

**Aktivitas Antioxidant, Polifenol Dan Evaluasi Sensori Cokelat Oles Fortifikasi
Red Palm Olein Dari Biji Kakao Pilihan Klon Sulawesi Barat**

**Antioxidant Activity, Polyphenols, And Sensory Evaluation Chocolate Spread Fortified
Red Palm Olein From Selected Cocoa Beans Clone West Sulawesi**

¹Nur Fitriani Usdyana Attahmid, ¹Dewan Saputra, ²Muhammad Yusuf

¹Program Studi Agroindustri, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep, Jl. Poros Makassar – Parepare
KM. 83 Mandalle, 90655, Kabupaten Pangkep, Indonesia

²Program Studi Teknologi Kimia Industri, Politeknik Negeri Ujung Pandang, Jl. Perintis Kemerdekaan
KM. 10 Tamalanrea, 90245, Makassar, Indonesia

*Corresponding author: nurfitriani.poltekpangkep@gmail.com

Diterima tanggal 08 Mei 2020, Disetujui tanggal 30 Mei 2020

Abstrak

Sulawesi Barat merupakan salah satu penghasil kakao utama dengan kontribusi sekitar 22 % terhadap produksi kakao di wilayah Sulawesi. Pengembangan kakao fermentasi dan tanpa fermentasi dalam pembuatan produk cokelat oles memberikan alternatif baru sebagai pangan fungsional. Penelitian ini bertujuan untuk karakterisasi aktivitas antioksidan, polifenol, karotenoid dan sensori pada produk cokelat oles menggunakan biji kakao pilihan melalui variasi cocoa liquor, gula aren dan red palm olein sehingga diperoleh produk cokelat oles fungsional. Parameter analisis karakteristik cokelat oles menggunakan Uji kuantitatif kadar polifenol total dengan metode *Folin Ciocalteu*, kadar total flavanoid, asam lemak bebas dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH IC₅₀, serta analisis organoleptik menggunakan metode hedonik tingkat kesukaan. Fortifikasi cokelat oles menghasilkan kadar asam lemak bebas 0.88%, polifenol 2,6%, karotenoid 122.12 mg/g dan aktivitas antioksidan terkuat kisaran 24.1-26.4%. Cokelat oles variasi cocoa liquor, gula aren dan substitusi lemak kakao dengan red palm olein, secara umum disukai oleh panelis dari segi rasa dan aroma. pemanfaatan gula aren dan red palm olein memberikan efek fungsional yang baik untuk produk cokelat oles sehingga sangat baik dikonsumsi untuk kesehatan karena bersifat pangan fungsional.

Kata kunci: *antioksidan, cokelat oles, karotenoid, polifenol, sensori.*

Abstract

West Sulawesi is one of the primary cocoa producers with a contribution of about 22% of cocoa production in the Sulawesi region. The development of cocoa fermentation and without fermentation in the manufacture of chocolate spread products provide a new alternative as a functional food. This research aims to characterize the activity of antioxidants, polyphenols, carotenoids, and sensory in chocolate products using selected cocoa beans through cocoa liquor variation, palm sugar, and brown olein so obtained the outcome of functional chocolate. A quantitative test of the fortified chocolate spread, as well as the evaluation of antioxidant and sensory parameters in the chocolate spread, were investigated. Polyphenols with Folin Ciocalteu method, flavanoid, free fatty acids, and antioxidant activity were analyzed by the DPPH method of IC₅₀, and while for organoleptic by a hedonic method. Fortification of 0.88% free fatty acids, polyphenols 2.6%, 122.12 mg/g carotenoids, 24.1-26.4% antioxidant activity per 100 g chocolate spread was conducted. Chocolate spread variations of cocoa liquor, palm sugar, and fat replacer with red palm olein, generally liked by panelists in terms of taste and

flavor. The utilization of palm sugar and red olein provides an excellent functional effect for chocolate products, so it is well consumed for health because it is a functional food.

Keywords: *antioxidant, chocolate spread, carotenoid, polyphenols, sensory.*

PENDAHULUAN

Cokelat merupakan makanan yang memiliki rasa yang unik dan menarik serta bermanfaat untuk kesehatan (Serafini *et al.*, 2003). Cokelat adalah produk makanan yang dicintai oleh banyak orang karena karakteristik kualitas yang diinginkan seperti mengkilap (*gloss*) di permukaan, *snap* ketika patah, tekstur halus dan meleleh di mulut (*mouthfeel*). Kualitas ini terkait erat dengan komponen lemak kakao yang ada dalam cokelat, yang keras dan meleleh pada suhu kamar karena adanya komponen senyawa 2-oleodisaturated triglycerides dengan jumlah 80% (Beckett, 2009; Jeyarani *et al.*, 2013). Biji kakao kaya akan antioksidan, termasuk katekin, epicatechin dan procyanidins, polifenol yang mirip dengan yang ditemukan pada anggur dan teh (Carnésecchi *et al.*, 2002; Grassi *et al.*, 2005). Pada umumnya biji kakao fermentasi diperuntukkan untuk keperluan makanan karena kebanyakan produsen olahan kakao mengedepankan aspek cita rasa pada produknya. Proses fermentasi dapat meningkatkan kualitas dan mengembangkan citarasa, aroma, dan mengurangi rasa pahit serta sepat pada biji kakao selain itu pada proses fermentasi terjadi pembentukan senyawa *prekursor* aroma (Misnawi *et al.*, 2003). Aspek fitokimia, biji kakao tanpa fermentasi berpotensi sebagai neutrisetikal sehingga biji kakao tanpa fermentasi ditujukan untuk kebutuhan *health food* karena mengandung banyak polifenol.

Red palm olein (RPOL) merupakan salah satu jenis minyak sawit yang mengandung zat warna karotenoid dan β -karoten alami yang cukup tinggi

dibandingkan dengan minyak goreng lain. β -karoten merupakan antioksidan alami yang berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan. Jika diperlukan, olein sawit ini bisa dicampur dengan berbagai minyak makan lainnya, sehingga olein sawit sering disebut dengan *blending partner* (Al-Saqer *et al.*, 2004; El-Hadad *et al.*, 2011). Oleh karena itu minyak *Red palm olein (RPOL)* dapat dijadikan alternatif pengganti sebagian lemak cokelat dalam formulasi cokelat oles.

Penelitian Manzocco *et al.* (2014) karakteristik fisik cokelat oles menggunakan minyak bunga matahari dan minyak bunga zaitun yang dikombinasi dengan minyak sawit untuk menghasilkan produk yang rendah lemak. Pembuatan cokelat oles dengan mengganti lemak kakao menggunakan red palm olein (RPOL) pada tingkatan level 20, 40, 60, 80 dan 100%, sehingga diperoleh batas fortifikasi berkisar 20% (El-Hadad *et al.*, 2011). Penelitian Jeyarani *et al.* (2013) fortifikasi minyak kedelai dan minyak sawit dalam pembuatan cokelat oles untuk meningkatkan kandungan omega-3. Kombinasi minyak biji kapas dan RPOL sebagai pengganti lemak kakao untuk meningkatkan kandungan antioksidan dalam produk cokelat oles (El-kalyoubi *et al.*, 2011). Penelitian lain Amevor *et al.* (2018) fortifikasi minyak kacang mete untuk meningkatkan karakteristik fisik dan sensori cokelat oles. Salah satu hasil olahan biji kakao yang memiliki prospek untuk dikembangkan adalah cokelat oles. Penelitian tentang fortifikasi cokelat oles sudah pernah dilakukan oleh peneliti lain, namun penelitian tentang penggunaan biji kakao pilihan yang berasal dari klon

Sulawesi Barat menjadi produk cokelat oles belum pernah dilakukan. Substitusi lemak kakao dengan minyak palm olein kaya karoten diharapkan dapat meningkatkan karakteristik fungsional yang meliputi fisik, kimia, sensori dan antioksidan. Oleh karena itu, dilakukan proses pengembangan dan evaluasi sifat fisikokimia coklat oles fungsional.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan biji kakao klon Sulawesi Barat menjadi produk cokelat oles dengan karakteristik fisikokimia dan sensori yang baik, serta memiliki kandungan antioksidan yang bermanfaat untuk konsumen.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Teaching Industri dan Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi water bath (Memmert WNB 7 Basic control) Hettich Zentrifugen EBA-20, rotary evaporator (Buchi), Hitachi centrifuge brands, spektrofotometer UV/Vis Shimadzu, roasting machine (KL Protech Type Number 043.13P033 capacity 15 kg), nibs separator machine (KL Protech Type Number 049.13P043), stone mill (KL Protech Type Number 066.13P063) dan ball mill (ball mill mini KL Protech Type Number 041.,13P028).

Biji kakao fermentasi dan non fermentasi klon Sulawesi Barat diperoleh dari petani di Propinsi Sulawesi Barat, red palm olein (RPOL) dari Salmira Nutri Palma Nabati, lecithin dari Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, United States), cocoa

butter dari *Mars Symbioscience Company* (Makassar, South Sulawesi, Indonesia), skim milk (NZMP New Zealand), dan gula aren. Bahan kimia kualitas pro analysis (PA) yakni hexane (CAS: 110-54-3), Sodium carbonate (CAS: 497-19-8) dan BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dari Merck Millipore (Burlington, Massachusetts, United States), DPPH (D4313, CAS: 1898-66-4) dari Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan), Folin Ciocalteau (109001), while aluminium chloride (254134, CAS: 12125-02-9), sodium nitrate (CAS: 7631-99-4), Gallic acid (CAS: 149-91-7) dan sodium hydroxide (CAS: 1310-73-2) dari Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, United States).



Gambar 1. Bahan olahan cokelat oles: a) biji kakao klon sulawesi barat, dan b) red palm olein

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga kali ulangan, menggunakan software SPSS versi 16, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Variasi pembuatan cokelat oles

Sam pel	Coc oa liqu or (%)	Gu la ar en (%)	Re d pal m ole in (%)	Su su ski m (%)	Lesi tin (%)	Vani lla (%)	Gar am (%)
A1B 1	12	45	20	20	2	0.5	0.5
A2B 1	12	40	20	20	2	0.5	0.5
A3B 1	12	35	20	20	2	0.5	0.5
A1B 2	17	45	20	20	2	0.5	0.5
A2B 2	17	40	20	20	2	0.5	0.5
A3B 2	17	35	20	20	2	0.5	0.5
A1B 3	22	45	20	20	2	0.5	0.5
A2B 3	22	40	20	20	2	0.5	0.5
A3B 3	22	35	20	20	2	0.5	0.5

Analisis Sampel

Uji kuantitatif kadar polifenol total dengan metode *Folin Ciocalteu* (Godočiková *et al.*, 2017), uji kadar total flavanoid (Shanmugapriya *et al.*, 2011), pengujian asam lemak bebas (El-Hadad *et al.*, 2011), analisis kandungan antioksidan menggunakan metode DPPH IC₅₀ (Galvan D'Alessandro *et al.*, 2012) dan analisis organoleptik menggunakan metode hedonik tingkat kesukaan dengan parameter rasa, aroma, tekstur dan warna pada skala penilaian (1= sangat tidak suka; 2= tidak suka; 3= agak suka; 4= suka; dan 5= sangat suka) dan jumlah panelis sebanyak 31 orang dengan rentang usia 18-21 tahun (wanita 75% dan pria 25%) (Stokes *et al.*, 2017).

Preparasi Sampel

Buah kakao dibelah dan disortasi untuk memisahkan biji yang berkualitas baik dan buruk. Biji kakao tanpa fermentasi dipisahkan dan dikeringkan, sedangkan biji kakao fermentasi terlebih dahulu disimpan selama 4-5 hari dan setiap hari dilakukan proses pengadukan agar proses

fermentasi merata, setelah proses fermentasi selesai, maka dilakukan proses pengeringan dibawah sinar matahari sampai kadar air maksimal 7.5%. Biji kakao fermentasi disangrai menggunakan mesin penyangrai (roasting) pada suhu 100-105°C selama 40 menit. Biji kakao tanpa fermentasi tidak dilakukan penyangraian.

Pembuatan Produk Cokelat Oles

Proses pembuatan cokelat oles dilakukan dengan menimbang nibs kakao fermentasi sebanyak 900 g dan nibs kakao tanpa fermentasi 600 g sehingga perbandingan 60:40%. Kemudian digiling pada mesin stone mill menjadi pasta kakao atau cocoa liquor, kemudian di formulasikan sesuai tabel 1. Selanjutnya diolah dimesin ball mill selama 12 jam pada suhu 50°C pada kecepatan 50 rpm, sehingga diperoleh cokelat oles.

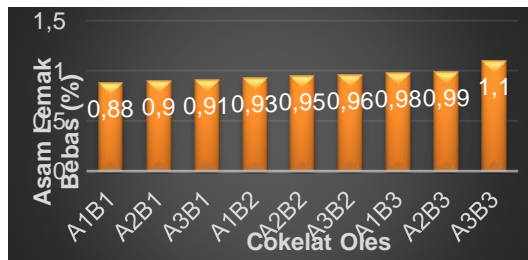
Analisa Data

Hasil pengujian akan dianalisis menggunakan software SPSS versi 16 untuk analisis keragaman (ANOVA), dilanjutkan uji tukey jika terdapat perlakuan yang berpengaruh nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Asam Lemak Bebas Selai Cokelat

Asam lemak bebas (ALB) merupakan salah satu indikator kerusakan mutu produk pangan karena dapat mempengaruhi nilai gizi dari bahan pangan, sehingga menjadikan bahan pangan kurang menarik serta cita rasa yang tidak enak. Hasil analisis sidik ragam terhadap kadar asam lemak bebas diperoleh nilai signifikan 0.072 (>0.05), hal ini menandakan bahwa formulasi yang diterapkan tidak berpengaruh nyata kadar asam lemak bebas cokelat oles yang dihasilkan. Nilai rata-rata kandungan asam lemak bebas selai cokelat berdasarkan formulasi yang diterapkan pada gambar 2.



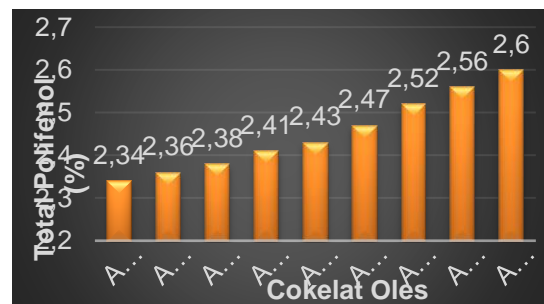
Gambar 2. Kadar asam lemak bebas selai cokelat

Kadar asam lemak bebas cokelat oles yang dihasilkan pada penelitian ini sangat rendah, berkisar antara rentang 0.88-1.1%. hal ini disebabkan lemak kakao yang merupakan bahan utam dalam pembuatan cokelat, disubtitusi dengan red palm olein dengan tingkatan level 20%, sehingga dapat menurunkan kadar asam lemak bebas dari cokelat oles. Penelitian El-kalyoubi *et al.* (2011) menggunakan *fat replacer* atau pengganti lemak kakao dengan menggunakan kombinasi minyak kapas dan red palm olein pada variasi 25, 50, 75 dan 100% sehingga diperoleh cokelat oles yang rendah lemak. Menurut El-Hadad *et al.* (2011) penggunaan red palm olein untuk menggantikan lemak kakao, maksimal 20% untuk memperoleh cokelat oles dengan karakteristik fisik, kimia dan sensori yang dapat diterima oleh konsumen.

Kadar Total Polifenol

Polifenol dalam bentuk asam polifenol (hydroxybenzoic dan hydroxycinnamic acids), polifenol (hydrolyzable dan tannin), serta flavonoid merupakan komponen yang berfungsi melindungi tanaman, buah-buahan dan sayuran dari kerusakan oksidatif dan kandungan antioksidan yang dapat melindungi manusia. Bermanfaat melindungi tubuh dari radikal bebas, mengurangi stress, penyakit jantung, tekanan darah tinggi, antikanker, menurunkan kolesterol dan resiko

serangan jantung (Do *et al.*, 2014). Berdasarkan analisis sidik ragam terhadap kadar total polifenol diperoleh nilai signifikan 0.000 ($p < 0.05$), hal ini menunjukkan bahwa formulasi yang diterapkan berpengaruh nyata terhadap kandungan total polifenol pada cokelat oles. Hasil uji lanjut menggunakan metode tukey menunjukkan bahwa beberapa perlakuan formulasi berbeda nyata pada kadar total polifenol dimana terdapat kecenderungan semakin tinggi konsentrasi cocoa liquor maka kandungan polifenol pada cokelat oles akan semakin meningkat. Sebaliknya penurunan konsentrasi gula merah dalam formulasi selai coklat cenderung menurunkan kadar total polifenol pada cokelat oles.



Gambar 3. Kadar total polifenol cokelat oles

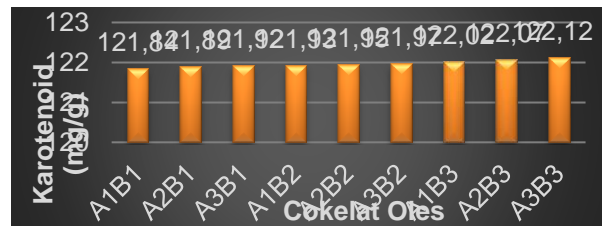
Hasil analisis total polifenol pada gambar 3, menunjukkan sampel A3B3 memiliki kadar total polifenol tertinggi sebesar 2.6%, sedangkan kadar total polifenol terendah sampel A1B1 sebesar 2.34%. kadar keseluruhan cokelat oles berkisar 2.34 – 2.6%, variasi penambahan cocoa liquor dan red palm olein yang berbeda memberikan hasil yang berbeda pula namun perbedaannya tidak terlaeu signifikan. Penelitian Afoakwa *et al.* (2009) dan El-Hadad *et al.* (2011) buah kakao dan red palm olein (RPOL) kaya akan antioksidan alami seperti katekin, epikatekin, prosianidin dan polifenol,

senyawa tersebut sama dengan yang ditemukan pada bahan pangan seperti teh dan wine.

Total Karotenoid

Minyak kelapa sawit adalah salah satu dari 17 minyak dan lemak yang dihasilkan dan diperdagangkan di seluruh dunia. Minyak kelapa sawit mentah yang diekstrak pada kondisi suhu tropis dan memiliki warna merah oranye, karena kandungan karoten yang tinggi. Oleh karena itu, dianggap sebagai alam yang kaya sumber karoten (500 – 1500 ppm), serta tocopherols (700 –1000 ppm) (El-Hadad *et al.*, 2011; Mayamol *et al.*, 2007). Produk hasil kombinasi dengan red palm olein memiliki warna merah emas yang terang karena mengandung karoten dan tocopherols (Al-Saqer *et al.*, 2004). Berdasarkan analisis sidik ragam terhadap kadar total karotenoid diperoleh nilai signifikan 0.497 ($p > 0.05$), hal ini menunjukkan bahwa formulasi yang diterapkan berpengaruh yang signifikan terhadap kadar karotenoid pada coklat oles. Hasil uji tukey menunjukkan bahwa beberapa perlakuan formulasi berbeda nyata pada kadar total karotenoid, dimana penambahan red palm olein memberikan dampak pada peningkatan kadar karotenoid pada produk coklat oles.

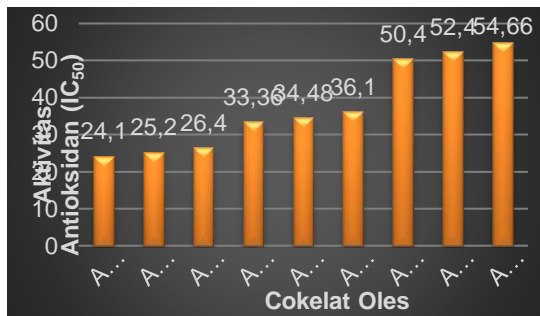
Hasil analisis pada gambar 4, menunjukkan bahwa kadar karotenoid produk coklat oles berkisar antara 121.84-122.12 mg/g. Penambahan red palm olein sekitar 20% untuk menggantikan lemak kakao memberikan peningkatan terhadap kadar karotenoid coklat oles. Menurut El-Hadad *et al.* (2011) penggunaan red palm olein untuk menggantikan lemak kakao maksimal 20% dari komposisi produk, hal ini akan meningkatkan kadar karotenoid dan antioksidan dalam produk coklat oles.



Gambar 4. Kadar total karotenoid coklat oles

Aktifitas Antioksidan (DPPH IC₅₀)

Analisis IC₅₀ berbanding terbalik dengan antioksidan, karena mengekspresikan jumlah antioksidan yang diperlukan untuk mengurangi konsentrasi DPPH sebesar 50%, yang diperoleh dengan interpolasi dari analisis regresi linier (Liu *et al.*, 2009). Nilai IC₅₀ yang rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari suatu senyawa, begitupula sebaliknya. Gambar 5 menunjukkan nilai IC₅₀ dalam perhitungan kadar radikal bebas DPPH dari coklat oles. Ditemukan bahwa sampel A1B1, A2B1 dan A3B1 memiliki aktivitas radikal bebas DPPH terkuat dengan kisaran 24.1-26.4, semakin rendah nilai IC₅₀ maka akan semakin kuat aktivitas antioksidan dari bahan tersebut. Dari hasil analisis aktivitas antioksidan untuk semua sampel tergolong dalam kategori aktivitas antioksidan yang baik karena rata-rata dibawah kisaran 50%. Menurut penelitian Sundram (2005) tingginya kadar polifenol dan karotenoid dan rendahnya kadar asam lemak bebas serta tingginya aktivitas antioksidan dalam coklat oles akan dapat berfungsi sebagai pangan fungsional dan dapat dikonsumsi oleh anak-anak dan dewasa, karena bermanfaat sebagai anti-kanker, meningkatkan immunitas dan menangkal radikal bebas.



Gambar 5. Aktivitas antioksidan (IC₅₀) coklat oles

Uji Hedonik

Evaluasi sensorik terhadap produk cokelat oles dilakukan dengan uji hedonic tingkat kesukaan berdasarkan penilaian oleh 33 panelis. Parameter penilaian meliputi warna, aroma, rasa dan tekstur. Berdasarkan hasil sidik ragam pada atribut organoleptik yaitu warna, aroma, rasa dan tekstur untuk sembilan sampel cokelat oles pada tabel 2, parameter warna dan tesktur menunjukkan nilai yang tidak signifikan ($p > 0.05$) yang berarti perlakuan penambahan cocoa liquor, red palm olein dan gula merah tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap warna dan tekstur pada seluruh sampel produk cokelat oles yang dinilai oleh panelis. Parameter aroma dan rasa menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0.05$), berarti perlakuan penambahan cocoa liquor, red palm olein dan gula merah memberikan perbedaan yang nyata terhadap aroma dan rasa pada seluruh sampel produk cokelat oles yang dinilai oleh panelis.

Tabel 2. Analisis ANOVA produk cokelat oles

Parameter	df	Mean	F _{hitung}	F _{tabel}
			5%	
Warna	8	0.54	1.56	0.140
Aroma	8	4.14	12.29	0.000
Rasa	8	0.86	3.07	0.003
Tekstur	8	0.06	0.29	0.969

Perbedaan tingkat kesukaan terhadap parameter rasa dan aroma dari cokelat oles disebabkan penggunaan pemanis gula aren. Pemanis gula merah merupakan pemanis alami dengan nilai kalori yang rendah. Penggunaan gula aren dalam bentuk blended sebagai pemanis pada produk cokelat oles baru pertama kali dilaporkan dalam penelitian, sehingga dapat menjadi pemanis yang baik digunakan untuk bahan pangan.

KESIMPULAN

Cokelat oles variasi cocoa liquor, gula aren dan substitusi lemak kakao dengan red palm olein, secara umum disukai oleh panelis dari segi rasa dan aroma. penggunaan nibs kakao yang dikombinasi dari kakao fermentasi dan non fermentasi, penggunaan pemanis alami gula aren dan substitusi lemak kakao dengan red palm olein memberikan perubahan yang signifikan dari segi sensoris produk, namun memberikan pengaruh fungsional terhadap cokelat oles, karena dapat meningkatkan kadar polifenol, karotenoid, dan antioksidan serta menurunkan kadar asam lemak bebas dalam produk cokelat oles. Fortifikasi cokelat oles dapat menjadi alternatif pangan fungsional yang dapat dinikmati oleh semua kalangan baik anak-anak, remaja dan dewasa.

DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2009). Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC-mass spectrometry and GC-olfactometry. *Food Chemistry*, 13, 208–215.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.088>
- Al-Saqer, J. M., Sidhu, J. S., Al-Hooti, S. N., Al-Amiri, H. A., Al-Othman, A., Al-Haji, L., Ahmed, N., Mansour, I. B., & Minal,

- J. (2004). Developing functional foods using red palm olein. IV. Tocopherols and tocotrienols. *Food Chemistry*, 85(4), 579–583. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.003>
- Amevor, P. M., Laryea, D., & Barimah, J. (2018). Sensory evaluation, nutrient composition and microbial load of cashew nut–chocolate spread. *Cogent Food & Agriculture*, 4(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1480180>
- Beckett, S. T. (2009). Traditional Chocolate Making. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition*. <https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch1>
- Carnésecchi, S., Schneider, Y., Lazarus, S. A., Coehlo, D., Gossé, F., & Raul, F. (2002). Flavanols and procyanidins of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells. *Cancer Letters*, 175(2), 147–155. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(01\)00731-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(01)00731-5)
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- El-Hadad, N. N. M., Youssef, M. M., Abd El-Aal, M. H., & Abou-Gharbia, H. H. (2011). Utilisation of red palm olein in formulating functional chocolate spread. *Food Chemistry*, 124(1), 285–290. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.034>
- El-kalyoubi, M., Khallaf, M. F., Abdelrashid, A., & Mostafa, E. M. (2011). Quality characteristics of chocolate – Containing some fat replacer. *Annals of Agricultural Sciences*, 56(2), 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2011.05.009>
- Galvan D'Alessandro, L., Kriaa, K., Nikov, I., & Dimitrov, K. (2012). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.024>
- Godočiková, L., Ivanišová, E., & Kačániová, M. (2017). The Influence of Fortification of Dark Chocolate with Sea Buckthorn and Mulberry on the Content of Biologically Active Substances. *Advanced Research in Life Sciences*, 1(1), 26–31. <https://doi.org/10.1515/arls-2017-0004>
- Grassi, D., Lippi, C., Necozione, S., Desideri, G., & Ferri, C. (2005). Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(3), 611–614. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.3.611>
- Jeyarani, T., Banerjee, T., Ravi, R., & Krishna, A. G. G. (2013). Omega-3 fatty acids enriched chocolate spreads using soybean and coconut oils. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1082–1088. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1053-4>
- Liu, S. C., Lin, J. T., Wang, C. K., Chen, H. Y., & Yang, D. J. (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, 114(2), 577–581. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.088>
- Manzocco, L., Calligaris, S., Camerin, M., Pizzale, L., & Nicoli, M. C. (2014). Prediction of firmness and physical stability of low-fat chocolate spreads. *Journal of Food Engineering*, 126, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.042>
- Mayamol, P. N., Balachandran, C., Samuel, T., Sundaresan, A., & Arumughan, C. (2007). Process technology for the

- production of micronutrient rich red palm olein. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*, 587–596.
<https://doi.org/10.1007/s11746-007-1078-9>
- Misnawi, Jinap, S., Jamilah, B., & Nazamid, S. (2003). Effects of incubation and polyphenol oxidase enrichment on colour, fermentation index, procyanidins and astringency of unfermented and partly fermented cocoa beans. *International Journal of Food Science and Technology*, *38*(3), 285–295.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00674.x>
- Serafini, M., Bugianesi, R., Maiani, G., Valtuena, S., De Santis, S., & Crozier, A. (2003). Plasma antioxidants from chocolate. *Nature*, *424*, 1013–1018.
<https://doi.org/10.1038/4241013a>
- Shanmugapriya, K., Saravana, P. S., Payal, H., Peer Mohammed, S., & Binnie, W. (2011). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Artocarpus heterophyllus* and *Manilkara zapota* seeds and its reduction potential. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *3*(5), 256–260.
- Stokes, C. N., O'Sullivan, M. G., & Kerry, J. P. (2017). Hedonic and descriptive sensory evaluation of instant and fresh coffee products. *European Food Research and Technology*, *243*(2), 331–340.
<https://doi.org/10.1007/s00217-016-2747-4>
- Sundram, K. (2005). Meeting the Rising Health Awareness : The Palm Oil and Consumer Perception. *Palm Oil Developments*, *43*, 20–28.