa kolesterol berkepadatan rendah atau *low density lipoprotein* (LDL) yang tidak baik untuk kesehatan, menghambat terjadinya *atherosclerosis*, meningkatkan kolesterol berkepadatan tinggi atau *high density lipoprotein* (HDL) yang baik bagi kesehatan serta menurunkan kadar trigliserida dalam tubuh manusia (Vinson *et al.*, 2006).

Tabel 1. Jenis produk pangan yang mengandung antioksidan tinggi (*)

Jenis Produk Pangan	Kapasitas Absorben Radikal Oksigen (KARO) Unit per 100 gram
Cokelat gelap (<i>dark chocolate</i>)	13.120
Cokelat susu (<i>milk chocolate</i>)	6.740
Buah Prune	5.770
Raisin	2.830
Buah blueberries	2.400
Buah blackberries	2.036
Buah Kale	1.778
Buah Strawberries	1.540
Sayur Bayam	1.260
Buah Raspberries	1.220
Buah Brussel sprouts	980
Buah Plums	949
Buah Alfalfa	930
Brokoli	890
Buah Jeruk	750
Buah Anggur merah	739
Cabai merah	710
Buah Cheri	570
Bawang merah	450
Jagung	400
Eggplant	390

(*) Sumber : Kelishadi (2005).

Hasil penelitian dan studi secara epidemiologis menunjukkan kepada kita bahwa terdapat hubungan timbal balik antara orang yang mengkonsumsi bahan pangan yang banyak mengandung senyawa flavanoid seperti teh atau kakao dengan penyakit jantung kardiovaskular (Kris-Etherton dan Keen, 2002; Lazarus *et al.*, 1999; Waterhouse, 1996). Menurut buku Petunjuk/Panduan dari Institut Klinik Penyakit Jantung dan Vaskular di Cleveland, Amerika Serikat dinyatakan bahwa senyawa flavonoid mempunyai peran : (a) bertindak sebagai antioksidan melawan gugus radikal bebas, (b) membantu mengurangi aktifitas platelet, (c) berkontribusi terhadap vasodilasi untuk memperbaiki sirkulasi aliran darah, dan (d) secara positif mempengaruhi produksi senyawa *eicosanoids* guna membawa peran mereka dalam menjaga kesehatan kardiovaskular (Alspach, 2007).

Kemungkinan mekanismenya produk olahan kakao dan cokelat sebagai antioksidan adalah mencakup : (a) Perusakan oksidatif terhadap senyawa kolesterol berkepadatan rendah atau *low density lipoprotein* (LDL) (Morel *et al.*, 1994), (b) Mencegah atau mengurangi proses terjadinya pembengkakan dalam penyakit atherosclerosis (Salah *et al.*, 1995; Vinson *et al.*, 2006), (c) Mengurangi terjadinya trombosis, (d) Mempro-mosikan perlindungan fungsi endothelial secara normal dan (e) Menahan ekspresi molekul adhesi seluler (Knekt *et al.*, 1996). Disamping itu, untuk mensuplai aktifitas antioksidan; pada produk olahan kakao dan cokelat juga ditemukan dapat memperbaiki fungsi sel endothelial (Engler *et al.*, 2004; Wang-Palagruto *et al.*, 2006), mendemonstrasikan aktifitas sebagai antioksidan yang baik dan stabil (Raloff, 2000) dan mencegah terjadinya aktivasi platelet dan fungsinya (Murphy *et al.*, 2003;

Rein *et al.*, 2000; Holt *et al.*, 2002) sehingga semua peran tersebut akan berfungsi sebagai perlindungan terhadap kerja dan fungsi jantung dikaitkan dengan nilai gizi pangan cokelat.

Senyawa flavanol dan prosianidin yang diisolasi dari kakao mempunyai sifat-sifat antioksidan yang kuat (Hertog *et al.*, 1997). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian produk pangan olahan kakao dan cokelat yang kaya flavonoid ternyata dapat meningkatkan kapasitas antioksidan plasma serta mengurangi reaktifitas platelet (Holman dan Katan, 1999). Hasil penelitian secara *in vitro* juga menunjukkan bahwa senyawa katekin dan dalam bentuk senyawa oligomernya yang terikat dalam rantai ikatan $C_4 \rightarrow C_8$ merupakan komponen antioksidatif utama dari produk olahan kakao dan cokelat (Keen, 2001; Kelishadi, 2005).

Hasil penelitian juga sungguh-sungguh menunjukkan bahwa senyawa flavonoid pada kakao dan cokelat mempunyai pengaruh dapat menghambat/menghalangi terjadinya oksidasi senyawa kolesterol berkepadatan rendah atau *low density lipoprotein* (LDL) pada sel endothelial (Pearson *et al.*, 2001;

Osakabe *et al.*, 2002). Kandungan senyawa antioksidan katekin dari cokelat gelap atau *dark chocolate* (535 mg/g) adalah 4 kalinya daripada kandungan teh yang hanya mencapai 139 mg/g (Arts *et al.*, 1999). Komponen senyawa kakao dalam bentuk oligomerik yang panjang diperkirakan lebih efektif sebagai antioksidan daripada dalam bentuk fraksi oligomerik yang lebih pendek (Arteel *et al.*, 2000). Asupan katekin pada tubuh manusia menunjukkan hubungan yang terbalik dengan kematian yang disebabkan karena penyakit jantung ischemia; tetapi tidak berhubungan dengan kejadian "stroke" atau kematian itu sendiri (Arts *et al.*, 2001).

Hasil penelitian dan studi yang dilakukan oleh Wan *et al.* (2001) menunjukkan bahwa bubuk kakao dan cokelat gelap atau *dark chocolate* lebih banyak disukai untuk meningkatkan status ketahanan dari risiko terkena penyakit kardiovaskular dengan cara mengurangi oksidasi senyawa *low-density lipoprotein* (LDL), meningkatkan kapasitas total antioksidan pada serum darah dan konsentrasi kolesterol HDL (*high-density lipoprotein*), namun bukan kebalikannya menyebabkan terjadinya prostaiglandin. Senyawa flavanoid dalam cokelat juga lebih berpotensi sebagai sumber antioksidan daripada asam askorbat untuk melindungi sirkulasi lemak (lipida) pada darah dari proses oksidasi (Vinson *et al.*, 1999).

Hasil penelitian Rein *et al.* (2000) menunjukkan bahwa konsumsi kakao yang kaya senyawa polifenol dapat menekan ADP- atau aktivasi platelet *epinephrine* yang terstimulasi dan formasi pembentukan mikropartikel platelet. Hasil penelitian ini beserta hasil penelitian yang telah dilakukan Holt *et al.* (2002) telah menunjukkan pula bahwa konsumsi terhadap kakao mempunyai pengaruh seperti obat aspirin pada homeostatis utama. Makin tinggi konsentrasi partikel mikro platelet yang terbentuk, makin besar risiko terjadi thrombosis. Pengurangan terjadinya pembentukan formasi partikel mikro dapat dilakukan dengan mengkonsumsi produk pangan yang berasal dari kakao (Rein *et al.*, 2000).

Menurunkan Tekanan Darah dan Memperkuat Aliran Darah

Buijsse *et al.* (2006) dari Institut Nasional untuk Kesehatan Umum dan Lingkungan di Belanda (*Netherlands*) memeriksa hubungan antara orang yang mengkonsumsi kakao dan penyakit jantung kardiovaskular pada 470 orang laki-laki yang berumur 65 s/d 85 tahun. Mereka

diperiksa fisiknya dan diwawancarai tentang asupan minuman kakao yang dikonsumsi tiap hari pada dietnya dalam studi yang dilakukan selama 5 tahun hingga 15 tahun kemudian sejak tahun 1985. Orang laki-laki tersebut yang melanjutkan konsumsi kakao secara teratur selama 15 tahun mempunyai tekanan darah yang lebih rendah daripada orang yang tidak mengkonsumsinya. Hasil studi menunjukkan bahwa 314 orang laki-laki tersebut dari total 470 orang telah meninggal dunia dan 152 orang di antaranya disebabkan karena penyakit jantung kardiovaskular. Sedang orang yang mengkonsumsi kakao dalam jumlah tinggi meninggal separuhnya dibandingkan dengan orang yang tidak mengkonsumsi kakao secara teratur karena penyakit kardiovaskular yang sama. Bahkan risikonya pun lebih rendah dibandingkan dengan adanya faktor-faktor lain yang jadi pemicu penyakit kardiovaskular seperti bobot badan, kebiasaan merokok, tingkat aktifitas fisik, asupan jumlah kalori dan konsumsi alkohol.

Hasil penelitian Grassi *et al.* (2004) menunjukkan dan dilaporkan bahwa konsumsi cokelat gelap (*dark chocolate*) dapat memperbaiki meta-bolisme glukosa dan menurunkan tekanan darah. Mereka mempelajari dan meneliti terhadap 15 orang Italia yang masih muda dan sehat yang melakukan diet dengan suplemen tiap hari berupa 100 gram cokelat gelap, 90 gram cokelat putih dengan kalori yang tersedia 480 k kal. Kandungan senyawa polifenol dalam kakao tersebut diasumsikan berturut-turut sekitar 500 mg dan 0 mg. Dalam penelitian dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok pertama diberi asupan makanan cokelat selama 15 hari dan kelompok lainnya tanpa diberi cokelat dalam waktu yang sama. Hasil penelitian diketahui bahwa orang yang diberi suplemen cokelat gelap ternyata menunjukkan adanya perbaikan terhadap sensitifitas dan resistensi insulin serta menurunkan

tekanan darah sistolik manusia. Menurut Grassi *et al.* (2004) dinyatakan pula bahwa menurunnya tekanan darah dan sensitifitas serta resistensi insulin tersebut disebabkan karena adanya pengaturan senyawa nitrat oksida (NO) yang dihasilkan oleh senyawa flavanol yang berada dalam coklat gelap (*dark chocolate*). Interpretasi ini didukung oleh data hasil penelitian lain yang menunjukkan pengaruh flavanol terhadap produksi NO (Duffy dan Vita, 2003).

Namun demikian, pertanyaannya bagaimana mekanisme interaksi flavanol dengan sistem biologis dapat meningkatkan kemampuan bio (bioavailabilitas) nitrat oksida (NO) tersebut perlu diteliti lebih lanjut. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti menunjukkan sebagai berikut : **Mekanisme pertama**, penandaan dari sel insulin yang terletak di tengah-tengah, karena insulin dapat memodulasi beberapa penandaan molekul yang termasuk dalam pengaturan sintase NO (Sowers, 2004); **Mekanisme kedua**, penandaan/ pengkodean sel antioksidan yang terletak di tengah-tengah, karena flavanol dapat memodulasi tekanan oksidatif dan menjaga sel redoks, yang dapat memutar secara pasti kemampuan NO dan aktifitas sintase NO (Mackenzie *et al.*, 2004); dan **Mekanisme ketiga**, mencakup sistemrenin-angiotensin (De Cavanagh *et al.*, 2003) melalui terjadinya inhibisi dari permukaan enzim angiotensin (Actis-Gorreta *et al.*, 2003). pengaruh inhibisi ini, dapat membantu produksi NO dengan cara pencegahan terhadap induksi dari aktifitas enzim NADPH-oksidase sehingga menghasilk-an anion superoksida yang memicu oksidasi NO ke peroksi nitrat (Cai *et al.*, 2003), serta mencegah terjadinya kerusakan/kehancuran breadykinin pada konsentrasi yang tepat untuk memelihara aktifitas sintase NO dan produksi NO (Prabhakar *et al.*, 1998). Mekanisme potensial dari pengaruh NO, insulin dan penandaan oksidan yang terletak di tengah-tengah serta fungsi perubahan enzim angio-

tensin secara fisiologis mungkin berkaitan satu dengan lainnya (De Cavanagh *et al.*, 2004).

Hasil penelitian ilmuwan dan peneliti dari Jerman yang dilakukan oleh Heiss *et al.* (2003) menunjukkan secara signifikan bahwa orang yang mengkonsumsi kakao kaya flavanol dapat meningkatkan baik tingkat sirkulasi nitrat oksida (NO) maupun vasodilatasinya (pelebaran pembuluh darah) dibandingkan dengan orang yang hanya mengkonsumsi kakao rendah flavanol. Hasil penelitian Heiss *et al.* (2005) lainnya dengan menggunakan model orang yang suka merokok juga menunjukkan bahwa para perokok yang diberi konsumsi kakao kaya flavanol terjadi perbaikan secara signifikan terhadap sirkulasi aliran darah orang tersebut dan meningkatkannya sirkulasi NO dalam darah dibandingkan dengan perokok yang diberi konsumsi kakao rendah kandungan flavanolnya.

Anti (Menghambat) Kanker

Senyawa flavanol dan prosianidin dalam kakao menunjukkan mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan dan biosynthesis poliamin dari sel koloni kanker pada manusia. Ekstrak kakao yang diperkaya dengan senyawa prosianidin, dapat menyebabkan hingga mencapai 70% dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker dengan cara memblokir aliran sel pada fase pertumbuhan kedua atau G₂ (Kelishadi, 2005). Lebih lanjut oleh Kelishadi dinyatakan bahwa ekstrak kakao yang kaya prosianidin menyebabkan turunnya secara signifikan aktifitas enzim Ornithin dekarboksilase dan Sadenosil-methionin dekarboksilat yang keduanya merupakan enzim kunci dalam biosynthesis poliamin. Hal ini menyebabkan turunnya pada tempat berkumpulnya (*pool*) intrasellular poliamin, dimana metabolisme tersebut akan menjadi target utama

terhadap pengaruh antiproliferas polifenol kakao (Carnesecchi *et al.*, 2002).

Hasil penelitian awal juga menunjukkan bahwa senyawa polifenol pada kakao dan cokelat dapat menghambat terjadinya kematian oleh apoptoksis, baik disebabkan karena membengkaknya jaringan sel kanker usus (Carnesecchi *et al.*, 2002) maupun jaringan sel kanker payudara (Kozikowski *et al.*, 2003). Meskipun enzim-enzim yang terlibat dalam biosynthesis poliamin telah ditemukan sebagai penyebabnya, tetapi mekanisme antikanker pada tahap ini masih belum banyak diketahui dan masih perlu diteliti lebih mendalam lagi. Hasil studi penelitian dengan hewan percobaan juga menunjukkan bahwa ekstrak cairan kakao dapat digunakan untuk melawan sel kanker pada liver atau hati (Amin *et al.*, 2004) dan kelenjar saluran pankreas (Yamagishi *et al.*, 2002); namun belum pernah terjadi dan dipelajari/diteliti pada manusia.

Mencegah/Mengurangi Penyakit Diabetes

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Grassi *et al.* (2004) di Universitas L'Aquila, Italia dilaporkan bahwa dengan makan (diet) 100 gram cokelat gelap (*dark chocolate*) yang kaya flavanoid tiap hari ternyata menghasilkan dapat menurunkan tingkat kandungan insulin dan glukosa dalam darah serta menurunkan tingkat resistensi insulin; sehingga hasil ini dilaporkan bahwa cokelat gelap dapat mencegah dan mengurangi terjadinya penyakit diabetes millites. Namun hasil penelitian Brand-Miller *et al.* (2003) di *the University of Sydney* yang dilakukan beberapa tahun sebelumnya oleh Grassi dan teman-temannya, yang memeriksa pengaruh perbedaan pada tingkat kandungan insulin dan gula di dalam darah pada orang yang mengkonsumsi kakao; menunjukkan tidak adanya perbedaan terhadap respon/tanggapan *glycaemic*,

tetapi orang yang mengkonsumsi kakao sebanyak 28 persennya dari total orang diperiksa, tingkat kandungan insulinnya meningkat.

Menurut Grassi *et al.* (2004) disebutkan bahwa cokelat gelap (*dark chocolate*) yang menyebabkan meningkatnya kandungan insulin tersebut barangkali disebabkan oleh karena pengaruh metabolisme nitrat oksida (NO) yang pegang peranannya serta disebabkan karena fakta bahwa produk olahan kakao kaya sumber mineral chromium yang sangat penting untuk fungsi insulin secara tepat (Chowdery *et al.*, 2003).

Menjaga Sistem Kekebalan Tubuh

Sel-sel membran yang bersifat permeabel dihasilkan atau diproduksi oleh saluran limpa yang berisi kandungan asam-asam lemak tidak jenuh jamak tinggi. Akibatnya, asam-asam lemak tidak jenuh jamak tinggi ini sangat sensitif terhadap peroksidasi lemak atau lipidanya (Kelishadi, 2005). Ketidakseimbangan sistem kekebalan tubuh pada manusia dapat berakibat terhadap berlebihnya produksi senyawa oksigen radikal dan peroksida yang dapat menyebabkan terjadinya pembengkakan (inflamasi) yang akut sehingga berdampak pada penyakit kekebalan diri. Hasil penelitian ternyata menunjukkan bahwa antioksidan yang banyak ditemukan pada kakao dan cokelat memegang peran regulasi yang penting dalam menjaga fungsi kekebalan tubuh, serta pencegahan terhadap timbulnya infeksi dan penyakit kekebalan diri (Sanbongi, 1997).

Memperkuat Resistensi Terhadap Hemolisis

Hasil penelitian dan evaluasi pengaruh penghambatan senyawa flavon (-) epikatekin dan (+) katekin serta procianidin oligomer dalam kakao terhadap

pecahnya sel-sel darah merah atau hemolisis erithrosit pada tikus, menunjukkan bahwa membran memberi pengaruh perlindungan dan memperkuat resistensi terhadap hemolisis (Weisburger, 2001). Senyawa-senyawa flavon di atas juga menunjukkan menyebabkan ketergantungan dosis inhibisi dari senyawa enzim 15-lipoksigenase-1 terisolasi dengan bentuk oligomer yang lebih besar dan lebih aktif (Schewe *et al.*, 2001). Senyawa-senyawa tersebut juga dapat menghambat formasi pembentukan asam-15-hidroksi-eikosatetranoat dari asam arachidonat pada sel-sel jaringan hewan kelinci dengan senyawa enzim 15-lipoksigenase-1 pada manusia (Bearden *et al.*, 2000).

Memperbaiki Kinerja Kemampuan Kognitif

Pada umumnya ketika tubuh kita melakukan metabolisme secara aktif dan organ memerlukan oksigen, maka otak kita secara khusus mudah sekali menerima gugus radikal bebas yang rusak, yang berimplikasi terhadap kemampuan kognitif dan kehilangan daya ingatan (*memory*) bagi orang yang sudah tua usianya yang disebut penyakit Alzheimer (Alspach, 2007). Hasil penelitian akhir-akhir ini terhadap orang-orang yang masih muda dan sehat menggunakan pencitraan resonansi magnetik fungsional ditemukan bahwa asupan bahan pangan dari kakao dan cokelat yang kaya flavanol ke dalam tubuh berhubungan erat dengan meningkatnya aliran darah pada jaringan syaraf otak yang berarti bahwa flavanol pada kakao dapat memegang peranan penting dalam perlakuan pengurangan pelemahan kinerja otak sebagai akibat aliran darah pada jaringan syaraf otak yang rendah termasuk defisiensi mental yang serius dan *stroke* atau tiba-tiba kehilangan kesadaran disertai paralisis yang disebabkan karena terjadinya penggumpalan darah di otak (Francis *et al.*, 2006).

Mencegah Terjadinya Karies Gigi

Telah diketahui bahwa kakao dan ekstrak polifenol dari kakao dapat mencegah karies gigi atau gigi karies (Kelishadi, 2005). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa polifenol dapat menginaktifkan enzim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis dalam memproduksi poli-sakarida dari gula – suatu bahan pengikat yang mengencangkan *dental plaque* pada gigi (Gravenmade dan Jenkins, 1986). Secara komersial kakao dan cokelat mengandung senyawa flavonoid dalam kisaran yang cukup luas. Beberapa produk olahan kakao dan cokelat ada yang tidak mengandung senyawa flavonoid atau mengandung flavanoid dalam jumlah yang kecil (0,09 mg procianidin per gram) dan produk yang lain mengandung flavanoid yang relatif tinggi (4 mg procianidin per gram) dibandingkan dengan produk-produk pangan pabrikan lainnya. Dengan demikian, diperkirakan rata-rata kandungan flavonoid dari produk cokelat yang kaya flavanoid yang diperlukan untuk melawan/mencegah pengaruh terjadinya gigi karies yang akut dan kronis berturut-turut adalah 38 gram dan 125 gram (Kelishadi, 2005).

Anti Hipertensi

Ada pendapat asli/original yang menyatakan bahwa kakao mempunyai sifat-sifat anti-hipertensi yang berasal dari hasil stdui secara observasi terhadap populasi orang-orang Khuna Indian di Panama, yang mengkonsumsi kakao dalam jumlah banyak ternyata mengindikasikan bahwa orang-orang Khuna Indian di Panama tersebut banyak yang tidak terkena penyakit tekanan darah tinggi atau hipertensi (Chevaux *et al.*, 2001). Meskipun hubungan sebab dan akibat pengaruhnya tidak disimpulkan, beberapa hasil studi klinis

secara "trial" telah mendukung pendapat bahwa kakao dapat digunakan untuk meningkatkan aliran darah dan mencegah terjadinya tekanan darah tinggi (Adams, 2004).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi dalam bentuk minuman kakao (Fisher *et al.*, 2003; Heiss, 2005) atau dalam sejumlah kecil cokelat gelap atau dark chocolate (Engler *et al.*, 2004) dapat memperbaiki sistem aliran dilasi darah (pengukuran terhadap kemampuan pembuluh arteri menjadi rileks dan mempercepat akomodasi aliran darah); tetapi tidak menurunkan tekanan darah (Adams, 2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dibutuhkan paling sedikit 100 gram per hari cokelat gelap yang kaya flavanol, perlu dikonsumsi manusia untuk bisa menurunkan tekanan darah, baik terhadap subyek hipertensif (Taubert *et al.*, 2005; Grassi *et al.*, 2005) atau pada subyek normotensif (Grassi *et al.*, 2005). Hal ini disebabkan adanya penemuan bahwa konsumsi terhadap kakao dapat menyebabkan pengaruh sel endothelium vaskular melepaskan senyawa nitrat oksida (NO), yaitu suatu hormon yang bertanggung jawab untuk dilasi saluran darah sehingga hal ini diakui sebagai mekanisme aksi tanggung jawab terhadap pengaruh yang diteliti tersebut (Vlachopoulos *et al.*, 2005).

Mencegah Atherogenesis

Seperti diketahui bahwa cokelat mengandung 30% lemak, terutama lemak kakao yang terdiri dari kurang lebih 60% asam-asam lemak jenuh (35% asam stearat dan 25% asam palmitat) dan sekitar 40% merupakan asam lemak tidak jenuh, terutama asam oleat (Osakabe *et al.*, 1998). Lemak cokelat dari lemak kakao terdiri dari asam oleat (asam lemak jenuh tunggal yang unggul dan berpengaruh baik terhadap kardiovaskular), seperti halnya asam

stearat dan asam palmitat, secara kimia diklasifikasikan sebagai asam-asam lemak jenuh (Kritchevsky *et al.*, 1992).

Beberapa hasil penelitian ternyata menemukan kejadian (*evidence*) bahwa tidak seperti lemak jenuh lainnya, asam stearat mempunyai pengaruh yang netral pada kolesterol dalam darah manusia. Lemak kakao ternyata secara signifikan tidak menimbulkan penyakit kolesterolemik dan atherogenik dibandingkan dengan minyak sawit atau minyak kelapa (Kelishadi, 2005). Bahkan hasil penelitian lain mengindikasikan bahwa lemak kakao di dalam cokelat yang berada dalam bentuk lemak trigliserida stearat dapat meningkatkan HDL (*high-density lipoprotein*) atau "kolesterol baik" (Wan *et al.*, 2001) daripada dipertahankan baik sebagai lemak hewan yang tidak bermanfaat atau kolesterol tersembunyi yang siap dibersihkan dari tubuh kita melalui ekskresi gastrointestinal (Raloff, 2000).

Perbedaan antara pengaruh atherogenik dari lemak kakao dan minyak sawit dapat disebabkan karena terdapat fakta bahwa kira-kira kandungan atau susunan asam-asam lemak yang terdapat pada minyak sawit terdiri dari unsur C₁₆ atau dalam ikatan C yang lebih pendek; sedangkan 76% asam-asam lemak pada lemak kakao merupakan senyawa yang tersusun dari C₁₈ atau dalam ikatan C yang lebih panjang (Kris-Etherton *et al.*, 1993).

KELEMAHAN DAN KENDALA PRODUK COKELAT SEBAGAI PRODUK PANGAN UNTUK KESEHATAN

Proses Pengolahan Menurunkan Kandungan Senyawa Flavanoid

Meskipun beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi terhadap

kakao dan coklat positif serta bermanfaat untuk kesehatan; tetapi beberapa jenis produk olahan kakao seperti *candy bars*, *cookies* dan *cake* yang secara substansial mengandung kalori, dalam beberapa tahap proses pengolahannya dapat menurunkan kandungan senyawa antioksidan pada produk yang dihasilkan (Alspach, 2007). Disamping itu, sejumlah tahap proses pengolahan yang membantu mengurangi rasa sepat (*pungent*) dan pahit (*bitter*) pada produk olahan kakao, justru malah dapat mengakibatkan pada menurunnya jumlah kandungan senyawa flavonoid dalam produk yang dihasilkan. Makin banyak dan kompleks tahap proses pengolahan yang dilalui, maka makin banyak kandungan flavonoid yang hilang (De Noon, 2003).

Proses Fermentasi Menurunkan kandungan Polifenol

Hasil penelitian Misnawi dan Selamat (2003) menunjukkan bahwa konsentrasi polifenol dalam kakao mengalami penurunan secara nyata selama proses fermentasi. Kakao yang difermentasi selama 5 hari mengalami penurunan konsentrasinya sebanyak 53,4% dari konsentrasi asalnya yang mencapai 135,1 g per kg. Sedangkan konsentrasi tannin menurun hingga 38,7% dari konsentrasi asalnya yang mencapai 79,3 g per kg. Hasil kandungan polifenol total dan tannin total setelah 5 hari fermentasi berturut-turut adalah 63,0 g per kg dan 48,6 g per kg.

Penurunan kandungan senyawa polifenol tersebut diduga disebabkan karena oksidasi polifenol melalui aksi/tindakan dari enzim polifenol oksidase, keluarnya eksudasi (*exudation*) dari biji, dan derivasi terhadap senyawa kompleks polifenol (Misnawi dan Selamat, 2003) serta terjadinya polimerisasi senyawa polifenol (epikatekin dan anthosianidin) membentuk

senyawa tannin dengan bobot molekul yang tinggi (Shahidi dan Naczek, 2003). Enzim polifenol oksidase merupakan enzim yang sangat penting dalam proses oksidasi senyawa polifenol pada kakao. Enzim ini mulai bekerja dari saat proses fermentasi dan berlanjut hingga pada tahap awal proses pengeringan (Hansen *et al.*, 1998). Derivasi senyawa polifenol disebabkan adanya interaksi dengan senyawa protein (Kroll dan Rawel, 2001).

Menyebabkan Anak Hiperaktif

Cokelat merupakan salah satu produk pangan yang dapat memperkuat pengaruh sindrom anak menjadi hiperaktif (Bardoces, 2001), tetapi sejak tidak adanya satupun hasil penelitian yang menemukan pengaruh negatif pangan terhadap tingkah laku anak, maka beberapa peneliti merekomendasikan untuk anak-anak yang bermasalah dengan tingkah lakunya yang hiperaktif, perlakuan diet terhadap anak tersebut tidak tepat atau tidak diperlukan (Krummel *et al.*, 1996).

Menyebabkan Reaksi Alergi

Cokelat merupakan salah satu produk pangan yang ditengarai dapat jadi pemicu gejala alergi kulit pada anak-anak yang disebut atopik dermatitis (Steinman dan Potter, 1994). Makanan penyebab alergi memang jarang ditemukan dan kadang-kadang juga kontroversial; namun terdapat laporan yang menyatakan bahwa 2 orang anak mengalami keakutan *vaculities* (*severe vaculities*) karena pangan spesifik seperti coklat (Businco *et al.*, 2002). Hasil kajian kembali terhadap reaksi alergi dari kakao menyimpulkan bahwa meskipun ada kontra-indikasi khusus terhadap individu yang mengonsumsi coklat, hal ini tidaklah berlaku untuk populasi umum seluruhnya.

Menyebabkan *Migraine*

Beberapa peneliti seperti Savi *et al.* (2002), melaporkan bahwa serangan terhadap sakit kepala dan *migraine* dapat disebabkan oleh beberapa jenis makanan tertentu seperti keju, anggur merah, jeruk, jeruk lewat masak, termasuk produk olahan kakao dan cokelat. Hal ini disebabkan karena kakao dan cokelat mengandung asam amino tiramin (Sky, 2005). Penelitian lain juga menunjukkan kejadian secara obyektif bahwa cokelat dapat mempengaruhi terhadap serangan *migraine* pada beberapa orang pasien yang sakit dan pada mereka yang sensitif terhadap cokelat tersebut (Gibb *et al.*, 1991). Namun sebaliknya ada kejadian yang berbalik dengan hasil studi di atas bahwa cokelat bukan merupakan pemicu umum sakit kepala atau *migraine* (Murphy dan Castell, 1988).

Dosis yang Tepat Untuk Therapi Kesehatan Belum Diketahui

Meskipun kakao dan cokelat dengan kandungan senyawa polifenol dan flavanoid yang kaya antioksidan bermanfaat untuk kesehatan; tetapi berapa dosis yang tepat dan pasti dalam konsumsi/menu kakao dan cokelat per hari atau per minggu atau per bulan untuk therapi kesehatan guna mencegah terjadinya penyakit tekanan darah tinggi (hipertensi), kardiovaskular dan kanker belum diketahui dengan pasti (Alspach, 2007). Sedangkan di pasar/toko swalayan atau super market banyak dijumpai jenis produk olahan kakao seperti : cokelat gelap (*dark chocolate*) dengan kandungan/konsentrasi kakao tinggi, cokelat susu (*milk chocolate*) dengan kandungan/konsentrasi kakao yang lebih rendah daripada dark chocolate serta cokelat putih (*white chocolate*) dengan

kandungan kakao yang sangat rendah. Padahal makin gelap (warna cokelat) makin bermanfaat bagi kesehatan, karena kandungan senyawa polifenolnya yang tinggi ditemukan hanya di kakao bukan pada susu, krim, gula atau bahan tambahan ingredien lain (Alspach, 2007).

Disamping itu, hasil penelitian yang dilakukan oleh beberapa orang peneliti di *the National Institute for Food & Nutrition Research*, Roma (Italia) dinyatakan bahwa susu dapat menginterferensi dan mengabsorpsi anti-oksidan dari cokelat, sedang cokelat putih (*white chocolate*) tidak mengandung antioksidan sehingga kurang bermanfaat bagi kesehatan (De Noon, 2003).

PENUTUP

Kakao merupakan salah satu dari keseluruhan berbagai jenis bahan pangan yang kaya senyawa flavonoid. Beberapa senyawa fenolik yang terdapat pada lemak cokelat resisten terhadap peroksidasi, dan berdasarkan hasil studi baik secara *in vitro* maupun *in vivo* mengindikasikan bahwa senyawa fenolik tersebut mempunyai aktifitas biologis, terutama pada pengaruhnya terhadap kapasitas antioksidan dan sifat kekebalannya. Oleh karena itu, para peneliti diharapkan melakukan kegiatan penelitiannya terhadap berbagai jenis kandungan senyawa flavanol yang dikonsumsi dalam bentuk kakao dan cokelat serta industri pangan yang menggunakan produk kakao dan cokelat dalam menghasilkan produknya tetap menjaga produk tersebut tetap kaya kandungan flavanoidnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Actis-Goretta, L., Ottaviani, JI, Keen, CL and Fraga CG. 2003. "Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins". *FEBS Lett.* 555 : 597–600.
- Adams, SJ. 2004. "A critical look at the effects of cocoa on human health". *Nutr. Australia national Newsletter Winter*: 10–13.
- Al-Faris, NA. "Short-term consumption of dark chocolate containing Flavanols is followed by a significant decrease in Normotensive population". *Pakistant Journal of Nutrition* 7 (6) : 773 – 781.
- Alspach, G. 2007. "The truth is often bittersweet : Chocolate does a heart good". *Critical care Nurse Vol. 27 No. 1.* : 11- 15.
- Amin, I., Koh, BK and Asmah, R. 2004. "Effect of cacao liquor extract on tumor marker enzyme during chemical hepato carci-nogenesis in rats sp." *J. Med. Food* 7 : 7 – 12.
- Arlorio, M., Coisson, JD; Turri, A. and Martelli, A. 2000. "Effecto antibatterio di estatti fenolici in *Theobroma cacao*". *La Rivista di Scienza dell' Alimentazione* 30 (Suppl. 3) : 251–260.
- Arlorio, M., Coisson, JD; Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G. and Martelli, A. 2005. "Antioxidant and biological activity of phenolic pigment from *Theobroma cacao*, L. hulls extracted with supercritical CO₂". *Food Research International* 38 : 1009–1014.
- Arteel, GE; Schroeder, P. and Seis, H. 2000. "Reactions of peroxy-nitrite with cocoa pro-cyanidin oligomers". *J. Nutrit.* 130 : 2100s–2104s.
- Atrs, IC; Hollman, PC and Kromhout, D. 1999. "Chocolate as source of tea flavonoids". *Lancet* 354 : 488 – 491.
- Atrs, IC; Hollman, PC; Feskens, JM, de Mesquita, HB and Kromhout, D. 2001. "Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease : The Zutphenelderly Study". *Amer. J. Clin. Nutrit.* 74 : 227 – 232.
- Bardonces, JL. 2001. "Attention deficit and infantile hyperactivity". *Rev. Enferm.* 24 : 11–14.
- Bartolome, B., Estrelia, I. and Hernandez, MT. 2000. "Interaction of low molecular weight phenolics with protein". *J. of Food Sci.*, 65 : 617 – 621.
- Bearden, MM; Pearson, DA and Rein, D. 2000. „Potential cardiovascular health benefits of pyrocyanidins present in chocolate and cocoa“. In *Caffeinated be-verages health benefits, physiological effects and chemistry*; ed. by Parliament, JH; Ho, CT and Schieberle, P. American Chemical Society, Washington, DC. : 177–186.
- Brand-Miller, J.; Holt, SH; de Jong, V. and Petocz, P. 2003. "Cocoa powder increases postprandial insulinemia in lean young adults". *J. Nutr.*, 133 : 3149–3152.
- Buijsse, B., Feskens, EJM; Kak, FJ and Kromhout, D. 2006. "Cocoa intake, blood pressure and cardiovascular mortality : The Zutphen elderly Study". *Arch. Intern. Med.* 166 : 411–417.

- Businco, L.; Falconieri, P.; Belliani, BB and Bahna, SL. 2002. "Severe food-induced vasculitides in two children". *Pediatr. Allergy Immunol.* 13 (1): 68–71.
- Cai, H., Griendling, KK and Harrison, DG. 2003. "The vascular NAD (P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases". *Trends Pharmacol. Sci.* 24 : 471–478.
- Carnesecchi, S.; Schneider, Y.; Lazarus, SA; Coehlo, D., Gosse, F. and Raul, F. 2002. "Flavanol and pyrocyanidin of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells". *Cancer Lett.* 175 (2) : 147–155.
- Chevaux, KA; Jackson, L.; Villar, ME; Mundi, JA; Commisco, JF; Adamson, MM; Schmitz, HH and Hollenberg, NK. 2001. "Proximate, mineral and pyrocyanidin content of certain foods and beverages consumed by the Khuna Indian Amerinds of Panama". *J. Food Composition and Analysis*, 14 : 553–563.
- Chowdury, S.; Pandit, K., Roychowdury, P. and Bhattacharya, B. 2003. "Role of chromium in human metabolism, with special reference to type 2 diabetes". *J. Assoc. Physicians India.*, 51 : 701–705.
- De Canavagh, EM; Piotrowski, B. and Fraga, CG. 2004. "Concerted action of the rennin-angiotensin system, mitochondria and antioxidant defenses in aging". *Mol. Aspects Med.* 25 : 27 - 36.
- De Canavagh, EM; Piotrowski, B. and Baso, N. 2003. "Enalapril and losartan attenuate mitochondrial dysfunction in aged rats". *FASEB J.*, 17 : 1096–1098.
- De Noon, D. 2003. "Dark chocolate is healthy chocolate". *Web MD Medical News*, August 27. [Http ://www.cleveland Clinic.org/heart-center/pub/guide/prevention/nutrition](http://www.cleveland Clinic.org/heart-center/pub/guide/prevention/nutrition) (Diakses 27 Agustus 2009).
- Duffy, SJ and Vita, JA. 2003. "Effects of phenolics on vascular endothelial function". *Curr. Opin. Lipidol.*, 14 : 21–27.
- Engler, MB; Engler, MM ; Malloy, MJ; Browne, A., Paul, SM; Blumberg, J., and Chin, CY. 2004. "Flavonoid-rich dark chocolate and increase plasma epicatechin concentrations in healthy adults". *J. Am. College Nutr.* 23 : 197–204.
- Ensminger, AH; Ensminger, ME; Konlande, JE and Robson, JRK. 1995. *The Concise Encyclopedia of Foods and Nutrition*. CRC Press., Philadelphia–USA : 206–208.
- Evans, WC. 1998. *Trease and Evans' Pharamagonosy, 14th Edition*. WB Saunders Co., Philadelphia–USA : 402–403.
- Fisher, NDL; Hughes, M., Gerhard-Herman, M and Hollenberg, NK. 2003. "Flavanol-rich cocoa induces nitric oxides dependent in healthy humans". *J. Hypertens.* 21 : 2.281–2.286.
- Fraga, CG. 2005. "Cocoa, Diabetes and hypertension : should we eat more chocolate?" *Amer.J. Clin. Nutr.* 81 : 541–542.
- Francis, ST; Head, K., Morris, PG and Mc.Donald, IA. 2006. "The effect of flavanol-rich cocoa on the fMRI response to a cognitive task in healthy young people". *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 47 (Suppl. 2) : S.221–S.223.
- Fries, JH. "Chocolate : A review of published reports of allergic and other deleterious effects, real or presumed". *Ann. Allergy* 41 (4) : 195–212.

- Gibb, CM; Davies, PT; Glover, V., Steiner, TJ; Clifford, RF and Sandler, M. 1991. „Chocolate is a migraine-provoking agent“. *Cephalalgia* 11 (2) : 92–95.
- Grassi, D., Lippi, S., Nicoziona, S., Desideri, G. and Ferri, C. 2004. “Short-term administration of dark chocolate is followed by significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons”. *Amer. J. Clin. Nutr.* 81 : 611–614.
- Grassi, D., Nicoziona, S., Lippi, C., Croce, G., Valeri, L., Pas-qualetti, P., Blumberg, JB and Ferri, C. 2004. “Cocoa induces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vaso-dilation in hypertensives”. *Hypertension J.*, 46 : 398–405.
- Gravenmade, EJ and Jenkins, GN. 1986. “Isolation, purification and some properties of potential cariostatic factor in cocoa that lowers enamel solubility”. *Carries Research* 20 : 433–436.
- Hansen, CE ; Del-Olmo, MC and Burri, C. 1998. “Enzyme activities in cocoa beans during fermentation”. *J. of the Sci. and Food Agric.*, 77 : 273–281.
- Heiss, C., Dejam, A., Kleinbogard, P., Schewe, T., Seis, H. and Kelm, MA. 2003. “Vascular effect of cocoa rich in flavan-3-ols”. *J. of Amer. Med. Assoc. (JAMA)* 290 : 1030–1031.
- Heiss, C., Dejam, A., Kleinbogard, P., Perre, S., Schroeten, H. and Kelm, M. 2005. “Accute consumption of flavanol-rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers”. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 46 : 1276–1283.
- Hertog, MG; Sweetman, PM and Fehily, AM. 1997. “Antioxidant flavanols and ischemic heart disease in a Welsh population of men : The Caerphilly Study”. *Amer. J. Clin. Nutr.* 65 : 1.489–1.494.
- Hollman, PC and Katan, MB. 1999. “Dietary flavanoids : Intake, health effects and bioavaibility”. *Food Chem. Toxic.* 37 : 937–942.
- Holt, RR; Schramm, DD; Keen, CL; Lazarus, SA and Schmitz, HH. 2002. „Chocolate consumption and platelet function“. *J. of Amer. Med. Assoc. (JAMA)* 287 (17) : 2215–2215.
- Hsieh, YHP and Ofori, JA. 2007. ”Innovation in food technology for health”. *Asia Pasific J. Clin. Nutr.* 16 (suppl.1) : 65-73.
- Hung, HC., Joshipura, KJ and Jiang, R. 2004. “Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease”. *J. National Cancer Inst.* 96 : 1577–1584.
- Keen, CL. 2001. “Chocolate : Food as Medicine/Medicine as Food : Review”. *J. of Amer. College of Nutr. Vol 20 No.5* : 436s–439s.
- Kelishadi, RMD. 2005. “Cacao to Cocoa to Chocolate : Healthy Food? *ARYA Journal* Vol. 1., issue 1 : 28–34.78-481.
- Knekt, P., Jarvinem, R., Renananen, A. and Maatela, J. 1996. „Flavonoid intake and coronary mortality in Findland : A cohort study“. *Brit. Med. Journal* 312 : 478–481.
- Kozikowski, AP; Tuckmantel, W., Bottcher, G. and Romanczyk, LJ. 2003. “Studies in polyphenol chemistry and bioactivity, 4 (1) synthesis of trimetric, tetrametric, penta-metric, and higher oligomeric epicatechin-derived procyani-dins having all-4 beta, 8-interflavanon connectivity and their inhibition of cancer cell growth through cell cycle arnest”. *J. Org. Chem.* 68 : 1641–1668.

- Kris-Etherton, PM ; Derr, J. and Mitchell, DC. 1993. "The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins and apo-lipoproteins : I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil. Dairy butter and milk chocolate on the plasma lipids of young men". *Metabolism* 42 : 121 – 129.
- Kris-Etherton, PM and Keen, CL. 2002. "Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health". *Curr. Opin. Lipidol.*, 13 : 41 – 49.
- Kritchevsky, D.; Tepper, SA; Bises, G.; and Klurfeld, DM. 1992. "Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets". *Atherosclerosis* 41 (2-3) : 279 – 284.
- Kroll, J. and Rawell, HM. 2001. "Reactions of plant phenols with myoglobin : influence of chemical structure of the phenolic compounds". *J. of Food Sci.*, 66 : 48 – 58.
- Krummel, DA; Seligson, FH and Guthrie, HA. 1996. „Hyperactivity is candy causal ?" *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 36 (1-2) : 31 – 47.
- Lazarus, SA; Adamson, GE; Hammerstone, PC and Schmitz, HH. 1999. "High-performance liquid chromatography, mass spectrometry analysis of proanthocyanidins in cocoa and beverages". *J. Agric. Food Chem.*, 47 : 3693 – 3701.
- Liwei, G.; Kelm, MA; Hammerstone, JF; Bercher, G., Holden, J., Gebhardt, S. and Prior, RL. 2004. " C o n c e n t r a t i o n o f proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption". *J. Nutr.*, 134 : 613 – 617.
- Mackenzie, GG; Carrasquedo, F., Delfino, JM; Keen, CL, Fraga, CG and Oteiza, PI. 2004. "Epicatechin, catechin and diametric procyanidin inhibit nPMA-induced NF-kappa B activation at multiple steps in jurkat T cells. *FASEB J.*, 18 : 167 – 169.
- Misnawi dan Selamat, J. 2003. "Effect of cocoa bean polyphenols on sensory properties and their changes during fermentation". *Pelita Perkebunan* 19 (2) : 90 – 103.
- Morel, I., Leescoat, G., Cillard, P. and Cillard, J. "Role of flavonoids and iron chelation in antioxidant action". *Method Enzyme* 234 : 437 – 443.
- Murphy, DW and Castell, DO. 1988. "Chocolate and heatburn, evidence of increased esophageal acid exposure after chocolate ingestion". *Am. J. Gastroentrol.* 83 (6) : 633 – 636.
- Murphy, KJ; Chronopoulos, AK; Singh, I., Francis, MA; Moriarty, H., Pike, MJ; mann, NJ and Sinclair, AJ. 2003. "Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function". *Am. J. Clin. Nutr.* 77 : 1466 – 1473.
- Osakabe, N., Yamagishi, M.; Sanbongi, C.; Natsume, M.; Takizawa, T. and Osawa, T. 1998. "The antioxidative substances in cacao liquor". *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 44 : 313 – 321.
- Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., Takizawa, T., Terao, J. and Kondo, K. 2002. "Catechins and their oligomers linked by C₄----C₈ bonds are major cacao polyphenols and protect low density lipoprotein from oxidation *in vitro*". *Exp. Biol. Med.* 227 (1) : 51 – 56.

- Osawa, K., Matsumoto, T., Mayurama, T., Naito, Y., Okuda, K. and Takozoe, I. 1990. "Inhibitory effects of aqous extract of cacao bean husk on collagenose of *Bacteriodes gingivalis*". *Bull. of Tokyo Dental College* 31: 125–128.
- Pearson, DA; Schmitz, HH; Lazarus, SA and Keen, CL. 2001. "Inhibition of in vitro low density lipoprotein oxidation by oligomeric procyanidins present in chocolate and cocoas". *Methods Enzymol.* 335: 350–360.
- Prabhakar, P.; Thatte, HS; Goetz, RM, Cho, MR; Golan, DE and Michel, T. 1998. "Receptor-regulated translocation of endothelial nitric-oxide syn-thase". *J. Biol. Chem.* 273: 27883–27888.
- Raloff, J. 2000. "Chocolate hearts : Yummy and good medicine?". *Sci. News* 157: 177–192.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. and Zhang, L. 2003. „Flavonoids : promosing anticancer agents“. *Medical Research Review* 23: 519–534.
- Rein, D., Paglierori, TG; Wun, T., Pearson, DA; Schmitz, HH; Gosselin, R and Keen, CL. 2000. "Cocoa inhibits platelet activation and function". *Amer. J. Clin. Nutr.* 72: 30–55.
- Rizza, RA; Liang, V., Mc.Mohan, M. and Harrison, G. 2000. *Encyclopedia of Foods : A Guide to Healthy Nutrition*. Academic Press. London : 403–406.
- Sanbongi, C. 1997. "Combat cell damage". *Cell Immune I (May)* 177 (2) : 129–136.
- Sanbongi, C., Osakabe, N., Natsume, M., Takizawa, T., Gomi, S. and Osawa, T. 1998. "Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*". *J. of Agricultural and Food Chemistry* 46: 454–457.
- Salah, N., Miller, NJ and Panganga, G. 1995. "Polyphenolic flavanols as scavenger of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidant-agents". *Arch. Briche Biophys.* 322: 339–346.
- Sanchez-Rabaneda, F.; Jauregui, O., Cassal, I., Andres-Lacueva, C., Izquierdo-Polido, M. and Raventos, RM. 2003. "Liquid chromatographic/electrospray ioni-zation tandem mass spectrometric study of phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*)". *J. of Mass Spectrometry* 38: 35–42.
- Savi, L.; Reinerio, I., Valfne, W.; Gentile, S. and Pinessi, L. 2002. "Food and headache attacks : A comparison of patients with migraine and tension type headache". *Panminerva Med.* 44 (1) : 27–31.
- Schewe, T., Sadik, C.; Klotz, LO; Yoshimoto, T.; Kuhn, H. and Seis, H. 2001. „Polyphenols of cocoa : inhibition of mammalian 15-lipoxygenase“. *Biol. Chem.* 382 (12) : 1687 – 1696.
- Schramm, DD; Wang, JF; Holt, RR; Ensunsa, JL, Gonsalves, JL, Lazarus, SA; Schmitz, HH; German, JB and Keen, CL. 2001. "Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells". *Amer. J. Clin. Nutr.* 73: 36–40.
- Shahidi, F. and Naczck, M. 2003. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC Press, Boca raton, Florida–USA.
- Sky, SS. 2005. "Potential negative effects of chocolate". *Chocolate : A Report for chocolate lovers*". *Ashland Acupuncture Informa-tion*. Http ://www. Ashland- acu.com. (Diakses 10 Agustus 2009).

- Sowers, JR. 2004. "Insulin resistance and hypertension". *Amer. J. Physiol. Heart Circ.* 286: H.1597–H.1602.
- Steinman, HA and Potter, PC. 1994. "The precipitation of symptoms by common foods in children with a topic dermatitis". *Allergy Proc.* 15 (4):203–210.
- Taubert, D.; Beckels, R.; Rossen, R. and Klaus, W. 2003. "Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension". *J. Amer. Med. Assoc. (JAMA)* 290 (8) : 1.029 – 1031.
- Vicioli, F., Borsami, L. and Galli, C. 2000. Diet and prevention of coronary heart disease : the potential role of phytochemicals ". *Cardiovasc. Research* 7 (3):419–423.
- Vinson, JA; Proch, J., and Zubik, L. 1999. Phenol antioxidant quantity and quality in foods : cocoa, dark chocolate, and milk chocolate". *J. Agric. Food Chem.*, 47(12): 4821 – 4824.
- Vinson, JA; Proch, J., and Bose, P. 2006. "Chocolate is powerfull ex vivo and in vivo antioxidant, an anti-atherosclerotic agent in animal model and significant contributor to antioxidants in European and American diets". *J. Agric. Food Chem.*, 54: 8071 – 8076.
- Vlochopoulos, C.; Aznaouridis, K.; Alexpoulos, N.; Economou, E. and Stefanadis, C. 2005. "Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals". *Amer. J. Hypertens.*, 18: 785–791.
- Wan, Y., Vinson, JA; Etherton, TD; Proch, J., Lazarus, SA and Kris-Etherton, PM. 2001. "Effect of cocoa powder and dark chocolate ol LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans". *Amer. J. Clin. Nutr.* 74 (5): 596–602.
- Wang-Polagruto, JF; Villablanca, AC and Polagruto, JA. 2006. "Chronic consumption of flavanol-rich cocoa improves endothelial function and decreases vascular cell adhesion molecule in hypercholesterolemic postmenopausal women". *J. Cardivasc. Pharmacol.* 47 (Suppl. 2): S177–S.186.
- Waterhouse, AL. 1996. "Source of good antioxidants". *The Lancet* 348 : 807–809.
- Weisburger, JH. 2001. "Chemo preventive effects of cocoa polyphenols in chronic diseases". *Expl. Biol. Med.* 226 (10) :891–897.
- Weisburger, JH. 2002. "Lifestyle, health and disease prevention : The underlying mechanisms". *European J. Cancer Prev.* 11. (Suppl. 2): S₁–S₇.
- Wollgast, J. and Anklam, E. 2000a. "Review on polyphenols in *Theobroma cacao* : Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification". *Food Research Int.* 33: 423 - 447.
- Wollgast, J. and Anklam, E. 2000b. "Polyphenols in chocolate : Is there a contribution to human health?". *Food Research Int.* 33 : 449 - 459.
- Yamagishi, M., Natsume, M.; Osakabe, N., Nakamura, H.; Furukawa, F.; Nishikawa, A. and Herose, M. 2002. "Effect of cacao liquor proanthocyanidins on Ph IP-induced mutagenesis *in vitro*, and *in vivo* mammary and pancreatic tumorigenesis in female sprague-Dawley rats". *Cancer Lett.* 185 : 123–130.
- Zhu, QY, Holt, RR; Lazarus, SA; Orazco, TJ and Keen, CL. 2002. "Inhibitory effect of cocoa flavones and procyanidin oligomers on free radical-induced erythrocyte hemolysis". *Exp. Biol. Med.* 227 (5) : 321–329.