

Produksi Senyawa Aroma dari Lendir Biji Kakao oleh *Trichoderma* sp. pada Variasi Waktu Fermentasi, pH, dan Kecepatan Pengadukan

Tri Panji¹, Djumali Mangunwidjaja², dan Sulam Taufik²

¹Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor

²Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Senyawa aroma yang merupakan bahan penting dalam berbagai industri dapat diproduksi melalui fermentasi. Cara ini memiliki beberapa keunggulan, antara lain produk bersifat alami, produksi cepat dan terkontrol, biaya produksi rendah dan tidak dipengaruhi oleh iklim, musim atau letak geografis. Lendir biji kakao yang merupakan limbah pengolahan biji kakao dan mengandung gula (12-15%), protein (0,1-0,5%), pektin (5-7%), serta asam-asam tidak menguap (0,8-1,5%), berpotensi untuk digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba penghasil senyawa aroma tersebut. Penelitian bertujuan untuk mengkaji pemanfaatan lendir biji kakao sebagai media pertumbuhan *Trichoderma* sp. dan optimasi produksi senyawa aroma oleh kapang *Trichoderma* sp. pada variasi waktu fermentasi, pH dan kecepatan pengadukan. Uji pertumbuhan *Trichoderma* sp. dilakukan pada erlenmeyer yang dikocok dengan *shaker*, sedangkan optimasi produksi senyawa aroma dilakukan dengan menggunakan bioreaktor sistem curah tipe *stirred tank* volume dua liter pada kondisi pH 3, 4 dan 5, dan kecepatan pengadukan 100, 150 dan 200 rpm selama 144 jam. Analisis yang dilakukan meliputi kandungan lendir biji kakao awal, perubahan bobot kering biomassa sel, kadar gula (sebagai gula pereduksi), dan senyawa aroma yang dihasilkan selama fermentasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa lendir biji kakao mengandung karbon (4,160-6,32%), nitrogen (0,049-0,084%), fosfat (0,021-0,029%) dan gula/gula pereduksi (6,55-11,08%). Laju pertumbuhan spesifik pada fase log menggunakan media yang mengandung lendir biji kakao 30% (v/v) dan pada media basal masing-masing adalah 0,04 jam⁻¹ dengan waktu pertumbuhan optimum 48 jam. Senyawa aroma yang terbentuk selama fermentasi media mengandung lendir biji kakao 30% (v/v) oleh kapang *Trichoderma* sp. antara lain 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, etanol, 2,3-butandiol, asam asetat, benzaldehid, dan asam propanoat. Kondisi optimum untuk produksi senyawa aroma dicapai pada pH 4 dan kecepatan 150 rpm dan waktu fermentasi 72 jam.

Kata kunci: Senyawa aroma, *Trichoderma* sp., lendir biji kakao, limbah fermentasi.

ABSTRACT

Flavouring substances, an important materials for several industry, could be produced by fermentation method. This method has several advantages compared to that of chemical synthesis, i.e. the process is fast and controllable and is not influenced by climatic and geographical condition, the production cost is low, and the product is natural. Cocoa sweating, a waste of cocoa processing containing sugar (12-15%), protein (0.1-0.5%), pectin (5-7%), as well as non-volatile acids (0.8-1.5%), is potential as a growth media for microbes producing flavour substances. The aim of this research was to study the use of cocoa sweatings as growth media for *Trichoderma* sp. and to optimize production of

flavouring agent by this fungus on various fermentation time, pH and agitation speed. Assay on the growth of *Trichoderma* sp. was carried out in erlenmeyer flasks on a shaker and optimization of flavouring agent production was conducted in a two liters stirred tank type batch system bioreactor at pH of 3, 4, and 5 and agitation speed of 100, 150, and 200 rpm for 144 hours. Composition of fresh cocoa sweating, changes in dry weight of cell biomass, sugar content (as reducing sugar), and aroma compounds produced during fermentation were analyzed. The results showed that cocoa sweatings constituted of carbon (4.160-6.32%), nitrogen (0.049-0.084%), phosphate (0.021-0.029%) and sugar/reducing sugar (6.55-11.08%). Specific growth rate of *Trichoderma* sp. at log phase on both media containing cocoa sweating 30% (v/v) and on basal media was 0.04 h^{-1} with optimum culture time of 48 hours. Aroma compounds produced during fermentation of media containing cocoa sweating by *Trichoderma* sp. were 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol, ethanol, 2,3-butanediol, acetic acid, benzaldehyde, and propanoic acid. Optimum condition for aroma production was obtained at pH of 4, agitation speed of 150 rpm, and fermentation time 72 hours.

Key words: Aroma compounds, *Trichoderma* sp., cocoa sweatings, fermentation waste.

PENDAHULUAN

Senyawa aroma merupakan bahan dalam industri makanan, minuman, kosmetika, farmasi, dan pakan (Janssens *et al.*, 1992). Permintaan pasar terhadap senyawa aroma pada tahun 1994 sekitar US\$ 8,5 milyar per tahun, dan diperkirakan akan meningkat menjadi US\$ 10 milyar per tahun pada tahun 2000 (Yong, 1992).

Aroma yang muncul pada bahan disebabkan oleh adanya kandungan senyawa aroma baik sebagai senyawa tunggal maupun majemuk (Panji, 1993). Beberapa senyawa aroma yang telah banyak digunakan antara lain 6-pentil- α -piron yang memberikan aroma mirip kelapa (Collins dan Halim, 1972), lakton yang dapat memberikan aroma buah-buahan, kelapa, kacang, dan pirazin yang dapat menimbulkan aroma kacang, kopi, coklat, dan pisang (Janssens *et al.*, 1992), serta ester yang dapat memberikan aroma buah-buahan hanya dengan konsentrasi yang rendah (Janssens *et al.*, 1992). Aroma pada kebanyakan bahan pangan merupakan campuran beberapa senyawa dengan komposisi yang kompleks, seperti yang terdapat pada beberapa jenis makanan tradisional dan minuman beralkohol sebagai hasil aktivitas mikroba. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba dapat dijadikan sumber yang sangat potensial dalam memproduksi senyawa aroma. Di samping itu, mikroba mampu mensintesis senyawa aroma yang tidak dapat disintesis dengan proses kimia biasa. Dari segi biaya, proses ini lebih murah dibandingkan proses kimia (Yong, 1992).

Produksi senyawa aroma menggunakan mikroba dapat menggantikan produksi senyawa aroma dari bahan tanaman. Produksi senyawa aroma secara fermentasi mikroba memiliki beberapa keuntungan antara lain: (1) dapat menghasilkan bahan aroma baru dan menarik, (2) dapat mengurangi biaya produksi yang sangat mahal bila bahan tersebut diekstraksi dari tanaman, (3) dapat mengurangi waktu produksi, (4) tidak tergantung musim, iklim, dan letak geografi, dan (5) disukai pemakai karena bersifat alami (Yong, 1992).

Mikroba Penghasil Senyawa Aroma

Beberapa Mikroba dapat digunakan untuk mensintesis senyawa aroma. *Trichoderma viride* misalnya, merupakan kapang yang diisolasi dari tanah yang dapat menghasilkan aroma seperti aroma kelapa yang sangat kuat pada media tumbuh yang sederhana (Rifai, 1969). Collins dan Halim (1972) mengkonfirmasi bahwa senyawa yang dapat menimbulkan aroma seperti aroma kelapa tersebut adalah 6-pentil- α -piron. *Trichoderma* sp. dapat menghasilkan etil asetat, etanol, isobutanol, butanol, 3-metil butanol, 3-oktanon, 1-oktena-3-ol, juga oktanol (Yong, 1992). Mikroba lain yang dapat mensintesis senyawa aroma antara lain *Aspergillus niger* yang menghasilkan 2-oktena-1-ol, 1-okten-1,3-ol, 3-oktanon, 3-metil-butanol, *Rhizopus* sp. yang menghasilkan 1-oktena-3-ol, 3-metilbutanol, 3-oktanon, dan *Corynebacterium glutamicum* dapat memproduksi tetrametilpirazin. Tetrametilpirazin dengan konsentrasi 3 g/l dapat dihasilkan dengan proses fermentasi dalam waktu lima hari (Demain *et al.*, 1967).

Lendir Biji Kakao

Indonesia merupakan negara penghasil biji kakao terbesar ketiga di dunia. Produksi biji kakao Indonesia meningkat pesat setiap tahun dan saat ini diperkirakan mencapai 300.000 ton. Peningkatan produksi ini juga diiringi dengan peningkatan jumlah limbah yang dihasilkan, antara lain lendir biji kakao. Tiap satu kilogram biji kakao basah (setara dengan tiga kilogram biji kering) diperkirakan menghasilkan lendir biji 0,10-0,19 liter (Adomako, 1994). Dengan demikian, saat ini total produksi lendir biji kakao di Indonesia diperkirakan sekitar 150.000 kilo liter per tahun.

Sampai sekarang lendir biji kakao secara ekonomis belum dimanfaatkan. Lendir biji kakao segar mengandung gula (12-15%), pektin (5-7%), asam-asam tidak mudah menguap (0,8-1,5%) dan protein (0,1-0,5%) (Opeke, 1984; Panji *et al.*, 1995). Komposisi kimia ini memungkinkan lendir biji kakao untuk digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba penghasil senyawa aroma.

BAHAN DAN METODE

Lendir biji kakao berasal dari hasil fermentasi biji kakao segar yang diperoleh dari Perkebunan Rajamandala, PTP Nusantara VIII, Kabupaten Bandung. Lendir biji kakao yang akan digunakan terlebih dahulu dianalisis kandungan beberapa bahan organik, C, N, P, dan logam-logam tertentu. Biakan mikroba yang digunakan adalah *Trichoderma* sp. koleksi laboratorium Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor. Uji pertumbuhan *Trichoderma* sp. dilakukan dengan menumbuhkan kapang pada masing-masing 100 ml media basal Serrano-Carreón *et al.* (1993), media mengandung lendir biji kakao yang disterilisasi, dan lendir biji kakao yang dipasteurisasi. Media basal mengandung (dalam g/l): glukosa, 30; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,94;

KH_2PO_4 , 7 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,5; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,008; Na_2HPO_4 , 2, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0001. Sedangkan media mengandung lendir biji kakao memiliki komposisi mineral yang sama dengan media basal tetapi menggunakan lendir biji kakao 30% (v/v) sebagai sumber karbon. Pengujian pertumbuhan dilakukan dengan analisis bobot kering biomassa pada waktu inkubasi 0, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, dan 96 jam pada suhu kamar, dengan kecepatan *shaker* 100 rpm.

Optimisasi produksi aroma dilakukan menggunakan fermentor Biostat tipe tangki berpengaduk berkapasitas dua liter yang diisi dengan 1.350 ml media mengandung lendir biji kakao yang dipasteurisasi dan ditambahkan 150 ml (10%) inokulum berumur 24 jam. Fermentor dikontrol pada variasi pH 3, 4, dan 5 dan kecepatan pengadukan 100, 150 dan 200 rpm. Pengambilan contoh dilakukan setiap 24 jam dan dianalisis bobot kering biomassa, kadar gula, uji organoleptik, dan komponen aroma yang terbentuk. Analisis kadar gula dilakukan menggunakan metode Mikro Somogyi yang dimodifikasi oleh Patterson dan Savage (Rohan dan Stewart, 1966), sedangkan analisis aroma dilakukan sebagai berikut. Sebanyak 50 ml cairan fermentasi diekstraksi kocok dengan 3 x 20 ml dietil eter. Lapisan eter dikumpulkan dan ditambahkan dengan MgSO_4 anhidrat, kemudian dipekatkan dengan evaporator vakum sampai volume satu mililiter. Contoh dimasukkan ke dalam *crimped top vial* sebelum dianalisis. Analisis dilakukan dengan kromatografi gas yang dilengkapi kolom kapiler FFAP (25 m x 0,2 mm i.d.) dengan kondisi sebagai berikut: suhu injektor diatur pada 225°C, suhu detektor (FID) 300°C, dan suhu kolom diprogram dengan suhu awal 40°C, suhu dinaikkan 10°C per menit sampai 150°C diikuti kenaikan 5°C per menit sampai 200°C dan isothermal pada 200°C dipertahankan selama empat menit. Kondisi optimum dipilih berdasarkan produksi senyawa aroma yang tertinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

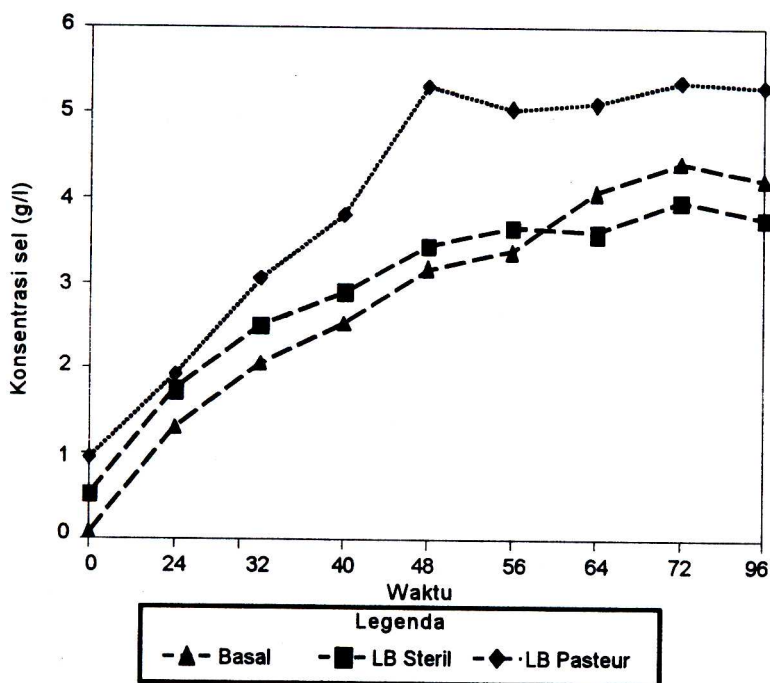
Hasil analisis komposisi lendir biji kakao terlihat pada Tabel 1. Dari hasil analisis terlihat bahwa lendir biji kakao mengandung logam-logam dan senyawa organik yang memungkinkan digunakan untuk pertumbuhan mikroba, khususnya kandungan gulanya yang dapat digunakan sebagai sumber karbon.

Uji pertumbuhan kapang *Trichoderma* sp. yang dilakukan pada tiga macam media yaitu media basal, media mengandung lendir biji kakao disterilisasi, dan media mengandung lendir biji kakao dipasteurisasi terlihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Komposisi lendir biji kakao.

No.	Jenis analisis	Komposisi
1.	pH	3,69
2.	Kadar C	4,160%
3.	Kadar N	0,049%
4.	Kadar P	0,022%
5.	Kadar K	0,373%
6.	Kadar Ca	0,035%
7.	Kadar Mg	315 ppm
8.	Kadar Fe	230 ppm
9.	Kadar Zn	9,5 ppm
10.	Kadar Mn	7,85 ppm
11.	Kadar gula	10,16%
12.	Kadar polifenol	0,79 SAG

Keterangan: *SAG = setara asam galat.



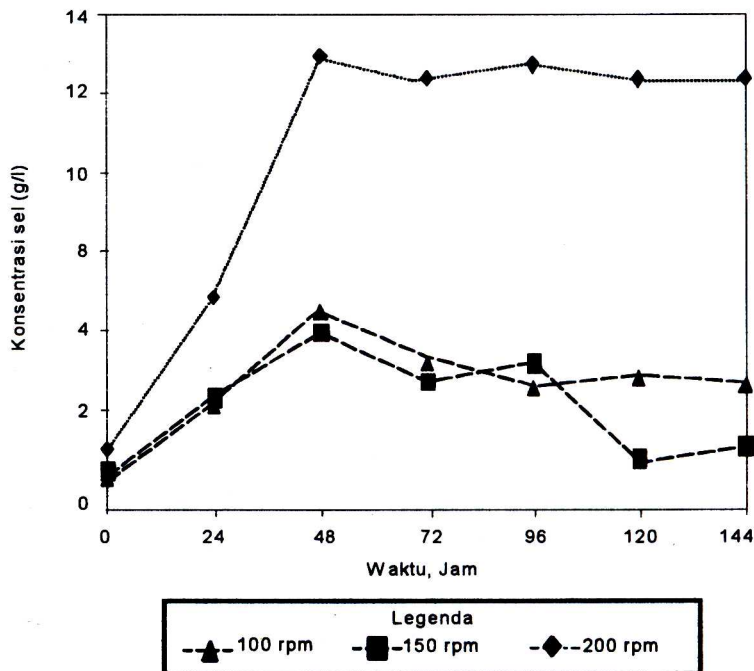
Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Trichoderma* sp. pada media mengandung lendir biji kakao dan media basal.

Terlihat bahwa pada ketiga media waktu pertumbuhan optimum *Trichoderma* sp. adalah 48 jam. Media mengandung lendir biji kakao dengan perlakuan pasteurisasi menghasilkan biomassa tertinggi, yaitu 5,36 g/l, dan laju pertumbuhan (μ) pada fase log 0,04 per jam. Sedangkan μ pada fase log media basal dan media mengandung lendir biji kakao disterilisasi masing-masing mencapai 0,04 per jam dan 0,03 per jam.

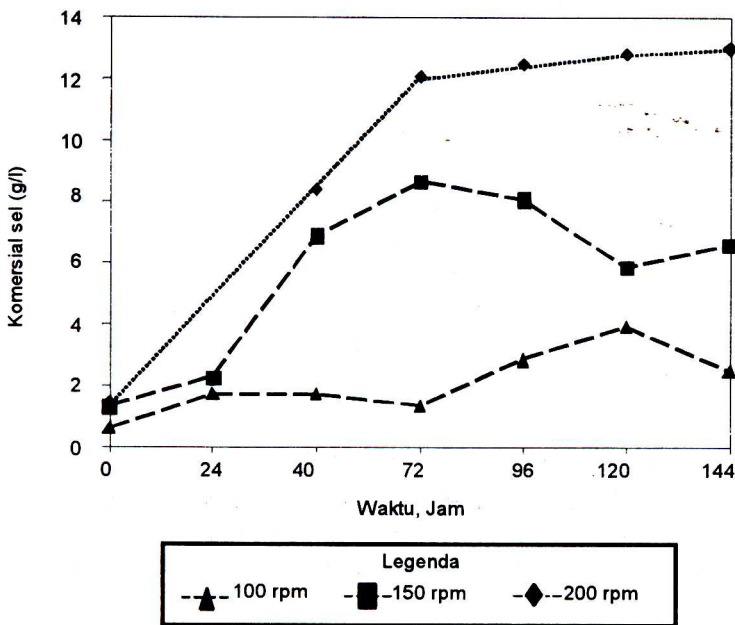
Pengamatan juga menunjukkan bahwa warna lendir biji yang disterilisasi berubah warnanya menjadi coklat pekat membentuk gumpalan. Hal ini mungkin disebabkan oleh hasil oksidasi polifenol denaturasi protein dalam lendir biji kakao. Oleh sebab itu, perlakuan pasteurisasi terhadap media mengandung lendir biji kakao dipilih untuk optimisasi produksi aroma.

Optimisasi pH dan Kecepatan Pengadukan

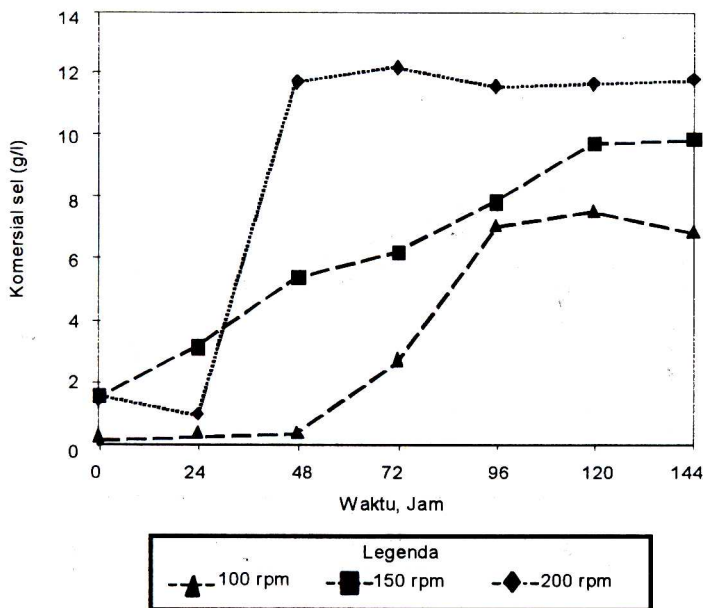
Pengamatan pertumbuhan *Trichoderma* sp. pada media mengandung lendir biji kakao 30% (v/v) pada kondisi pH 3, 4, dan 5 dan kecepatan pengadukan 100, 150, dan 200 rpm di dalam fermentor ditunjukkan pada Gambar 2, 3, dan 4.



Gambar 2. Kurva konsentrasi biomassa sel pada pH 3 pada berbagai rpm.



Gambar 3. Kurva konsentrasi biomassa sel pada pH 4 pada berbagai rpm.



Gambar 4. Kurva konsentrasi biomassa sel pada pH 5 pada berbagai rpm.

Pengaruh pH dan Kecepatan Pengadukan

Terlihat bahwa pertumbuhan *Trichoderma* sp. terbaik pada pH 4. Menurut Frazier dan Westhoff (1981), walaupun kapang memiliki selang pH pertumbuhan 2-8, tetapi sebagian besar kapang lebih menyukai kondisi asam, biasanya antara pH 4-5. Menurut Standbury dan Whitaker (1984) kontrol pH sangat penting untuk memperoleh produktivitas optimum, karena pH mempengaruhi fungsi membran, enzim dan komponen sel lainnya, serta mempengaruhi kelarutan konstituen (Rehm dan Reed, 1981).

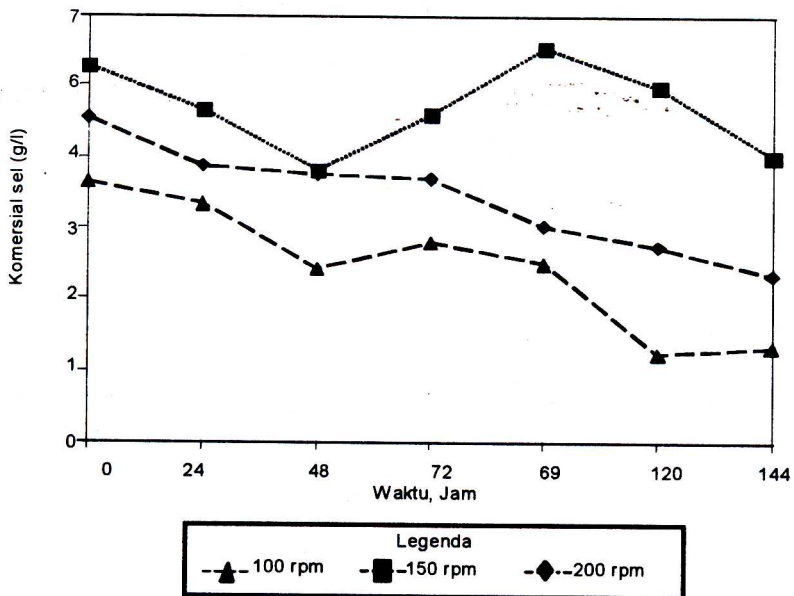
Pengadukan merupakan faktor yang penting dalam suatu proses fermentasi terendam. *Trichoderma* sp. termasuk ke dalam kapang yang membutuhkan oksigen dalam pertumbuhannya (aerob). Dalam fermentasi aerob tersedianya oksigen sangat penting untuk pertumbuhan dan produksi metabolit sehingga dilakukan proses aerasi dan pengadukan. Menurut Darwis dan Sukara (1990) pengadukan bertujuan untuk meratakan penyebaran mikroba, nutrisi dan oksigen dalam medium untuk proses aerob. Pengadukan menyebabkan pecahnya gelembung-gelembung udara besar menjadi lebih kecil sehingga kontak udara dengan medium menjadi lebih luas dan menyebabkan kelarutan oksigen dalam medium juga meningkat. Hal ini menyebabkan kebutuhan oksigen dalam medium tercukupi.

Untuk variasi kecepatan pengadukan yaitu 100, 150, dan 200 rpm, pertumbuhan *Trichoderma* sp. pada kecepatan pengadukan 200 rpm lebih baik dibandingkan dengan pertumbuhan pada kecepatan pengadukan 100 rpm dan 150 rpm (Gambar 2, 3, dan 4).

Trichoderma sp. yang memiliki septa mengakibatkan pertumbuhan yang lebih baik dengan adanya pengadukan pada kecepatan tertentu. Pengadukan menyebabkan miselia kapang dapat terpotong dan masing-masing potongan akan membentuk koloni baru. Pertumbuhan *Trichoderma* sp. dalam media terendam tanpa pengadukan akan dapat menyebabkan terbentuknya pelet. Menurut Gumbira-Said (1987), bila fungi ditumbuhkan dalam kultur terendam, miselia akan membentuk pelet dengan diameter berkisar 0,1-10 mm. Kadar oksigen dalam media akan mengalami penurunan apabila kadar biomassa dalam media telah mencapai titik puncaknya, sehingga menyebabkan penurunan pertumbuhan biomassa dalam media setelah tercapai waktu pertumbuhan optimum.

Perubahan Konsentrasi Gula

Konsentrasi gula menurun selama proses fermentasi. Penurunan yang cukup banyak terjadi pada kecepatan pengadukan 100 rpm dan 200 rpm. Kenaikan konsentrasi gula pada kecepatan pengadukan 150 rpm belum diketahui penyebabnya, tetapi diduga berasal dari hasil pemecahan pektin yang terdapat pada lendir biji kakao.



Gambar 5. Profil perubahan konsentrasi gula selama fermentasi menggunakan medium lendir biji kakao pada pH 4 dan berbagai kecepatan pengadukan.

Produksi Senyawa Aroma pada Variasi pH dan Kecepatan Pengadukan

Senyawa aroma yang terbentuk selama proses fermentasi dapat diketahui dengan membandingkan senyawa volatil dalam cairan fermentasi dan senyawa volatil dalam media awal. Senyawa yang terdeteksi dalam cairan fermentasi kedua media diperlihatkan dalam Tabel 2, sedangkan senyawa yang terbentuk selama fermentasi dalam media mengandung lendir biji kakao terlihat dalam Tabel 3.

Senyawa yang muncul pada fermentasi media mengandung lendir biji kakao adalah asam asetat, 3-metil-1-butanol, etanol, 2-metil-1-propanol, benzaldehida, asam propanoat, dan 2,3-butandiol. Senyawa yang diharapkan yaitu 6-pentil- α -piron tidak muncul. Namun hasil uji organoleptik terhadap cairan fermentasi menunjukkan aroma seperti kelapa yang biasanya merupakan aroma khas dari senyawa tersebut.

Senyawa 6-pentil- α -piron tidak muncul, diduga disebabkan oleh kecilnya konsentrasi senyawa tersebut sehingga tidak terdeteksi oleh alat yang digunakan. Menurut Serrano-Carreón *et al.* (1992), sintesis 6-pentil- α -piron oleh *Trichoderma harzianum* pada media menggunakan glukosa sebagai sumber karbon tunggal sangat rendah sekitar 3 mg/l dan oleh *Trichoderma viride* pada media yang sama bahkan tidak terdeteksi.

Tabel 2. Senyawa yang terbentuk pada fermentasi media basal dan media mengandung lendir biji kakao.

RT	Senyawa	
	Media mengandung lendir biji	Media basal
3,23		asam propanoat
4,24		asetaldehida
4,35		propanon
4,35		4-hidroksi-4-metil-2-pentanon
6,58	etanol	etanol
10,17	2-metil-1propanol	2-metil-1-propanol
10,17	2-butanol	
10,74	2-pentanol	
11,22	benzenetamin	
11,30		asam benzenasetat
12,18	asam karbamat	
12,49	3-metil-1-butanol	3-metil-1-butanol
12,84	asam pospononat	
13,54	asam oktadekanoat	
14,17	3-hidroksi-2-butanon	
14,17	2-etoksi-propana	
14,27		formamida
14,97	asam propanoat	
16,25	propanon	
16,48	asam asetat	
16,95	benzaldehida	benzaldehida
18,34	siklobutanol	
18,34	2,3-butandiol	2,3-butandiol
22,71	benzenetanol	
38,19		asam asetat

Tabel 3. Senyawa yang terbentuk selama fermentasi media mengandung lendir biji kakao

RT		Senyawa
GC-MS	GC	
6,58	2,15	etanol
10,17	5,42	2-metil-1-propanol
12,49	7,30	3-metil-1-butanol
14,97	9,92	asam propanoat
16,48	12,43	asam asetat
16,95	13,41	benzaldehida
18,34	14,41	2,3-butandiol

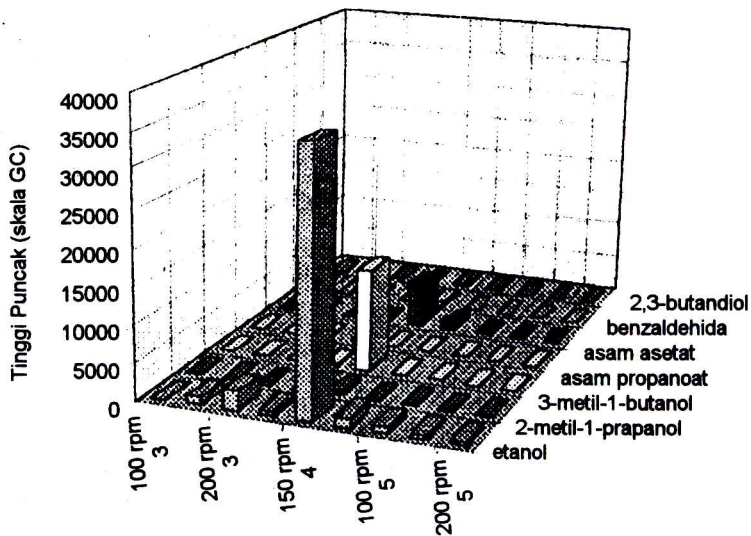
Munculnya aroma mirip aroma kelapa diduga senyawa tersebut dapat menimbulkan aroma yang cukup kuat dalam konsentrasi kecil (Panji *et al.*, 1995). Bau yang kuat muncul pada jam ke-72. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aroma yang merupakan metabolit sekunder tersebut dihasilkan setelah pertumbuhan mencapai fase stasioner. Kemungkinan lain senyawa tersebut tidak disintesis oleh *Trichoderma* sp. Menurut Janssens *et al.* (1992), *Trichoderma* sp. juga memproduksi senyawa aroma dari kelompok ester dan alkohol.

Dari hasil uji organoleptik terhadap cairan fermentasi menggunakan media basal dan media mengandung lendir biji kakao, aroma seperti kelapa pada media basal lebih kuat. Hal ini diduga disebabkan pada lendir biji banyak terdapat senyawa-senyawa volatil dan beberapa jenis asam, sehingga aroma yang timbul merupakan perpaduan aroma berbagai senyawa yang ada. Hal ini juga mengakibatkan aroma kelapa yang ada tertutupi oleh aroma yang lain.

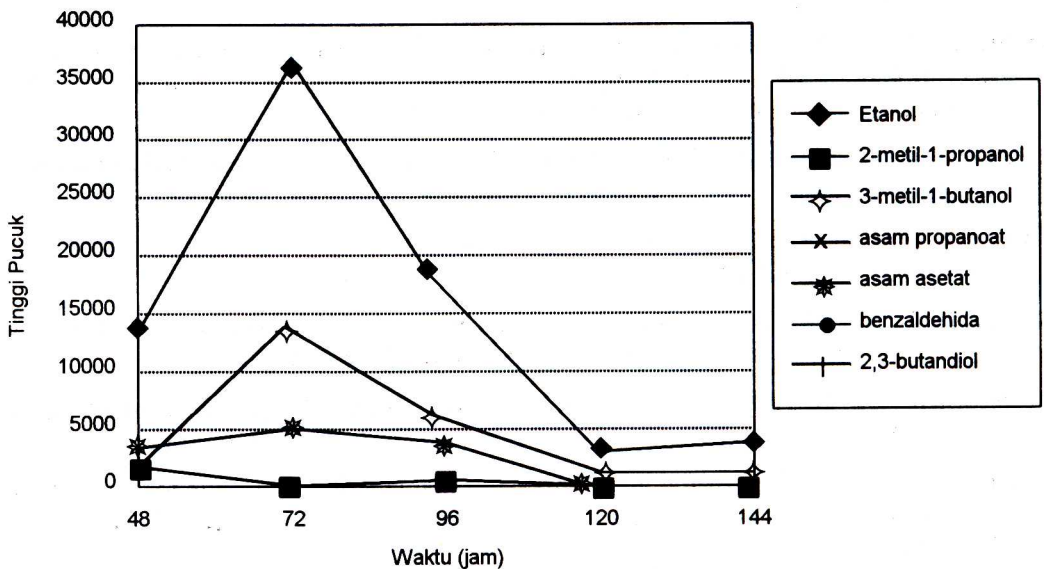
Senyawa-senyawa yang dihasilkan dari fermentasi lendir biji kakao dengan menggunakan kapang *Trichoderma* sp. ini juga diproduksi oleh beberapa mikroba lain. Etanol yang dapat menimbulkan aroma seperti bunga mawar juga diproduksi oleh beberapa mikroba lain seperti *Ceratocystis coerulescens*, *Ceratocystis fimbriata*, *Ceratocystis major*, *Aspergillus oryzae*, *Myoacia uda*, *Penicillium aurantiogriseum* (Yong, 1992). Senyawa 3-metil-1-butanol yang dapat menimbulkan aroma khas seperti buah (fruity odor) juga dihasilkan oleh *Penicillium caseicolum*, *Penicillium camemberti*, sedangkan 2-metil-1-propanol juga dihasilkan oleh *Penicillium aurantiogriseum*.

Pengamatan terhadap pengaruh pH dan kecepatan pengadukan terhadap pembentukan senyawa-senyawa tersebut di atas memperlihatkan senyawa tersebut banyak muncul pada kondisi pH 4 dan kecepatan pengadukan 150 rpm (Gambar 6). Hal ini agak berbeda dengan pertumbuhan miselia tertinggi yang dicapai pada pH 4 dan kecepatan pengadukan 200 rpm. Pertumbuhan yang baik akan dapat meningkatkan produksi metabolik mikroba (Mangunwidjaja, 1990), tetapi kecepatan pengadukan yang terlalu tinggi mungkin akan mempercepat penguapan senyawa volatil.

Dari hasil pengamatan terhadap pembentukan senyawa aroma pada variasi pH dan kecepatan pengadukan selama proses fermentasi, konsentrasi senyawa aroma meningkat hingga jam ke-72 dan kemudian menurun setelah jam ke-72 (Gambar 7). Penurunan konsentrasi senyawa aroma ini diduga disebabkan oleh terjadinya perombakan senyawa tersebut oleh *Trichoderma* sp. atau oleh penguapan senyawa tersebut karena sifatnya yang volatil. Etanol, misalnya, dapat dioksidasi menjadi asam asetat, terlihat dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam asetat dan berkurangnya etanol selama fermentasi berlangsung.



Gambar 6. Tinggi puncak senyawa aroma yang terbentuk pada pH 4 dan kecepatan pengadukan 150 rpm.



Gambar 7. Tinggi puncak senyawa aroma yang terbentuk pada waktu fermentasi 72 jam.

KESIMPULAN

1. Lendir biji kakao yang merupakan limbah proses pengolahan biji kakao memiliki komposisi kimia yang dapat digunakan sebagai media pertumbuhan kapang *Trichoderma* sp.
2. Kapang *Trichoderma* sp. dapat memproduksi senyawa aroma yaitu etanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, benzaldehida, asam asetat, asam propanoat, dan 2,3-butandiol pada media mengandung lendir biji kakao 30% (v/v).
3. Produksi senyawa aroma menggunakan bioreaktor terkontrol tipe tangki berpengaduk memberikan hasil terbaik pada kondisi pH 4 dan kecepatan pengadukan 150 rpm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adomako, D. 1984.** Some conversion technologies for the utilization of cocoa wastes. Proc. 9th. Int. Cocoa Res. Conf., Lome Togo, 12-18 Feb. 1984. pp. 437-441.
- Collins, R.P. and A.F. Halim. 1972.** Characterization of the major aroma constituents of the fungus *Trichoderma viride* (Pers.), J. Agric. Food Chem. 20(2): 437-438.
- Darwis, A.A. dan E. Sukara. 1990.** Teknologi Mikrobial. Depdikbud Dirjen Pendidikan Tinggi, PAU Bioteknologi IPB.
- Demain, A.L., M. Jackson, and N.R. Tremer. 1967.** Thiamine dependent accumulation of tetramethyl-pyrazine accompanying a mutation in the isoleucine-valine pathway. J. Bacteriol. 94: 323-326.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1981.** Food Microbiology, Mc. Graw Hill Publishing Co. Ltd., New York.
- Gumbira-Said, E. 1987.** Bioindustri, penerapan teknologi fermentasi. Mediatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Janssens, L., H.L. De Pooter, N.M. Schamp, and E.J. Vandamme. 1992.** Production of flavors by microorganisms. Process Biochem. 27: 195-215.
- Mangunwidjaja, D. 1990.** Kinetika fermentasi dan rancang bangun bioreaktor. Agro Industri Pess, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fateta-IPB, Bogor.
- Opeke, L.K. 1984.** Optimising economic returns (profit) from cacao cultivation through efficient use of cocoa by products. Proc. 9th Int. Cocoa Res. Conf., Lome Togo. pp. 489-493.
- Panji, T. 1993.** Pengkajian proses pembentukan citarasa coklat. Desertasi Doktor, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 140 hal.

- Panji, T., S. Effendi, R.S. Hadioetomo, D. Hadijaya, and D. Mangunwidjaja. 1995.** Some aromas produced by *Trichoderma* spp. and possible production of associated flavoring agents using cocoa sweating. *Menara Perkebunan*. 63(1), 27-32.
- Rehm, H.J. and G. Reed. 1981.** Biotechnology, vol imicrobiology fundamentals. Verlag Chemie., Weinheim.
- Rifai, M.A. 1969.** A revision of genus *Trichoderma*. Mycological Papers No. 116, C.M.I. England.
- Rohan, T.A. and T. Stewart. 1966.** The precursors of chocolate aroma: changes in the sugar during roasting of cocoa beans. *J. Food Sci.* 31, 206-209.
- Serrano-Carreón, L., Y. Hathout, M. Bensoussan, and J.M. Belin. 1993.** Metabolism of linoleic acid or mevalonate and 6-pentyl- α -pyrone biosynthesis by *Trichoderma* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (9): 2945-2950.
- Standbury, P.F. and A. Whitaker. 1984.** Principles of Fermentation Technology, Pergamon Press, Oxford.
- Yong, F.M. 1992.** Biotechnology of microbial flavour production. Proc. ASEAN Workshop on the Production of Natural Flavour for Food, Kuala Lumpur, Malaysia.