

## Perbaikan Proses Fermentasi Biji Kakao Non Fermentasi dengan Penambahan Biakan Murni *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti*

Fermentation Process Improvement of Cocoa Beans with Addition of Non Fermentation Inoculum of *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, and *Acetobacter aceti*

Mulono Apriyanto<sup>1</sup>, S. Sutardi<sup>2</sup>, Eni Harmayani<sup>2</sup>, S. Supriyanto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Indragiri, Jl. Propinsi Parit 1 Tembilahan, Indragiri Hilir Riau, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281, Indonesia  
Email: [pandumulono@gmail.com](mailto:pandumulono@gmail.com)

Submisi: 12 September 2015; Penerimaan: 22 Januari 2016

### ABSTRAK

Sebagian besar biji kakao yang dihasilkan petani Indonesia merupakan kakao kering non-fermentasi yang kualitasnya masih dapat ditingkatkan dengan metode fermentasi, tetapi dibutuhkan optimasi agar fermentasi dapat berjalan dengan baik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian biakan murni murni *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis* dan *Acetobacter aceti* pada fermentasi biji kakao kering jemur. Biji kakao kering jemur diperoleh dengan mengeringkan biji kakao basah (segar) dalam kabinet *dryer*, dan ditentukan kadar gula reduksinya. Percobaan fermentasi biji kakao kering jemur dilakukan dalam kotak fermentasi ( $p = 120$  cm,  $l = 80$  cm,  $t = 40$  cm) yang diberi lubang aerasi berdiameter 1 cm dan jarak antar lubang 10 cm. Biji kakao difermentasi selama 6 hari dan tanpa dibalik selama fermentasi. Perlakuan dalam penelitian ini adalah A1 (tanpa penambahan biakan murni murni (kontrol)), A2 (pemberian biakan murni murni diawal fermentasi), A3 (pemberian biakan murni murni secara bertahap selama fermentasi (*Saccharomyces cerevisiae*)), setelah jam ke 24 diberikan *Lactobacillus lactis* dan setelah jam ke 48 diberikan *Acetobacter aceti*. Setiap perlakuan diulangi tiga kali dan diamati tiap dua hari sekali. Kadar gula reduksi, kadar etanol, kadar asam tertitrasi, populasi khamir, dan bakteri asam asetat dalam *pulp*/cairan fermentasi diamati selama proses fermentasi. Untuk mengetahui kualitas biji kakao kering jemur dilakukan pengukuran pH, indeks fermentasi dan uji belah pada biji kakao kering jemur setelah fermentasi.

**Kata kunci:** *Acetobacter aceti*; biji kakao; fermentasi; *Lactobacillus lactis*; *Saccharomyces cerevisiae*

### ABSTRACT

Most cocoa beans produced by Indonesian farmers are non-fermented dry cocoa whose quality can be improved by the fermentation. However, it requires the optimization for fermentation process. This study was conducted to determine the effect of giving a pure culture of *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis* and *Acetobacter aceti* bacteria in fermented dry cocoa beans. Dry beans obtained by drying the wet (fresh) cocoa beans in the cabinet dryer, and subsequently their levels of reduction sugar were determined. The experiments of the fermentation of dry cocoa beans were conducted in a box ( $p = 120$  cm,  $l = 80$  cm,  $t = 40$  cm) with aeration hole (diameter of 1 cm) and the distance between holes was 10 cm. Cocoa beans were incubated for 6 days and without inverted during fermentation. The studied treatments were A1 (without the addition of inoculum (control)), A2 (inoculum was added at the beginning

of the incubation), A3 (inoculum was added at the beginning of fermentation (*Saccharomyces cerevisiae*). After 24 hours of experiment, *Lactobacillus lactis* was added while *Acetobacter aceti* was added after 48 hours. Each treatment was repeated three times and observed every two days. The levels of reducing sugars, ethanol, acidity, yeasts and acetic acid bacteria population in the fermentation pulp/liquid were observed during the fermentation process. In order to determine the quality of dry beans, several aspects have been measured such as: pH, fermentation index and split test on dry beans after fermentation.

**Keywords:** *Acetobacter aceti*; cocoa beans; fermentation; *Lactobacillus lactis*; *Saccharomyces cerevisiae*

## PENDAHULUAN

Fermentasi kakao pada dasarnya adalah proses perombakan gula dan asam sitrat dalam *pulp* menjadi asam-asam organik yang dilakukan oleh mikrobia pelaku fermentasi (Lopez dan Dimick, 1995; Ardhana dan Fleet, 2003). Asam-asam organik tersebut akan menginduksi reaksi enzimatis yang ada di dalam biji sehingga terjadi perubahan biokimia yang akan membentuk senyawa yang memberi aroma, rasa, dan warna pada kakao (Biehl, 1986; Afoakwa dkk., 2014).

Proses ini dilakukan dengan cara memeras biji kakao pada wadah tertutup selama 5-7 hari dengan disertai pembalikan setiap 2 hari sekali. Tanpa melalui proses fermentasi biji kakao akan terasa pahit, sepat, dan tidak akan menghasilkan aroma khas cokelat ketika diolah menjadi produk coklat seperti bubuk coklat ataupun pasta coklat (Schwan dan Wheal, 2004).

Ada 2 cara penanganan pasca panen biji kakao segar (basah) ditingkat petani yaitu produksi biji kakao kering jemur hasil fermentasi dan biji kakao kering jemur tanpa fermentasi. Menurut Badan Pendataan Statistik (Anonim, 2013) bahwa produksi kakao kering hasil fermentasi pada tahun 2013 mencapai sekitar 5450 kiloton dan biji kakao kering jemur tanpa fermentasi sekitar 385 kiloton. Biji kakao kering jemur tanpa fermentasi terdiri atas biji kakao kering jemur jemur (produksi petani) dan biji kakao kering jemur setengah fermentasi. Sebanyak 93 % kakao Indonesia dihasilkan oleh petani yang mengolah biji kakao hanya dengan pencucian dan pengeringan dengan sinar matahari tanpa melalui proses fermentasi, sedangkan 7 % sisanya dihasilkan oleh sektor perkebunan baik swasta atau nasional dengan proses fermentasi (Yasa, 2004; Biro Humas Deptan, 2010). Proses fermentasi terbagi 3 tahapan (Beckket, 2009) yaitu: (1) Tahap *anaerobic* terjadi pada 24-36 jam pertama. Yeast akan mengkonversi gula menjadi alkohol dalam kondisi rendah oksigen dan pH dibawah 4; (2) Tahap bakteri asam laktat, keberadaannya mulai dari awal fermentasi, tetapi hanya menjadi dominan antara 48 dan 96 jam. Bakteri asam laktat mengkonversi gula dan sebagian asam organik menjadi asam laktat; (3). Tahap bakteri asam asetat, keberadaan bakteri asam asetat juga terjadi selama fermentasi, tetapi menjadi sangat signifikan hingga akhir ketika terjadi peningkatan

aerasi. Bakteri asam asetat berperan dalam mengkonversi alkohol menjadi asam asetat. Konversi tersebut akibat reaksi eksotermik yang sangat kuat yang berperan dalam peningkatan suhu. Pada tahap ini suhu bisa mencapai 50 °C atau lebih tinggi pada sebagian fermentasi.

Biji kakao kering jemur telah kehilangan sebagian besar kandungan air dan substrat yang merupakan syarat mutlak terjadinya fermentasi kakao. Kandungan air selama fermentasi digunakan dalam reaksi enzimatis dalam biji dan pertumbuhan mikrobia di dalam *pulp* (Schwan dan Wheal, 2004). Air akan mempertemukan enzim dengan substrat yang ada di dalam biji sehingga proses hidrolisis dan oksidasi senyawa calon rasa, warna, dan aroma pada kakao dapat terjadi. Kandungan air yang dibutuhkan dalam fermentasi kakao adalah lebih dari 35 %. Substrat adalah bahan yang dirombak oleh mikrobia selama proses fermentasi. Substrat dalam fermentasi biji kakao adalah gula dan asam sitrat yang terkandung dalam *pulp*. Proses fermentasi mikrobia pelaku fermentasi akan merombak *pulp* menjadi asam-asam organik. Asam akan berdifusi masuk ke dalam biji dan menginduksi reaksi enzimatis untuk membentuk senyawa calon rasa, aroma dan warna (Afoakwa dkk., 2014). Pada biji kakao kering jemur terjadi kehilangan air pada *pulp* (kadar air *pulp* biji kakao kering jemur 15 %) sehingga untuk melakukan fermentasi biji kakao kering jemur dilakukan perendaman air terlebih dahulu dengan maksud mengembalikan kadar air *pulp* mendekati kadar air *pulp* biji kakao basah ± 80 %.

Penelitian fermentasi kakao menggunakan biji kakao kering jemur telah berhasil dilakukan di laboratorium Rekayasa PAU, UGM. Penelitian ini ditujukan untuk perbaikan proses fermentasi biji kakao kering jemur melalui penambahan biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti*.

## METODE PENELITIAN

### Biji Kakao Kering Jemur

Biji kakao yang digunakan diambil dari buah kakao masak, yaitu buah yang telah berwarna kuning atau oranye dan mengeluarkan bunyi berongga ketika diketuk. Buah

tanpa dicuci kemudian dibelah untuk dikeluarkan bijinya dan dikeringkan pada lantai penjemuran terdiri atas rak penjemur yang terbuat dari kasa plasful atau paranet lembut dengan bingkai berbahan kayu dan ditempatkan pada tempat penjemuran yang berbahan besi setinggi 1 meter dari lantai di bawah sinar matahari langsung sampai kandungan airnya tersisa  $\pm 15\%$ .

### Analisis Pendahuluan

Analisis pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kadar air dan gula reduksi pada *pulp* dan biji kakao yang hilang selama proses pengeringan. Kadar air biji kakao ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri, sedangkan kadar gula reduksi *pulp* basah, *pulp* kering menggunakan metoda Nelson-Somogy (Sudarmadji dkk., 1997).

### Perbanyakkan Biakan Murni Khamir dan Bakteri

Perbanyakkan biakan murni khamir dan bakteri adalah dengan 2 langkah yaitu; 1). Pemudaan biakan murni murni (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis* dan *Acetobacter aceti*), 2). Penyiapan biakan murni murni.

### Pemudaan (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus latis*, dan *Acetobacter aceti*)

Pemudaan dilakukan mengacu metoda Ardhana dan Fleet (2003). 1 ose biakan murni murni yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) pada agar miring secara aseptis lalu digoreskan pada agar miring media *Potato Glucose Yeast Extract*, kemudian diinokulasi pada suhu kamar selama 48 jam. Selanjutnya bakteri asam laktat (*Lactobacillus lactis*) yaitu 1 ose biakan murni murni pada agar miring secara aseptis lalu digoreskan pada agar miring media MRS browth, kemudian diinokulasi pada suhu kamar selama 48 jam. Pada bakteri asam asetat (*Acetobacter aceti*) adalah 1 ose biakan murni murni pada agar miring secara aseptis selanjutnya digoreskan pada agar miring media *Potato Glucose Yeast Extract* (PGYE), kemudian diinokulasi pada suhu kamar selama 48 jam.

### Penyiapan biakan murni murni

Penyiapan biakan murni murni diawali dengan penyiapan media cair terdiri *Peptone* (7,5 g/L), *Glucose* (20 g/L), *Yeast extract* (4,5 g/L) untuk *Saccharomyces cerevisiae*, *MRS Broth* (52 g/L),  $\text{CaCO}_3$  (10 g/L) untuk *Lactobacillus lactis*, dan *Peptone* (7,5 g/L), *Glucose* (20 g/L), *Yeast extract* (4,5 g/L), Etanol 5 % untuk *Acetobacter aceti*. Setelah media cair disiapkan diambil masing-masing 1 ose biakan murni hasil dari pemudaan *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis* dan *Acetobacter aceti* kemudian difermentasi selama 48 jam pada suhu 37 °C.

### Fermentasi Biji Kakao Kering Jemur

Fermentasi dilakukan dengan meletakkan biji kakao kering jemur dalam kotak fermentasi (diameter 20 cm, tinggi 30 cm) yang dialasi daun pisang dan ditutup dengan plastik. Sebelum digunakan kotak fermentasi, daun pisang dan plastik dicuci sabun antiseptik, dan dibasuh alkohol kadar 70 %. Biji ditimbang sebanyak 12 kg, ditambahkan media cair yang mengandung biakan murni khamir, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat (2 L) secara bertahap sampai terserap semuanya oleh biji kakao. Jumlah biakan murni khamir dan bakteri asam asetat yang ditambahkan ( $10^8$ cfu/g) berdasarkan jumlah biakan murni yang ditambahkan pada fermentasi kakao biasa (Ardhana dan Fleet, 2003), sedangkan jumlah air yang ditambahkan berdasarkan selisih berat biji kakao segar dan biji kakao kering jemur.

Fermentasi yang dilakukan dengan tiga cara yaitu; biji kakao tanpa penambahan biakan murni murni, biji kakao ditambahkan biakan murni murni secara bersamaan dan biji kakao ditambahkan biakan murni murni secara bertahab diawal fermentasi ditambahkan khamir, setelah jam ke-24 ditambahkan bakteri asam laktat kemudian setelah-48 jam ditambahkan bakteri asam asetat.

### Analisis Pemantauan Proses Fermentasi

Kadar asam tertitrisasi ditentukan dengan metode Cutaia (1984), kadar gula reduksi ditentukan dengan metode Nelson-somogy (Sudarmadji dkk., 1997), sedangkan perhitungan jumlah koloni khamir dan bakteri asam asetat dilakukan dengan metode *plate count*. Data dianalisis menggunakan Duncan Multiple Range Test (DMRT).

### Pengeringan Biji Kakao Hasil Fermentasi

Biji dikeringkan di bawah sinar matahari langsung. Penjemuran dilakukan selama 4-5 hari dan selama masa penjemuran biji dibalik dua kali sehari. Penjemuran diakhiri ketika kandungan air biji 15 – 20 % dan nampak biji kakao berwarna coklat atau coklat merah.

### Analisis Biji Kakao Hasil Fermentasi

Penentuan pH biji dengan metode Jinap dan Dimick (1990). Analisis statistik data yang diperoleh dilakukan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perubahan Kandungan Gula Reduksi

Gula reduksi merupakan hasil perombakan pektin, pati, dan sukrosa yang terkandung dalam *pulp* oleh mikrobia selama fermentasi. Pektin dengan bantuan enzim pektinase

dipecah menjadi alkohol dan asam pektinat, kemudian asam pektinat dengan bantuan enzim pektinase dipecah menjadi galaktosa, arabinosa, dan asam asetat. Pati pada plasenta dirombak menjadi gula oleh khamir amilolitik. Sukrosa dari tetes tebu dipecah menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase. Gula reduksi selain berfungsi sebagai bahan baku pembentukan etanol juga berfungsi sebagai senyawa calon rasa dalam biji kakao. Kandungan gula reduksi pada fermentasi biji kakao basah meningkat pada awal fermentasi dan menurun pada pertengahan fermentasi dan tetap stabil hingga akhir masa fermentasi (Lopez dan Dimick, 1995).

Kandungan gula reduksi pada penelitian ini tersaji pada Tabel 1. Kadar gula reduksi dalam penelitian ini diamati setiap 2 hari sekali dan terlihat terjadi peningkatan kandungan gula reduksi disetiap perlakuan sampai pengamatan hari terakhir (enam hari), dan hal ini tidak sejalan dengan penelitian Lopez dan Dimick (1995). Peningkatan kadar gula reduksi dikarenakan saat pengeringan biji kakao basah dengan sinar matahari terjadi kehilangan kadar air sehingga mikrobia pada *pulp* tidak aktif, kemudian setelah dilakukan pengembalian kadar air mikrobia kembali aktif. Hal ini ditunjukkan dengan kadar gula reduksi yang dihasilkan pada perlakuan A1 (tanpa penambahan biakan murni murni) lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lain. Hal ini mengindikasikan bahwa proses fermentasi biji kakao kering jemur dalam penelitian ini berjalan lebih lambat, jika dibandingkan dengan proses fermentasi biji kakao basah seperti yang dilaporkan oleh Lopez dan Dimick (1995) dan proses fermentasinya dapat dikatakan belum berhenti dalam waktu enam hari. Penambahan biakan murni meningkatkan kandungan gula reduksi walaupun secara statistik tidak signifikan karena proses perombakan masih belum maksimum. Jika dilihat pada perlakuan penambahan biakan murni tampak bahwa inokulasi biakan murni meningkatkan kandungan gula reduksi, hal ini diduga karena biakan murni tersebut mendegradasi gula dalam jumlah lebih banyak dibandingkan dengan yang tidak ditambah biakan murni. Hal ini merupakan konsekuensi meningkatkan aktivitas khamir dan dihasilkannya kandungan etanol yang lebih banyak pada perlakuan yang ditambah biakan murni.

Tabel 1. Kandungan gula reduksi biji kakao kering jemur (%)

Perlakuan	Pengamatan ke-		
	1	2	3
A1	2,49 <sup>ab</sup>	3,41 <sup>ab</sup>	4,72 <sup>ab</sup>
A2	4,71 <sup>a</sup>	4,49 <sup>ab</sup>	6,57 <sup>b</sup>
A3	6,57 <sup>a</sup>	7,85 <sup>b</sup>	9,23 <sup>b</sup>

Keterangan : huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha < 5\%$ )

### Perubahan Kandungan Etanol

Gula didalam *pulp* merupakan substrat yang dapat dirombak menjadi etanol, sedangkan inokulasi khamir meningkatkan jumlah mikrobia yang bekerja merombak gula menjadi etanol. Peningkatan proses fermentasi yang terjadi akibat inokulasi mikroorganisme banyak dilaporkan pada beberapa penelitian. Schwan (1998) pada penelitiannya melaporkan penambahan biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* dan beberapa biakan murni bakteri lain dapat meningkatkan kinerja fermentasi biji kakao. Pada penelitian ini (Tabel 2) tampak bahwa penambahan biakan murni meningkatkan aktivitas khamir.

Tabel 2. Kandungan etanol dalam cairan fermentasi (%)

Perlakuan	Pengamatan ke-		
	1	2	3
A1	0,39 <sup>abc</sup>	0,38 <sup>abc</sup>	0,25 <sup>c</sup>
A2	0,78 <sup>a</sup>	0,75 <sup>abc</sup>	0,43 <sup>abc</sup>
A3	0,66 <sup>ab</sup>	0,54 <sup>abc</sup>	0,39 <sup>bc</sup>

Keterangan: huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha < 5\%$ )

Indikasi peningkatan aktivitas khamir tampak dari meningkatnya kandungan etanol, tetapi tidak disertai dengan peningkatan populasi khamir. Hal ini disebabkan karena pada keadaan anaerob, (Lehrian dan Patterson, 1983). Sumber karbon sebagai sumber energi tidak digunakan untuk pertumbuhan melainkan untuk pembentukan etanol.

### Perubahan Kandungan Asam

Ketika fase anaerob dalam proses fermentasi kakao mulai terhenti, suksesi mikrobia akan dilanjutkan oleh bakteri asam asetat yang akan mengubah etanol menjadi asam asetat (Biehl, 1986; Lopes dan Dimick, 1995; Beckket, 2009). Kandungan asam dalam biji kakao hasil fermentasi merupakan indikasi kualitas biji kakao kering jemur. Semakin asam biji kakao kering jemur hasil fermentasi menunjukkan semakin rendah mutu biji kakao tersebut. Pengujian kandungan asam pada penelitian ini menggunakan analisis asam tertitrasi. Data asam tertitrasi diasumsikan sebagai asam asetat. Hasil analisis asam tertitrasi selama proses fermentasi pada penelitian ini disajikan pada Tabel 3.

Schwan dan Wheal (2004) menjelaskan bahwa ditahap bakteri asam laktat menghasilkan etanol dan asam laktat, etanol dirombak oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat dan asam-asam organik. Pada dinamika pembentukan etanol, terjadi pula dinamika pembentukan asam mengikuti pola yang sama. Hal ini karena asam yang terbentuk terutama berasal dari oksidasi etanol menjadi asam asetat. Dari Tabel 3

Tabel 3. Kandungan asam tertitrasi dalam cairan fermentasi (%)

Perlakuan	Pengamatan ke-		
	1	2	3
A1	2,33 <sup>de</sup>	2,88 <sup>a</sup>	1,42 <sup>f</sup>
A2	2,52 <sup>bcde</sup>	3,19 <sup>abc</sup>	1,86 <sup>ef</sup>
A3	2,74 <sup>abc</sup>	3,16 <sup>ab</sup>	1,35 <sup>f</sup>

Keterangan: huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ( $\alpha < 5\%$ )

terlihat bahwa penambahan biakan murni murni menunjukkan peningkatan jumlah asam tertitrasi diawal fermentasi, hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi perombakan gula oleh yeast menjadi etanol sehingga meningkatkan kandungan asam pada biji kakao. Sejalan dengan lama fermentasi terjadi peningkatan di hari ke-3 yang menunjukkan bahwa peran perombakan gula menjadi etanol dilakukan oleh bakteri asam laktat juga berjalan baik, sehingga kandungan etanol dalam biji kakao meningkat kemudian menurun kandungan asam tertitrasinya hingga akhir fermentasi. Hal ini dikarenakan telah terjadi perombakan etanol menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat dan asam asetat mengalami penguapan. Temuan ini sejalan dengan pernyataan Schwan dan Wheal (2004) bahwa selama fermentasi gula dirombak menjadi etanol dan kemudian etanol dirombak menjadi asam asetat. Diakhir fermentasi pada perlakuan A3 kandungan asam tertitrasi lebih rendah dibandingkan pada perlakuan yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan biakan murni secara bertahap dapat menurunkan kandungan asam pada biji kakao kering jemur hasil fermentasi. Penambahan biakan mengakibatkan jumlah mikrobia fermentasi bertambah, sehingga semakin banyak etanol yang dihasilkan dan terdegradasi menjadi asam asetat dan kandungan asam tertitrasi menurun diakhir fermentasi.

**Kualitas Biji Hasil Fermentasi**

Kualitas biji kakao hasil fermentasi ditentukan terutama oleh keasaman (pH) Pengolahan kakao menghendaki pH biji antara 5,2-5,8 untuk menghasilkan *cocoa butter* yang berkualitas (Wood dan Lass, 2001). Pada awal 24 jam fermentasi khamir mendominasi fermentasi yang akan merombak komponen gula di dalam *pulp*, sehingga pada penelitian ini penambahan biakan murni murni yang mengandung *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus latis*, dan *Acetobacter aceti* juga menunjukkan peningkatan kandungan asam pada hari ke-1 fermentasi. Keadaan ini juga diikuti oleh nilai pH yang rendah pada hari ke-1. Tetapi pada hari berikutnya kandungan asam menurun signifikan pada fermentasi dengan fungsi dan peran bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat.

Tabel 4. Derajat keasaman (pH) biji

Perlakuan	Pengamatan ke		
	1	2	3
A1	5,9 <sup>ab</sup>	5,5 <sup>ab</sup>	5,6 <sup>b</sup>
A2	5,7 <sup>b</sup>	5,0 <sup>a</sup>	5,4 <sup>ab</sup>
A3	5,8 <sup>a</sup>	5,3 <sup>a</sup>	5,4 <sup>a</sup>

Keterangan: huruf dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata  $\alpha < 5\%$

Dalam penelitian ini penambahan biakan murni murni baik biakan murni murni campuran yang ditambahkan pada awal fermentasi maupun biakan murni murni yang ditambahkan secara bertahap menunjukkan hasil bahwa penambahan biakan murni murni menyebabkan meningkatnya kandungan asam. Data pengamatan pH biji hasil fermentasi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan bahwa pH biji kakao hasil fermentasi yang diperlakukan dengan penambahan biakan murni telah memenuhi standar yaitu berkisar antara 5,3-5,6. Pada proses fermentasi kakao, nilai pH dan total asam sangat berkaitan dengan proses kematian biji yang diikuti oleh difusi asam ke dalam biji dan reaksi kimia yang mempengaruhi kualitas biji kakao.

**KESIMPULAN**

Pengembalian kadar air biji kakao kering jemur sebelum fermentasi mempengaruhi perubahan kimiawi substrat selama fermentasi karena perubahan mikrobia di dalamnya. Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti* sebagai mikrobia pemfermentasi, dalam fermentasi biji kakao kering jemur dapat memperbaiki proses biokimia yang terjadi, sehingga mampu memperbaiki kualitas biji terfermentasi yang dihasilkan walaupun belum memenuhi standar SNI. Penambahan dengan biakan murni murni campuran pada awal fermentasi mempercepat proses fermentasi pulp kematian biji dan kenaikan suhu dini dan mengakibatkan fermentasi kurang sempurna. Penambahan biakan murni murni secara bertahap mempercepat proses fermentasi serta peran mikrobia dalam fermentasi dapat dikendalikan sesuai dengan sukseksi mikrobia sehingga peningkatan suhu juga tidak secepat pada penambahan biakan murni campuran diawal.

**DAFTAR PUSTAKA**

Afoakwa, E.O., Budu, A.S., Mensah-brown, H. dan Felix, J. (2014). Changes in biochemical and physico-chemical qualities during drying of pulp preconditioned and

- fermented cocoa (*Theobroma cacao*) Beans. *Journal of Nutritional Health and Food Science* **2**: 1-8.
- Anonim (2013). Produksi Perkebunan Besar menurut Jenis Tanaman, Indonesia. [Http://www.bps.go.id](http://www.bps.go.id). [29 Maret 2014].
- Ardhana, M.M. dan Fleet, G.H. (2003). The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology* **86**: 87-99.
- Beckett S.T. (2009). *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. 4<sup>th</sup>, Wiley-Blackwell, United Kingdom.
- Biehl, B. (1986). Cocoa fermentation and problem of acidity, over fermentation and low cocoa flavour. *Dalam: Pusparajah, E. dan Chew, P.S. (Eds). Cocoa Fermentation: Progress and Outlook*. hal 120-125. Incomp.Soc. and Planter Kuala Lumpur.
- Biro Humas Deptan (2010). Pencanangan Gerakan Nasional Fermentasi kakao untuk Mendukung Industri dalam Negeri. [www.deptan.go.id](http://www.deptan.go.id). [1 September 2010].
- Cutaia, A.J. (1984). Beverages: malt beverages and brewing material. *Dalam: William S. (Ed). Official Methods of Analysis Chemist*. 14<sup>th</sup>. Edition. hal 76-80. Association of Analytical of Analytical Chemist, Inc. M.D.
- Friend, B.A. dan Shahani. K.M (1981). Fuel alcohol production from waste materials. *International Fuels from Biomass* **3**: 343-355.
- Hapsari, A.P, Amiwaha, Y.P. dan Rini G.S.P. (2007). *Pengaruh Pemberian Biakan Murni Murni dengan Variasi Perbandingan Komposisi Mikroorganisme dalam Proses Fermentasi terhadap Kualitas Biji Kakao Terfermentasi*. Laporan Pekan Kreativitas Mahasiswa. Jurusan Biologi. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Haryadi dan Supriyanto (1991). *Pengolahan Kakao Menjadi Bahan Pangan*. Proyek Peningkatan Perguruan Tinggi. Univesitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Jinap, S. dan Dimick P.S. (1990). Acidic characteristic of fermented and dried cocoa beans from different countries and origin. *Journal Food Science* **55**: 547-550.
- Lehrian, D.W. dan Patterson, G.R. (1983). Cocoa fermentation. *Dalam: Rehm, H.J. dan Reed G. (Eds.) Biotechnology*. Vol 5, Verlag Chemist GmbH, Weinheim, Germany.
- Lopez, A.S. dan Dimick P.S. (1995). Cocoa Fermentation. *Dalam: Reed, G. and Nagodawithana T.W (Ed.). Enzymes, Biomass, Food and Feed*, 2<sup>nd</sup> ed. Biotechnology, Vol 9. VCH. Weinheim, Germany.
- Palupi, D.W., Nusaputri A.R. dan Rini G.S.P. (2007). *Pengembangan Teknologi untuk Fermentasi Biji Kakao Kering Jemur*. Laporan Grant karya Inovasi.
- Schwan, R.F. (1998). Cocoa fermentations conducted with a defined microbial cocktail inoculum. *American Society for Microbiology* **64**: 1477-1483.
- Schwan, R.F. dan Wheals, A.E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Review in food science and Nutrition* **4**: 205-221.
- Sudarmadji, S., Bambang, H. dan Suhardi (1997). *Prosedur Analisa Bahan Pangan*, liberty Press, Yogyakarta.
- Thompson, S.S., Miller K.B. dan Lopez A.S. (2000). Cocoa and Coffee. *Dalam: Doyle M.P., Beuchat L.R. and Montville, T.J., Ed. Washington. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2<sup>nd</sup> ed, hal 721-733, American Society Microbiology Press.
- Wood, G.A.R. dan Lass R.A. (2001). *Cocoa*. 4<sup>th</sup> ed. Longman, London.
- Yasa, I.W. (2004). *Indonesian Cocoa Beans: Current Situation*. Indonesian Cocoa Farmer Association. Indonesian Cocoa Board (ICB).