



Peningkatan mutu kakao melalui fermentasi menggunakan *starter* kering bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat *indigenous* kakao aceh

Yusya Abubakar, Murna Muzaifa*, Heru Prono Widayat, Martunis, Ria Safitri

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

Article history

Diterima:

17 Mei 2021

Diperbaiki:

7 Juni 2021

Disetujui:

23 Juli 2021

Keyword

Aceh;

Bacteria;

Cacao;

Fermentation;

Starter

ABSTRACT

Indonesia is one of the cocoa producing countries in the world. Although the amount of cocoa production and planted area has increased, the quality of cocoa beans in Indonesia including Aceh is still low. This happened because the farmers did not carry out the fermentation process. Fermentation is one of the most important steps that must be taken to improve cocoa quality. However, it is rarely done because it takes a long time. The purpose of this study was to analyze the use of starter bacteria lactic acid (LAB) and acetic acid (BAA) indigenous Aceh cocoa in fermenting Aceh cocoa. The research was conducted by fermenting cocoa with two different factors, namely the type of starter (control, LAB, BAA, LAB-BAA mixture) and fermentation time (3.4 and 5 days). The results showed that the use of Acehnese cocoa indigenus bacteria starter and different fermentation time had an effect on fermentation conditions and the quality of fermented cocoa beans. Fermentation of cocoa beans with the addition of a dry starter affects the pH value and the percentage of fermented cocoa beans. The best treatment was obtained when using LAB starter with fermentation time of 4 days, with the same fermented quality of cocoa beans with fermentation using LAB and BAA for 5 days of fermentation. Further research is needed to confirm the quality of fermented cocoa beans produced by analyzing volatile chemical components and flavors.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespodensi

Email : murnamuzaifa@unsyiah.ac.id

DOI 10.21107/agrointek.v16i1.10637

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan tanaman tropis yang berasal dari hutan tropis di Amerika Selatan. Indonesia menempati posisi ketiga sebagai negara produsen kakao dunia setelah Pantai Gading dan Ghana. Luas areal tanaman kakao di Indonesia tahun 2016 adalah 1.701.351 Ha dan total produksi biji kakao kering sebanyak 656.817 ton (Hariyati, 2018). Sentra kakao Indonesia tersebar di beberapa daerah. Secara nasional pulau Sulawesi merupakan produsen utama kakao, diikuti pulau Sumatera. Adapun di Pulau Sumatera, Aceh merupakan salah satu provinsi penghasil kakao yang tersebar di beberapa kabupaten seperti kabupaten Aceh Tenggara, Aceh Timur, Pidie Jaya, Pidie dan beberapa kabupaten lainnya. Luas areal kakao di Aceh mencapai 99.874 Ha dengan total produksi sebesar 41.085 ton (Ditjenbun, 2021).

Walaupun jumlah produksi dan areal tanam kakao meningkat namun kualitas biji kakao di Indonesia termasuk Aceh masih rendah. Kakao yang berkualitas rendah memiliki citarasa kakao yang lemah, bau yang abnormal, kadar air yang melebihi standar, tingginya jumlah biji pejal, berjamur, berkecambah dan berserangga. Fermentasi kakao merupakan hal penting yang dilakukan untuk meningkatkan kualitas kakao. Selama fermentasi mikroorganisme akan berperan dalam pembentukan *flavor* biji kakao (Ardhana dan Fleet, 2003; Camu *et al.*, 2008; Arifandi, 2009).

Namun fermentasi jarang dilakukan karena membutuhkan waktu yang cukup lama. Hayati (2017) menyebutkan fermentasi yang dilakukan oleh petani kakao di provinsi Aceh selama ini biasanya hanya dengan menyimpan biji kakao dalam karung plastik selama 1 sampai 2 hari. Selanjutnya biji langsung dijemur selama 2-3 hari setelah itu biji siap dijual. Widyotomo dan Sri-Mulato (2008) menyebutkan bahwa fermentasi yang dilakukan petani selama 2 - 3 hari sebelum dijual ke pedagang pengumpul bukanlah fermentasi dalam arti yang sesungguhnya. Proses tersebut hanyalah pseudo fermentasi yang tidak memberikan andil dalam perbaikan mutu dimana kondisi ini menunjukkan bahwa petani kakao Indonesia masih belum memahami dengan baik proses fermentasi yang benar. Beberapa hal penyebab petani enggan melakukan fermentasi, diantaranya karena fermentasi membutuhkan

waktu yang relatif lama serta didorong oleh kebutuhan ekonomi.

Fermentasi kakao secara umum berlangsung selama 5-7 hari namun demikian waktu fermentasi dapat dipercepat dengan cara memanfaatkan aktivitas mikroorganisme terpilih sebagai kultur starter dalam bentuk ragi. Yanti *et al.* (2014) menggunakan ragi mikroba yang diperoleh dari hasil isolasi fermentasi kakao di Sulawesi Tenggara. Ragi tersebut ditambahkan sebanyak 1% pada fermentasi kakao skala laboratorium. Dari hasil penelitian diketahui bahwa fermentasi dengan inokulum mikrobial lokal mampu mempercepat proses fermentasi serta mengurangi jumlah biji yang tidak terfermentasi. Biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikrobial lokal memenuhi syarat mutu kakao yang ditetapkan oleh SNI 2323:2010.

Maulina (2016) telah melakukan pembuatan inokulum mikroba yang diisolasi dari kakao Aceh dalam bentuk starter kering berupa isolat bakteri asam laktat (BAL) *Lactobacillus coryniformis* dan isolat bakteri asam asetat (BAA) *Gluconobacter sp.* Pembuatan dan penggunaan starter kering merupakan cara yang praktis dan efektif untuk dimanfaatkan oleh petani jika dibandingkan dengan starter cair. Menurut Ray (2004), starter kering memiliki beberapa keunggulan seperti lebih mudah dalam proses pembuatan, mengurangi beban kerja saat pemeliharaan, lebih tahan lama dan proses distribusinya lebih mudah. Starter kering lebih mudah untuk diaplikasikan sehingga fermentasi lebih terkontrol dan kualitas lebih terjamin dan dapat memperkecil terjadinya kontaminasi pada proses fermentasi. Sementara starter cair harus diremajakan atau ditumbuhkan kembali dalam medium segar dengan lama waktu tertentu sehingga dinilai tidak efisien. Belum diketahui bagaimana kemampuan isolat kering bakteri (BAA dan BAL) yang telah diproduksi Maulina (2016) dalam memfermentasi kakao Aceh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan starter kering BAL, BAA dan campuran BAL-BAA terhadap kualitas kakao Aceh.

METODE

Bahan dan Alat

Penelitian ini menggunakan kakao dari petani di Kabupaten Pidie Jaya, Aceh. Biakan murni yang digunakan sebagai kultur untuk pembuatan starter kering berupa BAL

(*Lactobacillus coryniformis*), BAA (*Gluconobacter* sp.) dan Campuran BAL-BAA yang diperbanyak dari hasil penelitian Maulina (2016). Media yang digunakan untuk isolasi BAA adalah *Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate* (GYC), media *Nutrient Agar* (NA) untuk isolasi campuran BAL-BAA dan *de Man Ragosa Sharpe Agar* (MRSA) untuk isolasi BAL, D-glukosa, *yeast extract* agar, CaCO₃, agar, pektin, susu skim, etanol, pepton dan tepung beras sebagai bahan pengisi starter. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah asam sulfat dan senyawa *anthrone*. Semua media tumbuh dan bahan-bahan kimia yang digunakan diproduksi oleh Merck, Jerman. Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain wadah fermentasi berupa kotak kayu, daun pisang, terpal, timbangan analitik (Shimadzu), tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, gelas beker, gelas ukur, saringan kaca (Eyela), kapas, bunsen, lemari es, sarung tangan, masker, kertas label, pH meter (Lamotte), oven (Eyela), erlenmeyer, *thermometer*, *ose*, *spreader*, *petridish* (Iwaki), *autoclave* (Eyela), *plastic wrap*, *laminar flow cabinet* (Eyela), *incubator*, *Quebec colony counter* (Suntex), aluminium foil, UV-Vis *Spectrophotometer* (Shimadzu), gunting, karton dan seperangkat alat-alat gelas.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari 2 (dua) faktor. Faktor pertama adalah jenis starter (J) yang terdiri dari empat taraf dan lama fermentasi (L) yang terdiri dari lima taraf. Secara lengkap perlakuan penelitian beserta taraf yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Penambahan starter secara bersamaan dilakukan setelah 24 jam fermentasi (hari ke-1). Setiap unit perlakuan menggunakan 2 (dua) ulangan.

Prosedur Penelitian

Peremajaan Isolat Bakteri (Sutrisna dan Nurdjanah, 2013)

Isolat BAL dilakukan pada media MRSA sebanyak 6,82 % dan 200 ml akuades. Sementara isolat BAA dilakukan pada media GYC dengan komposisi D-Glukosa sebanyak 5 %, agar 2 %, *yeast extract agar* 1 %, CaCO₃ 0,5 % dan akuades 100 ml. Selanjutnya kultur bakteri diambil secara aseptik menggunakan *ose* dan digoreskan di atas media membentuk empat kuadran garis. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam.

Tabel 1 Perlakuan Penelitian

Jenis Starter (J)	Ulangan	Lama Fermentasi (L)				
		L1 (1 hari)	L2 (2 hari)	L3 (3 hari)	L4 (4 hari)	L5 (5 hari)
J1 (kontrol)	U1	J1U1L1	J1U1L2	J1U1L3	J1U1L4	J1U1L5
	U2	J1U2L1	J1U2L2	J1U2L3	J1U2L4	J1U2L5
J2 (BAL)	U1	J2U1L1	J2U1L2	J2U1L3	J2U1L4	J2U1L5
	U2	J2U2L1	J2U2L2	J2U2L3	J2U2L4	J2U2L5
J3 (BAA)	U1	J3U1L1	J3U1L2	J3U1L3	J3U1L4	J3U1L5
	U2	J3U2L1	J3U2L2	J3U2L3	J3U2L4	J3U2L5
J4 (BAL –BAA)	U1	J4U1L1	J4U1L2	J4U1L3	J4U1L4	J4U1L5
	U2	J4U2L1	J4U2L2	J4U2L3	J4U2L4	J4U2L5

Keterangan: BAL: bakteri asam laktat, BAA: bakteri asam asetat

Pembuatan Kultur Starter Kering (Maulina 2016)

Kultur murni isolat bakteri yang diremajakan dalam medium agar, diambil 1 ose kemudian diinokulasikan ke media cair larutan 100 ml susu skim 10 % yang telah disterilisasi dan didinginkan pada suhu ruang (25-27 °C). Selanjutnya kultur ini diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Selanjutnya kultur diperbanyak menjadi kultur kerja. Starter kering dibuat menggunakan media larutan susu skim yaitu dengan membuat 250 ml larutan susu skim 10 % kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Kultur kerja dibuat menggunakan media tumbuh larutan susu skim yaitu dengan membuat 250 ml larutan susu skim 10 % kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian kultur kerja starter sebanyak 2 % diinokulasikan ke dalam larutan susu skim, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30 °C. Selanjutnya secara aseptis dilakukan penambahan tepung beras sebanyak 80 % sebagai bahan pengisi ke dalam kultur. Selanjutnya starter dikeringkan di bawah sinar matahari selama 48 jam dengan ketebalan starter ± 0,5 cm.

Fermentasi Biji Kakao dengan Starter Kering (Modifikasi Satria, 2016)

Buah kakao berumur ± 6 bulan dipetik oleh petani, dibelah dengan pisau atau dengan cara memukulkan antara buah yang satu dengan buah lainnya. Biji kakao basah sebanyak ± 40 kg dimasukkan ke dalam kotak fermentasi (kotak kayu) yang telah dilapisi dengan daun pisang. Starter dihaluskan hingga homogen dan ditimbang sebanyak 0,2 % dari jumlah kakao yang akan difermentasi. Dilakukan pengadukan sampai merata kemudian permukaan kakao ditutupi dengan daun pisang. Fermentasi dilakukan selama 5 hari. Setiap 24 jam dilakukan pengadukan dan pengambilan sampel untuk kebutuhan analisis.

Biji yang telah difermentasi selama 3, 4 dan 5 hari, dijemur terpisah sesuai perlakuan di bawah sinar matahari selama ± 5 hari.

Analisis Kondisi Fermentasi dan Mutu Biji Kakao Terfermentasi

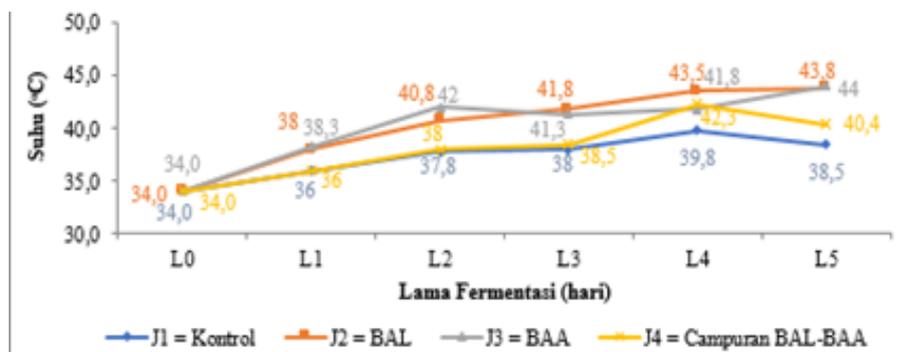
Analisis dilakukan terhadap perubahan suhu, pH, kadar gula dan total bakteri selama fermentasi (kondisi fermentasi). Analisis suhu dilakukan dengan menggunakan termometer, analisis pH dilakukan dengan menggunakan pH meter (AOAC 2000), analisis kadar gula dilakukan dengan metode Anthrone (Apriyantono *et al.*, 1998). Sedangkan total bakteri dihitung dengan menghitung jumlah koloni pada setiap media dengan *colony counter* (Ardhana dan Fleet, 2003). Selain itu juga dilakukan analisis mutu fisiokimia dan uji belah terhadap biji kopi terfermentasi (Mulato, 2005).

Analisis Data

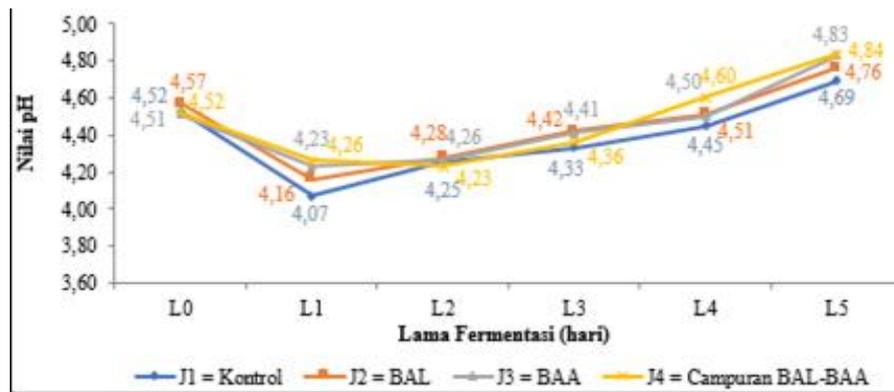
Analisis data dilakukan secara statistik menggunakan ANOVA (*Analysis of variance*). Perlakuan yang menunjukkan pengaruh terhadap parameter yang diuji diuji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**HASIL DAN PEMBAHASAN
Perubahan Kondisi Selama Fermentasi
Perubahan Suhu**

Hasil pengukuran suhu kakao fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1. Secara umum terlihat bahwa terjadi peningkatan suhu selama fermentasi. Hal ini merupakan indikasi dihasilkannya panas selama fermentasi tersebut. Panas merupakan hasil oksidasi senyawa gula di dalam pulp karena aktivitas mikroba sehingga terjadi pelepasan kalor. Pengukuran suhu menjadi hal yang penting dalam fermentasi kakao karena adanya perubahan suhu menunjukkan adanya reaksi dan aktivitas mikroorganisme di dalamnya.



Gambar 1 Perubahan Suhu Selama Fermentasi Kakao



Gambar 2 Perubahan pH Selama Fermentasi Kakao

Peningkatan suhu selama fermentasi biji kakao disebabkan oleh reaksi eksotermis karena proses penguraian gula pulp menjadi etanol oleh khamir. Secara singkat, glukosa ($C_6H_{12}O_6$) yang merupakan gula paling sederhana, melalui fermentasi akan menghasilkan etanol. Oksidasi gula menjadi etanol dilakukan oleh khamir, sedangkan fermentasi gula menjadi asam laktat dilakukan oleh BAL yang berperan terhadap kenaikan keasaman, suhu serta kematian biji (Moens *et al.*, 2014).

Suhu ideal proses fermentasi adalah 45 °C (Zulfibriyansah dan Suryani, 2007). Volume kakao yang difermentasi, proses atau frekuensi pengadukan dan aerasi, serta variasi kandungan komponen dalam substrat ikut memengaruhi perubahan suhu (Senanayake *et al.*, 1996). Untuk mencapai suhu 45 °C diperlukan ketebalan biji tertentu. Apabila ketebalan lebih dari 40 cm menyebabkan suhu bagian tengah terlalu tinggi, karena aerasi udara kurang sehingga kegiatan mikroorganisme terganggu (Poedjiwidodo, 1996).

Rerata suhu tertinggi yang diperoleh sebesar 44 °C yang terjadi pada hari kelima fermentasi dengan penambahan starter jenis BAA. Mulato *et al.* (2005) melaporkan bahwa berat biji kakao basah jenis lindak untuk proses fermentasi sebaiknya tidak kurang dari 40 kg dan ketebalan pemeraman 40 cm. Hal ini terkait dengan kemampuan untuk menghasilkan panas yang cukup agar proses fermentasi berjalan dengan baik. Jadi semakin banyak biji yang difermentasi, maka potensi produksi panas juga semakin besar. Lebih lanjut Sulistyowati dan Soenaryo (1988) melaporkan bahwa fermentasi dinilai berhasil apabila pernah mencapai suhu 44 °C paling tidak selama 6 jam.

Selama fermentasi kakao, tahap akhir anaerobik terjadi dimana khamir memfermentasi gula-gula menjadi etanol sementara fermentasi secara mikroaerofilik terjadi dimana BAL mengurai gula dan asam sitrat menjadi asam laktat, malat, serta juga dihasilkan manitol. Selanjutnya BAL digantikan oleh BAA yang bertanggung jawab atas oksidasi etanol menjadi asam asetat. Reaksi pemecahan etanol menjadi asam laktat dan asetat merupakan reaksi eksotermis (reaksi yang mengeluarkan energi panas), sehingga reaksinya dapat meningkatkan temperatur fermentasi sampai 50 °C dan merusakkan struktur internal biji, sehingga terjadi pembentukan prekursor citarasa dan degradasi pigmen oleh enzim indogenous misalnya *invertase*, *glycosidase*, *protease* *anpolyphenol oxidase* (Misnawi *et al.*, 2003).

Perubahan pH

Hasil pengukuran pH pulp selama fermentasi kakao disajikan pada Gambar 2. Rerata pH pulp kakao pada hari 0 adalah 4,51-4,57. Setelah fermentasi berjalan selama 24 jam (hari ke-1) terjadi penurunan pH. Namun pH kembali meningkat pada hari kedua hingga hari kelima fermentasi. Semakin lama fermentasi berjalan, menyebabkan kondisi fermentasi semakin basa. Hal ini diduga disebabkan adanya pertumbuhan mikroorganisme lain. Thompson *et al.* (2001) menjelaskan bahwa pertumbuhan *Bacillus spp* berkaitan dengan peningkatan suhu, pH dan aerasi dalam fermentasi kakao. Peningkatan pH ini juga dapat disebabkan adanya evaporasi asam-asam organik volatil yang dihasilkan sebelumnya (Nielsen, 2001).

Pada awal fermentasi, penurunan pH sangat penting untuk mengaktifkan berbagai enzim indogenous yang dibutuhkan bagi pembentukan

prekursor cita rasa coklat (De Vuyst *et al.*, 2010; Voigt dan Lieberei, 2015). Penurunan pH selama fermentasi sejalan dengan peningkatan temperatur hingga 50 °C, kerusakan struktur biji yang memfasilitasi perkembangan prekursor cita rasa dan degradasi pigmen oleh enzim endogenous. Kemudian pH kembali meningkat yang menyebabkan kondisi fermentasi semakin basa yang mendorong tumbuhnya bakteri pemecah etanol (BAA). Penguraian etanol menjadi asam-asam organik terus dilakukan dan difusi asam organik ke dalam biji juga terus terjadi. Hal ini menyebabkan kondisi (pH) fermentasi semakin basa (Camu *et al.*, 2008).

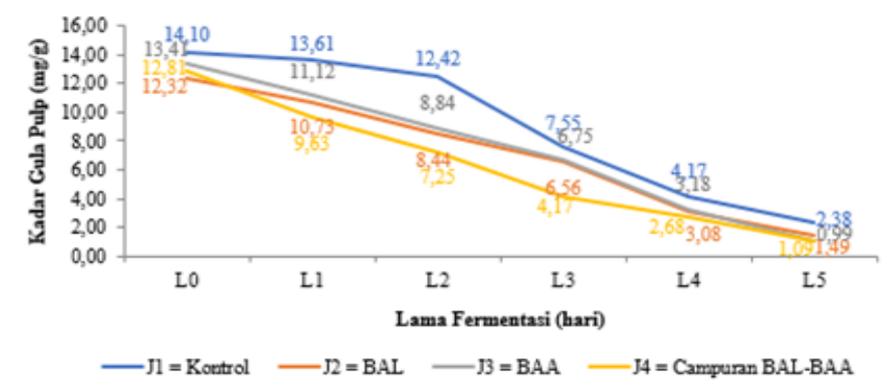
Produksi asam asetat umumnya berasal dari oksidasi etanol oleh BAA (Schwan dan Wheals, 2004; De Vuyst *et al.*, 2010; Thompson *et al.*, 2013). Produksi asam-asam organik selama fermentasi kakao berperan penting bagi proses fermentasi dan kualitas coklat yang dihasilkan. Asam utama yang dihasilkan selama fermentasi kakao seperti asam sitrat, asetat dan laktat. Asam sitrat terdapat secara alami di dalam pulp dan nib biji kakao, namun asam laktat dan asam asetat merupakan produk dari aktivitas mikroba pelaku fermentasi. Penurunan pH sangat penting untuk mengaktifkan berbagai enzim endogenous yang dibutuhkan bagi pembentukan prekursor cita rasa dan mendegradasi pigmen biji (De Vuyst *et al.*, 2010; Thompson *et al.*, 2013; Voigt dan Lieberei, 2015). Enzim yang mendegradasi pigmen biji dan pembentukan prekursor cita rasa kakao antara lain *endoprotease*, *aminopeptidase*, *carboxypeptidase*, *invertase*, *polyfenoloxidase* dan *glycosidase* (Hansen *et al.*, 1998).

Perubahan Kadar Gula

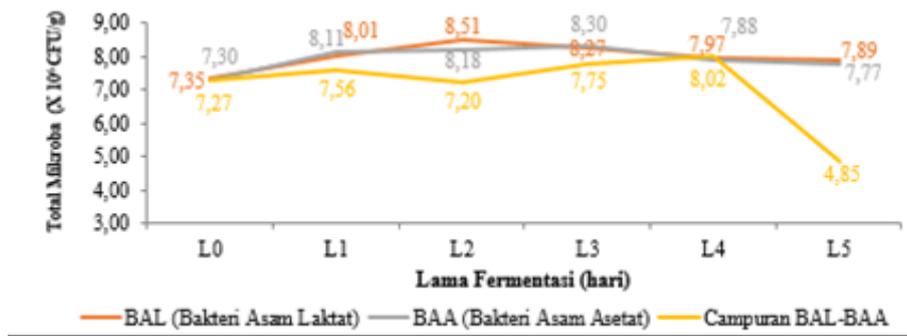
Perubahan kadar gula kakao selama fermentasi disajikan pada Gambar 3. Penurunan kadar gula terjadi sejak awal fermentasi pada semua perlakuan hingga fermentasi hari ke 5. Degradasi gula terjadi karena mikroorganisme memanfaatkan gula sebagai substrat untuk nutrien dan sumber energi. Substrat adalah bahan yang dirombak oleh mikroorganisme selama proses fermentasi. Pada fermentasi biji kakao, substratnya adalah gula dan asam sitrat pada pulp yang akan dirombak menjadi asam-asam organik. Asam akan berdifusi masuk ke dalam biji dan menginduksi reaksi enzimatik untuk membentuk senyawa calon rasa, aroma dan warna (Afoakwa *et al.*, 2013).

Gambar 3 memperlihatkan bahwa perlakuan fermentasi dengan menggunakan starter (J1-J4) mengalami penurunan yang signifikan sejak awal fermentasi dibandingkan perlakuan alami

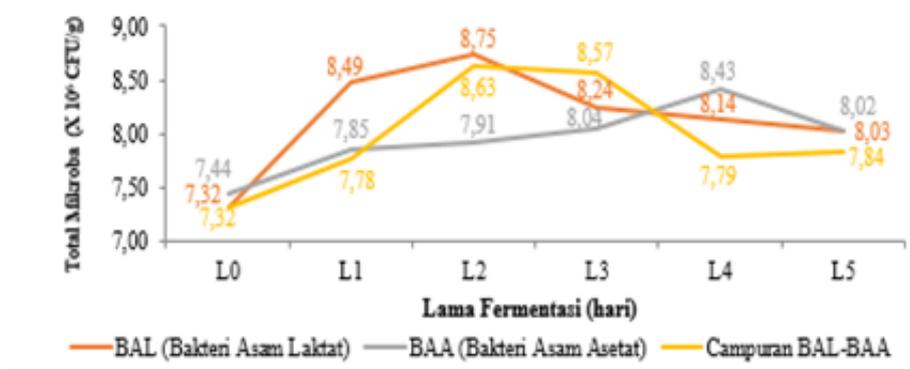
Berdasarkan Gambar 3 terlihat bahwa penurunan kadar gula pada awal fermentasi dengan menggunakan starter (J1-J4) secara keseluruhan lebih cepat (tinggi) dibandingkan fermentasi tanpa penambahan starter/kontrol (Jo). Hal ini disebabkan adanya jumlah dan aktivitas mikroorganisme yang lebih tinggi dengan penambahan starter. Hasil ini sejalan dengan Apriyanto *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa fermentasi kakao dengan penambahan starter biakan murni menghasilkan penurunan kadar gula reduksi yang lebih tinggi.



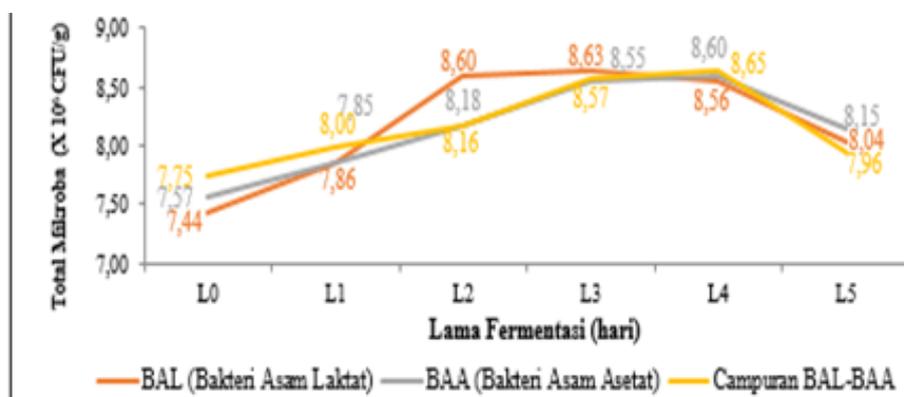
Gambar 3 Perubahan Kadar Gula Selama Fermentasi Kakao



Gambar 4 Total Mikroba Selama Fermentasi Pada Perlakuan Kontrol (J1)



Gambar 5 Total Mikroba Selama Fermentasi Pada Perlakuan Penambahan Starter Jenis BAL (J2)



Gambar 6 Total Mikroba Selama Fermentasi Pada Perlakuan Penambahan Starter Jenis BAA (J3)

Perubahan Total Mikroorganisme

Hasil analisis total mikroorganisme selama fermentasi kakao tanpa penambahan starter disajikan pada Gambar 4.

Pada awal fermentasi, total bakteri relatif tidak berbeda. Mikroorganisme jenis BAL $7,35 \times 10^6$ CFU/g sedikit lebih tinggi dibandingkan jenis mikroorganisme lainnya. Pertumbuhan BAL tertinggi terjadi pada hari kedua fermentasi yaitu $8,51 \times 10^6$ CFU/g kemudian terus mengalami

penurunan hingga akhir fermentasi. Jumlah BAA tertinggi terjadi pada hari ketiga sebanyak $8,30 \times 10^6$ CFU/g. Sementara itu pertumbuhan mikroba campuran BAL-BAA tertinggi terjadi pada hari keempat yaitu $8,02 \times 10^6$ CFU/g. Jumlah mikroba campuran BAL-BAA pada hari kelima mengalami penurunan setengah dari populasinya pada hari keempat yaitu $4,85 \times 10^6$ CFU/g.

Total mikroorganisme dengan penambahan starter jenis BAL dapat dilihat pada Gambar 5.

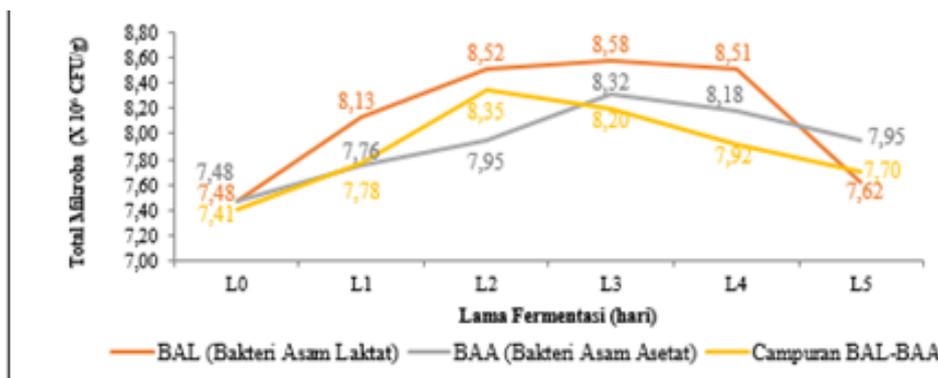
Puncak pertumbuhan BAL tertinggi terjadi pada hari kedua fermentasi kemudian menurun hingga akhir fermentasi. Jumlah BAA tertinggi terjadi pada hari keempat fermentasi yaitu $8,43 \times 10^6$ CFU/g pulp. Pertumbuhan bakteri campuran BAL-BAA mengalami peningkatan pada hari kedua fermentasi yang juga merupakan jumlah tertinggi yaitu sebanyak $8,63 \times 10^6$ CFU/g kemudian mengalami penurunan hingga akhir fermentasi.

Total mikroba dengan penambahan starter jenis BAA dapat dilihat pada Gambar 6. BAA merupakan jenis bakteri yang berperan dalam mengoksidasi etanol hasil perombakan khamir menjadi asam asetat. Pertumbuhan BAA tertinggi terjadi pada hari ketiga dan keempat fermentasi. Sementara itu pertumbuhan BAL awalnya rendah pada hari 0 dan 1 kemudian mengalami peningkatan dari $7,87 \times 10^6$ CFU/g menjadi $8,60 \times 10^6$ CFU/g dan tetap tinggi pada hari ketiga kemudian menurun pada hari keempat dan hari kelima fermentasi. Pertumbuhan bakteri Campuran BAL-BAA pada hari kedua mengalami peningkatan dari $7,75 \times 10^6$ CFU/g menjadi $8,00 \times 10^6$ CFU/g pada hari kedua, kembali meningkat pada hari ketiga menjadi $8,57 \times 10^6$ CFU/g. Total BAL-BAA tertinggi terjadi pada hari keempat fermentasi yaitu $8,65 \times 10^6$ CFU/g kemudian menurun pada hari kelima.

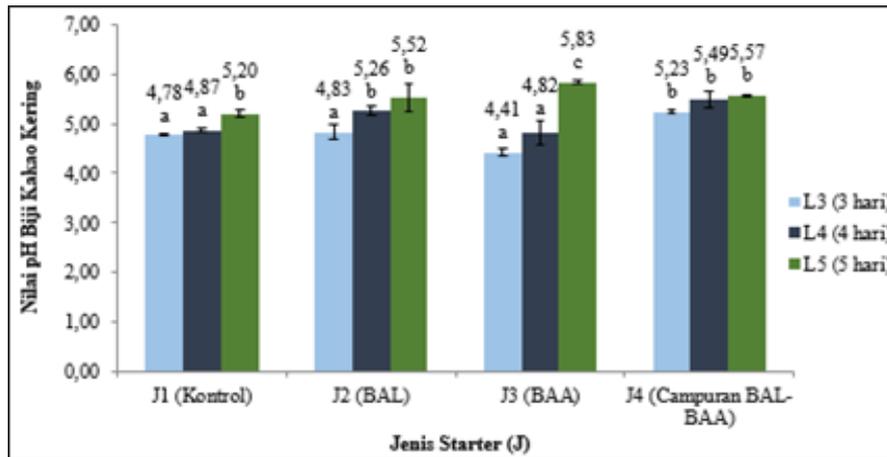
Total mikroba dengan penambahan starter Campuran BAL-BAA dapat dilihat pada Gambar

7. Total BAL-BAA meningkat pada hari kedua fermentasi karena starter ini mengandung BAL. BAL merupakan bakteri yang aktif melakukan aktivitas setelah khamir merombak gula menjadi etanol pada 24 jam pertama fermentasi. Populasi BAA mengalami kenaikan yang signifikan pada hari ketiga yaitu $8,24 \times 10^6$ CFU/g. Pertumbuhan BAL pada awal fermentasi berangsur mengalami peningkatan pada fermentasi hari kedua hingga keempat. Populasi BAL pada hari keempat sebanyak $8,51 \times 10^6$ CFU/g kemudian mengalami penurunan pada akhir fermentasi menjadi $7,62 \times 10^6$ CFU/g.

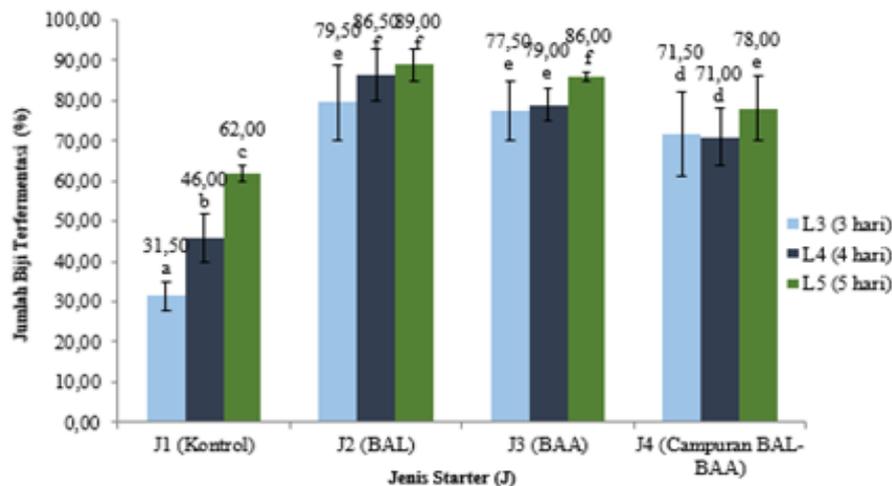
Berdasarkan analisis total mikroorganisme terlihat bahwa penambahan starter meningkatkan total mikroorganisme selama fermentasi dibandingkan fermentasi secara alami. Dimana populasi mikroorganisme tertinggi dari semua perlakuan ditemukan pada fermentasi kakao perlakuan introduksi starter dibandingkan fermentasi dengan perlakuan kontrol. Sembiring (2016) menyatakan bahwa penambahan starter dari luar pada saat awal fermentasi akan memengaruhi jumlah mikroorganisme pada proses fermentasi. Oleh karena itu, semakin banyak jumlah mikroorganisme maka akan semakin optimal proses fermentasi yang berlangsung karena mikroorganisme memengaruhi aktivitas enzim dalam biji kakao, mempercepat penguraian pulp dan gula serta meningkatkan suhu dengan lebih cepat.



Gambar 7 Total Mikroba Selama Fermentasi Pada Perlakuan Penambahan Starter Campuran BAL-BAA (J4)



Gambar 8 Pengaruh interaksi jenis starter dan lama fermentasi (JL) terhadap pH kakao kering, BNT_{0,05} = 0,25 dan KK = 8,56% (nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata)



Gambar 9 Interaksi jenis starter terhadap persentase biji kakao terfermentasi, BNT_{0,05} = 5,20 dan KK = 48,43% (nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata)

Analisis Biji Kakao Kering

Nilai pH

Berdasarkan hasil sidik ragam, interaksi antara jenis starter dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap pH biji kakao kering (Gambar 8). Nilai pH biji perlakuan kontrol pada hari hari 3 dan 4 berbeda nyata dengan hari kelima. pH biji kakao perlakuan BAL pada hari ketiga yaitu 4,83 yang berbeda nyata dengan hari keempat dan kelima. pH biji pada perlakuan BAA pada hari ketiga dan keempat tidak berbeda nyata. Kemudian pada hari kelima mengalami kenaikan yaitu 5,83. Sementara pH biji pada perlakuan penambahan starter Campuran BAL-BAA dengan lama fermentasi

ketiga, keempat dan kelima tidak berbeda nyata. Nilai pH pada perlakuan kontrol dengan lama fermentasi 5 hari tidak berbeda nyata dengan pH biji penambahan starter BAL dengan lama fermentasi 4 dan 5 hari.

Berdasarkan Gambar 8 terlihat bahwa semakin lama fermentasi yang dilakukan, maka pH biji kakao kering cenderung semakin meningkat. Nilai pH tertinggi diperoleh pada perlakuan J3L5 yaitu 5,83 (J3L5), diduga terjadi karena adanya penurunan jumlah dan aktivitas BAA dan asam asetat yang dihasilkan terdifusi ke dalam biji dan sebagian lagi menguap (Nielsen, 2001; Thompson *et al.*, 2001). Permana (1992) menyebutkan bahwa pada fermentasi hari kelima,

biji kakao memiliki pH yang berkisar antara 5-6. Jika proses fermentasi terus dilanjutkan maka nilai pH akan terus meningkat hingga mendekati nilai 7 (netral). Biji kakao kering dapat memiliki pH tinggi karena adanya senyawa yang bersifat basa hasil penguraian protein oleh mikroorganisme.

Kualitas biji kakao hasil fermentasi terutama ditentukan oleh keasaman (pH). Industri pengolah kakao menghendaki pH biji kakao kering antara 5,2-5,8 untuk menghasilkan kaka butter yang berkualitas (Wood dan Lass, 2001).

Nilai Mutu Kakao Terfermentasi dengan Uji Belah (Cut Test)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa jenis starter dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap persentase biji kakao terfermentasi. Jumlah biji terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan starter jenis BAL dengan lama fermentasi 4 hari yaitu 86,5 % yang tidak berbeda dengan fermentasi 5 hari. Sementara jumlah biji terfermentasi terendah diperoleh pada perlakuan kontrol sebagaimana terlihat pada Gambar 9.

Berdasarkan Gambar 9 terlihat bahwa lama fermentasi ikut memengaruhi jumlah biji terfermentasi. Semakin lama fermentasi maka jumlah biji yang terfermentasi juga semakin bertambah. Pada perlakuan kontrol, jumlah biji yang terfermentasi tertinggi diperoleh dari fermentasi hari ke-5 hanya 62 %. Pada perlakuan penambahan starter, penambahan starter BAL pada fermentasi hari ke-4 dan ke-5 serta penambahan starter BAA pada hari ke-5 fermentasi memberikan kualitas biji kakao terbaik dengan jumlah biji terfermentasi mencapai hari yaitu 86 %-89 %. Hasil ini sejalan dengan Satria (2015), dengan adanya penambahan starter dan semakin lama fermentasi yang dilakukan maka semakin tinggi pula persentase biji kakao yang terfermentasi.

Prawoto (2008) menyebutkan bahwa waktu fermentasi yang kurang akan menghasilkan biji dengan warna ungu lebih banyak serta memiliki cita rasa pahit dan sepat. Sembiring (2016) menyatakan bahwa jumlah kakao terfermentasi terendah diperoleh pada perlakuan tanpa penambahan starter, sedangkan jumlah biji kakao terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan starter. Penambahan starter dari luar pada saat awal fermentasi akan memengaruhi jumlah mikroorganisme dan meningkatkan aktivitas enzim pada biji kakao selama proses

fermentasi. Lama fermentasi lima hari ikut memaksimalkan jumlah biji terfermentasi dibandingkan selama tiga hari dan empat hari. Mutu biji kakao perlu diperhatikan sehingga dapat memenuhi kriteria standar mutu yang diinginkan oleh industri pengolahan kakao (Lopez dan Mcdonald, 1981).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan starter kering bakteri indigenus kakao Aceh dan lama fermentasi memberikan pengaruh terhadap kondisi fermentasi dan kualitas biji kakao yang difermentasi. Selama fermentasi cenderung terjadi peningkatan suhu, diantara semua perlakuan. Suhu tertinggi diperoleh pada hari kelima fermentasi. Penurunan pH terjadi seragam setelah fermentasi berjalan selama 24 jam dan cenderung meningkat hingga akhir fermentasi. Perubahan jumlah bakteri bervariasi diantara semua perlakuan.

Fermentasi biji kakao dengan penambahan starter kering memengaruhi nilai pH dan persentase biji kakao terfermentasi. Berdasarkan uji kualitas biji kakao terfermentasi, perlakuan terbaik diperoleh pada penggunaan starter BAL dengan lama fermentasi 4 hari, dengan kualitas biji kakao terfermentasi yang sama dengan fermentasi menggunakan BAL dan BAA selama fermentasi 5 hari. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi kualitas biji kakao terfermentasi dengan analisis cita rasa kakao yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O., J. E. Kongor, J. F. Takrama, 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* 20:1215–1222.
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemist. Association of Official Analytical Chemist, Inc. Viginia, USA.
- Apriyanto, M., S. Sutardi, E. Harmayani, S. Supriyanto. 2016. Perbaikan Proses Fermentasi Biji Kakao Non Fermentasi dengan Penambahan Biakan Murni *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti* AGRITECH 36(4): 410-415

- Ardhana, M., and G.H. Fleet. 2003. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology* 86: 87 -89.
- Arifandi, N. F. 2009. Identifikasi dan Analisa Komponen Aroma pada Lemak Kakao Hasil Refermentasi dengan Metode SPMF-GC (*Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography*). Institut Pertanian Bogor.
- Camu, N., T.D. Winter, S.K. Addo, J.S. Takrama, H. Bernaert, L.D. Vuyst. 2008. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *J Sci Food Agric* 88:2288–2
- Camu, N., Á. González, T. De Winter, A. Van Schoor, K. De Bruyne, P. Vandamme, J. S. Takrama, S. K. Addo, L. De Vuyst. 2008. Influence of turning and environmental contamination on the dynamics of populations of lactic acid and acetic acid bacteria involved in spontaneous cocoa bean heap fermentation in Ghana. *Applied and Environmental Microbiology* 74:86–98.
- Camu, N., T. De Winter, K. Verbrugghe, I. Cleenwerck, P. Vandamme, J. S. Takrama, M. Vancanneyt, L. De Vuyst. 2007. Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Applied and Environmental Microbiology* 73:1809–1824.
- Ditjen Perkebunan. 2021. Produksi Kakao Menurut Provinsi di Indonesia 2017 - 2021 <https://www.pertanian.go.id>
- Hansen, C. E., M. Del Olmo, C. Burri. 1998. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77:273–281.
- Hayati, R. 2017. Pengaruh Kadar Air dan Persamaan Model Bet untuk Prediksi Masa Simpan Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia* 9:1–6.
- Hariyati, Y. 2018. *Ekonomi Kakao: Tinjauan Teori dan Aplikasi*. UNEJ Press, Jember.
- Hoskin, J. C., and P. S. Dimick. 1994. Chemistry of flavour development in chocolate. Page P. 102-115 in S.T. Beckett (Eds.), editor. *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. 2nd editio. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Jenderal, P. D. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia Kakao 2015-2017*. Jakarta.
- Jinap, S., P. S. Dimick. 1990. Analysis of non-volatile organic acids in cured beans by high performance liquid chromatography. *Pertanika* 13:107–111.
- Lopez, A. S., C. R. McDonald. 1981. A definition of descriptors to be used for the qualification of chocolate flavours in organoleptic testing. *Revista Theobroma* 11:209–217.
- Maulina, A. 2016. *Kajian Pembuatan Starter Fermentasi Kakao Aceh*. Universitas Syiah Kuala.
- Misnawi, S. Jinap, B. Jamilah, S. Nazamid. 2003. Effects of incubation and polyphenol oxidase enrichment on colour, fermentation index, procyanidins and astringency of unfermented and partly fermented cocoa beans. *International Journal of Food Science and Technology* 38:285–295.
- Moens, F., T. Lefeber, L. De Vuyst. 2014. Oxidation of metabolites highlights the microbial interactions and role of *Acetobacter pasteurianus* during cocoa bean fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 80:1848–1857.
- Mulato, S., Widyotomo, Misnawi, E. Suharyanto. 2005. *Pengolahan Primer dan Sekunder*. Edisi 2. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember.
- Nielsen, D.S., O.D. Teniola, L. Ban-Koffi, M. Owusu, T.S. Andersson, W.H. Holzapfel. 2007. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology* 114: 168 – 186.
- Permana, I. D. G. M. 1992. *Penyebaran Senyawa Polifenol dan Aktivitas Fenolase dalam Biji Kakao Hasil Pengolahan Petani untuk Mengatasi Penyebab Slaty*. UGM, Yogyakarta.
- Poedjiwidodo, M. S. 1996. *Sambung Samping Kakao*. Trubus Agriwidya, Jawa Tengah.
- Prawoto, A. A. 2008. *Panduan Lengkap Kakao Manajemen Agribisnis dari Hulu Hingga Hilir*. Penebar Swadaya, Jakarta.

- Quesnel, V. C. 1965. Agents inducing the death of cacao seeds during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 16:441–447.
- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Biology*. 3rd Editio. CRC Press, New York.
- Reineccius, G. A., P. G. Keeney, W. Weissberger. 1972. Factors Affecting the Concentration of Pyrazines in Cocoa Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20:202–206.
- Satria, D. 2015. Analisis penambahan starter dan lama fermentasi terhadap kualitas biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada skala laboratorium. Universitas Syiah Kuala.
- Schwan, R. F. 1998. Cocoa fermentations conducted with a defined microbial cocktail inoculum. *Applied and Environmental Microbiology* 14:1477–1483.
- Schwan, R. F., 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.
- Sembiring, L. F. 2016. Aplikasi Starter (Ragi) Untuk Memperbaiki Kualitas Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.) di Tingkat Petani. Universitas Syiah Kuala.
- Senanayake, M., E. R. Jansz, K. A. Buckle. 1996. Effect of Different Mixing Intervals on the Fermentation of Cocoa Beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74:42–48.
- Sulistiyowati, Soenaryo. 1988. Pengaruh lama fermentasi dan perendaman terhadap mutu lemak kakao. *Pelita perkebunan* 4:73–80.
- Thompson, S.S., K.B. Miller, A.S Lopez. 2001. Cocoa and Coffee. In: M.J. Doyle., L.R. Beuchat, T.J Montville (Eds.), *Food Microbiology— Fundamentals and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C
- Thompson, S. S., K. B. Miller, A. S. Lopez, N. Camu. 2013. Cocoa and Coffee. Pages 881–899 *Food Microbiology*.
- Voigt, J., R. Lieberei. 2015. *Biochemistry of Cocoa Fermentation. Cocoa and Coffee Fermentations*. CRC Press, USA.
- De Vuyst, L., T. Lefeber, Z. Papalexandratou, N. Camu. 2010. The Functional Role of Lactic Acid Bacteria in Cocoa Bean Fermentation. Pages 301–325 *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*.
- Widyotomo, S., M. S. Sri. 2008. Teknologi fermentasi dan diversifikasi pulpa kakao menjadi produk yang bermutu dan bernilai tambah. *Review Penelitian Kopi dan Kakao* 24:65–82.
- Wood, G. A. R., R. A. Lass. 2001. *Cocoa*. 4th Editio. Longman Group, London.
- Yanti, N. A., Jamili, P. E. Susilowati. 2014. Optimasi Konsentrasi Mikroba Lokal pada Fermentasi Kakao. Page Prosiding Seminar Nasional Biologi. Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Zulfebriyansah, D. Suryani. 2007. *Komoditas Kakao: Potret dan Peluang Pembiayaan*. Economic Review.