

OPTIMASI KOMPOSISI NUTRIEN UNTUK PEMBENTUKAN KOMPONEN CITARASA PADA FERMENTASI BIJI KAKAO ASALAN

Hernani dan Winda Haliza

Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian
Jl. Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16114
Email : hernani_bahdin@hotmail.com

Pengolahan biji kakao tanpa melalui proses fermentasi biasanya disebut sebagai biji kakao asalan. Di Indonesia, petani masih jarang melakukan fermentasi karena harga jual biji fermentasi dan asalan, tidak jauh berbeda. Dengan melakukan fermentasi kembali pada biji kakao asalan menggunakan kultur mikroba sebagai nutrisi diharapkan menghasilkan komponen citarasa sama seperti kakao yang difermentasi. Adapun tujuan dari penelitian adalah untuk mendapatkan komposisi substrat atau media tumbuh yang sesuai untuk aplikasi fermentasi biji kakao asalan sehingga akan diperoleh starter kultur mikroba aktif yang dapat menghasilkan karakter citarasa setara dengan biji kakao fermentasi. Metodologi yang digunakan secara *response surface method* (RSM) terhadap komposisi kultur media yang terdiri dari fruktosa, glukosa, sukrosa dan asam sitrat. Faktor perlakuan fruktosa (x_1) dengan batasan 42-62 mg/g, glukosa (x_2) 24-41 mg/g, sukrosa (x_3) 21-32 mg/g dan asam sitrat (x_4) 21-24 mg/g. Dalam setiap perlakuan digunakan 4 kg biji kakao asalan. Hasil respon terhadap senyawa citarasa yang teridentifikasi terdiri dari golongan senyawa pirazin (2,3,5,6 tetrametil pirazin, 2,5 dimetil pirazin), asam butanoat, 2-metoksi fenol, δ -oktallakton, asam lemak (asam palmitat, stearat, cis-vasenat dan 9,12 oktadesenoat). Hasil respon terhadap model senyawa citarasa memberikan signifikansi yang nyata pada senyawa 2,3,5,6 tetrametilpirazin, asam butanoat, 2-metoksi fenol dan δ -oktallakton dan tidak berbeda nyata pada 2,5 dimetil pirazin.

Kata kunci : Kakao, fermentasi, asalan (non fermentasi), citarasa, komposisi nutrisi

ABSTRACT. Hernani and Winda Haliza. 2013. **Optimization of nutrient composition during fermentation on unfermented cocoa beans to enhance flavor components production.** The processing of cocoa beans without fermentation known as non fermented beans. Farmers rarely done fermentation, since the price of fermented and non fermented beans are not much different. By re-fermentation on unfermented cacao beans using microbes culture as a nutrient, it will be changed the flavor of unfermented cacao beans similar to fermented cacao beans. The present work was conducted to obtain a substrate suitable for long-term application of fermentation which is active microbial starter cultures for fermentation applications on non-fermented cocoa beans that can produce the equivalent character flavor cocoa fermentation. The methodology was used in the response surface method (RSM) on the composition of the culture media consisting of fructose, glucose, sucrose and citric acid. Fructose treatment factors (x_1) with limits 42-62 mg/g, glucose (x_2) 24-41 mg/g, sucrose (x_3) 21-32 mg/g and citric acid (x_4) 21-24 mg/g. For every treatment was used 4 kg unfermented cacao seed. The results of flavor response compounds were identified class of compounds, such as pyrazine groups (2,3,5,6 tetramethyl pyrazine, 2,5 dimethyl pyrazine), butanoic acid, 2-methoxy phenol, δ -octalactone, fatty acid (palmitic acid, stearic, cis-vacenic and 9,12 oktadecenoic). Response to the results of the model flavor compounds was gave significance to the compound of 2,3,5,6 tetramethylpyrazine, butanoic acid, 2-methoxy-phenol and δ -octalactone and not significantly different at 2,5 dimethyl pyrazine.

Keywords : cacao, fermentation, non fermented, fragrance and flavor, nutrient composition

PENDAHULUAN

Biji kakao asalan merupakan biji kakao kering non fermentasi yang banyak di produksi oleh para petani kakao di Indonesia. Kualitas dari biji kakao asalan ini dikenal sangat rendah dan Indonesia mengeksport sekitar 85-90%. Petani memiliki kecenderungan untuk mengolah biji kakao tanpa fermentasi dengan cara merendam biji dalam air untuk membuang *pulp* atau langsung dijemur matahari. Kemudian biji kakao dijual tanpa memperhatikan tingkat kekeringan, sehingga harga jual ditentukan oleh kadar airnya. Langkah tersebut

diambil petani untuk mendapatkan hasil penjualan yang cepat karena jika melalui proses fermentasi memerlukan waktu yang lebih lama¹.

Buah kakao segar memiliki komposisi kandungan air (32–39%), lemak (30–32%), protein (8–10%), senyawa polifenol (5–6%), pati (4–6%), pentosan (4–6%), selulosa (2–3%), sukrosa (2–3%), theobromin (1–2%), asam (1%) dan kafein (1%)². Biji kakao mempunyai bau dan rasa yang tidak menyenangkan, sehingga harus difermentasi, dikeringkan dan disangrai dalam upaya mendapatkan karakteristik citarasa dan aroma coklat³. Fermentasi biji kakao bisa dilakukan secara alamiah di

dalam wadah kotak kayu atau dalam keranjang, tanpa penambahan kultur starter mikroba.

Pulp yang menyelimuti biji merupakan media yang banyak mengandung nutrien seperti gula fruktosa, sukrosa dan lainnya sebagai media untuk membantu proses fermentasi. Mikroba – mikroba yang terdapat di dalam *pulp*, akan membantu merombak nutrien tersebut menjadi berbagai senyawa prekursor sehingga terbentuk komponen flavor (citarasa) dan warna pada biji kakao hasil fermentasi⁴. Proses fermentasi berlangsung relatif lama, yaitu sekitar 3-7 hari dilanjutkan dengan proses pengeringan biji kakao langsung di matahari selama 3-4 hari (tergantung cuaca). Pada kenyataannya, proses fermentasi membutuhkan waktu 9-11 hari, sedangkan kakao non fermentasi (asalan) hanya membutuhkan waktu 4-6 hari. Para petani kakao di Indonesia jarang yang melakukan proses fermentasi karena kebutuhan biaya hidup yang mendesak, sehingga biji kakao hanya dikeringkan dan tidak di fermentasi. Biji kakao yang tidak difermentasi disebut sebagai kakao asalan. Dalam proses fermentasi, alami, setelah 2-3 hari akan tumbuh beberapa jenis jamur, *yeasts*, bakteri asam laktat dan asam asetat. Jenis mikroba utama yang ditemukan, antara lain *Penicillium citrinum*, *Kloeckera apis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus plantarum* and *Acetobacter pasteurianus*⁵. Pada akhir proses fermentasi, maka akan teridentifikasi juga jenis *Bacillus*, terutama *B. pumilus* dan *B. licheniformis*.

Komposisi kimia biji kakao bisa diubah melalui kontrol perlakuan pascapanenan dan pengolahannya untuk memberikan kualitas flavor pada karakter flavor, seperti senyawa volatil (alkohol, aldehid, keton, ester dan pirazin) dan non volatil (gula dan asam karboksilat)⁴. Fermentasi merupakan proses yang sangat krusial, tidak hanya untuk pembentukan fraksi volatil (alkohol, ester dan asam-asam lemak) tetapi juga untuk prekursor flavor maillard provisi (asam-asam amino dan gula reduksi)^{6,7,8}. Flavor merupakan hal yang terpenting dari produk kakao, prekursor ini akan berkembang selama proses fermentasi dan pengeringan biji kakao. Biji kakao diklasifikasikan kualitas aromanya sesuai dengan kandungan senyawa aromatikanya⁹. Faktor genotipa, kondisi agroklimat, proses fermentasi, pengeringan dan industrialisasi merupakan efek yang sangat berperan dalam komposisi senyawa-senyawa volatil dan non volatil terhadap kualitas akhir produk kakao¹⁰.

Untuk meningkatkan kualitas biji kakao asalan sesuai dengan karakter biji kakao hasil fermentasi, bisa dilakukan pengolahan kembali dengan melakukan fermentasi biji kakao asalan. Kendalanya adalah biji kakao asalan yang akan diproses ulang sebagian besar

sudah menjadi kering, sehingga substrat *pulp* sebagai sumber nutrien sudah berkurang. Untuk itu, diperlukan tambahan nutrien eksternal dan starter mikroba, serta mengkondisikan kelembaban dan suhu optimum seperti pada proses fermentasi. Proses fermentasi dari biji kakao kering asalan diharapkan bisa meningkatkan mutu biji kakao sehingga dapat meningkatkan harga jual menjadi lebih tinggi. Proses ulang fermentasi biji kakao asalan belum pernah ada yang melakukan, sehingga penelitian ini sangat diperlukan untuk meningkatkan kualitas biji kakao asalan.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mendapatkan komposisi nutrien yang tepat dalam proses fermentasi biji kakao asalan terhadap kualitas dan komponen pembentuk citarasa.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan baku yang digunakan adalah biji kakao non fermentasi dari pedagang pengumpul di daerah Gisting, Lampung Selatan. Bahan untuk fermentasi berupa glukosa, fruktosa, sukrosa, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, *A. aceti* dan asam sitrat. Bahan kimia untuk analisis mutu dan mikrobiologi, bahan media pertumbuhan mikroba, dan bahan pembantu. Peralatan yang digunakan terdiri atas : a) peralatan untuk proses fermentasi, kotak kayu dengan ukuran luar 250 x 250 x 250 mm. Kotak dilubangi disemua sisi secukupnya dengan diameter lubang 1cm, alat pengering, b) alat pembantu antara lain : baskom/ember, timbangan, dan c) peralatan untuk analisis : oven, soklet, pHmeter, HPLC Merck Varian 940-LC, kolom C₁₈, detektor UV-Vis, pada panjang gelombang 254 nm, eluen campuran buffer fosfat 0,5% dengan acetonitril (99,6:0,4), kecepatan alir 1 mL/menit; GC-MS Hewlett packard 6890, gas pembawa helium dengan kecepatan alir 0,6 mL/menit. Kolom kapiler jenis Ultra 2 (5% PH Mesiloksan), panjang 17 m, suhu kolom terprogram : 50-300°C/10°C/menit, suhu injektor 250°C.

Metode penelitian

Metodologi yang digunakan terhadap formulasi media kultur buatan adalah *Response Surface Methodology* (RSM) dengan desain komposit terpusat (*central composite design*). Sebagai faktor perlakuan adalah fruktosa (x_1) dengan batasan 42-62 mg/g sampel, glukosa (x_2) 24-41 mg/g sampel, sukrosa (x_3) 21-32 mg/g sampel dan asam sitrat (x_4) 21-24 mg/g sampel (Tabel 1). Perlakuan tersebut sesuai dengan komposisi *pulp* segar, antara lain mengandung fruktosa 42,5-50 mg/g, glukosa 40 mg/g dan asam sitrat 4,4-5,5 mg/g⁵. Bahan baku biji

kakao yang digunakan untuk masing-masing perlakuan sebanyak 4 kg. Cara aplikasi formula adalah dengan membuat larutan formula media sesuai komposisi pada Tabel 1 per 500 g sampel dan dilarutkan dalam akuades sampai 50 mL. Larutan formula media diaduk kedalam biji kakao asalan secara merata. Kemudian dilakukan penambahan *yeast* (*S. cerevisiae*) sebanyak 10g/kg sampel, sedangkan *L. plantarum* sebanyak 1 mL/kg sampel atau sekitar 10^9 CFU/mL. Biji kakao yang telah tercampur dengan nutrisi dimasukkan kedalam kotak fermentasi dan diatasnya ditaruh daun pisang agar fermentasi berjalan dengan baik. Lalu penambahan A. aceti sebanyak 1 mL/kg sampel atau sekitar 10^9 CFU/mL pada hari kedua fermentasi. Setelah 5 hari, fermentasi dihentikan dengan mencuci biji kakao dengan air bersih, kemudian ditiriskan.

Setelah penirisan, biji kakao dikeringkan pada suhu 40°C bila menggunakan alat pengering atau bisa juga langsung dijemur dimatahari bila cuaca baik. Fermentasi dilakukan sampai hari ke-5 karena setelah hari ke 5, asam laktat terus meningkat bila fermentasi dilanjutkan. Adanya asam laktat tidak diinginkan karena berpengaruh terhadap kualitas kakao⁴, dan pengamatan dilakukan setiap hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi kadar air, abu, lemak, protein serta melihat perubahan senyawa etanol, asam laktat, asam sitrat dan asam asetat. Identifikasi senyawa aroma menggunakan GCMS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas bahan baku biji kakao asalan kering yang di gunakan sesuai yang tertera pada Tabel 2. Selain itu, kadar lemak akan meningkat setelah dilakukan fermentasi menjadi dua kali lipat. Komponen lemak dalam biji kakao terdiri atas sejumlah trigliserida, hampir 50% merupakan asam-asam lemak jenuh, seperti asam palmitat dan stearat serta asam mono tidak jenuh (asam oleat)¹¹. Demikian juga dengan kadar protein akan meningkat dengan adanya proses fermentasi¹². Peningkatan kadar protein sesuai dengan berjalannya waktu fermentasi.

Hasil pengamatan terhadap pH selama proses fermentasi mengalami kenaikan secara fluktuatif antar perlakuan. Dari hari pertama sampai hari keempat mengalami kenaikan, dan pada hari kelima mengalami penurunan (Gambar 2). Menurut Hii *et al.*¹³, rendahnya nilai pH biasanya berhubungan dengan tingkat keasaman yang tinggi dari biji kakao. pH selama proses fermentasi sangat menentukan tingkat aktivitas yang akan memproduksi prekursor rasa, sebagian enzim memiliki pH optimal antara 4,5-5,5¹⁴. Kisaran nilai pH hasil percobaan pada hari pertama sekitar 4,99 sampai 6,18

dan mengalami peningkatan pada hari kelima, yaitu 5,59 sampai 6,89. Telah dilaporkan bahwa penurunan nilai pH disebabkan oleh terdifusinya asam kedalam biji kakao yang dihasilkan oleh bakteri asam asetat dan laktat selama proses fermentasi^{15,3}. Nilai pH yang rendah mempunyai indikasi rendahnya kualitas biji kakao tersebut¹⁶.

Tabel 1. Komposisi penambahan nutrisi (mg/g) pada proses aktivasi mikroba

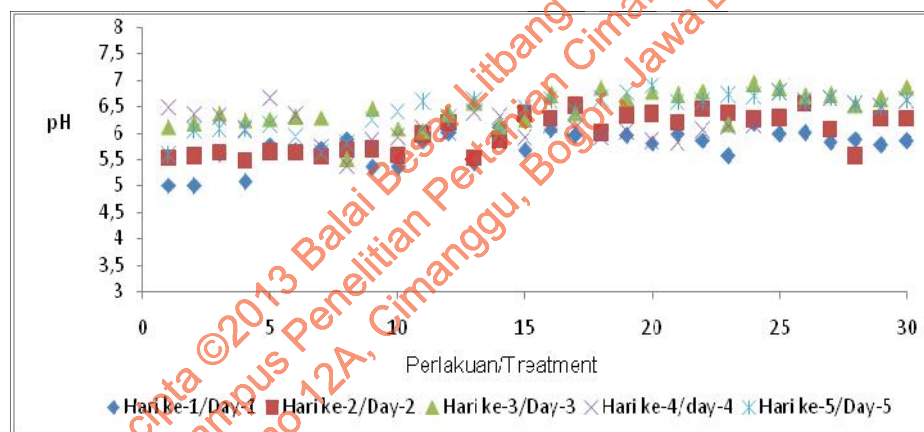
Table 1. Composition of nutrient (mg/g) on microbia activation process

Formula / <i>Formulas</i>	Fruktosa/ <i>Fructose</i>	Glukosa/ <i>Glucose</i>	Sukrosa/ <i>Sucrose</i>	Asam sitrat <i>Citric acid</i>
1	52,0	32,5	26,5	19,5
2	42,0	24,0	21,0	24,0
3	52,0	32,5	26,5	22,5
4	72,0	32,5	26,5	22,5
5	42,0	41,0	32,0	24,0
6	42,0	41,0	32,0	21,0
7	52,0	49,5	26,5	22,5
8	52,0	32,5	26,5	22,5
9	62,0	41,0	32,0	21,0
10	52,0	32,5	26,5	22,5
11	62,0	24,0	32,0	21,0
12	52,0	32,5	15,5	22,5
13	42,0	24,0	32,0	24,0
14	62,0	24,0	21,0	24,0
15	52,0	32,5	26,5	25,5
16	42,0	24,0	32,0	21,0
17	62,0	41,0	21,0	24,0
18	52,0	32,5	26,5	22,5
19	42,0	24,0	21,0	21,0
20	62,0	41,0	21,0	21,0
21	42,0	41,0	21,0	24,0
22	52,0	15,5	26,5	22,5
23	62,0	41,0	32,0	24,0
24	32,0	32,5	26,5	22,5
25	52,0	32,5	26,5	22,5
26	42,0	41,0	21,0	21,0
27	52,0	32,5	37,5	22,5
28	62,0	24,0	32,0	24,0
29	52,0	32,5	26,5	22,5
30	62,0	24,0	21,0	21,0

Tabel 2. Sifat fisika-kimia biji kakao sebelum dan setelah fermentasi

Table 2. Physico-chemical of cacao seed on before and after fermentation

Karakteristik / Characteristic	Biji asalan/ Non fermented beans		Biji kakao fermentasi/ Fermented cacao beans
	Sebelum fermentasi/ Before fermentation	Setelah fermentasi/ After fermentation	
Kadar air, % / Moisture content, %	31,48	14,00	12,00
Kadar abu, % / Ash content, %	4,08	4,10	3,70
Jumlah biji/100 g, butir / Sum of seed/100g, seed	80,00	80,00	80,00
Densitas, g/mL/ Density, g/mL	0,4142	0,4928	0,4500
Kadar lemak, %/ Fat content, %	25,35	52,84	51,59
Kadar protein, %/ Protein content, %	10,70	13,15	12,94
Kadar gula reduksi, %/ Sugar reduction content, %	0,75	1,36	0,88
Komposisi asam organik / Composition of organic acid			
Asam laktat, % / Lactic acid, %	107,57	0,94	0,10
Asam asetat, %/ Acetic acid, %	29,73	0,49	0,65
Asam sitrat, %/ Citric acid, %	39,60	1,06	1,02



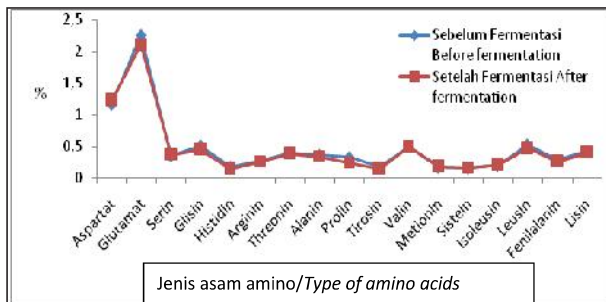
Gambar 2. pH biji kakao pada proses fermentasi dari berbagai perlakuan

Figure 2. pH of cacao seed on fermentation process from various treatment

Apabila nilai pH lebih kecil dari 4,5 maka akan menurunkan senyawa-senyawa volatil potensial¹⁷. Dalam proses fermentasi secara tradisional, nilai pH akan menurun dari 6,4 menjadi 4,5 setelah 8 hari. Nazaruddin *et al.*¹⁸ mengatakan bahwa pH akan turun dari 6,54 menjadi 4,35 setelah 4 hari proses fermentasi. Proses fermentasi didalam biji kakao tujuannya untuk mengaktifkan komponen citarasa, aroma dan warna, karena selama proses fermentasi akan terjadi perubahan fisik, kimiawi dan biologi. Selain itu, fermentasi akan menurunkan kandungan asam organik (asetat, sitrat dan laktat), karena senyawa-senyawa tersebut menyebabkan aroma tidak enak dari biji kakao¹².

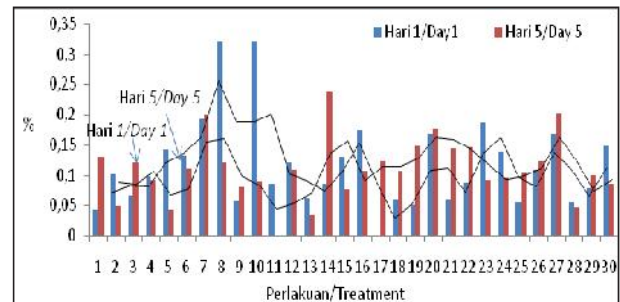
Untuk komposisi asam amino dalam biji kakao sebelum dan setelah fermentasi ternyata tidak mengalami perubahan yang cukup signifikan (Gambar 3). Dilaporkan bahwa seharusnya kandungan asam

amino akan meningkat setelah dilakukan fermentasi, tetapi tidak akan merubah komposisi¹². Asam amino yang mempunyai limpahan tertinggi adalah asam glutamat, kemudian asam aspartat. Hal ini sejalan dengan penelitian Adeyeye *et al.*¹² yang menunjukkan pola yang sama. Jenis asam amino hidrofobik yaitu tirosin, fenilalanin, triptopan, leusin dan fruktosa dalam semua jenis lemak dapat menghasilkan citarasa khas coklat. Komposisi asam amino merupakan hal yang sangat penting untuk diketahui karena dapat diprediksi proses sintesis senyawa rasa^{10,19}. Telah dilaporkan bahwa peningkatan total asam amino dan gugus amino-terminal, tertinggi dicapai setelah 4 hari fermentasi, kemudian akan konstan²⁰. Setelah fermentasi itu juga diketahui bahwa biji kakao berkualitas tinggi harus mempunyai sekitar 8 sampai 14 mg / g total asam amino dari bahan kering¹⁰.



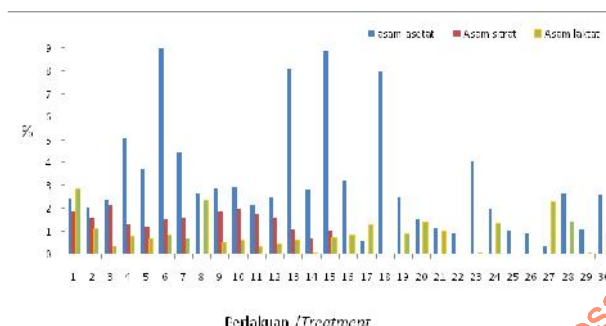
Gambar 3. Komposisi asam amino dari biji kakao asalan sebelum dan setelah fermentasi

Figure 3. Amino acid composition from unfermented and after fermentation cacao seed



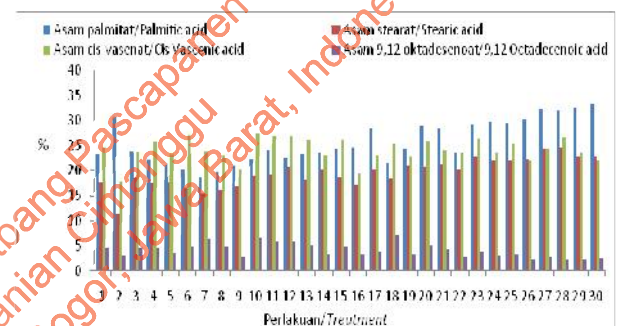
Gambar 4. Kadar etanol dari berbagai perlakuan pada hari 1 dan hari ke 5 fermentasi

Figure 4. Ethanol content from various treatment on first and fifth days fermentation



Gambar 5. Komponen asam organik (asetat, sitrat dan laktat) dari berbagai perlakuan

Figure 5. Organic acid composition (acetic, citric and lactic) from various treatment



Gambar 6. Asam lemak yang terdapat dalam biji kakao

Figure 6. Fat acid on cacao seed

Pada fermentasi alami, aktivitas mikroba selama proses fermentasi terlarut dalam pulp yang membungkus biji, akan menghasilkan produk metabolit (alkohol, asam-asam organik) yang terdifusi ke dalam biji sehingga biji tidak berkecambah. Perubahan ini menghasilkan reaksi biokimia di dalam biji dan membentuk senyawa prekursor dari citarasa, aroma dan warna dari coklat^{21, 22, 3}. Namun pada fermentasi biji kakao asalan tidak dapat langsung dilakukan dengan penambahan mikroba tanpa adanya nutrisi tambahan. Nutrisi tambahan berupa glukosa, fruktosa, sukrosa dan asam sitrat sesuai dengan kandungan dari *pulp* biji kakao. Nutrisi tersebut yang akan mengubah aktivitas bakteri asam asetat menjadi etanol dan asam laktat^{23,24}.

Kadar etanol biji kakao, pada hari pertama fermentasi menunjukkan kecenderungan berfluktuatif antar perlakuan (Gambar 4). Secara polinomial dihasilkan persamaan garis $Y = -0,000X^2 + 0,004X + 0,180$ dengan nilai $R^2 = 0,032$ antar perlakuan. Setelah hari kelima fermentasi, kadar etanol menunjukkan kecenderungan yang sama dengan sebelum fermentasi, dengan persamaan garis $Y = -0,000X^2 + 0,012X + 0,027$ dengan nilai $R^2 = 0,218$. *Yeast* akan beraktivitas memproduksi

etanol dari karbohidrat dan asimilasi asam sitrat dan degradasi peptin sebagai aktivitas yang cukup penting²². Dari penelitian Holm *et al.*²⁵ menyatakan bahwa ada 4 senyawa asam yang memberikan rasa positif pada biji kakao, yaitu asam laktat, asetat, sitrat dan oksalat.

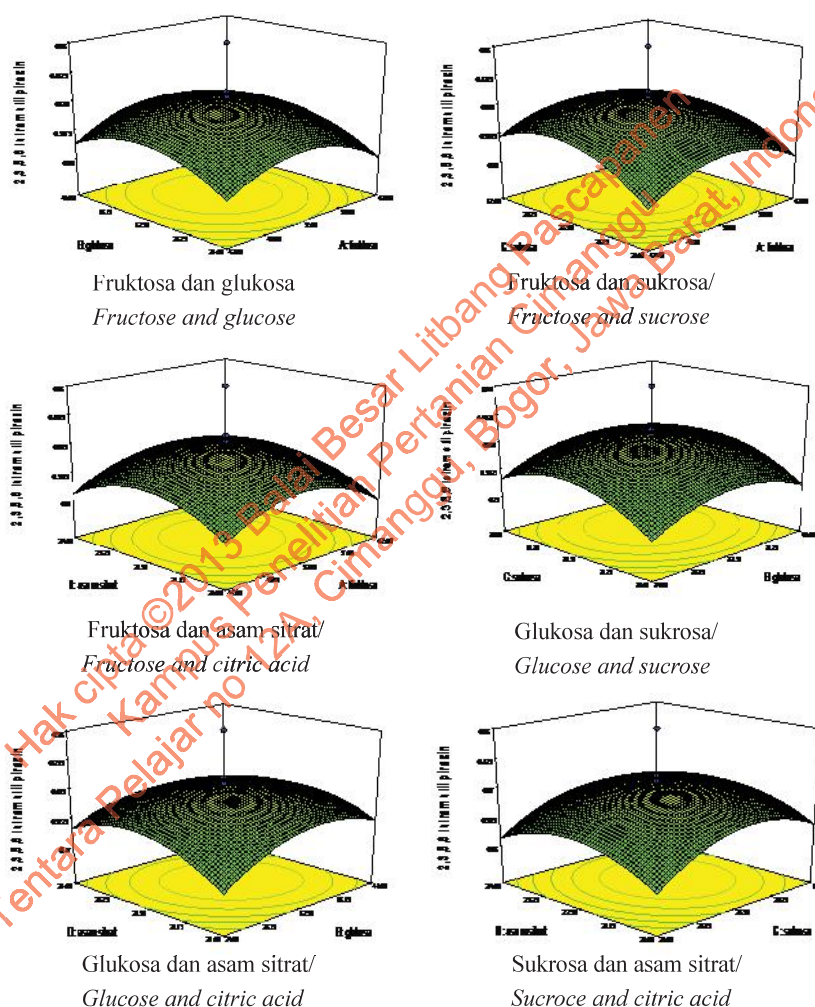
Citarasa adalah salah satu karakteristik yang sangat penting dari produk kakao, dan akan terbentuk selama proses fermentasi dan pengeringan²⁶. Selama pengeringan, biji kakao mengalami berbagai reaksi kimia dan perubahan biokimia yang membentuk rasa dan aroma prekursor yang dibutuhkan selama pemrosesan²⁷. Biji kakao yang tidak difermentasi tidak memberikan aroma ketika disangrai^{27, 28}. Senyawa dalam kakao, yang memberikan rasa *astringency* dan berkontribusi terhadap rasa pahit adalah polifenol^{29,8}. Senyawa asam laktat hasil proses fermentasi akan memberikan produk coklat dengan rasa yang tidak diinginkan³.

Komponen pembentuk citarasa meliputi senyawa golongan pirazin (2,5 dimetil pirazin, 2,3,5,6 tetra metil pirazin), asam lemak (asam palmitat, asam stearat, asam cis-vaksenat, asam 9,12 oktadesenoat) dan citarasa yang pernah teridentifikasi, seperti asam butanoat, 2-metoksi fenol dan δ -oktalahton, theobromin.

Tabel 3. Hasil analisis ragam dari masing-masing respon senyawa citarasa

Table 3. Analysis of variance from flavor compound respon, respectively

Parameter / Parameter	2,3,5,6 Tetra metil pirazin/ 2,3,5,6 tetra methyl pyrazine	2, 5 Dimetil pirazin/ 2,5 Dimethyl pyrazine	Asam butanoat/ Butanoic acid	2-Metoksi fenol/ 2-Methoxy phenol	δ -Oktalaktan/ δ -Octalactone
Model	0,0039 **	0,0532ns	0,0457**	0,0003**	0,0166**
Lack of fit	0,4658ns	0,0195*	0,0112**	0,0348*	0,9864ns
R ²	0,8021	0,6899	0,6986	0,8648	0,7481
R ² adj	0,6173	0,4004	0,4173	0,7386	0,5131

Keterangan : ** = P $\leq$ 0,005; * = P < 0,05; ns = not significant (tidak signifikan)Remarks : ** = P $\leq$ 0,005; * = P < 0,05; ns = not significant

Gambar 7. Respon permukaan tiga dimensi dari senyawa 2,3,5,6 tetra metil pirazin terhadap masing-masing komposisi nutrient

Figure 7. Surface response of three dimension from 2,3,5,6 tetra methyl pyrazine towards nutrient composition, respectively

Dari hasil perlakuan ternyata hasil rata-rata nilai asam lemak tertinggi adalah asam palmitat (25,62 %), asam cis-vaksenat (24,09 %), asam stearat (19,52 %) dan asam 9, 12 oktadesenoat (4,09 %) (Gambar 6).

Untuk mengetahui aroma citarasa pada biji kakao harus melalui proses penyangraian/roasting. Selama penyangraian, golongan senyawa karbonil reaktif

gula akan berinteraksi dengan gugus amino nukleofilik dari residu asam amino³⁰. Adanya reaksi Maillard, semua prekursor aroma kakao saling berinteraksi untuk menghasilkan komponen flavor, seperti golongan senyawa alkohol, asam karboksilat, aldehida, keton, ester, pirazin dan amina. Aroma kakao yang sangat spesifik adalah rasa manis, rasa kacang, karamel dan rasa

cokelat sangat erat hubungannya dengan adanya senyawa trimetilpirazin, tetrametilpirazin, 2,3-butanadiol, asam dodekanoat, feniletilalkohol, etanon, benzene asetaldehid dan 1,4-bis (morfolinoasetil) piperazin³¹.

Hasil optimasi dari 30 perlakuan menggunakan RSM memberikan nilai variabel respon berupa karakteristik dari tiap parameter terhadap nilai citarasa dan komponen theobromin. Senyawa citarasa yang teridentifikasi dari golongan senyawa pirazin (2,3,5,6

tetrametil pirazin, 2,5 dimetil pirazin), asam butanoat, 2-metoksi fenol, δ -oktalakton, asam lemak (asam palmitat, stearat, *cis*-vasenat dan 9,12 oktadesenoat). Hasil respon terhadap model senyawa citarasa memberikan signifikansi yang nyata pada senyawa 2,3,5,6 tetrametilpirazin, asam butanoat, 2-metoksi fenol dan δ -oktalakton dan tidak berbeda nyata pada 2, 5 dimetil pirazin (Tabel 3). Senyawa dari kelompok pirazin terbentuk karena adanya pemanasan /roasting

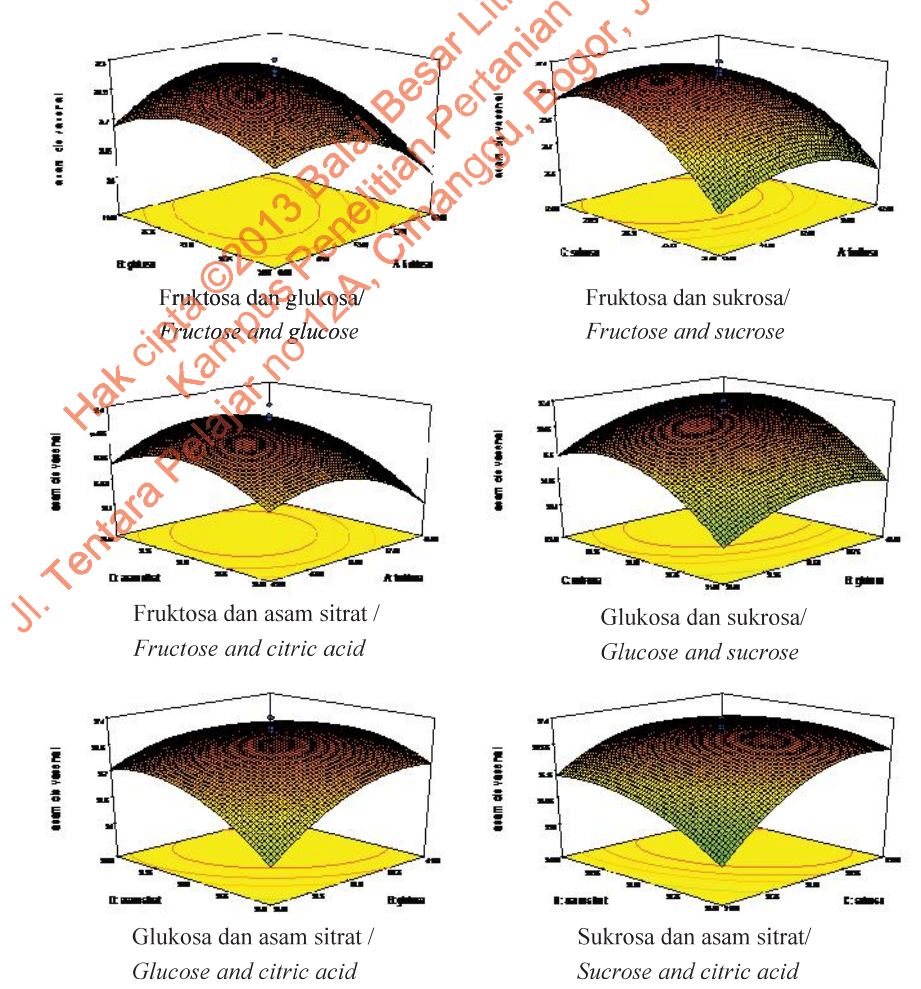
Tabel 4. Hasil analisis ragam dari masing-masing respon senyawa citarasa asam lemak dan theobromin

Table 4. Result of variance from flvor component of fatty acid and theobromine

Parameter / Parameter	Asam palmitat / Palmitic acid	Asam stearat/ Stearic acid	Asam cis-vasenat/ Cis-vacenic acid	Asam 9,12 oktadesenoat/ 9, 12 octadecenoic acid	Theobromin/ Theobromine
Model	0,0267*	0,0422*	0,0514*	0,0259*	0,0012**
Lack of fit	0,0113*	0,0171*	0,0005**	0,1182ns	0,8350ns
R ²	0,7265	0,7030	0,6920	0,7280	0,8345
R ² adj	0,4712	0,4258	0,4045	0,4741	0,6801

Keterangan : ** = P < 0,005; * = P < 0,05; ns = not significant (tidak signifikan)

Remarks : ** = P < 0,005; * = P < 0,05; ns = not significant



Gambar 8. Respon permukaan tiga dimensi dari senyawa asam cis-vasenat terhadap masing-masing komposisi nutrient
Figure 8. Surface response of three dimension from cis-vacenic acid towards nutrient composition, respectively

melalui reaksi Maillard yang melibatkan gugus amina dari asam amino dan karbonil dari gula reduksi^{32,33}. Gula reduksi berasal dari nutrisi yang ditambahkan pada proses fermentasi. Hasil penelitian Nuwiah³⁴, telah mengidentifikasi 127 senyawa flavor dan Afoakwa *et al.*¹⁵ sekitar 68 senyawa flavor terdiri dari turunan pirazin, furan, aldehid, keton, pirol, piridin, alkohol, fenol, thiazol dan pirimidin yang merupakan senyawa utama pembentuk citarasa.

Salah satu contoh kontur tiga dimensi dari senyawa 2, 3, 5, 6 tetrametilpirazin terhadap komposisi nutrient fruktosa, glukosa, sukrosa dan asam sitrat tersaji pada Gambar 7. Tetrametilpirazin merupakan salah satu komponen utama aroma kakao dan bertanggung jawab atas rasa seperti kacang (*nutty*)³⁵. Dari warna-warna yang ditunjukkan ternyata didominasi antara warna hitam dan warna hijau. Berarti respon yang diberikan belum maksimal. Untuk komponen citarasa yang terdeteksi dari komponen asam lemak, semua model menunjukkan respon berbeda nyata, demikian juga pada theobromin (Tabel 4).

Sebagai contoh kontur tiga dimensi dari senyawa asam *cis*-vasenat terhadap komposisi nutrient fruktosa, glukosa, sukrosa dan asam sitrat tersaji pada Gambar 8. Warna yang ditimbulkan pada permukaan kontur tiga dimensi asam *cis* vasenat hampir didominasi warna coklat. Berarti titik optimasi yang ditunjukkan merupakan hasil yang terbaik.

Pembentukan cita rasa ini didahului oleh pembentukan senyawa prekursor (calon) cita rasa selama fermentasi untuk selanjutnya dikembangkan menjadi cita rasa yang sebenarnya waktu penyangraian. Senyawa prekursor aroma diantaranya asam amino dan gula reduksi. Kedua senyawa tersebut terbentuk dari hidrolisis protein dan sukrosa yang terdapat dalam keping biji. Senyawa prekursor ini akan berkembang menjadi senyawa aroma melalui reaksi degradasi *stecker* pada proses pencoklatan non enzimatis waktu penyangraian³⁶.

KESIMPULAN

Biji kakao asalan bisa ditingkatkan aromanya melalui proses fermentasi dengan penambahan kultur media mikroba. Hasil optimasi secara RSM memberikan rekomendasi komposisi terbaik campuran fruktosa : glukosa : sukrosa : asam asetat = 62:41:32:22,5 mendekati perlakuan 9 dan 23. Citarasa biji kakao sangat dipengaruhi oleh proses pengolahan biji kakao terutama kondisi fermentasi yang baik. Aroma citarasa akan terbentuk setelah proses penyangraian dengan komponen yang paling dominan adalah golongan senyawa pirazin (2,3,5,6 tetrametil pirazin, 2,5 dimetil

pirazin), asam butanoat, 2-metoksi fenol, δ -oktalakton dan asam lemak (asam palmitat, stearat, *cis*-vasenat dan 9,12 oktadesenoat).

SARAN

Untuk menghasikan proses fermentasi yang maksimal, sebaiknya biji kakao kering direndam terlebih dahulu dalam air selama 1-2 jam agar pori-pori kulitnya terbuka, sehingga nutrient dapat berpenetrasi secara mudah ke dalam biji.

DAFTAR PUSTAKA

1. Teknik fermentasi dalam pengolahan biji kakao [Internet]. 2009 [Diunduh 5 Oktober 2010]. Tersedia di : Index.php.htm.
2. Lopez ASE, Dimick PS. Cocoa fermentation. Dalam: Enzymes, biomass, food and feed. 2nd ed. Biotechnology, Vol. 9, (edited Reed G, NagodawithanaTW). Germany: VCH, Weinheim. 1995; 561–577.
3. Thompson SS, Miller KB, Lopez AS. Cocoa and coffee. Dalam: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Food microbiology fundamentals and frontiers. Washington, DC: ASM Press. 2001; 721–736.
4. Rodriguez-Campos J, Escalona-Buendía HB, Orozco-Avila I, Lugo-Cervantes E, Jaramillo-Flores ME. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. Food Research International. 2011; 44 : 250–258.
5. Ardhana MM, Fleet GH. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. International Journal of Food Microbiology. 2003; 86 (1-2) : 87-99.
6. Buyukpamukcu E, Goodall DM, Hansen CE, Keely BJ, Kochhar S, Wille H. Characterization of peptides formed during fermentation of cocoa bean. Journal of Agricultural & Food Chemistry. 2001; 49 : 5822–5827.
7. Kyi TM, Daud WRW, Mohammad AB, Samsudin MW, Kadhum AAH, Talib MZM. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. International Journal of Food Science & Technology. 2005; 40 : 323–331.
8. Luna F, Crouzillat D, Cirou L, Bucheli P. Chemical composition and flavor of *Ecuadorian* cocoa liquor. Journal of Agricultural & Food Chemistry. 2002; 50 : 3527–3532.
9. Frauendorfer F, Schieberle P. Changes in key aroma compounds of criollo cocoa beans during roasting. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2008; 56: 10244–10251.
10. Brito ES, Pezoa-García NH, Gallão MI, Cortelazzo AL, Feveireiro PS, Braga MR. Structural and chemical changes

- in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. J.Sci. Food and Agriculture. 2000; 81: 281–288.
11. Kaphueakngam P, Flood A, Sonwai S. Production of cocoa butter equivalent from mango seed almond fat and palm oil mid fraction. Asian Journal of Food and Agro-Industry. 2009; 2 : 441-447.
 12. Adeyeye EI, Akinyeye RO, Ogunlade I, Olaofe O, Boluwade JO. Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans. Food Chem. 2010; 118 : 357–363.
 13. Hii CL, Law CL, Cloke M, Suzannah S. Thin layer drying kinetics of cocoa and dried product quality. Biosyst. Eng. 2009; 102 : 153-161.
 14. Biehl B, Meyer B, Crone G, Poolman I, Mamot S. Chemical and physical changes in the pulpa during ripening and post-harvest storage of cocoa pods. Sci. Food Agric. 1989; 48: 189.
 15. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Ryan A. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008; 48 :1–18.
 16. Rodriguez-Campos HB, Escalona-Buendia SM, Contreras-Ramos, Orozco-Avila I, Jaramillo-Flores E, Lugo-Cervantes E. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. J. Food Chemistry, 2012; 132 (1) : 277-288.
 17. Portillo E, Farinas LGD, Betancourt E. Chemical analysis of Criollo Porcelana cocoa (*Theobroma cacao* L.) in the south of Maracaibo Lake. Journal of the Faculty of Agronomy LUZ. 2007; 24: 522-546.
 18. Nazaruddin R, Seng L, Hassan O, Said M. Effect of pulp pre-conditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cacao*) during fermentation. Industrial Crops and Products. 2006; 24 : 87–94.
 19. Saltini R, Akkerman R, Frosch S. Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. Food Control. 2013; 29: 167-187.
 20. Rohsius C, Matissek R, Lieberei R. Free amino acid amounts in raw cocoa from different origins. European Food Research and Technology. 2006; 222:432-438.
 21. Hansen CE, Margarita del Olmo, Burri C. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. J Sci Food Agric. 1998; 77:273-281.
 22. Hashim P, Selamat J, Muhammad SKS, Ali A. Changes in free amino acid peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. J. Sci. Food Agric. 1998; 78 : 535–542.
 23. Schwan RF, Wheals AE. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. Crit. Rev. Food Sci. Nut. 2004; 44 : 205-221.
 24. de Vuyst L, Lefeber T, Papalexandratou Z, Camu N. The functional role of lactic acid bacteria in cocoa bean fermentation. Dalam: Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM. (Eds.), Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. Ames, IA: Wiley-Blackwell. 2010. pp. 301-326.
 25. Jespersen L, Nielsen DS, Honholt S, Jakobsen M. Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. FEMS Yeast Research. 2005; 5 : 441–453.
 26. Holm C, Aston J, Douglas K. The effects of the organic acids in cocoa on the flavour of chocolate. J. Sci. Food Agric. 1993; 61, 65-71.
 27. Misnawi S, Jinap B, Jamilah B, Nazamid S. Effects of polyphenol on pyrazines formation during cocoa liquor roasting. Food Chemistry. 2004; 85: 73-80.
 28. Biehl B, Voigt J. Biochemistry of cocoa flavour precursors, In Proceedings of the 12th International Cocoa Research Conference, Salvador, Brazil. Cocoa Producers' Alliance, Lagos, Nigeria. 1996. p. 929-938.
 29. Puziah H, Jinap S, Sharifah KSM, Asbi A. Changes in free amino acids, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. J.Sci.Food and Agri. 1998; 78 : 535–542.
 30. Bonvehi J, Coll SFV. Evaluation of purine alkaloids and diketopiperazines contents in processed cocoa powder. European Food Research and Technology. 2000; 210: 189–195.
 31. Granvogel M, Bugan S, Schieberle P. Formation of amines and aldehydes from parent amino acids during thermal processing of cocoa and model systems: New insights into pathways of the Strecker reaction. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006; 54 : 1730–1739.
 32. Hofmann T, Munch P, Schieberle P. Quantitative model studies on the formation of aroma-active aldehydes and acids by strecker-type reactions. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000; 48 : 3761–3766.
 33. Hofmann T, Schieberle P. Formation of aroma-active strecker-aldehydes by direct oxidative degradation of amadori compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000; 48 : 4301– 4305.
 34. Misnawi, Ariza BTS. Use of gas chromatography–olfactometry in combination with solid phase micro extraction for cocoa liquor aroma analysis. International Food Research Journal. 2011; 18 : 829–835.
 35. Nuwiah A. Model *roasting* asam amino hidrofobik dan fruktosa dalam lemak kakao untuk mendapatkan citarasa khas coklat [Tesis]. Yogyakarta: Teknologi Hasil Perkebunan UGM. 2008; 137 hal.
 36. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Ryan A. 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. 2009; 113 : 208–215.