

## **Perbandingan Kualitas Fermentasi Biji Kakao dengan Penambahan Kultur Campur dan Kultur Tunggal *Lactobacillus plantarum***

### ***The Quality Comparison of Cocoa Bean Fermentation with the Addition of Mixed Cultures and Single Cultures of *Lactobacillus plantarum****

**Arita Putri Handayani, Andree Wijaya Setiawan, Yoga Aji Handoko\***

\*) Email korespondensi: [yoga.handoko@uksw.edu](mailto:yoga.handoko@uksw.edu)  
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. Diponegoro No.52-60, Kota Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia, 50711

#### **ABSTRAK**

Proses fermentasi biji kakao dilakukan untuk meningkatkan kualitas biji kakao sebagai bahan baku industri seperti pembentukan aroma, warna, flavor, serta dapat meningkatkan nilai jualnya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kualitas hasil dari penambahan kultur campur dan kultur tunggal *Lactobacillus plantarum*. Tujuan lain adalah menentukan kualitas hasil fermentasi terbaik biji kakao dengan penambahan kultur campur dan kultur tunggal *Lactobacillus plantarum*. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan konsentrasi khamir dan bakteri yang berbeda yaitu kultur tunggal 5%, 10%, 15% dan kultur campur 5%, 10%, 15% dengan lama waktu fermentasi selama 6 hari. Biji kakao tanpa pemberian inokulum khamir dan bakteri digunakan sebagai kontrol. Kultur tunggal dan kultur campur yang di gunakan mempengaruhi hasil yang berbeda-beda perlakuan terbaik yang menggunakan kultur tunggal adalah kultur tunggal 10% sedangkan perlakuan dengan penambahan kultur campur adalah kultur campur 10%. Hasil analisis penelitian dari beberapa parameter terbaik sebagai berikut pengukuran suhu 37,85°C; pH 5,37; rendemen 31,369; biji 100 gram 76,25; kadar air 7,848%; asam laktat 0,1125%; asam asetat 0,281%; gula reduksi 5,1065; lemak total 50,70%; uji cut test 98% dan uji organoleptik perlakuan yang disukai oleh panelis adalah kultur campur 5%.

**Kata kunci:** biji kakao; kualitas fermentasi; kultur campur; kultur tunggal; *Lactobacillus plantarum*.

#### **ABSTRACT**

*The cocoa bean fermentation process is carried out to improve the quality of cocoa beans as industrial raw materials such as the formation of aroma, color, flavor and can increase the selling value. This study aims to examine the quality of the results of the addition of mixed culture and single culture *Lactobacillus plantarum* and determine the best quality of fermented cocoa beans with the addition of mixed culture and single culture *Lactobacillus plantarum*. The cocoa beans used for fermentation were RCC clones from Nglanggeran, Gunung Kidul. This study used a randomized block design (RAK) with different concentrations of yeast and bacteria, namely: single culture 5%, 10%, 15% and mixed culture 5%, 10%, 15% with a long fermentation time for 6 days. Cocoa beans without yeast and bacteria inoculum were used as controls. The single culture and the mixed culture used influenced the different results. The best treatment using a single culture was a single culture of 10%, while the treatment with the addition of mixed cultures was a mixed culture of 10%. The results of the research analysis of some of the best parameters as follows: 37.85°C temperature measurement; pH 5.37; yield 31,369; seeds 100 grams 76.25; water content 7.848%; lactic acid 0.1125%; acetic acid 0.281%; reducing sugar 5.1065; total fat 50.70%; and cut test organoleptic test the preferred treatment by the panelists was Mixed Culture 5%.*

**Keywords:** cocoa beans; fermentation; quality; culture; *Lactobacillus plantarum*.

## I. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan produsen kakao terbesar keempat dunia pada tahun 2018 dengan volume produksi yaitu 767.280 ton (Jenderal Perkebunan, 2020). Jenis kakao di Indonesia yaitu forastero (*bulk cocoa*), criollo (kakao mulia), dan trinitario (Sunanto, 2004). Kakao segar memiliki kandungan air 32-39%, lemak 30-32%, protein 8-10%, senyawa polifenol 5-6%, pati 4-6%, pentose 4-6%, selulosa 2-3%, sukrosa 2-3%, theobromine 1-2%, kafein 1%, serta asam-asam organik (asam stearat, asam oleat, asam palmitat, dan asam linoleat (Hermani & Winda, 2013).

Menurut Atmaja dkk (2016), kelemahan biji kakao kering Indonesia adalah sebagian besar biji kakao tidak dilakukan fermentasi. Biji kakao dari perkebunan kecil masih menghadapi masalah yaitu tingkat keasaman tinggi, rasa coklat yang lemah, serta kurangnya konsistensi kualitas (Clapperton *et al*, 1994). Fermentasi di Indonesia biasanya memfokuskan waktu yang singkat untuk fermentasi tanpa memikirkan faktor lain. Faktor lain diantaranya adalah pertumbuhan mikotoksin, seperti okratoksin dan aflatoksin (Wangge, 2013).

Penelitian fermentasi biji kakao yang dilaporkan oleh Schwan (1998), ditemukan lebih dari 40 spesies mikroba yang tumbuh selama fermentasi kakao. Namun, tidak semua mikroba tersebut mempunyai peran penting dalam fermentasi, sehingga diperlukan seleksi dan hanya membutuhkan tiga kategori mikroba yaitu *yeast*, BAL (Bakteri Asam Laktat), dan BAA (Bakteri Asam Asetat). Ketiga kategori mikroba tersebut secara bergantian berperan penting dalam proses biokimiawi pada biji kakao, seperti mendegradasi pulp, pembentukan aroma, rasa, dan warna. Kultur tunggal menggunakan BAL yang berfungsi untuk mikroba pengawet (*biopreservative microorganism*) dan berperan dalam pembentukan flavor biji kakao.

*Lactobacillus plantarum* sebagai BAL memiliki kemampuan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan daya hambat terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* yaitu plantaricin (Fardiaz, 2010). Meskipun produksi komoditas kakao Indonesia tinggi, nilai jual komoditas kakao terutama kakao kering cenderung rendah. Ini disebabkan karena kualitas yang dihasilkan sebagian besar terkontaminasi dengan jamur mikotoksin. Faktor iklim di Indonesia yang beriklim tropis dan memiliki kelembaban udara tinggi menjadi salah satu faktor yang memudahkan biji kakao terkontaminasi dengan jamur (Marwati, 2017). Berdasarkan uraian tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan dan kualitas hasil fermentasi biji kakao dengan penambahan kultur campur dan kultur tunggal *Lactobacillus plantarum*.

## II. METODE PENELITIAN

### 1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada April – September 2021 di Laboratorium Pascapanen di Fakultas Pertanian dan Bisnis dan Laboratorium Kimia dan Biokimia di Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana.

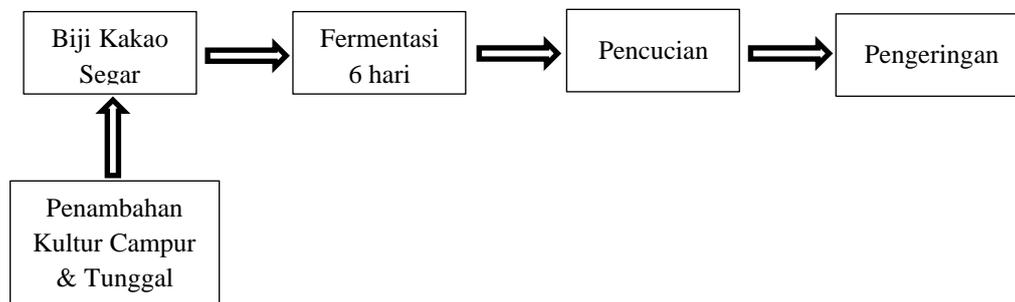
## 2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah timbangan digital, pH meter dan termometer HANNA HI 9125, buret, *moisture analyzer* SHIMADZU MOC63u, Pisau/Cutter, spektrofotometer SHIMADZU UV-Vis 1280 (CE), soxhlet, grinder, mikropipet, destilator, inkubator, dan wadah fermentasi biji kakao. Bahan-bahan yang digunakan antara lain: biji kakao klon RCC dari Desa Nglanggeran, Kecamatan Patuk, Kabupaten Gunung Kidul, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus fermentum*, *Acetobacter tropicalis* dan *Acetobacter orientalis*, MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*), MRSB (*deMan Rogosa Sharpe Broth*), PDA (*Potato Dextrose Agar*), PYG (*Peptone Yeast Glucose Broth*), YPG (*Yeast Peptone Glucose*), alkohol 98%, plastik wrap, aquades, kain, NaOH 0,1 N, PP (Fenolftalein) 1%, N-heksan teknis, reagen nelson, arsenomolibdat, glukosa anhidrat.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAK (Rancangan Acak Kelompok) dengan 1 faktor, 7 perlakuan, dan 4 ulangan. Faktor yang digunakan yaitu perbedaan konsentrasi kultur campur dan kultur tunggal *Lactobacillus plantarum*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (program *Statistical Analysis System (SAS)*) dan apabila ada perubahan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT 5%.

## 3. Prosedur penelitian

Sebanyak 500 g biji kakao segar ditimbang dan dimasukkan ke dalam tempat fermentasi serta dituang kultur cair yang sudah ditumbuhi mikroba. Waktu pre kultur (peremajaan bakteri) menggunakan media cair MRSB (450 mL), YPG (150 mL), PYG (300 mL). Isolasi dilakukan 1 hari sebelum diterapkan pada kakao yang akan difermentasi. Perlakuan yang diterapkan antara lain kontrol tanpa penambahan kultur kultur tunggal 5%, kultur tunggal 10%, kultur tunggal 15%, kultur campur 5%, kultur campur 10%, kultur campur 15%. Secara garis besar prosedur penelitian digambarkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Skema fermentasi biji kakao.

Fermentasi dilakukan selama 6 hari dan tempatkan pada inkubator. Selama proses fermentasi dilakukan pengadukan 2 hari sekali agar fermentasi merata dan dilakukan pengukuran suhu dan pH setiap hari selama 6 hari. Setelah 6 hari fermentasi kakao selesai dilakukan pencucian, agar mengurangi sisa pulp dan kemudian dilakukan pengeringan menggunakan sinar matahari dan oven, pengeringan biasanya membutuhkan 4-5 hari sampai kadar air biji kakao sekitar 7%.

#### 4. Parameter Penelitian

##### a. Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan secara otomatis menggunakan *moisture analyzer* SHIMADZU MOC63u berdasarkan Hilaria dkk (2020).

##### b. Rendemen Biji Kakao

Rendemen biji kakao merupakan perbandingan berat biji kakao basah sebelum dilakukan fermentasi dan biji kakao kering yang sudah di fermentasi, dihitung dengan Persamaan 1 merujuk Hartuti dkk (2018).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat biji kering}}{\text{berat biji basah}} \times 100\% \quad \text{----- (1)}$$

##### c. Jumlah Biji per 100 gram

Biji kakao di timbang 100 g kemudian dihitung jumlahnya. Jumlah biji kakao untuk menentukan grade biji kakao: AA jumlah kurang dari hingga 85 biji; A antara 86-100 biji; B antara 101-110 biji; C antara 111- 120 biji; dan S < 120 biji. Perhitungan jumlah biji per 100 gram merujuk pada Zainudin (2010).

##### d. Asam Laktat

Pengukuran kandungan asam laktat dilakukan dengan Metode Titrimetri. Bubuk kakao ditimbang 5 g kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambah aquades sampai batas tera, kemudian dikocok sampai tercampur rata, lalu disaring dengan menggunakan kertas saring, hasil titrat kemudian diambil 10 mL ditambahkan 2 tetes indikator phenolphthalein 1% kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda atau pink. Kadar asam laktat dihitung dengan Persamaan 2 (Usman dkk, 2018).

$$\text{Jumlah asam (\%)} = \frac{V \times N \times 90}{W} \times 100\% \quad \text{----- (2)}$$

##### e. Asam Asetat

Pengukuran asam asetat menggunakan metode Titrimetri. Bubuk kakao ditimbang sebanyak 5 g kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, lalu ditambahkan aquades sampai batas tera. Kemudian disaring dengan kertas saring yang sudah diletakan di corong kaca dan erlenmeyer, sebelum dituang dikocok terlebih dahulu. Hasil titran diambil 2 mL kemudian ditaruh pada erlenmeyer serta ditambahkan aquades 8 mL. Sebelum dilakukan titrasi ditambahkan phenolphthalein 1% sebanyak 2 tetes, kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda atau pink. Kadar asam asetat dihitung menurut Wiwik (2017) dengan Persamaan 3.

$$\text{Asam asetat(\%)} = \frac{v \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BE \text{ Asam Asetat} \times \text{Pengenceran}}{(M \text{ sampel} \times 1000)} \times 100\% \quad \text{----- (3)}$$

##### f. Gula Reduksi

Pengujian gula reduksi menggunakan metode Nelson-Somogyi. Sebanyak 1 g bubuk kakao ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Sampel kemudian ditambahkan aquades sampai batas tera, disaring dengan kertas saring, lalu hasil titrat diambil 1 mL dan ditambah 1 mL reagen Nelson-Somogyi serta ditambahkan lagi 7 mL

aquades. Sampel dipanaskan menggunakan hotplate selama 20 menit hingga mendidih dan muncul endapan berwarna kuning di tabung reaksi. Sampel kemudian didinginkan lalu ditambahkan 1 mL Arsenomolibdat, dihomogenkan dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm (Apriyanto *et al*, 2016).

*g. Lemak Total*

Pengukuran kandungan lemak total dalam biji kakao dilakukan dengan metode ekstraksi. Sebanyak 2 g bubuk kakao dimasukkan kertas saring lalu diikat pada bagian atas dan bawah dengan panjang kertas saring 6 cm. Kertas saring dimasukkan ke dalam tabung soxhlet, kemudian dimasukkan ke dalam ruang ekstraktor dengan ditambahkan 200 mL n-heksana teknis. Selanjutnya, tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi Soxhlet dan sampel didestilasi selama 6 jam. Pada saat destilasi n-heksan akan tertampung pada ruang ekstraktor dan pelarut akan diuapkan, sehingga tidak kembali ke labu lemak. Selanjutnya labu yang berisi lemak dan bercampur n-heksana didestilasi sampai terpisah antara n-heksana dan lemak, kemudian dioven pada suhu 80°C. Labu kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan selanjutnya ditimbang (AOAC, 2005).

*h. Uji Cut Test*

Pengukuran uji *cut test* dilakukan dengan cara memotong sebanyak 50 biji kakao, yang masing-masing terbagi menjadi dua secara membujur. Setiap biji kakao kemudian diamati warnanya dan diklasifikasikan berdasarkan biji tidak terfermentasi berwarna *slaty*, biji setengah terfermentasi berwarna ungu dominan, dan biji terfermentasi sempurna berwarna coklat dominan (Mulato & Widyotomo, 2005).

*i. Uji Organoleptik*

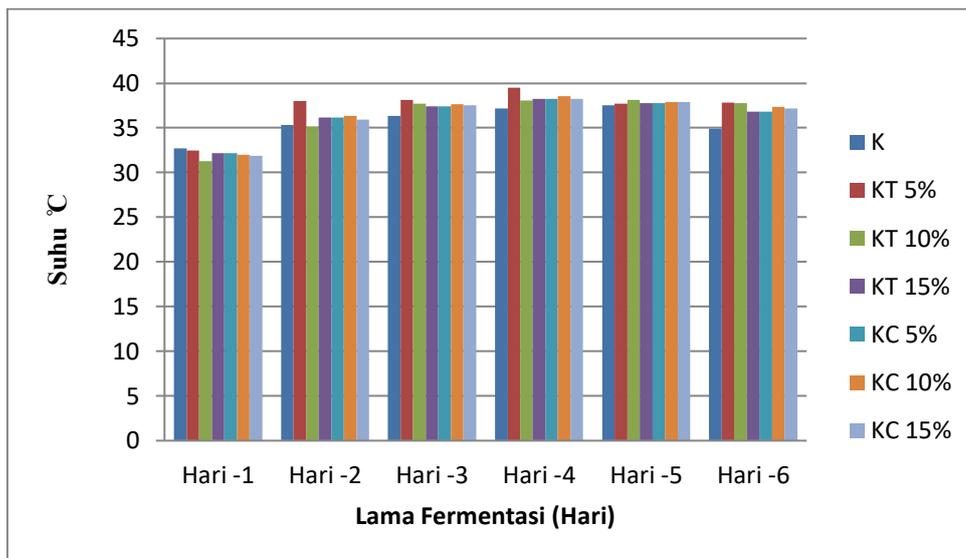
Uji organoleptik menggunakan skala hedonik dengan parameter yang digunakan adalah: warna, tekstur, aroma dan rasa, uji organoleptik yang dilakukan pada sebelum dan sesudah fermentasi biji kakao. Panelis yang digunakan adalah panelis tidak terlatih sebanyak 20 mahasiswa (Winarno, 2003).

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Suhu dan pH

Dinamika suhu selama fermentasi biji kakao ditampilkan pada Gambar 2. Suhu hari pertama menunjukkan kisaran 31,3-32,68 °C dan pada semua perlakuan mengalami peningkatan suhu pada hari kedua hingga hari ke 6 yaitu 34,88-37,85 °C. Perubahan suhu ini menunjukkan indikator terjadinya proses fermentasi. Menurut Apriyanto dkk (2016), proses fermentasi mengakibatkan peningkatan suhu yang disebabkan oleh adanya reaksi enzimatik yang terjadi di dalam biji kakao. Proses fermentasi pada biji kakao terdapat 2 fase, fase pertama melibatkan reaksi-reaksi biokimia yang terjadi dalam pulp dan fase kedua melibatkan hidrolisis yang terjadi di dalam keping biji kakao (Pereira., *et al*, 2012). Suhu optimal fermentasi berkisar antara 44-47 °C, namun dalam penelitian ini suhu maksimal hanya mencapai 37,85 °C. Hal ini disebabkan karena massa biji kakao yang difermentasi

relatif sedikit hanya 500 g, sehingga mempengaruhi suhu pada fermentasi biji kakao tersebut.



Keterangan: K = Kontrol, KT = Kultur Tunggal, KC = Kultur Campur.

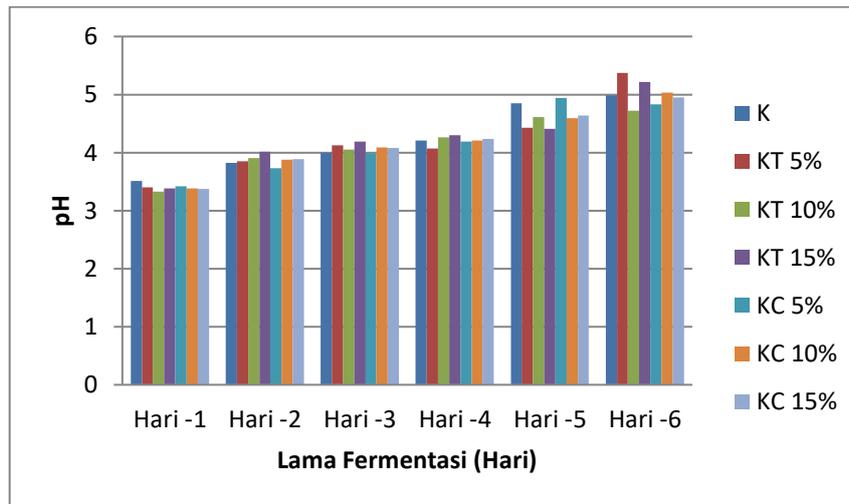
**Gambar 2.** Dinamika suhu rata-rata harian fermentasi biji kakao.

Analisis pH biji kakao dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman yang terbentuk karena adanya proses fermentasi yang berlangsung. pH rata-rata harian menunjukkan bahwa dinamika pH dari hari ke hari ada kenaikan tergantung lama fermentasi (Gambar 3). Lama fermentasi biji kakao pada hari pertama memiliki pH 3,33-3,51 kemudian hari terakhir pH sekitar 4,72-5,37. Menurut Karinawantika, (2015), pH rendah dan kondisi anaerob pada awal fermentasi sangat baik untuk pertumbuhan *yeast*. Peningkatan pH pada hari ke 4 atau penurunan tingkat keasaman dapat disebabkan oleh aktivitas fermentasi oleh bakteri asam asetat yang masuk pada keping biji kakao yang menyebabkan kondisi asam diluar biji kakao berpindah ke dalam keping biji kakao (Nielsen, 2006). Menurut Atiqoh (2007), keasaman pada biji kakao terbaik antara pH 5,0-5,8. Jika  $pH > 5,8$  berarti fermentasi biji kakao berjalan kurang sempurna, sedangkan  $pH < 5,0$  berarti dari biji kakao segar (kakao asli) mempunyai keasaman yang cukup tinggi.

## 2. Rendemen dan Biji 100 gram

Rendemen adalah salah satu parameter yang dapat menentukan kualitas biji kakao yang dihasilkan dari proses fermentasi (Arief & Asnawi, 2011). Komponen bahan pada biji kakao sangat mempengaruhi nilai rendemen. Jika banyak komponen yang berkurang, maka semakin kecil nilai rendemen, sedangkan jika nilai rendemen tinggi, maka kualitas biji kakao semakin baik. Nilai rendemen ditunjukkan pada Tabel 1., dengan perlakuan kultur tunggal 10%, kultur campur 10% berbeda nyata dengan perlakuan kultur campur 15%, tetapi tidak beda nyata dengan perlakuan kontrol, kultur tunggal 5%, kultur tunggal 15%, dan kultur campur 5%. Setiap perlakuan pada proses fermentasi kakao memberikan pengaruh signifikan terhadap rendemen biji kakao. Pada penelitian ini rendemen hasil fermentasi lebih

rendah yaitu 31,369% dibandingkan dengan penelitian Satryadi, (2013) yang rendemennya mencapai 33,38%.



Keterangan: K = Kontrol, KT = Kultur Tunggal, KC = Kultur Campur

**Gambar 3.** Dinamika pH rata-rata harian fermentasi biji kakao.

Perhitungan biji 100 g dilakukan untuk menentukan mutu biji kakao. Suhendi dkk (2004), menyatakan bahwa biji kakao terbaik memiliki berat lebih dari 1 g per biji. Berdasarkan ukuran berat biji yang dihasilkan dari penelitian ini termasuk kelas AA dimana dengan jumlah biji kurang dari 85 biji/ 100 g (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa setiap perlakuan pada proses fermentasi kakao tidak memberi pengaruh yang signifikan terhadap biji kakao 100 g, tetapi fermentasi dapat mempertahankan kualitas biji kakao. Mulato & Widyotomo (2005) menyatakan bahwa terdapat tiga faktor yang dapat mempengaruhi ukuran berat biji seperti jenis klon, kondisi lingkungan, dan tindakan agronomis. Kondisi lingkungan juga dapat mempengaruhi kadar air dalam biji kakao karena sifatnya yang higroskopis (Grandegger, 1989).

### 3. Kadar Air

Pada proses fermentasi ditandai dengan berkurangnya kadar air pada biji kakao. Berkurangnya kadar air mengakibatkan aktivitas mikroba dan enzim meningkat menjadi lebih aktif. Panas yang dihasilkan karena proses fermentasi yang berlangsung mengakibatkan pulp biji kakao hancur dan menjadi cair, sehingga jaringan kompleks pada biji kakao menjadi senyawa organik lebih sederhana (Marwati, 2017). Hancurnya pulp menyebabkan pori-pori biji kakao terbuka dan air bebas keluar, sehingga proses pengeringan menjadi lebih mudah. Proses fermentasi menyebabkan kematian biji karena sifat semipermeabilitas (Ariyanti, 2017). Tabel 1. menunjukkan setiap perlakuan tidak memberi pengaruh yang signifikan terhadap kadar air. Perlakuan yang memiliki kadar air yang rendah adalah kultur tunggal 10% yaitu 6,903% dan perlakuan yang memiliki kadar air tinggi yaitu kultur campur 10% sebesar 7,848%. Menurut SNI (2008), supaya biji kakao aman disimpan sebelum dipasarkan, sesuai dengan standar mutu SNI yaitu 6-7% untuk kadar air grade AA.

**Tabel 1.** Hasil Analisis Rendemen kakao, Biji 100 g, Kadar Air, Asam Laktat, Asam Asetat, Gula Reduksi, Lemak Total dan Uji *Cut Test* dengan penambahan kultur *Lactobacillus plantarum*.

Rata-rata per hari	Rendemen	Biji 100 g	Kadar Air	Asam Laktat	Asam Asetat	Gula Reduksi	Lemak Total	Uji Cut Test
K	29,268 <sup>ab</sup>	76,25 <sup>a</sup>	7,638 <sup>a</sup>	0,1125 <sup>a</sup>	0,281 <sup>bc</sup>	4,9495 <sup>ab</sup>	43,65%	83,5 <sup>c</sup>
KT 5%	30,631 <sup>ab</sup>	75,75 <sup>a</sup>	6,903 <sup>a</sup>	0,1120 <sup>a</sup>	0,206 <sup>a</sup>	4,7085 <sup>a</sup>	41,55%	98 <sup>a</sup>
KT 10%	31,041 <sup>a</sup>	74,50 <sup>a</sup>	7,440 <sup>a</sup>	0,0945 <sup>a</sup>	0,19 <sup>c</sup>	4,7110 <sup>abc</sup>	41,75%	94,5 <sup>ab</sup>
KT 15%	30,847 <sup>ab</sup>	76,00 <sup>a</sup>	7,030 <sup>a</sup>	0,0990 <sup>a</sup>	0,244 <sup>c</sup>	5,1065 <sup>a</sup>	42,95%	94,5 <sup>a</sup>
KC 5%	29,60 <sup>ab</sup>	72,75 <sup>a</sup>	6,990 <sup>a</sup>	0,1080 <sup>a</sup>	0,169 <sup>ab</sup>	4,0138 <sup>bc</sup>	49,3%	95 <sup>abc</sup>
KC 10%	31,369 <sup>a</sup>	74,75 <sup>a</sup>	7,848 <sup>a</sup>	0,0900 <sup>a</sup>	0,188 <sup>a</sup>	4,1930 <sup>bc</sup>	50,70%	92,5 <sup>bc</sup>
KC 15%	27,918 <sup>b</sup>	76,25 <sup>a</sup>	7,230 <sup>a</sup>	0,1080 <sup>a</sup>	0,169 <sup>a</sup>	3,8185 <sup>bc</sup>	50%	95 <sup>abc</sup>

Keterangan: K = Kontrol, KT = Kultur Tunggal, KC = Kultur Campur. Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.

#### 4. Asam Laktat

Asam laktat (*2-hydroxypropanoic acid*, CH-CH(OH)-COOH) merupakan asam organik alami (Oshiro., *et al*, 2009). Metode homofermentatif untuk pengukuran asam laktat dipilih karena hanya menghasilkan asam laktat atau menghasilkan produk samping dengan jumlah yang sangat kecil. Hasil analisis asam laktat yang ditunjukkan melalui Tabel 1. menggambarkan tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan satu dengan yang lain. Kandungan asam laktat yang tertinggi diketahui pada kontrol, sedangkan asam laktat terendah pada perlakuan kultur campur 10%. Ardhana & Fleet (2003), melaporkan bahwa konsentrasi asam laktat di akhir fermentasi masih sekitar 1-3 %, sedangkan dari penelitian ini kandungan asam laktat hanya 0,1125 % yang paling tertinggi.

#### 5. Asam Asetat

Asam asetat diperoleh dari pembentukan oksidasi alkohol. Banyak atau sedikitnya kultur yang ditambahkan sangat mempengaruhi bakteri asam asetat dalam beradaptasi. Semakin banyak kultur yang ditambahkan, semakin cepat bakteri asam asetat beradaptasi yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel bakteri. Tabel 1. menunjukkan bahwa setiap perlakuan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kandungan asam asetat. Setiap perlakuan menunjukkan bahwa kultur campur 15% dan kultur campur 10% berbeda nyata dengan kontrol, kultur tunggal 15% dan kultur tunggal 10%, tetapi tidak berbeda nyata dengan kultur tunggal 5% dan kultur campur 5%. Perbedaan kandungan asam asetat pada setiap perlakuan dipengaruhi oleh lama fermentasi dan banyaknya kultur yang digunakan. Jika kultur asam bakteri asetat yang digunakan banyak, maka jumlah kadar asam asetat yang dihasilkan sedikit dan bila fermentasi yang dilakukan lama, maka kadar asam asetat yang dihasilkan rendah.

Inokulasi dapat memperbanyak jumlah sel pada bakteri asam asetat dalam waktu yang singkat dan nutrisi yang terdapat pada media akan digunakan secara terus menerus, sehingga persediaan nutrisi akan semakin berkurang dan menyebabkan peningkatan kompetisi untuk mendapatkan nutrisi. Karena adanya kompetisi dan keterbatasan nutrisi menyebabkan

kematian pada bakteri, sehingga jumlah sel bakteri berkurang. Berkurangnya jumlah bakteri asam asetat mengakibatkan alkohol yang dioksidasi hanya sebagian kecil untuk menjadi asam asetat (Desrosier, 1977).

## 6. Gula Reduksi

Pulp kakao mengandung pektin, sukrosa dan pati oleh mikroba selama fermentasi yang kemudian terjadi perombakan dan menghasilkan gula reduksi. Alkohol dan asam pektinat merupakan hasil perombakan pektin yang dibantu enzim pektinase. Kemudian asam pektinat dengan bantuan enzim pektinase dipecah menjadi galaktosa, arabinosa, dan asam asetat (Afoakwa *et al*, 2013). Pati yang terdapat pada pulp biji kakao dirombak menjadi gula oleh khamir amilolitik, seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Etanol merupakan hasil perombakan gula reduksi yang berfungsi untuk senyawa calon rasa biji kakao. Pada kandungan gula reduksi saat proses fermentasi akan meningkat pada awal kemudian menurun pada pertengahan fermentasi dan akan stabil pada akhir fermentasi (Lopez & Dimik, 1995). Kandungan gula reduksi pada Tabel 1. menunjukkan bahwa setiap perlakuan memberi pengaruh yang signifikan terhadap gula reduksi dan dapat dilihat bahwa kultur tunggal 15% dan kultur tunggal 5% tidak berbeda nyata dengan kontrol dan kultur tunggal 10% tetapi berbeda nyata dengan kultur campur 5%, kultur campur 10%, dan kultur campur 15%. Penyusutan kadar air dapat meningkatkan kadar gula reduksi karena dapat mengaktifkan enzim dan penambahan kultur dapat meningkatkan kandungan gula reduksi karena dapat mendegradasi gula dalam jumlah yang lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan yang tidak diberi penambahan kultur.

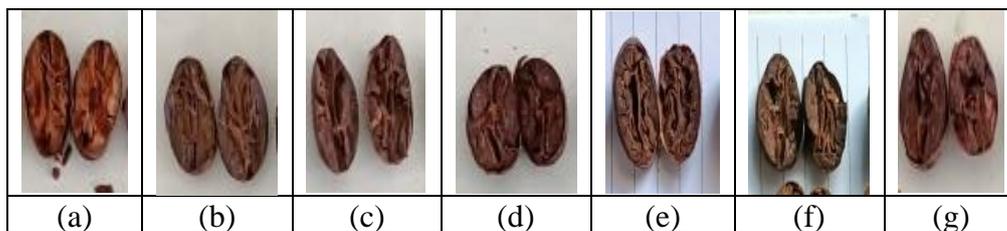
## 7. Lemak Total

Lemak kakao adalah trigliserida yang merupakan senyawa gliserol dan tiga asam lemak. Lebih dari 70% dari gliserida terdiri dari tiga senyawa tidak jenuh tunggal yaitu oleodipalmitin (POP), oleo distearin (SOS), dan oleopalmitostearin (POS) (Wahyudi dkk, 2008). Kandungan lemak hasil fermentasi kakao ditampilkan pada Tabel 1. Hasil penelitian dari 7 perlakuan mendapatkan kandungan lemak berkisar 42,55-50,70% perlakuan dengan kandungan lemak tertinggi yaitu kultur campur 10%. Peningkatan kadar lemak terjadi karena kadar air dalam biji kakao menurun selama proses fermentasi yang berpengaruh terhadap rendemen lemak yang dihasilkan, dan disebabkan oleh penyusutan bobot biji seiring dengan fermentasi kakao yang menghasilkan panas dan enzim yang dapat merombak komponen dalam biji yang menyebabkan kadar lemak meningkat (Yusianto dkk, 1997). Kandungan kakao di Indonesia berkisar 49-52%, sehingga dari penelitian ini yang masuk standar kandungan lemak kakao di Indonesia yaitu perlakuan kultur campur 5%, kultur campur 10%, dan kultur campur 15% (Mulato & Widoyotomo, 2005).

## 8. Uji Cut Test

Uji *cut test* merupakan uji fisik setelah dilakukan fermentasi untuk melihat warna kotiledon dan kemudian disajikan dalam bentuk *score*. Uji *cut test* dilakukan untuk mengetahui perlakuan yang diterapkan menghasilkan fermentasi terbaik. Fermentasi memberikan hasil terbaik ditandai dengan presentasi warna coklat (*brown*) lebih dari 80% (Patty, 2018). Hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 1. menunjukkan bahwa perlakuan

kultur tunggal 5% dan kultur tunggal 15% tidak berbeda nyata dengan kultur tunggal 10%, kultur campur 5%, dan kultur campur 15%, tetapi berbeda nyata dengan kultur campur 10% dan kontrol. Dari data yang dihasilkan dapat dilihat bawah perlakuan berpengaruh signifikan terhadap uji *cut test*. Meskipun kontrol yang tidak diberi kultur tambahan, akan tetapi tetap memberikan hasil fermentasi terbaik yaitu lebih dari 80%, karena biji kakao segar sendiri memiliki bakteri *indigenus* (bakteri alami) yang berperan dalam proses fermentasi dan kontrol juga dilakukan fermentasi selama 6 hari. Uji *cut test* terendah pada kontrol yaitu 83,5% dan uji *cut test* tertinggi pada perlakuan kultur tunggal 5% yaitu 98%. Hasil uji *cut test* pada Gambar 4 menunjukkan bahwa kultur campur 5% menghasilkan biji kakao yang memiliki warna coklat yang dominan, bertestur agak remah atau mudah dipecah menunjukkan bahwa biji kakao terfermentasi sempurna. Sedangkan pada kontrol menghasilkan biji kakao yang memiliki warna coklat muda dan tidak merata. Ini menunjukkan pada kontrol hanya terjadi setengah fermentasi, berongga tetapi bertekstur padat dan keras (Hartuti dkk, 2018).



**Gambar 4.** Biji Kakao Fermentasi Ulangan 1, Kontrol tanpa Penambahan Kultur *Lactobacillus plantarum* (a), Kultur Tunggal 5% (b), Kultur Tunggal 10% (c), Kultur Tunggal 15% (d), Kultur Campur 5% (e), Kultur Campur 10% (f), Kultur Campur 15% (g).

## 9. Uji Organoleptik

Uji organoleptik meliputi 4 parameter, yaitu: warna, tekstur, aroma, dan rasa. Pengujian ini menggunakan skala hedonik untuk mengetahui sejauh mana kesukaan panelis terhadap bubuk kakao hasil fermentasi. Warna merupakan hal yang sering diperhatikan jika memilih makanan, karena warna yang menarik dapat memberikan dorongan pada konsumen. Tabel 2. menunjukkan bahwa kultur campur 5% merupakan warna yang paling disukai, karena mendapatkan nilai indeks tertinggi yaitu 85% berwarna coklat tua dengan kategori sangat suka, sedangkan warna yang memiliki nilai indeks terendah adalah perlakuan kultur tunggal 15% yaitu 66% berwarna coklat muda dengan kategori suka. Menurut Mulato & Widyotomo (2005), biji kakao secara bertahap akan berubah menjadi coklat seiring dengan proses dan waktu fermentasi. Semakin lama fermentasi warna coklat semakin dominan atau tinggi persentase warna coklat menunjukkan fermentasi semakin sempurna. Menurut Powell, 1984), senyawa yang berperan dalam pembentukan warna yaitu senyawa polifenol.

Tekstur merupakan sifat fisik bubuk kakao yang dapat amati tingkat kehaluasaannya. Parameter tekstur pada Tabel 2. menunjukkan perlakuan yang sangat disukai panelis yaitu kultur campur 5% dan kultur tunggal 15% dimana memiliki nilai indeks 80% dan 75% dengan kategori sangat suka, sedangkan pada parameter warna yang memiliki nilai indeks terendah adalah kultur tunggal 5% yaitu 67% dengan kategori suka. Tekstur pada semua

perlakuan dihaluskan dengan grinder yang sama tentunya memiliki tekstur yang hampir sama dari perlakuan satu dengan yang lain.

Menurut Misnawi (2008), senyawa pembentukan aroma coklat terbentuk selama proses fermentasi biji kakao dan jika tanpa melakukan fermentasi aroma, maka sama sekali tidak menghasilkan aroma khas coklat. Hasil uji organoleptik pada perlakuan aroma dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai tertinggi dari hasil penilaian panelis yaitu kultur campur 10% dengan nilai indeks 81% dengan kategori sangat suka, sedangkan nilai paling rendah dari kategori aroma adalah pada kontrol dengan nilai indeks adalah 37% dengan kategori tidak suka. Tanpa penambahan kultur atau kontrol merupakan aroma kakao sangat lemah karena kemungkinan perombakan senyawa-senyawa pembentukan aroma tidak bekerja dengan maksimal. Aroma biji kakao terdiri dari senyawa volatil, yang terbentuk dari gugus amina dan karboksil (Mulato & Widyotomo, 2005). Lama fermentasi mempengaruhi aroma biji kakao, semakin lama fermentasi aroma yang dihasilkan semakin kuat.

Fermentasi bertujuan untuk membentuk cita rasa yang baik karena selama fermentasi terjadi penguraian senyawa polifenol, protein dan gula oleh enzim yang menghasilkan senyawa calon rasa (Widyotomo, 2001). Uji hedonik pada rasa bubuk kakao pada Tabel 2. Menunjukkan bahwa kultur campur 5% perlakuan menunjukkan nilai indeks tertinggi dari semua perlakuan yaitu 76% rasa dengan kategori sangat suka dari hasil penilaian panelis dan nilai indeks terendah yaitu 49% kategori agak suka yaitu kontrol. Fermentasi ini bertujuan untuk mengurangi rasa pahit pada coklat. Faktor yang mempengaruhi tingkat kepahitan pada biji kakao adalah senyawa polifenol dimana terdiri dari polifenol kompleks, antosianin, katekin dan leokauantosianin (Mulato & Widyotomo, 2005).

**Tabel 2.** Data Uji Organoleptik Biji Kakao dengan Penambahan Kultur *Lactobacillus plantarum*.

P	Warna		Tekstur		Aroma		Rasa	
	NI %	K	NI %	K	NI %	K	NI %	K
K	69%	S	68%	S	37%	TS	49%	AS
KT 5%	71%	S	67%	S	71%	S	55%	AS
KT 10%	70%	S	70%	S	72%	S	65%	S
KT 15%	66%	S	75%	SS	62%	S	67%	S
KC 5%	85%	SS	80%	SS	81%	SS	76%	SS
KC 10%	73%	S	70%	S	75%	SS	75%	SS
KC 15%	71%	S	73%	S	74%	S	73%	S

Keterangan: K = Kontrol), KT = Kultur Tunggal, KC = Kultur Campur. Nilai Indeks (NI), Kategori (K), Sangat tidak Suka (STS), Tidak Suka (TS), Agak Suka (AS), Suka (S), Sangat Suka (SS).

#### IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap suhu, pH, rendemen, biji 100 g dan asam laktat, tetapi ada perbedaan yang signifikan terhadap asam asetat, gula reduksi, lemak total, uji *cut test* dan uji organoleptik dari 7 perlakuan dengan penambahan kultur campur dan kultur tunggal *Lactobacillus plantarum*. Hasil penelitian juga menunjukkan asam asetat dan gula reduksi kultur campur 15% memiliki

kandungan yang terendah dibandingkan dengan 6 perlakuan yang lain, sedangkan lemak total yang memiliki kandungan tertinggi yaitu kultru campur 10%, untuk uji cut test perlakuan yang terbaik pada kultur tunggal 5% dan untuk uji organoleptik kultur campur 5% yaitu perlakuan yang sangat di sukai oleh panelis. Pemberian kultur campur perlakuan kultur campur 5%, kultur campur 10% dan kultur campur 15% merupakan perlakuan yang lebih baik daripada perlakuan kultur tunggal *Lactobacillus plantarum*. Tetapi dari ketiga perlakuan kultur campur yang terbaik adalah kultur campur perlakuan 10%.

## V. REFERENSI

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th Edition. Gaithersburg: AOAC International.
- Afoakwa, E. O., Kongor, J. E., Takrama, J. & Budu, A. S. (2013). Changes in nib acidification and biochemical composition during fermentation of pulp pre conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*; 20(4), 1843–1853.
- Apriyanto, M., Sutardi, Supriyanto & Harmayani, E. (2016). Study on Effect of Fermentation to Quality Parameter of Cocos Bean Indonesia. *Asian Journal Dairy and Food Research* 35(2):160-163.
- Ardhana, M. M., & Fleet, G. H. (2003). The Microbial Ecology of Cocoa Bean Fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1–2): 87–99. [Http://Doi.Org/10.1016/S0168-1605\(03\)00081-3](http://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00081-3).
- Arief, R.W. dan R. Asnawi. (2011). Karakterisasi sifat fisik dan kimia beberapa jenis biji kakao lindak di Lampung. *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri* 2(.3), 325-330.
- Ariyanti, M. (2017). Karakteristik Mutu Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) Dengan Perlakuan Waktu Fermentasi Berdasar SNI 2323-2008. (Quality Characteristics Of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L) With Time Fermentation Treatment Based on ISO 2323-2008). *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 12(1), 34–42.
- Atiqoh, Ika. (2007). Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Senyawa Antikapang pada Fermentasi Kakao. Skripsi S1. Universitas Jember, Jember.
- Atmaja, M. P., Haryadi., & Supriyanto. (2016). Peningkatan Kualitas Biji Kakao Non Fermentasi Melalui Perlakuan Pendahuluan Sebelum Inkubasi. *Jurnal TIDP* 3(1):11-20
- Desrosier, N. W. (1977). *Teknologi Pengawetan Pangan. Edisi III*. Penerjemah Muchji Mulyohardjo. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Fardiaz, S. (2010). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta : Bumi Aksara.
- Grandegger, K., (1989). A solar-powered Tuned Drier with Collector for Use in Coffee, Cocoa and Coconut Production. *Landtechnik*, 44(8): 293-296.
- Hartuti, S., Nursigit, B., Joko N.W.K, & Yudi, P. (2018). Fermentasi Isothermal Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Sistem Aerasi Terkendali. *Jurnal Agritech*: 38 (4): 364-374.

- Hermani & Winda, H. (2013). Optimasi Komposisi Nutrien untuk Pembentukan Komponen Citarasa pada Fermentasi Biji Kakao Asalan. *Jurnal Pascapanen*, 10(2):74-82.
- Hilaria, A.S., Selly, H.P & Tajul, I. (2020). Perubahan Fisik dan Kimia Biji Kakao Selama Fermentasi. *Jurnal Industri Pertanian (JUSTIN)*: 2(2): 158-165. <https://garuda.ristekbrin.go.id/documents/detail/312256>
- Karinawantika, E. I. (2015). Karakteristik Fisik dan Kimia Biji Kakao Hasil Fermentasi Dalam Wadah Karung Plastik di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Skripsi S1. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, Jember.
- Lopez, A.S. & P.S. Dimick. (1995). *Cocoa Fermentation*. Dalam: Emzymes, Biomass, Food and Feed, 2nd ed. Biotechnology, vol 9. Reed, G. and T.W. Nagodawithana (Ed.).VCH. Weinheim, Germany.
- Marwati, T. (2017). *Penghambatan Pertumbuhan Mikotoksin Memproduksi Jamur oleh Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Biji Kakao Fermentasi (Theobroma cocoa L.) di Indonesia*. Prosiding Konferensi ASEAN Ke 15 Tentang Ilmu dan Teknologi Pangan. Ho Chi Minh, Vietnam.
- Misnawi. (2008). *Physico-Chemical Changes During Cocoa Fermentation and Key Enzymes Involved*. Review Penelitian Kopi dan Kakao. Vol. 24 (1): 47-64.
- Mulato, S. & Widyotomo, S. (2005). *Petunjuk Teknis Pengolahan Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Nielsen, D.S. (2006). *The Microbiology of Ghanaian Cocoa Fermentations*. Denmark: Department of Food Science, Food Microbiology the Royal Veterinary and Agricultural University.
- Oshiro, M., Shinto, H., Tashiro, Y., Miwa, N., Sekiguchi, T., Okamoto, M., Ishizaki, A., & Sonomoto, K., (2009), Kinetic Modeling and Sensitivity Analysis of Xylose Metabolism in *Lactococcus lactis* IO-1. *J. Biosci. Bioeng.*, 108, pp. 376–384.
- Patty, A. L. 2018. Analisis Sifat Fisik Biji Kakao Pada Berbagai Metode Fermentasi Dan Konsentrasi Fermipan. *Jurnal Hutan Pulau-pulau* 3(1).
- Pereira, G.V. d. M., Miguel, M.G. d. C.P., Ramos, C.L., & Schwan, R.F. (2012). *Microbiological and Physicochemical Characterization of Small-scale Cocoa Fermentations and Screening of Yeast and Bacterial Strains to Develop a Defined Starter Culture*. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 5395-5405.
- Powell, B. D. (1984). Chocolate and Cocoa Manufacturers Quality Requirements for Cocoa Beans. *Int Conf. Cocoa & Coconut*.
- Satryadi. (2013). Mempelajari Sifat Fisik dan Fisiko Kimia Buah dan Biji Kakao Hasil Peremajaan Tanaman Kakao (Teknik Sambung Samping) di Kabupaten Luwu Utara. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian UNHAS.
- Schwan, R.F. (1998). Cocoa Fermentations Conducted with a Defined Microbial Cocktail Inoculum. *Jurnal Microbiol* (14): 1477-1483.
- SNI 2323-2008. (2008). *Standar Nasional Indonesia Biji Kakao*. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Suhendi, D., Winarno, H. & Susilo, A.W., (2004). Peningkatan Produksi dan Mutu Hasil Kakao Melalui Penggunaan Klon Unggul Baru. Prosiding Simposium Kakao 2004, Yogyakarta.

- 
- Sunanto, H. (2004). *Cokelat Budidaya, Pengolahan Hasil dan Aspek Ekonominya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Usman, N. A., Suradi, K. & Gumilar, J. (2018). Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* dan *Lactobacillus Casei* Terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayones Probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak*: 18(2):79-85.
- Wahyudi, T., T.R. Panggabean, & Pujiyanto. (2008). *Panduan Lengkap Kakao*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wangge, E.S.A. (2013). Isolasi dan Identifikasi Jamur Penghasil Mikotoksin pada Biji Kakao Kering yang dihasilkan di Flores-Lembata. *Jurnal Agrica*, 6 (1): 23-32.
- Widyotomo S., (2001), Karakteristik Biji Kakao Kering Hasil Pengolahan dengan Metode Fermentasi dalam Karung Plastik. *Pelita Perkebunan*. 17 (2), 72 – 84.
- Winarno, F.G. (2003). *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumsi*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wiwik, K. (2017). Analisis Kadar Asam Asetat dalam Media Limbah Fermentasi Biji Kakao Akibat Penambahan Konsentrasi *Acetobacter Aceti* dan Waktu Inkubasi. *Jurnal Filsafat, Sains, Teknologi, dan Sosial Budaya*: 23.
- Yusianto, H. Winarno, & T. Wahyuni. (1997). Mutu dan Pola Citarasa Beberapa Klon Kakao Lindak. *Jurnal Pelita Perkebunan* 13 (3):171-187.
- Zainudin, B. (2010). Mutu Biji Kakao Hasil Sambung Samping. *Jurnal Media Litbang Sulteng* III (2): 112-118.