



**PENINGKATAN KUALITAS BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L)
MELALUI FERMENTASI MENGGUNAKAN *Lactobacillus* sp.
dan *Pichia kudriavzevii***

**The Improvement of Cacao Beans Quality through Fermentation by Using
Lactobacillus sp. and *Pichia kudriavzevii***

Anja Meryandini^{1,*}, Asrianti Basri², Titi Candra Sunarti³

¹Departemen Biologi, FMIPA-IPB dan Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB
Jl. Raya Dramaga, Bogor, Jawa Barat, 16680

²Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana, IPB, Jl. Raya Dramaga, Bogor, Jawa Barat, 16680

³Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fateta- IPB, Jl. Raya Dramaga, Bogor, Jawa Barat, 16680

*E-mail: ameryandini@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Indonesia is one of the main cacao producers in the world. Indonesian cacao product is, however, relatively of low quality. Quality improvement of cacao beans is thus needed to increase added value of the product through such method as fermentation using bacteria and yeast. This study was conducted using four fermentation treatments, namely F1 (spontaneous fermentation without the addition of inoculum), F2 (addition of lactic acid bacteria inoculum), F3 (addition of yeast inoculum), F4 (addition of mixed lactic acid bacteria and yeast inoculum). The fermentation was carried out for 5 days. The parameters measured were the microbial cell number, pH, ethanol, total reducing sugar, and total acid concentration, as well as cacao seed quality. Results showed that, compared to the other treatments, the F4 treatment gave the best result, namely 83% of the cacao seeds being fermented, 2% non-fermented, 14% unfermented, 1% moldy, and 2% germinated. The liquid produced during the fermentation contained the highest reducing sugar of 123.38 mg·mL⁻¹, the highest total acid of 24.42 mg·mL⁻¹, and 3.57% ethanol.

Keywords: cacao beans, fermentation, lactic acid bacteria, starter, yeast

ABSTRAK

Indonesia adalah salah satu penghasil kakao utama di dunia. Namun berdasarkan mutu, produk kakao Indonesia masih relatif tergolong rendah. Peningkatan kualitas biji kakao diperlukan untuk memberikan nilai tambah pada produk melalui metode seperti fermentasi menggunakan bakteri dan khamir. Penelitian ini dilakukan dengan empat perlakuan fermentasi yaitu F1 (fermentasi secara spontan tanpa penambahan inokulum), F2 (dengan penambahan inokulum bakteri asam laktat (BAL)), F3 (dengan penambahan inokulum khamir), F4 (dengan penambahan inokulum campuran bakteri asam laktat dan khamir). Fermentasi dilakukan selama 5 hari, dan parameter yang diukur selama fermentasi adalah jumlah mikroba, pH, kadar etanol, gula pereduksi, total asam serta kualitas biji. Hasil menunjukkan bahwa, dibandingkan perlakuan lainnya, perlakuan F4 memberikan hasil terbaik yaitu 83% biji terfermentasi, 2% tidak terfermentasi, 14% terfermentasi sebagian, 1% berjamur, dan 2% berkecambah. Cairan fermentasi tersebut mengandung gula reduksi yang paling tinggi 123,38 mg·mL⁻¹, total asam tertinggi 24,42 mg·mL⁻¹, dan kadar etanol mencapai 3,57%.

Kata Kunci: bakteri asam laktat (BAL), biji kakao, fermentasi, khamir, starter

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara pemasok utama kakao dunia dengan persentasi 5% setelah Pantai Gading (42,3) dan Ghana (19,5%) (ICCO 2018). Produksi kakao yang cukup melimpah dan minat konsumsi coklat dalam negeri yang tinggi memberi peluang kepada petani kakao Indonesia untuk meningkatkan kualitas biji kakao dengan melakukan fermentasi.

Penanganan pasca panen yang tidak optimal dapat menimbulkan cacat mutu biji. Teknik fermentasi yang kurang baik akan menyebabkan kerusakan cita rasa yang tidak dapat diperbaiki melalui modifikasi pengolahan selanjutnya. Biji kakao tanpa fermentasi tidak menghasilkan aroma khas coklat dan memiliki rasa sepat dan pahit yang berlebihan (Wahyudi et al. 2008).

Fermentasi merupakan salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan kualitas biji kakao. Proses biokimia yang terjadi akibat kinerja mikroba dalam proses fermentasi kakao dapat meningkatkan kualitas biji kakao (Sudarminto 2017). Menurut Beckket (2009) proses fermentasi terbagi 3 tahapan. Yang pertama, tahap anaerobik terjadi pada awal fermentasi pada hari ke-2 dan ke-3, khamir mengkonversi gula menjadi alkohol dalam kondisi oksigen rendah dan pH rendah di bawah 4. Tahap kedua disebut tahap bakteri asam laktat yang keberadaannya mulai dari awal fermentasi, tetapi hanya menjadi dominan pada hari ke-4 dan ke-5 fermentasi. Bakteri asam laktat mengkonversi gula dan sebagian asam organik menjadi asam laktat. Tahap ketiga disebut tahap bakteri asam asetat dimana keberadaan bakteri asam asetat terjadi selama fermentasi, tetapi keberadaannya menjadi sangat signifikan hingga akhir proses fermentasi ketika terjadi peningkatan aerasi. Bakteri asam asetat berperan dalam mengkonversi alkohol menjadi asam asetat sehingga terjadi peningkatan suhu mencapai 50°C.

Fermentasi menggunakan inokulum mikroba telah terbukti dapat meningkatkan kualitas biji kakao, seperti yang dilakukan oleh Yanti et al. (2014) dengan menggunakan khamir (*Candida sp.* KLK4), bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp.* KSL2) dan bakteri asam asetat (*Acetobacter sp.* KLK1). Tingginya keanekaragaman mikroorganisme yang ada di Indonesia sangat memungkinkan

untuk ditemukan isolat potensial melalui penapisan yang efektif.

Proses fermentasi oleh mikroba akan merombak pulp menjadi asam-asam organik dan produk akhir metabolisme seperti alkohol, asam laktat dan asam asetat. Asam akan berdifusi masuk ke dalam biji dan menginduksi reaksi enzimatik untuk membentuk senyawa calon rasa, aroma, warna dan menghambat germinasi (Afoakwa et al. 2014). Etanol, asam asetat akan masuk ke dalam kotiledon dan kenaikan suhu akan mematikan biji. Turunnya pH akibat diproduksinya asam-asam organik menyebabkan hidrolisis sukrosa, degradasi protein dan aktivasi polifenol oksidase sehingga dihasilkan *precursor favour* seperti gula pereduksi, peptide hidrofilik, asam amino hidrofobik dan munculnya warna coklat pada biji kakao (de Vuyst dan Weckx 2016).

Dalam penelitian ini fermentasi biji kakao dilakukan menggunakan *starter Lactobacillus sp.* H 2.34 (Tsaaqifah 2017) dan khamir 1P4 (*Pichia kudriavzevii*) (Inderiani 2017) yang diisolasi dari fermentasi spontan biji kakao asal perkebunan Parungkuda, Sukabumi. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas biji kakao melalui fermentasi dengan mengkaji pengaruh pemberian *starter* khamir atau bakteri asam laktat (BAL) pada fermentasi terhadap kualitas biji kakao.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2017 hingga Juni 2018. Lokasi penelitian bertempat di Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi Institut Pertanian Bogor (IPB), Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat.

Bahan

Biji kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kakao segar jenis Forestero asal pusat penelitian kopi dan kakao Jember, Isolat *Lactobacillus sp.* H 2.34 dan Isolat *Pichia kudriavzevii* IP4, MRSA (*de Mann Ragosa and Sharpe*), media YPG (*yeast peptone glucose*), akuades, glukosa, NaOH, DNS, *phenolphthalein* (PP), NaCl.

Preparasi inokulum

Bakteri asam laktat (BAL) *Lactobacillus sp.* H 2.34 dan khamir isolat *Pichia*

kudriavzevii 1P4 diinokulasikan dalam 100 mL media MRSB dan media YPG, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengukuran kerapatan sel 10^8 CFU·mL⁻¹ dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm dan metode hitung cawan.

Preparasi sampel biji kakao

Biji kakao yang matang dibelah. Biji kakao beserta pulpnya lalu diambil sebagai sampel untuk proses fermentasi.

Metode fermentasi

Setiap perlakuan fermentasi menggunakan 500 g biji kakao segar yang ditambahkan *starter* khamir dan bakteri asam laktat (BAL). Jumlah biakan khamir dan bakteri asam laktat ditambahkan sebanyak 5 mL dengan jumlah sel 10^6 CFU·g⁻¹ biji kakao segar. Percobaan dilakukan dengan 3 ulangan, dengan 4 jenis perlakuan sebagaimana tercantum pada Tabel 1. Parameter yang diamati dalam proses fermentasi meliputi cairan fermentasi dan biji hasil fermentasi. Kriteria biji kakao terfermentasi mengikuti SNI 2008 (Tabel 2).

Karakterisasi cairan fermentasi

Karakterisasi cairan fermentasi meliputi pengukuran pH (AOAC 1990), total asam (Moore et al. 2011), kadar gula pereduksi (Miller 1959), Penghitungan dinamika pertumbuhan mikroba menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Pengukuran kadar etanol menggunakan GC 6890 dengan suhu oven 40°C, *front inlet (split)* suhu 250°C, tekanan 6,55 psi, *split ratio* 20:1, menggunakan gas helium, kolom model Agilent 19091J-433, detektor utama yang bekerja pada suhu 250°C, aliran hidrogen 40,0 mL/menit, aliran udara 400,0 mL/menit, menggunakan gas nitrogen.

Kualitas biji hasil fermentasi

Pengukuran pertumbuhan kotiledon biji

Tabel 1. Desain percobaan fermentasi biji kakao

Perlakuan	Keterangan
F1	Fermentasi spontan
F2	Penambahan <i>starter</i> BAL
F3	Penambahan <i>starter</i> khamir 1P4
F4	Penambahan <i>starter</i> BAL dan khamir 1P4

diamati dengan metode uji belah (*cut test*) dengan cara sampel biji hasil fermentasi kakao dibelah memanjang dengan pisau tajam untuk menampakkan seluruh permukaan kotiledon (ICCO 2012). Pengukuran nilai pH biji kakao dilakukan dengan cara memasukkan 5 g biji kakao yang telah dihaluskan dengan mortar ke dalam labu erlenmeyer 150 mL, kemudian ditambahkan 45 mL akuades dan diaduk selama 10 menit. Suspensi disentrifugasi selama 10 menit dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring Whatmann No. 4. Larutan didinginkan hingga suhu 27°C, kemudian diukur nilai pH-nya (Berbiye 2014).

Analisis statistik

Data dianalisis menggunakan Anova *One Way* dan uji T. Hasil analisis tersebut diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai hubungan antara keempat perlakuan selama fermentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dinamika pertumbuhan sel mikroba

Pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi mempengaruhi perubahan fisik, kimia dan mikrobiologi, seperti pH, total asam, gula pereduksi, dan kadar etanol, sehingga berpengaruh terhadap kualitas biji kakao. Hasil keempat perlakuan menunjukkan pola pertumbuhan khamir dan bakteri asam laktat (BAL) yang cukup

Tabel 2. Kriteria biji kakao fermentasi (SNI 2008)

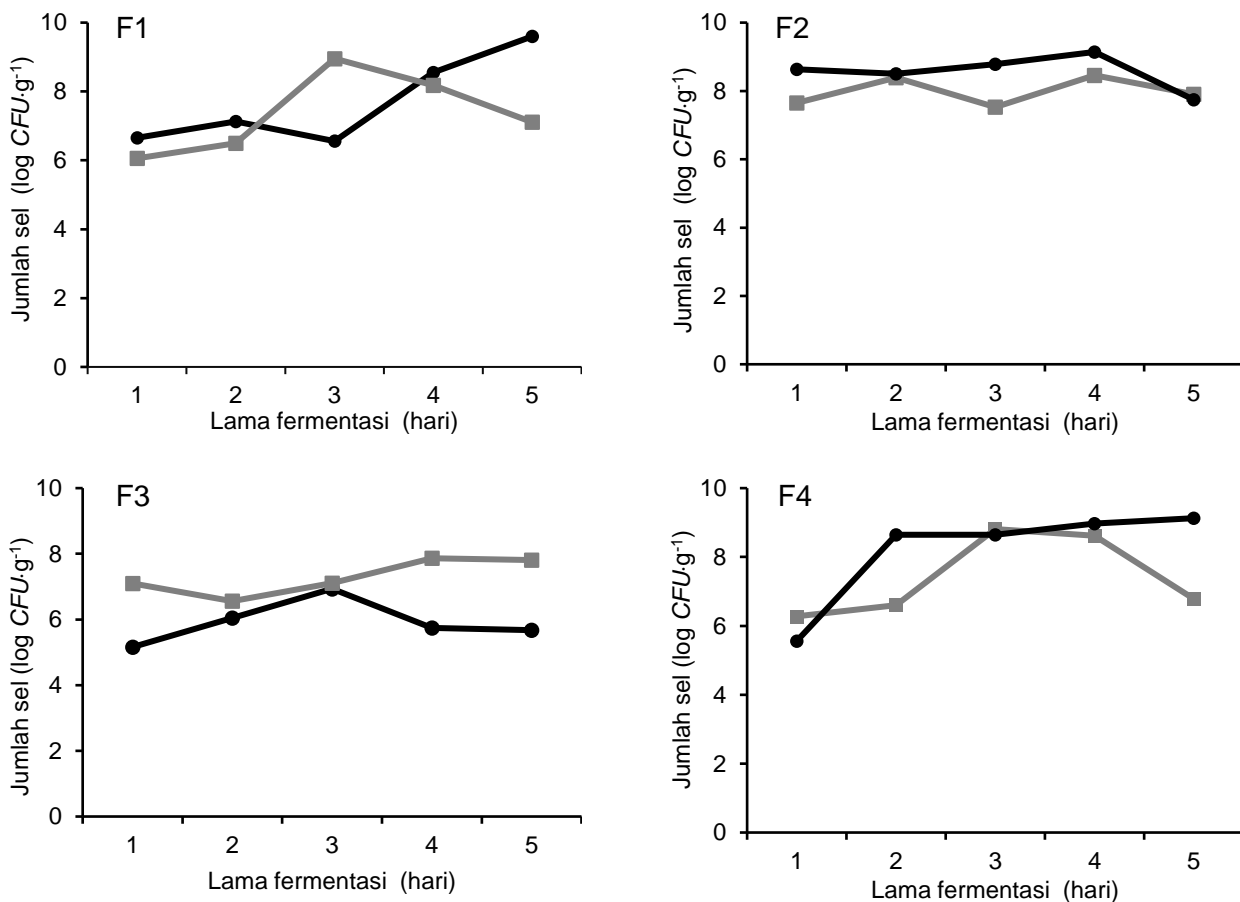
Kriteria biji kakao	Keterangan
Terfermentasi sempurna (<i>fermented</i>)	Berwarna coklat dan berongga
Terfermentasi sebagian (<i>unfermented</i>)	Berwarna ungu
Tidak terfermentasi (<i>non-fermented</i>)	Berwarna abu-abu
Berjamur (<i>moldy</i>)	Terdapat jamur dalam biji
Berkecambah (<i>germinated</i>)	Terdapat kecambah dalam biji

berbeda pada setiap hari (Gambar 1).

Pada fermentasi alami (F1), pada hari ke-3 populasi BAL mengalami penurunan sebesar 10^6 $CFU \cdot g^{-1}$, sedangkan jumlah populasi khamir pada hari ke-3 mencapai 10^8 $CFU \cdot g^{-1}$. Pada perlakuan fermentasi dengan penambahan BAL (F2), populasi BAL pada hari ke-3 sebesar 10^8 $CFU \cdot g^{-1}$ sedangkan jumlah khamir pada hari ke-3 sebesar 10^6 $CFU \cdot g^{-1}$. Fermentasi dengan penambahan khamir (F3) menunjukkan jumlah populasi khamir cukup signifikan hingga hari ke-5, sebesar 10^7 $CFU \cdot g^{-1}$, sedangkan jumlah BAL pada hari ke-5 10^6 $CFU \cdot g^{-1}$. Hasil penelitian Fahrurrozi (2015) menunjukkan pertumbuhan BAL mencapai 10^9 $CFU \cdot g^{-1}$ pada hari ke-3. Pada F1, populasi BAL terlihat meningkat pada hari ke-5 yang menunjukkan lambatnya pertumbuhan BAL saat fermentasi spontan. Pada proses fermentasi terjadi suksesi mikroba dimana produk dari BAL (asam laktat) akan dimanfaatkan oleh bakteri asam

asetat untuk menghasilkan asam asetat. Meningkatnya populasi BAL pada fermentasi spontan pada hari ke-5 menunjukkan bahwa proses suksesi belum terjadi sehingga untuk menghasilkan buah kakao terfermentasi sempurna akan membutuhkan waktu yang lebih lama. Masih tingginya populasi BAL pada hari ke-5 juga terjadi pada fermentasi spontan kakao di Ekuador (Papalexandratou et al. 2011). Fermentasi lebih dari 5 hari dapat menyebabkan munculnya fungi berfilamen yang memberikan efek negatif pada hasil fermentasi.

BAL dan khamir mempunyai peranan penting dalam proses fermentasi kakao, sehingga penambahan *starter* pada fermentasi perlu dilakukan agar dapat meningkatkan kinerja yang terjadi pada saat fermentasi. Khamir berperan dalam menghasilkan etanol dalam kondisi kadar gula yang tinggi, dan BAL menghasilkan total asam yang tinggi, sehingga menghasilkan kualitas kakao yang baik.



Gambar 1. Dinamika pertumbuhan khamir (—■—) dan BAL (—●—) pada fermentasi kakao. Mikroba diisolasi dari cairan fermentasi dan ditumbuhkan pada media MRSA dan MYPG. F1= fermentasi spontan, F2= fermentasi dengan BAL, F3= fermentasi dengan khamir, F4 = fermentasi dengan BAL dan khamir

pH cairan fermentasi

Tingkat keasaman (pH) cairan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses fermentasi. Perubahan pH diamati pada hari pertama hingga hari ke-5. Pada Tabel 3 nilai pH berbeda nyata $P < 0,05$ antara setiap perlakuan. Kisaran pH pada proses fermentasi antara 3,17-4,12. Fermentasi dengan penambahan *starter* BAL mengalami penurunan pH pada hari ke-2. Hal ini disebabkan oleh adanya pertumbuhan dan aktivitas BAL pada cairan pulp yang menghasilkan asam laktat sehingga terjadi perubahan pH, sedangkan pada penambahan isolat khamir mengalami kenaikan pH pada awal fermentasi 3,17-3,78 hingga 3,93-3,97. Peningkatan pH yang signifikan sesuai dengan Fahrurrozi (2015) dimana pH awal pulp 3,8 menjadi 4,0 setelah jam ke-24 fermentasi. Naiknya pH dapat disebabkan asam asetat yang terbentuk dioksidasi menjadi CO_2 dan H_2O (Pereira et al 2012). Perubahan pH *pulp* pada saat fermentasi berkisar antara 4,0 mendukung fakta bahwa setelah produksi etanol terjadi penurunan pH (Takrama et al. 2015).

Kandungan total asam cairan fermentasi

Kandungan asam yang terdapat pada cairan fermentasi kakao terbentuk pada fase anaerob bersamaan dengan terbentuknya etanol oleh khamir. Etanol yang dihasilkan oleh khamir kemudian digunakan oleh bakteri asam laktat untuk menghasilkan asam laktat. Nilai rata-rata dan perubahan kadar total asam pada proses fermentasi (Tabel 4) menunjukkan nilai total asam berbeda nyata $P < 0,05$ antara perlakuan dan lama fermentasi. Semakin lama fermentasi, jumlah mikroba semakin banyak, sehingga kemampuan menghasilkan asam laktat semakin tinggi. Pada perlakuan F4, total asam tertinggi 24,42 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, lalu F2 20,61 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, dan F3 14,01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, jika dibandingkan dengan fermentasi spontan total asam 13,61 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Penambahan *starter* tunggal maupun *starter* campuran pada fermentasi menunjukkan bahwa penambahan *starter* menyebabkan meningkatnya kandungan total asam. Peranan khamir dalam merombak substrat menjadi etanol kemudian dilanjutkan oleh BAL sehingga menghasilkan total asam laktat dengan jumlah BAL $10^9 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ (Gambar 1). Pada hasil penelitian Fahrurrozi (2015) pada

fermentasi spontan hanya mengalami kenaikan pada hari pertama kemudian mengalami penurunan kadar total asam baik pada pulp maupun pada biji.

Kadar etanol cairan fermentasi

Produksi etanol dimulai saat awal fermentasi oleh khamir yang merombak gula pada substrat menjadi etanol. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pengaruh penambahan *starter* khamir pada fermentasi kakao dapat meningkatkan kadar etanol pada kakao (Apriyanto et al. 2016). Produksi etanol naik dua kali lipat dengan penambahan mikroba dibandingkan dengan fermentasi spontan (Anvoh et al. 2010).

Pada perlakuan F2 dan F4 kadar alkohol tertinggi masing-masing 3,71% dan 3,57% jika dibandingkan dengan perlakuan F1 dan F3. Menariknya, penambahan *starter* BAL juga meningkatkan kadar etanol dalam fermentasi (Tabel 5). Hasil penelitian ini relevan dengan hasil penelitian Kresnowati et al. (2013). Peningkatan kadar etanol pada perlakuan fermentasi dengan penambahan BAL disebabkan beberapa strain BAL dapat merombak glukosa melalui jalur *Hexosomonophospat-Shunt*, yang dapat memproduksi asam laktat ditambah alkohol, asam asetat, gliserol, CO_2 dan manitol, Peningkatan kadar etanol pada perlakuan F2 dan F4 berbanding lurus dengan jumlah BAL 10^8 - $10^9 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ dan khamir $10^8 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ pada akhir fermentasi.

Gula pereduksi

Pada pembentukan gula pereduksi, khamir merupakan mikroorganisme yang merombak pati pada substrat menjadi gula. Jenis gula yang paling banyak tersedia adalah fruktosa dan sukrosa yang juga mengandung glukosa. Nilai kadar gula pereduksi berbeda nyata terhadap perlakuan dan lama fermentasi $P < 0,05$ (Tabel 6).

Fermentasi dengan penambahan *starter* campuran dengan kadar gula tertinggi pada hari ke-2 sebesar 123,38 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ dengan jumlah mikroba $10^8 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$. Semua perlakuan setelah hari ke-2 mengalami penurunan kadar gula pereduksi hingga hari terakhir fermentasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Afowakwa et al. (2013) bahwa semakin lama waktu fermentasi maka kandungan gula akan

Tabel 3. pH cairan fermentasi

Perlakuan*	Waktu fermentasi (hari)				
	1	2	3	4	5
F1	4,02 ^{Ab}	4,10 ^{Ad}	4,12 ^{Ca}	3,82 ^{Ac}	3,72 ^{Ab}
F2	3,46 ^{Bc}	3,39 ^{Bb}	3,37 ^{Bb}	3,41 ^{Bb}	3,36 ^{Ba}
F3	3,17 ^{Dc}	3,78 ^{Dc}	3,84 ^{Dc}	3,93 ^{Dc}	3,97 ^{Da}
F4	3,29 ^{Ca}	3,33 ^{Cd}	3,35 ^{Cb}	3,38 ^{Cb}	3,36 ^{Cb}

Tabel 4. Total asam cairan fermentasi (mg·mL⁻¹)

Perlakuan*	Waktu fermentasi (hari)				
	1	2	3	4	5
F1	9,0 ^{Cb}	13,6 ^{Ac}	9,2 ^{Ca}	8,4 ^{Cb}	9,8 ^{Cd}
F2	15,6 ^{Ba}	18,4 ^{Ab}	18,8 ^{Ab}	20,6 ^{Ac}	19,4 ^{Ac}
F3	11,7 ^{Cc}	13,7 ^{Ac}	13,4 ^{Bc}	14,0 ^{Bd}	13,6 ^{Ba}
F4	14,21 ^{Ad}	16,4 ^{Bc}	22,0 ^{Cd}	24,2 ^{Da}	24,4 ^{DCb}

Tabel 5. Kadar etanol cairan fermentasi (%)

Perlakuan*	Waktu fermentasi (hari)			
	2	3	4	5
F1	0,26% ^{Aa}	0,51% ^{Ba}	0,88% ^{Ca}	2,31% ^{Ea}
F2	0,27% ^{Ca}	1,49% ^{Eb}	1,72% ^{Eb}	3,71% ^{Eb}
F3	1,07% ^{Db}	0,72% ^{Dc}	1,80% ^{Ab}	2,64% ^{Ba}
F4	3,82% ^{Bc}	1,73% ^{Cb}	2,82% ^{Ab}	3,57% ^{Db}

Tabel 6. Kadar gula reduksi cairan fermentasi (mg·mL⁻¹)

Perlakuan*	Waktu fermentasi (hari)				
	1	2	3	4	5
F1	98,37 ^{Ca}	111,90 ^{Cb}	73,27 ^{Ba}	21,38 ^{Dc}	13,46 ^{Cd}
F2	87,41 ^{Ca}	108,66 ^{Bb}	84,12 ^{Ca}	17,79 ^{Db}	37,40 ^{Ac}
F3	78,81 ^{Bc}	72,42 ^{Ba}	31,15 ^{Aa}	17,39 ^{Cb}	14,21 ^{Cd}
F4	84,57 ^{Ca}	123,38 ^{Ad}	105,36 ^{Cd}	46,48 ^{Ba}	77,15 ^{Ca}

Tabel 7. Hasil analisis kualitas biji kakao

Perlakuan*	Analisis biji kakao (%)					pH biji
	<i>fermented</i>	<i>unfermented</i>	<i>non-fermented</i>	berkecambah	berjamur	
F1	15	38	19	16	12	6,3 ^a
F2	69	20	3	4	4	6,1 ^a
F3	55	28	8	3	6	6,3 ^a
F4	83	14	1	2	1	6,2 ^a

*Keterangan Tabel 3-7: perlakuan merujuk pada Tabel 1; huruf kecil: perbandingan hasil pengukuran pada hari yang sama untuk perlakuan yang berbeda (vertikal dalam satu kolom); huruf kapital: perbandingan hasil pengukuran pada hari yang berbeda untuk perlakuan yang sama (horizontal dalam satu baris); huruf berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan beda nyata pada uji T ($P < 0,05$)

semakin menurun, kemungkinan karena digunakan sebagai energi untuk aktifitas fisiologis dan metabolisme biji. Penambahan

starter BAL pada penelitian Kresnowati et al. (2013) masih menyisakan 20% gula pada hari ke-5 fermentasi.

Kualitas biji setelah fermentasi

Analisis keberhasilan fermentasi kakao dilakukan menggunakan metode *cut test* pada biji kakao kering. Proses fermentasi akan mengubah bentuk dan warna biji kakao dari putih keunguan hingga berwarna coklat (Gambar 2). Selain perubahan warna, keberhasilan fermentasi juga dapat dilihat dari pertumbuhan kecambah pada biji kakao (Tabel 7). Biji kakao yang terfermentasi akan berwarna coklat agak tua dan teksturnya berongga (Tarigan dan Iflah 2017). Presentasi toleransi pada biji kakao hasil fermentasi berjamur adalah sebesar 5%, biji berkecambah 2% (Davit et al. 2013). Presentase keberhasilan fermentasi F4 sebesar 83%, F2 69%, dan F3 55%. Keberhasilan fermentasi dengan penambahan *starter* terbukti lebih tinggi jika dibandingkan dengan F1 (hanya sebesar 15%). Hasil ini lebih baik dari proses fermentasi spontan di Ekuador yang hanya menghasilkan 15-28% biji kakao terfermentasi sempurna (Papalexandratou et al 2011).

Penambahan *starter* BAL dan khamir sangat berpengaruh dalam meningkatkan kualitas biji kakao. Pada perlakuan F2 dan F4 hanya 2-4% yang mengalami germinasi (kegagalan fermentasi). Hal ini disebabkan oleh produksi kadar etanol yang cukup tinggi pada saat proses fermentasi yang mencapai

3,5-3,71% dan kadar asam yang mencapai 20,61 hingga 20,42 mg·mL⁻¹ sehingga dapat menyebabkan kematian biji dan keberhasilan proses fermentasi. Perbedaan bentuk biji kering keempat perlakuan setelah fermentasi disebabkan perubahan kimia dan mikrobiologi pada saat fermentasi (Gambar 3).

Tingkat keasaman (pH) biji merupakan parameter kualitas kakao yang baik. Pada keempat perlakuan fermentasi nilai pH biji tidak berbeda nyata terhadap perlakuan dan lama fermentasi ($P < 0,05$) (Tabel 7). pH biji kakao yang dihasilkan mendekati netral yang kemungkinan disebabkan oleh proses pencucian setelah melakukan fermentasi, sehingga mengurangi kadar asam pada biji.

KESIMPULAN

Peningkatan kualitas biji kakao melalui proses fermentasi dipengaruhi oleh perubahan fisik, kimia dan mikrobiologi yang terjadi selama proses fermentasi seperti pH, total asam, kadar etanol dan gula reduksi. Penambahan *starter* bakteri asam laktat (BAL) dan khamir dapat memperbaiki proses yang terjadi pada fermentasi. Fermentasi dengan penambahan *starter* menyebabkan kualitas biji kakao lebih baik jika dibandingkan dengan fermentasi spontan. Fermentasi dengan *starter* campuran BAL dan khamir menghasilkan kualitas biji kakao kering yang



Gambar 2. Hasil *cut test* biji kakao setelah fermentasi: (A) *fermented*; (B) *unfermented*; (C) *non-fermented*; (D) berkecambah; dan (E) berjamur



Gambar 3. Biji kakao hasil fermentasi: (A) F1, fermentasi spontan; (B) F2, fermentasi dengan BAL; (C) F3, fermentasi dengan khamir; dan (D) F4, fermentasi dengan BAL dan khamir

lebih baik dibandingkan dengan *starter* tunggal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai melalui Program Penelitian Tim Pascasarjana (PTP) dengan nomor kontrak 1544/ IT 3. II/PN/2018 atas nama Anja Meryandini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa EO, Budu AS, Mensah-Brown H, Takrama JF, Akomanyi E. (2014). Changes in biochemical and physico-chemical qualities during drying of pulp preconditioned and fermented cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *J Nutr Health Food Sci* 2:1-8. doi: 10.15226/jnhfs.2014.00121
- Afoakwa EO, Kongor JE, Takrama JF, Budu AS (2013) Changes in acidification, sugars and mineral composition of cacao pulp during fermentation of pulp pre-conditioned cacao (*Theobroma cacao*) beans. *Intl Food Res J* 20:1215-1222
- Anvoh KYB, Guehi TS, Beugre GAM, Kinimo JM, Gnakri D (2010) Comparison of biochemical changes during alcoholic fermentation of cocoa juice conducted by spontaneous and induced processes for the production of ethanol. *Afr J Food Agric Nutr Dev* 10:2740-2754. doi: 10.4314/ajfand.v10i6.58070
- AOAC (1990) Official methods of analysis of The Association of Analytical Chemists. 15th Edition. AOAC Int Pub, Washington DC
- Apriyanto M, Sutardi S, Harmayani E, Supriyanto S (2016) Perbaikan proses fermentasi biji kakao non fermentasi dengan penambahan biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti*. *Agritech*, 36:410-415 doi: 10.22146/agritech.16764
- Beckett ST (2009) Industrial Chocolate Manufacture and Use. 4th Edition. Wiley-Blackwell, Oxford
- Berbiye IY (2014) Raw cocoa (*Theobroma cacao* L) quality parameters with special reference to West Africa. Dissertation, University of Hamburg
- BSN (2008) Standar Nasional Indonesia Biji Kakao, SNI 2323:2008. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta
- Davit MJ, Yusuf RP, Yudari DAS (2013) Pengaruh cara pengolahan kakao fermentasi dan non fermentasi terhadap kualitas, harga jual produk pada Unit Usaha Produktif (UUP) Tunjung Sari, Kabupaten Tabanan. *e-J Agribisnis dan Agrowisata* 2: 191-203
- De Vuyst L, Weckx S (2016) The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *J Appl Microbiol* 121:5-17. doi: 10.1111/jam.13045
- Fahrurrozi (2015) Microbiological and biochemical investigations of cocoa bean fermentation. Dissertation, University of Hamburg
- ICCO (2012) How is the quality of cocoa checked - by hand, by machine? <https://www.icco.org/faq/59-fermentation-a-drying/108-how-is-the-quality-of-cocoa-checked-by-hand-by-machine.html>. Diakses 8 April 2019
- ICCO (2018) ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol XLIV No 4, Cocoa year 2017/1018
- Inderiani K (2017) Seleksi dan identifikasi khamir asal fermentasi kakao di Sukabumi. Skripsi, Institut Pertanian Bogor
- Kresnowati MTA, Suryani L, Affifah M (2013) Improvement of cocoa beans fermentation by LAB starter addition. *J Medical and Bioeng* 2:274-278. doi: 10.12720/jomb.2.4.274-278
- Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31:426-428. doi: 10.1021/ac60147a030
- Moore JW, Stanitski CL, Jurs PC (2011) Chemistry: The Molecular Science. Cengage Learning inc, USA
- Papalexandratou Z, Falony G, Romanens E, Jimenez JC, Amores F, Daniel HM, De Vuyst L (2011) Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of the microbiota associated with traditional ecuadorian spontaneous cocoa bean fermentations. *Appl Environ Microbiol* 77:7698–7714. doi: 10.1128/AEM.05523-11
- Pereira GV, Miquel MG, Ramos CL, Schwan RF (2012) Microbiological and

- physicochemical characterization of small-scale cocoa fermentations and screening of yeast and bacterial strains to develop a defined starter culture. *Appl Environ Microbiol* 78:5395-5405. doi: 10.1128/AEM.01144-12
- Sudarminto SY (2017) Teknologi pengolahan pangan hasil perkebunan. UB Press, Malang
- Takrama JF, Kumi WO, Otoo G, Addo K, Camu N (2015) Optimization of cocoa pulp juice fermentation with yeast starter cultures of cocoa heap fermentations. *J Agric Sci Food Technol* 1:22-23
- Tarigan E, Iflah T (2017) Beberapa komponen fisikokimia kakao fermentasi dan non fermentasi. *J Agroindustri Halal* 3:48-62. doi: 10.30997/jah.v3i1.687
- Tsaaqifah H (2017) Seleksi bakteri asam laktat sebagai kultur *starter* untuk fermentasi kakao (*Theobroma cacao* L.). Tesis, Institut Pertanian Bogor
- Wahyudi T, Panggabean TR, Pujiyanto (2008) Panduan Lengkap Kakao: Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir. Penebar Swadaya, Jakarta
- Yanti NA, Jamili, Susilowati PE (2014) Peningkatan kualitas biji kakao melalui proses fermentasi oleh mikroba lokal asal Sulawesi Tenggara. Prosiding Semirata MIPA, Bogor 9-11 Mei 2014, Institut Pertanian Bogor