

PENGARUH PENAMBAHAN STARTER MIKROBA SERTA PEMERASAN PULP TERHADAP KONDISI FERMENTASI DAN MUTU BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

S. Joni Munarso¹, Kun Tanti Dewandari¹ dan Zahra Haifa²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
Jl. Tentara Pelajar No. 12, Bogor, Indonesia 16114

²Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Indonesia
Depok, Jawa Barat, Indonesia
Email: jomunarso@gmail.com

(Diterima 13-07-2016; Disetujui 30-11-2016)

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan starter mikroba (*Acetobacter aceti*, *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae*) serta pemerasan pulp terhadap fermentasi dan mutu biji kakao. Penelitian menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3x5 dengan dua kali ulangan. Faktor pertama adalah fermentasi yaitu fermentasi biji kakao secara spontan (F1), Fermentasi biji kakao dengan penambahan *A. aceti*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* (F2), Fermentasi biji kakao dengan perlakuan pemerasan pulp serta penambahan *A. aceti*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* (F3). Sedangkan faktor kedua adalah lama fermentasi (H1, H2, H3, H4 dan H5). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan starter meningkatkan konsentrasi etanol pada saat fermentasi dan meningkatkan kadar asam asetat, tetapi menurunkan konsentrasi asam oksalat pada biji kakao. Penambahan starter disertai pemerasan pulp menghasilkan biji kakao dengan kadar asam asetat sebesar 0,47%, sedangkan biji kakao tanpa pemerasan kadar asam asetat 0,49%. Penambahan starter disertai pemerasan pulp menghasilkan mutu biji kakao terbaik dengan karakteristik sebagai berikut: skor nilai uji belah tertinggi (379 dari 400), mutu fisik (Golongan mutu A) serta memenuhi persyaratan mutu SNI 2008 No. 2323 tentang biji kakao dengan rasio jumlah per berat biji sebanyak 88 biji/100g; nilai pH 4,93; kadar asam asetat 0,47%, kadar lemak 34,90%, kadar air 4,47%, kadar serat kasar 3,66% dan kadar abu 4,82% dengan waktu fermentasi selama 5 hari.

Kata kunci : *Acetobacter aceti*, kakao, fermentasi, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

S Joni Munarso, Kun Tanti Dewandari, and Zahra Haifa. 2016. Effect of Starter Culture Addition and Depulping on The Fermentation and Quality of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.). The aimed of this study was to investigate the effect of starter culture addition (*Acetobacter aceti*, *Lactobacillus plantarum*, and *Saccharomyces cerevisiae*) with depulping on the fermentation and quality of cocoa beans. The experimental design of this study was conducted using a 3x5 factorial Completely Randomized Design (CRD) with duplicate replication. The first factor was fermentation condition included spontaneously fermented cocoa beans (F1), fermentation of cocoa beans with the addition of *A. aceti*, *L. plantarum* and *S. cerevisiae* (F2), Fermented cocoa beans with depulping and addition of *A. aceti*, *L. plantarum* and *S. Cerevisiae* (F3). The second factor was time of fermentation. The result revealed that starter addition increased ethanol concentration on the fermentation process, increased acetate acid, and citric acid concentratio, meanwhile oxalic acid decreased on cocoa beans during 5 days of fermentation. Depulping caused a slight decrease in acetic acid concentration at the end of fermentation with value of 0,47%, meanwhile the sample of cocoa beans without depulping treatment had acetic acid concentration of 0,49%. Starter culture addition and depulping treatment resulted the best characteristic of cocoa beans which visualized by the largest amounts of cut test score (379 of 400), physical quality (Grade A) and completed SNI No. 2323-2008 requirements with total beans/100 g ratio of 88 beans/100g; pH values of 4,93; acetic acid concentrations of 0,47%, content of fat 15,12%, moisture 4,47%, crudefiber 3,66% and total ash 4,82% after 5 days fermentation.

Keywords : *Acetobacter aceti*, cacao, fermentation, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara produsen biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terbesar ketiga di dunia setelah Pantai Gading dan Ghana¹. Area dan produksi kakao di Indonesia terus mengalami peningkatan secara signifikan selama lima tahun terakhir. Tahun 2016, areal perkebunan kakao di Indonesia tercatat seluas 1.680.092 ha yang tersebar di 33 provinsi dengan sentra produksi di Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sumatera Barat, Aceh, Lampung, Nusa Tenggara Timur, dan Jawa Timur. Lebih dari 90% areal perkebunan kakao tersebut dikelola oleh rakyat². Namun, peningkatan luas perkebunan kakao di Indonesia nyatanya tidak diiringi dengan peningkatan dalam hal produktivitas dan mutu biji kakao. Produktivitas kakao sebesar 900 kg/ha/tahun masih jauh di bawah potensi yang diharapkan yaitu sebesar 2000 kg/ha/tahun. Selain itu, biji kakao Indonesia sebagian besar (85 - 90%) diekspor dalam bentuk biji kering tanpa fermentasi dan bermutu rendah³.

Rendahnya mutu fisik dan faktor cita rasa pada biji kakao disebabkan oleh biji yang diolah tanpa melalui tahapan fermentasi yang memadai. Selain itu, keberadaan biji hampa, biji berjamur, biji rusak oleh serangga, dan kandungan non-kakao seperti debris hasil samping pengolahan biji merupakan penyebab rendahnya mutu fisik biji kakao⁴. Lemahnya cita rasa kakao berkaitan dengan tingginya tingkat keasaman biji kakao yang disebabkan oleh pembentukan asam organik hasil fermentasi *pulp* yang berlebih dan terakumulasi dalam biji. Hal tersebut menimbulkan citra yang kurang baik terhadap biji kakao asal Asia Tenggara, termasuk Indonesia di kalangan industri cokelat internasional. Oleh karena itu, pemasaran biji kakao produksi dalam negeri di pasar dunia masih mengalami hambatan⁵. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan starter mikroba (*Acetobacter aceti*, *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cereviceae*) serta pemerasan *pulp* terhadap fermentasi dan mutu biji kakao.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kakao segar yang didapatkan dari perkebunan kakao petani binaan Dinas Pertanian Kabupaten Madiun, Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah alkohol 96%, larutan heksana, asam sulfat 1,25%, dan natrium hidroksida 3,25%, *Plate Count Agar*, *de Man Rogosa Sharpe Agar*, *de Man Rogosa Sharpe Broth*, *Potato Dextrose Agar*, *Pepton*

Bacto Agar, Kalsium karbonat, Medium starter mikroba yang terdiri dari: glukosa, fruktosa, sukrosa, asam sitrat. Peralatan untuk proses dan analisa meliputi *oven incubator*, autoklaf, *Gas Chromatografi* (GC), HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*), pH meter.

Metode Penelitian

Pembuatan Medium Starter Mikroba

Pembuatan medium starter mikroba mengacu pada komposisi alami *pulp* yakni fruktosa, laktosa, glukosa dan asam sitrat. Perbandingan yang digunakan adalah fruktosa: sukrosa: glukosa: asam sitrat sebanyak 62 : 32 : 41 : 22,5 mg/kg biji kakao dilarutkan dalam 50 ml akuades⁷.

1. Perhitungan jumlah starter mikroba
Perhitungan Starter *A. aceti* FNCC (Food and Nutrition Culture Collection) 3049

Sebanyak 1 ml starter diencerkan dengan 9 ml peptone water 0,1% kemudian divorteks selama 2 menit. Dilakukan pengenceran bertingkat dengan 3 kali ulangan untuk diinokulasikan pada medium GYCA (*Glucose Yeast Carbonat Agar*) dalam cawan petri. Medium GYCA dicampur merata dengan menggerakkan cawan petri kedepan, belakang dan memutar pada permukaan datar. Setelah medium membeku, cawan petri disusun terbalik dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk pada 30 cawan petri dengan jumlah sebanyak 25-250 koloni dicatat hasilnya pada setiap tingkat pengenceran.

Perhitungan Starter *L. plantarum* FNCC 0625

Sebanyak 1 ml starter diencerkan dengan 9 ml peptone water 0,1% kemudian divorteks selama 2 menit. Dilakukan pengenceran bertingkat untuk diinokulasikan pada medium MRSA (*de Man's Rogosa Stuck Agar*) dalam cawan petri. Medium MRSA dicampur merata dengan menggerakkan cawan petri kedepan, belakang dan memutar pada permukaan datar. Setelah medium membeku, cawan petri disusun terbalik dan diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk pada cawan petri dengan jumlah sebanyak 25-250 koloni dicatat hasilnya pada setiap tingkat pengenceran.

Perhitungan Starter *S. cerevisiae* FNCC (Food and Nutrition Culture Collection) 0016

Sebanyak 1 ml starter diencerkan dengan 9 ml peptone water 0,1% kemudian divorteks selama 2 menit. Dilakukan pengenceran bertingkat dari sampel dengan 3 kali ulangan untuk diinokulasikan pada medium PDA (*Potato Dextrose Agar*) cair dengan suhu 40-44°C

dalam cawan petri. Medium PDA dicampur merata dengan menggerakkan cawan petri kedepan, belakang dan memutar pada permukaan datar. Setelah medium membeku, cawan petri disusun terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk pada cawan petri dengan jumlah sebanyak 25-250 koloni dicatat hasilnya pada setiap tingkat pengenceran.

2. Fermentasi kakao

Buah kakao yang telah dipanen, dikemas dalam karung dan diperam selama 7 hari pada suhu ruang (28°C) untuk menyeragamkan kematangan buah. Setelah diperam, buah kakao dipecahkan lalu dipisahkan antara kulit buah dan bijinya. Lapisan *pulp* dikurangi antara 30-40 % dari berat biji awal dengan menggosokkan permukaan biji menggunakan serbuk kayu secara manual kemudian biji dibilas dengan air. Biji kakao sebanyak ±5 kg dimasukkan ke dalam wadah fermentasi berupa keranjang bambu. Penambahan starter *S. cerevisiae* dilakukan pada waktu fermentasi ke-0, sedangkan *L. plantarum* dan *A. aceti* ditambahkan pada waktu fermentasi ke-24 jam. Penambahan starter dimaksudkan untuk mempersingkat waktu fermentasi dengan cara menghilangkan fase lag pada substrat fermentasi karena sebelumnya kultur mikroorganisme tersebut telah dibiakkan pada medium pertumbuhan, sehingga mikroorganisme tersebut telah melakukan adaptasi sebelum tumbuh dalam media fermentasi. Teknik pengolahan kakao menggunakan metode Sime-Cadbury (menggunakan kotak atau keranjang fermentasi) selama 5 hari⁶. Setelah ditambahkan starter, biji kakao kemudian diaduk dan ditutup dengan daun pisang untuk menjaga kestabilan suhu dalam tumpukan biji dan mencegah kekeringan pada permukaan tumpukan biji. Pengamatan terhadap fermentasi kakao dilakukan setiap 24 jam selama 5 hari berturut-turut terhadap pH, kadar alkohol, dan suhu fermentasi. Biji kemudian dikeringkan dengan sinar matahari selama 4 hari kemudian dilakukan analisis secara kimiawi meliputi kadar air, kadar lemak, dan kadar serat kasar biji kakao kering.

Analisis Statistik

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dan dievaluasi menggunakan ANOVA dan dilanjutkan uji Duncan pada $\alpha = 5\%$. Terdapat dua faktor yang digunakan yaitu jenis perlakuan terhadap biji kakao saat fermentasi, yaitu: fermentasi biji kakao secara spontan (F1), fermentasi biji kakao dengan penambahan *A. aceti*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* (F2), fermentasi biji kakao dengan pemerasan pulp serta penambahan *A. aceti*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* (F3) serta faktor kedua adalah lama fermentasi

yakni dimulai dari hari pertama (H1), kedua (H2), ketiga (H3), keempat (H4), dan hari kelima (H5).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi Starter Fermentasi Kakao

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa *Acetobacter aceti* FNCC 0016 memiliki konsentrasi $3,65 \times 10^7$, *Lactobacillus plantarum* FNCC 0625 4×10^7 dan *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3049 $5,11 \times 10^7$. Konsentrasi starter pada penelitian ini yaitu sebanyak 10^7 CFU/ml/kg kakao diduga cukup untuk membuat proses fermentasi kakao dapat berlangsung dengan segera setelah inokulasi starter dilakukan. Penambahan starter mikroba tersebut diberikan berdasarkan jumlah total mikroba tersebut pada saat fase logaritmik selama fermentasi alami. Populasi mikroorganisme saat fase logaritmik mikroorganisme pada fermentasi kakao bervariasi antara 10^7 - 10^9 . Populasi mikroorganisme sebanyak 10^3 dapat menginisiasi proses fermentasi kakao^{7,8}.

Perubahan Suhu selama fermentasi biji kakao

Hasil pengukuran suhu dari tiga variasi perlakuan menunjukkan suhu awal fermentasi kakao berkisar 28-34°C. Secara umum suhu tumpukan biji kakao saat fermentasi cenderung meningkat dan mencapai maksimum setelah hari kedua kemudian turun di hari keempat hingga akhir fermentasi (hari kelima). Fermentasi spontan (F1) yakni fermentasi alami tanpa penambahan starter dan tanpa pemerasan pulp menghasilkan suhu fermentasi tertinggi yaitu 36°C. Fermentasi spontan (F1) dan fermentasi dengan starter (F2) mencapai suhu maksimum setelah hari ketiga. Fermentasi kakao dengan starter disertai pemerasan pulp (F3) lebih cepat mencapai suhu maksimum yaitu 35,5°C. Pemerasan pulp sebelum fermentasi menyebabkan peningkatan aerasi yang lebih tinggi pada massa fermentasi dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemerasan pulp (Gambar 1).

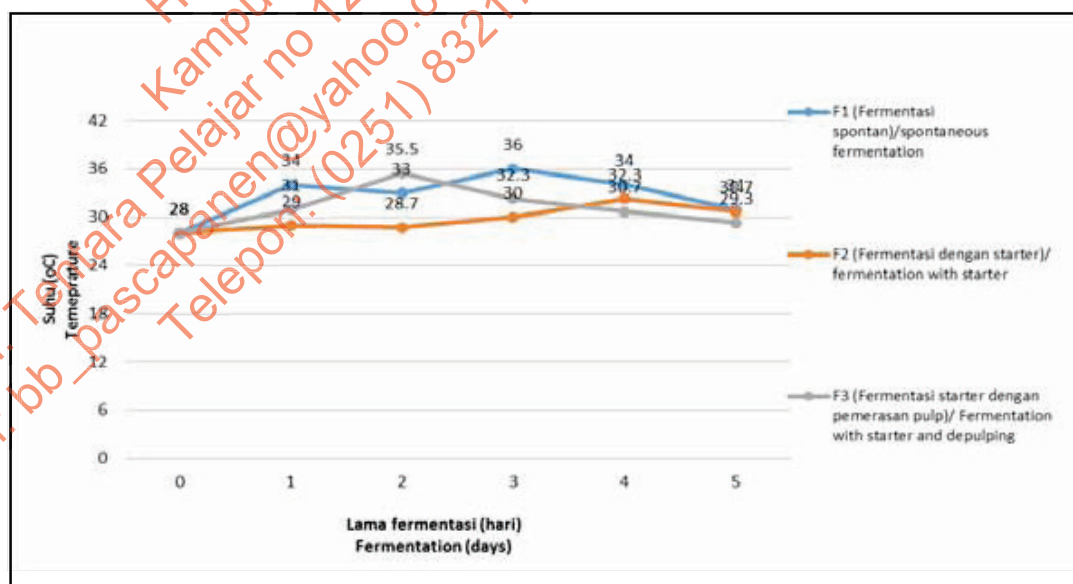
Suhu optimum yang diperlukan dalam fermentasi kakao bervariasi antara 45-48°C untuk maksimum 50 kg biji kakao agar didapatkan kualitas biji kakao fermentasi yang baik⁹. Akan tetapi, suhu maksimum pada penelitian diperoleh dibawah 40°C yakni 32,3-36°C, diduga karena massa dan volume substrat yang kurang sesuai yakni hanya ±5 kg per kotak. Produksi panas dalam proses fermentasi berbanding lurus dengan berat basah tumpukan biji. Hal tersebut terkait dengan kemampuan massa fermentasi untuk menghasilkan panas yang cukup, sehingga semakin banyak biji yang difermentasi maka produksi panas yang dihasilkan juga semakin tinggi. Sampel kakao dengan total volume pulp dan testa yang lebih tinggi akan memproduksi panas lebih besar⁶.

Adanya variasi suhu pada proses fermentasi kakao berkaitan dengan aerasi terhadap massa fermentasi. Proses oksidasi yang dilakukan mikroorganisme menyebabkan suhu fermentasi berangsur naik dan dapat mencapai suhu maksimum setelah hari ketiga¹⁰. Peningkatan suhu pada hari pertama dan kedua fermentasi kakao disebabkan konversi glukosa dan fruktosa menjadi etanol oleh khamir yang membebaskan panas pada massa kakao¹¹. Selain itu, tingkat aerasi dan proses pembalikan turut memengaruhi kecepatan perubahan suhu selama fermentasi biji kakao. Selain berpengaruh pada pembentukan panas, proses aerasi pada saat fermentasi akan meningkatkan jumlah biji kakao terfermentasi dengan nilai uji belah yang lebih besar⁶. Aerasi menyebabkan kenaikan suhu yang tajam saat fermentasi, sedangkan lambatnya kenaikan suhu pada fermentasi kakao disebabkan oleh rendahnya kandungan oksigen pada *pulp*. Kandungan oksigen dalam substrat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Setiap mikroorganisme memiliki kebutuhan oksigen yang berbeda untuk pertumbuhannya, khamir *S.cerevisiae* yang tumbuh dengan baik pada lingkungan dengan keadaan aerobik, namun akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat pada keadaan anaerobik¹².

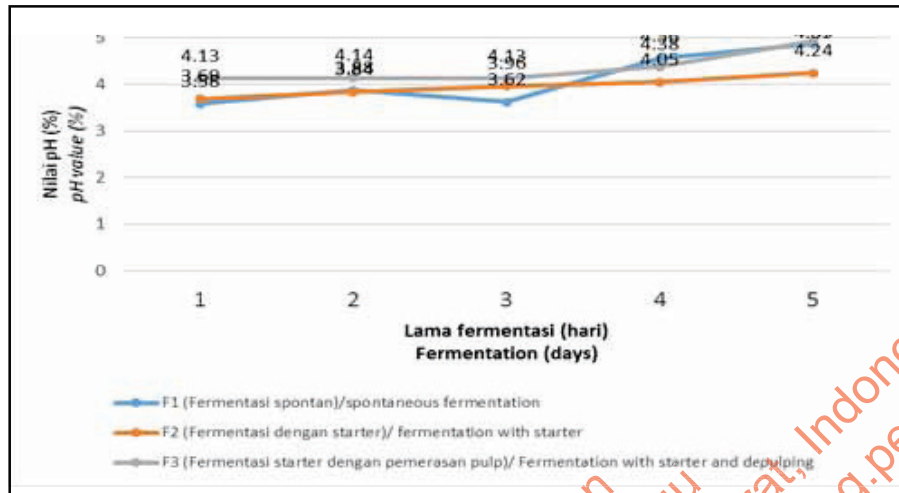
Perubahan pH selama fermentasi biji kakao

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan starter dan pemerasan pulp tidak berpengaruh terhadap perubahan nilai pH pada biji kakao selama fermentasi. Hasil rata-rata pengukuran pH selama fermentasi biji kakao menunjukkan bahwa nilai pH pada setiap perlakuan cenderung mengalami peningkatan dari 3,58-4,15 pada awal fermentasi menjadi 4,24-4,93 hingga akhir fermentasi. Sampel biji kakao kering dengan perlakuan penambahan starter dan pemerasan pulp (F3) menghasilkan nilai pH 4,93 sedangkan sampel biji kakao tanpa pemerasan pulp (F1 dan F2) memberikan nilai pH akhir sedikit lebih rendah (4,24 dan 4,87) walaupun nilai pH tertinggi diperoleh pada biji kakao dengan penambahan starter disertai pemerasan pulp (F3) memiliki nilai pH akhir paling tinggi, namun dihasilkan nilai pH yang tidak jauh berbeda pada setiap perlakuan.

Nilai pH awal biji kakao sebelum fermentasi adalah 3,16-3,30, karena kandungan asam sitrat yang terdapat dalam biji. Terurainya pulp selama fermentasi kakao diduga turut menurunkan kadar asam sitrat, sehingga menyebabkan peningkatan pH. Biji kakao yang difermentasi dengan baik memiliki nilai pH sekitar 4,75-5,19¹³. Biji kakao dengan nilai pH paling mendekati 5 adalah biji kakao dengan perlakuan penambahan starter dan pemerasan pulp (F3), sehingga disimpulkan bahwa perlakuan tersebut memberikan nilai pH akhir yang lebih baik dibandingkan dua perlakuan lainnya (F1 dan F2).



Gambar 1. Perubahan suhu selama fermentasi
Figure 1. Temperature changes during fermentation



Gambar 2. Perubahan pH selama proses fermentasi

Figure 2. pH changes during fermentation

Rendahnya nilai pH biji berkaitan dengan tingkat keasaman tinggi pada biji kakao yang kurang disukai. Nilai pH akhir biji kakao dengan nilai terendah adalah perlakuan penambahan starter tanpa pemerasan pulp (F2). Lambatnya peningkatan nilai pH pada perlakuan tersebut diduga disebabkan oleh produksi asam organik yang lebih banyak dihasilkan dari pulp akibat aktivitas enzim sukrase¹⁴ dan sitrat liase¹⁵ oleh mikroba, yang kemudian berdifusi kedalam keping biji, sehingga membuat pH lebih rendah terutama pada awal fermentasi kakao berlangsung. Jumlah asam yang mencukupi diperlukan saat fermentasi, sehingga menghasilkan biji dengan nilai pH $\geq 5,0$ agar mempunyai cita rasa terbaik¹⁶. Kondisi optimum fermentasi kakao terjadi saat asidifikasi biji pada pH 5,0-5,517. Selama fermentasi, laju difusi asam organik ke dalam kotiledon, waktu tercapainya pH optimum dan nilai pH akhir penting dalam pembentukan flavor optimal pada kakao¹⁸.

Perubahan kadar alkohol selama fermentasi

Penambahan starter terbukti dapat meningkatkan kadar etanol¹⁹. Hasil penelitian menunjukkan fermentasi kakao meningkatkan kadar etanol hingga tiga kali lipat (0,87%-1,01%), dibandingkan fermentasi kakao secara spontan (F1) yang menghasilkan kadar etanol terendah yakni 0,3%. Kadar etanol tertinggi diperoleh pada perlakuan fermentasi kakao dengan penambahan starter tanpa pemerasan pulp (F2) yakni mencapai 1,01%, sedangkan perlakuan penambahan starter dan pemerasan pulp (F3) menghasilkan kadar etanol sebesar 0,87%. Kadar etanol pada sampel biji kakao dengan penambahan starter mengalami penurunan sebesar 0,8% pada hari ketiga fermentasi. Hal ini diduga karena etanol tersebut telah mengalami oksidasi lebih lanjut dan menguap saat fermentasi sehingga kadar alkohol yang terdapat pada biji kakao berkurang. Berdasarkan uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar alkohol selama fermentasi (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil analisa kadar alkohol selama fermentasi

Table 1. Alcohol content during fermentation

Perlakuan Fermentasi/ Fermentation Treatment	Kadar alkohol (%)/ Alcohol content (%)				
	Lama fermentasi (hari)/ Fermentasi (days)				
	1	2	3	4	5
Fermentasi spontan/ Spontaneous fermentation	0,14 ^a	0,12 ^a	0,15 ^a	0,30 ^{ab}	0,25 ^{ab}
Fermentasi dengan starter/ Fermentation with starter	0,22 ^{ab}	0,54 ^{cd}	0,23 ^{ab}	0,64 ^d	0,34 ^b
Fermentasi starter dengan pemerasan pulp/ Fermentation with starter and depulping	0,24 ^{ab}	0,86 ^e	0,24 ^{ab}	0,21 ^{ab}	0,39 ^{bc}

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %

Remarks : numbers designated by same letters are not significantly different at $\alpha=5\%$

Kecepatan tercapainya konsentrasi maksimum etanol dalam fermentasi kakao diperlukan untuk mempercepat proses kematian biji dan menghentikan germinasi biji kakao. Produksi panas yang dihasilkan saat reaksi pembentukan etanol akan merusak struktur dinding sel pada biji sehingga memudahkan difusi berbagai zat ke dalam maupun ke luar biji. Salah satu strain mikroorganisme pada starter yang turut menghasilkan etanol pada fermentasi kakao adalah *L. plantarum* FNCC 0625. Penambahan strain mikroorganisme tersebut diduga dapat memicu peningkatan laju pertumbuhan bakteri asam laktat heterofermentatif saat fermentasi kakao berlangsung, sehingga etanol yang dihasilkan selama fermentasi kakao tidak hanya dihasilkan oleh khamir¹⁵. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etanol yang dihasilkan pada fermentasi kakao secara spontan adalah sebesar 0,2% pada hari ketiga fermentasi, sedangkan pada fermentasi kakao dengan penambahan starter mikroba menghasilkan kadar etanol sebesar 0,9%. Peningkatan jumlah etanol pada saat fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan kadar asam organik yang terdapat pada biji kakao kering^{20,21}.

Mutu Biji Kakao Kering Pasca Fermentasi

Kadar Air

Kadar air biji kakao kering diperoleh akibat pengeringan pada suhu 60°C. Waktu pengeringan yang dibutuhkan untuk mencapai kadar air dibawah 7,5% pada suhu tersebut adalah 20 jam dengan menggunakan oven yang dilengkapi blower dan menghasilkan kadar air dengan kisaran 4,42%-5,91% (Tabel 4).

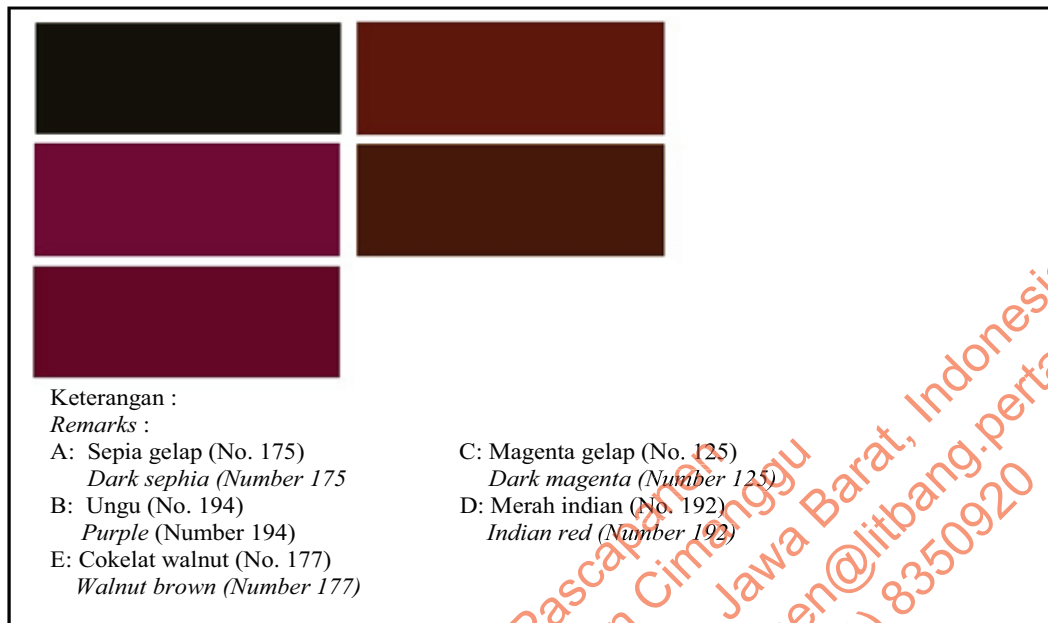
Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kakao menghasilkan kadar air sesuai syarat SNI kakao yakni ≤7,5%. Kadar air terendah didapati pada biji kakao fermentasi dengan penambahan starter disertai pemerasan pulp (F3) yakni 4,47%, disusul oleh biji kakao fermentasi dengan penambahan starter (F2) yakni 4,69%. Perlakuan pemerasan pulp sebelum fermentasi kakao diduga secara tidak langsung akan mengurangi kadar air pada biji disebabkan air merupakan komponen utama penyusun pulp, sehingga kadar air biji menjadi lebih rendah sebelum fermentasi dimulai. Proses pengeringan akan membantu terbentuknya rongga dalam kotiledon pada biji kakao yang difermentasi sebagai jalan keluarnya air selama pengeringan berlangsung. Rongga tersebut terbentuk karena biji kakao fermentasi memiliki jaringan luar dan dalam biji yang tidak stabil. Sebaliknya pada biji yang tidak difermentasi kondisi kulit biji akan lebih kuat menahan tekanan udara dari luar. Akibatnya rongga pada biji tidak terbentuk dan menyebabkan air lebih sulit untuk menguap selama proses pengeringan²².

Uji belah biji kakao kering hasil fermentasi

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka warna cokelat biji kakao makin dominan yang berarti proses fermentasi telah selesai. Nilai uji belah hasil perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai uji belah ditentukan berdasarkan skor yang telah ditetapkan pada standar warna (Gambar 3).

Tabel 2. Hasil uji belah biji kakao hasil fermentasi
Table 2. Cut test of fermented cocoa bean

Perlakuan/ <i>Treatment</i>	Ungu penuh/ <i>Full purple</i>	Warna penampang biji kakao/ <i>Colour of cocoa bean</i>				Keabuan/ <i>Slaty</i>	Biji berjamur/ <i>Moldy bean</i>	Skor total/ <i>Score total</i>
		Ungu dominan/ <i>Dominant purple</i>	Coklat dominan/ <i>Dominant brown</i>	Coklat penuh/ <i>Full brown</i>				
Fermentasi spontan/ <i>Spontaneous fermentation</i>	0	13	74	74	0	0	361	
Fermentasi dengan starter/ <i>Fermentation with starter</i>	0	10	26	64	0	0	354	
Fermentasi starter dengan pemerasan pulp/ <i>Fermentation with starter and depulping</i>	0	9	3	88	0	0	379	



Gambar 3. Standar warna uji belah kakao
Figure 3. Cut test standard of cocoa bean

Rentang penilaian skor biji kakao adalah 1 sampai 4 tergantung pada intensitas warna cokelat yang terdapat pada permukaan biji kakao. Nilai uji belah berkisar 100 untuk semua biji berwarna ungu sampai 400 untuk semua biji berwarna cokelat penuh. Derajat fermentasi yang tinggi mengindikasikan bahwa fermentasi kakao berlangsung dengan baik. Selama fermentasi, warna keping biji kakao mengalami peningkatan intensitas warna kakao yang ditandai dengan berkurangnya warna ungu pada biji menjadi warna cokelat hingga proses fermentasi berakhir²⁴. Warna ungu pada biji kakao diberikan oleh pigmen antosianin, selama fermentasi antosianin dihidrolisis secara enzimatis menjadi antosianidin, selanjutnya mengalami polimerisasi

dengan katekin menjadi leukosianidin. Setelah itu pada proses pengeringan, leukosianidin dan epikatekin akan membentuk flavonoid kompleks. Flavonoid kompleks merupakan pigmen warna cokelat pada biji kakao¹.

Mutu kimia biji kakao kering

Secara umum proses fermentasi meningkatkan mutu kimia biji kakao menjadi lebih baik dibandingkan fermentasi spontan, terutama dengan perlakuan penambahan starter dan pemerasan *pulp* (Tabel 3). Nilai tersebut sudah sesuai dengan standard dan persyaratan mutu kimia industri kakao (Tabel 4).

Tabel 3. Mutu kimia biji kakao kering
Table 3. Chemical quality of cocoa bean

Parameter kimia (%) / Chemical parameter (%)	Fermentasi spontan / Spontaneous fermentation	Fermentasi dengan starter / Fermentation with starter	Fermentasi starter dengan pemerasan pulp / Fermentation with starter and depulping
Kadar abu / Ash content	2,22	3,81	4,82
Kadar serat / Fiber	1,75	2,52	3,66
Kadar lemak / Fat content	28,41	33,23	34,90
Kadar asam asetat / Asetat acid	0,28	0,49	0,47

Pengaruh Penambahan Starter Mikroba serta Pemerasan Pulp terhadap Kondisi Fermentasi dan Mutu Biji Kakao
(*Theobroma cacao L*) (S Joni Munarso *et al*)

Tabel 4. Persyaratan mutu kimia industri biji kakao
Table 4. Chemical industrial quality of cocoa bean

Parameter/ <i>Parameter</i>	Kadar (%)/ <i>Content (%)</i>	Sumber/ <i>Source</i>
Kadar air/ <i>Water content</i>	≤ 7,5	SNI No. 2323-2008 tentang biji kakao SNI No 2323- 2008 about cocoa bean
Kadar lemak/ <i>Fat content</i>	10-22	Code of Federal Regulations 2009
Kadar abu/ <i>Ash content</i>	4,2	ICCO 2012
Kadar serat kasar/ <i>Fiber</i>	3,2	ICCO 2012

Kadar lemak mengalami peningkatan akibat perlakuan. Selama fermentasi terjadi pembentukan lemak yang dilakukan oleh bakteri alami yang terdapat dalam pulp biji. Dengan adanya interaksi antara isolat khamir yang ditambahkan selama fermentasi dan aktivitas bakteri alami, yang terdapat dalam pulp biji akan lebih meningkatkan kadar lemak biji kakao.

Kadar Abu

Hasil penelitian menunjukkan kadar total abu biji kakao dengan perlakuan fermentasi dengan pemerasan pulp dan penambahan starter (F3) memiliki kadar abu

paling tinggi (4,82%) sedangkan biji kakao dengan kandungan kadar abu terendah diamati pada perlakuan biji kakao tanpa fermentasi (1,99%).

Dari hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan pemberian starter dan pemerasan *pulp* berpengaruh terhadap kadar abu. Kadar abu biji kakao kering selama fermentasi cenderung menurun seiring meningkatnya waktu fermentasi. Penurunan kadar abu disebabkan oleh pengeluaran senyawa anorganik seperti mineral dan air dalam biji kakao selama fermentasi kakao berlangsung²⁴. Jenis mineral yang terdapat pada biji kakao diantaranya kalium, magnesium, sodium dan zat besi^{13,19}.

Tabel 5. Kadar abu biji kakao fermentasi
Table 5. Ash content of fermented cocoa bean

Perlakuan Fermentasi/ <i>Fermentation Treatment</i>	Kadar abu (%)/ <i>Ash content (%)</i>				
	Lama fermentasi (hari)/ <i>Fermentasi (days)</i>				
	1	2	3	4	5
Fermentasi spontan/ <i>Spontaneous fermentation</i>	1,67 ^{ab}	1,00 ^a	1,29 ^{ab}	0,93 ^a	2,22 ^b
Fermentasi dengan starter/ <i>Fermentation with starter</i>	4,58 ^c	4,00 ^c	3,70 ^c	4,15 ^c	3,81 ^c
Fermentasi starter dengan pemerasan pulp/ <i>Fermentation with starter and depulping</i>	4,54 ^c	4,17 ^c	3,94 ^c	4,20 ^c	4,82 ^c

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %

Remarks : numbers designated by same letters are not significantly different at $\alpha=5\%$

Tabel 6. Kadar serat biji kakao fermentasi

Table 6. Fiber content of fermented cacao bean

Perlakuan Fermentasi/ <i>Fermentation Treatment</i>	Kadar serat(%)/ <i>Fiber content (%)</i>				
	Lama fermentasi (hari)/ <i>Fermentasi (days)</i>				
	1	2	3	4	5
Fermentasi spontan/ <i>Spontaneous fermentation</i>	4,279 ^{de}	4,785 ^{de}	6,364 ^f	6,775 ^{fg}	1,751 ^a
Fermentasi dengan starter/ <i>Fermentation with starter</i>	3,940 ^{bcd}	5,678 ^{ef}	4,428 ^{de}	2,857 ^{abc}	2,522 ^{ab}
Fermentasi starter dengan pemerasan pulp/ <i>Fermentation with starter and depulping</i>	3,971 ^{bcd}	8,048 ^h	8,977 ^h	4,413 ^{de}	3,659 ^{bcd}

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %

Remarks : numbers designated by same letters are not significantly different at $\alpha=5\%$

Kadar serat kasar

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan serat kasar biji kakao cenderung mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu fermentasi. Kadar serat kasar pada biji kakao dengan fermentasi spontan (F1) sebesar 1,75%, dengan penambahan starter (F2) sebesar 2,52%, dengan penambahan starter dan pemerasan pulp (F3) sebesar 3,66%. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi dan lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar serat kasar biji kakao.

Penurunan kadar serat kasar diduga disebabkan oleh pemecahan pektin dan komponen polisakarida lainnya oleh enzim yang dihasilkan mikroba pektinolitik selama fermentasi. Penambahan starter pada fermentasi kakao meningkatkan kadar serat kasar biji kakao kering dibandingkan biji kakao tanpa fermentasi. Starter fermentasi kakao yang terdiri atas bakteri *A. aceti* dan medium starter dengan komposisi berupa glukosa, fruktosa, sukrosa dan asam sitrat diduga dapat meningkatkan kandungan serat kasar pada biji kakao. Selain itu, kemampuan kelompok bakteri *Acetobacter*

sp. untuk melakukan sintesis selulosa ketika tumbuh pada media yang mengandung glukosa²⁵ diduga turut menyebabkan peningkatan kadar serat kasar pada biji kakao dengan penambahan starter tersebut.

Beberapa strain khamir yang dapat mensekresikan enzim pektinolitik yang melarutkan pulp pada fermentasi kakao contohnya *Sacharomyces sp.* dan *Kluyveromyces sp.* Kelompok *Bacillus sp.* turut berkontribusi dalam proses degradasi pektin dalam pulp²⁶. Kelompok mikroorganisme tersebut diketahui merupakan mikroorganisme yang berperan penting dalam proses fermentasi kopi dan kakao disebabkan oleh kemampuan sekresi pektin liase dan poligalakturonase²⁷.

Kadar lemak

Hasil analisis lemak menunjukkan bahwa kandungan lemak pada biji kakao bervariasi antara 17,23-34,90% dari berat kering biji. Kadar lemak cenderung meningkat hingga hari kelima fermentasi. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi dan lama fermentasi berpengaruh nyata pada kadar lemak biji kakao.

Tabel 7. Kadar lemak biji kakao fermentasi

Table 7. Fat content fermented cocoa bean

Perlakuan Fermentasi/ <i>Fermentation Treatment</i>	Kadar lemak (%)/ <i>Fat content (%)</i>				
	Lama fermentasi (hari)/ <i>Fermentasi (days)</i>				
	1	2	3	4	5
Fermentasi spontan/ <i>Spontaneous fermentation</i>	19,93 ^d	19,86 ^d	20,15 ^d	25,49 ^e	28,41 ^f
Fermentasi dengan starter/ <i>Fermentation with starter</i>	17,12 ^c	11,95 ^a	18,55 ^{cd}	25,46 ^e	33,23 ^g
Fermentasi starter dengan pemerasan pulp/ <i>Fermentation with starter and depulping</i>	17,47 ^c	14,89 ^b	11,53 ^a	27,93 ^f	34,90 ^g

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5 %

Remarks : numbers designated by same letters are not significantly different at $\alpha=5\%$

Perlakuan penambahan starter pada fermentasi meningkatkan kandungan lemak yang terdapat pada biji kakao. Pada proses fermentasi yang berlangsung tanpa menggunakan oksigen (anaerob), diduga mikroorganisme yang tumbuh pada substrat fermentasi akan melakukan biosintesis lemak dari senyawa dengan sumber karbon seperti gula, protein dan polifenol melalui siklus Krebs. Lemak kakao diperoleh dari hasil ekstraksi pada nib/biji kakao. Kadar lemak pada biji kakao dapat mencapai 50% berat kering biji^{1,22}. Penambahan isolat khamir pada fermentasi biji kakao mempengaruhi kadar lemak biji kakao. Perubahan kadar lemak dapat bervariasi sesuai jenis dan jumlah starter yang diinokulasikan dalam proses fermentasi tersebut. Kandungan lemak di dalam biji kakao terdeteksi sebagai asam palmitat, laurat, miristat, stearat, oleat, linoleat, linolenat. Selama fermentasi terjadi pembentukan lemak yang dilakukan oleh bakteri alami yang terdapat dalam pulp biji^{28,29}.

KESIMPULAN

1. Fermentasi dengan penambahan starter *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 0016, *Lactobacillus plantarum* FNCC 0625 dan *Acetobacter aceti* FNCC 3049 disertai pemerasan pulp menghasilkan biji kakao dengan mutu sesuai standar industri dengan lama fermentasi 5 hari.
2. Penambahan starter *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 0016, *Lactobacillus plantarum* FNCC 0625, dan *Acetobacter aceti* FNCC 3049 meningkatkan konsentrasi etanol, yang berpengaruh terhadap peningkatan kadar asam organik yang terdapat pada biji kakao kering.
3. Penambahan starter *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 0016, *Lactobacillus plantarum* FNCC 0625 dan *Acetobacter aceti* FNCC 3049 disertai pemerasan pulp menghasilkan biji kakao dengan mutu sesuai standar industri yaitu kadar abu 4,82%, kadar serat 3,66% dan kadar lemak 34,90% dan golongan mutu A dengan jumlah biji 86-100/100gr.

DAFTAR PUSTAKA

1. Haryadi dan Supriyanto. 2012. Teknologi Cokelat. Gajah Mada University Press, Yogyakarta: xv + 283 hlm.(1)
2. Direktorat Jenderal Perkebunan. 2013. Luas areal kakao menurut provinsi di Indonesia, 2009-2013. www.pertanian.go.id/IP_ASEM_BUN_2013/ Areal-Kakao.pdf: 1 hlm. Diakses tanggal 1 Mei 2015
3. Wahyudi, T. dan Misnawi. 2007. Fasilitasi perbaikan mutu dan produktifitas kakao Indonesia. Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 23(1): 32--43.

4. BB-Pascapanen (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian). 2012. Teknologi produksi starter mikroba untuk peningkatan mutu biji kakao di tingkat pedagang pengumpul. Laporan Tahunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Tahun 2011. Badan Litbang Pertanian, Kementerian Pertanian, Jakarta: xxi + 106 hlm
5. Widyotomo, S. 2008. Teknologi fermentasi dan diversifikasi pulpa kakao menjadi produk yang bermutu dan bernilai tambah. Warta Review Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 24: 71--89.
6. Senanayake, M., E. R. Janz, dan K. A. Buckle. 1995. Effect of variety and location on optimum fermentation requirements of cocoa beans: An aid to fermentation on a cottage scale. Journal of the Science of Food Agriculture. 69: 461--465.
7. Hernani, Haliza W, Sumangat, D., Yuiani, S, Kailaku, SI. 2011. Teknologi Produksi Starter Mikroba untuk Peningkatan Mutu Biji Kakao di Tingkat Pedagang Pengumpul. Laporan Akhir Tahun. BB Pascapanen. Bogor.
8. Ardhana, M/ M. dan G. H. Fleet. 2003. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. International Journal Food Microbiology 86(1): 87--99.
9. Arnawa, G., Suharman, M. J. Sianturi, B. Lesmana, M. Syahrir, M. Wahyuni, dan A. Sonyville. 2013. Pasca panen, kualitas biji kakao dan fermentasi. Swisscontact-SCPP, Medan: v + 61 hlm
10. Widyotomo, S. dan S. Mulato. 2003. Pelatihan dasar uji cita rasa kakao di pusat penelitian kopi dan kakao Indonesia. Warta Pusat Penelitian Kopidan Kakao Indonesia. 19(3): 168--171.
11. Ramos, C. L., D. R. Dias, M. G. C. P. Miguel, R. F. Schwan. 2014. Impact of different cocoa hybrids (*Theobroma cacao L.*) and *S. cerevisiae* UFLA CA11 inoculation on microbial communities and volatile compounds of cocoa fermentation. Food Research International. 64: 908--918.
12. Schwan, R. F. dan A. E. Wheals. 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44: 205--221.
13. Afoakwa, E. O., J. E. Kongor, J. F. Takrama, dan A. S. Budu. 2013. Changes in acidification, sugars and mineral composition of cocoa pulp during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. International Food Research Journal. 20(3): 1215--1222.
14. Ray, B. 2004. Fundamental food microbiology 3rd ed. CRC Press, Florida: ix + 608 hlm.
15. Quintans, N. G., V. Blancato, G. Repizo, C. Magni, dan P. López, 2008. Citrate metabolism and aroma compound production in lactic acid bacteria. Dalam: Molecular aspects of lactic acid bacteria for traditional and new applications, Research Signpost 37: 65-88.
16. Rusli dan J. Towaha. 2013. Depulping lendir pulpa dapat meningkatkan mutu biji kakao rakyat. Medkom

- Perkebunan: Tanaman industri dan penyegar. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 1: 47--50.
17. Bytof, G., B. Biehl, H. Heinrichs, dan J. Voigt. 1995. Specificity and stability of the carboxypeptidase activity in ripe, ungerminated seeds of *Theobromacacao L.* *Food Chemistry*, 54:15-21.
18. Voigt, J dan B. Biehl. 1994. Precursors of the cocoa specific aroma components are derived from the vicilin class (7S) globulin of the cocoa seeds by proteolytic processing. *Food Chemistry*. 50: 177—184
19. Amanquah, D. T. O. 2013. Effect of mechanical depulping on the biochemical, physicochemical and polyphenolic constituents during fermentation and drying of Ghanaian cocoa beans. Master of Philosophy Thesis Department of Nutrition and Food Science, University of Ghana. Legon: v + 129 hlm.
20. Kresnowati, P., L. Suryani, dan M. Affifah. 2013. Improvement of cocoa beans fermentation by LAB starter addition. *Journal of Medical and Bioengineering*. 2: 274--278.
21. Ho, V. T. T., G. Fleet, dan J. Zhao. 2014. Yeast are essential for cocoa bean. *International Journal of Food Microbiology*. 174: 72--87.
22. Langkong, J., E. Ishak, M. Bilang, dan J. Muhidong. 2012. Pemetaan lemak dari biji kakao (*Theobroma cacao L.*) di Sulawesi Selatan. Universitas Hasanudin, Makassar: 30 hlm.
23. Kongor, J. E., J. F. Takrama, A. S. Budu, H. M. Brown, dan E. O. Afoakwa. 2013. Effects of fermentation and drying on the fermentation index and cut test of pulp pre-conditioned Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Journal of Food Science and Engineering*. 3: 625--634.
24. Hayati, R., Yusmanizar, Mustafri, dan H. Fauzi. 2012. Kajian fermentasi dan suhu pengeringan pada mutu kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Keteknik Pangan*. 26(2): 129--135 hlm
25. Heo, M. S. dan H. J. Son. 2002. Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter sp. A9* in shaking cultures. *Biotechnology and applied biochemistry*. 36(1): 41- 45.
26. Silva, C. F., D. M. Vilela, C. C. Souza, W. F. Duarte, D. R. Dias, dan R. F. Schwan. 2013. Evaluation of a potential starter culture for enhanced quality of coffee fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29: 235-247.
27. Masoud W. dan L. Jespersen. 2006. Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa. *International Journal of Food Microbiology*. 110:291--296.
28. Belitz, H. D., W. Grosch, P. Schieberle. 2009. *Food Chemistry* 4th ed. Springer, Berlin-Heidelberg: xiv + 1070 hlm
29. Ambhardini, S. 2010. Perubahan Kadar Lemak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Melalui Fermentasi Beberapa Isolat Khamir. Skripsi. Universitas Haluoleo