

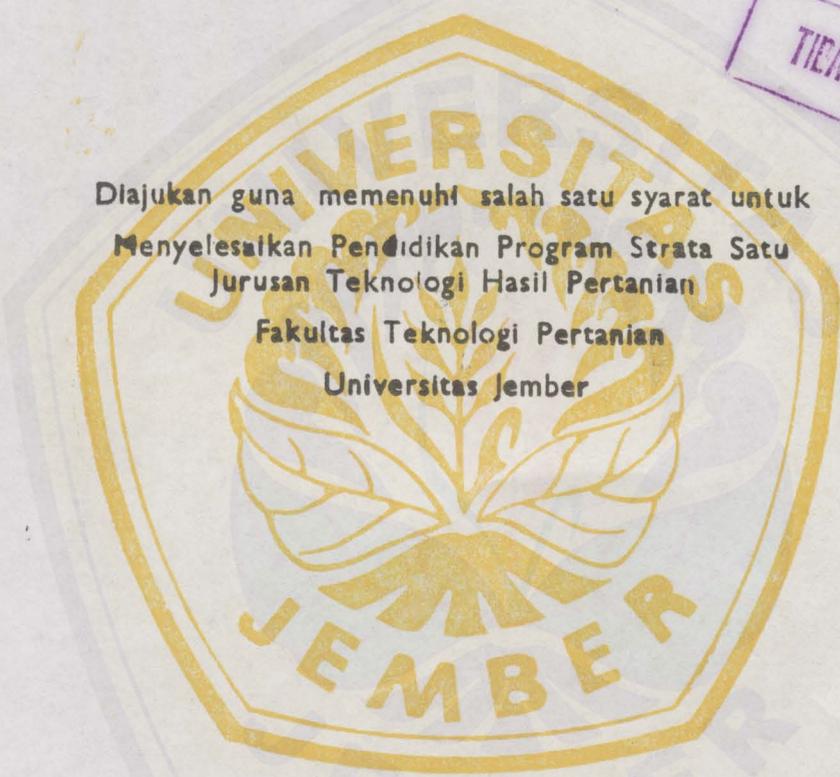


PENGARUH PENAMBAHAN ISOLAT KHAMIR PADA
POLA PEMBENTUKAN ASAM ASETAT
SELAMA FERMENTASI BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)

TIDAK DIPINJAMKAN KELUAR

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk
Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember



Oleh :

Lely Kurniawati
NIM. 961710101027

Asal	: Hadiah	Klas
Terima Tgl:	05 AUG 2000	665.15
No. Induk	10.2.484	KUR
		P

SKS

S

e.

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
Juni 2000

DOSEN PEMBIMBING

D P U : Ir. SUSIJAHADI, MS
D P A : Dr. Ir. SONY SUWASONO, MAppSc
D P L : Ir. TEGUH WAHYUDI, MEng

Diterima Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dipertahankan pada

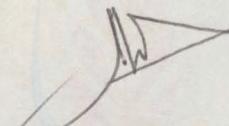
Hari : Kamis

Tanggal : 29 Juni 2000

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji

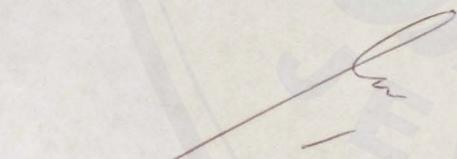
Ketua



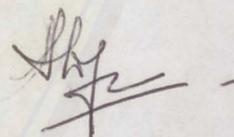
Ir. SUSIJAHADI, MS
NIP. 130 287 109

Anggota I

Anggota II



Dr. Ir. SONY SUWASONO, MAppSc
NIP. 131 832 332

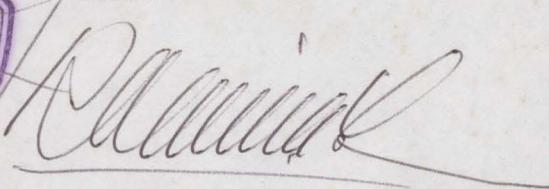


Ir. SULISTYOWATI



Mengesahkan

Dekan



Ir. WAGITO
NIP. 130 516 238

Motto :

*"Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu.
Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat
kecuali bagi Orang-orang yang khusyu"*

(QS. Al Baqarah: 45)

*Berbuatlah kamu untuk duniamu
seakan kamu hidup selamanya
dan berbuatlah kamu untuk akhiratmu
seakan kamu mati-mati besok*

(Al Hadits)

Karyaku ini kupersembahkan dan kuperuntukkan :

- * Kedua orang tuaku (Bapak Mu'asim dan Ibu Siti Sa'dijah) yang telah memberikan kasih sayangnya dan bimbingan moril sepanjang hayatku, serta senantiasa menyertaku dalam do'a
- * Adik - adikku : Dony dan Yuyun atas do'a dan perhatiannya
- * Budi, yang selalu membantu dan menemaniku dengan setia
- * Sahabatku Lilik, Eny, Shanti, Shita, dan Devi serta seluruh mahasiswa TP angkatan 1996, berkat ketulusan rantai persahabatan yang telah mereka berikan dan tiada pernah putus
- * Almamater yang kubanggakan

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah swt, penulis dapat menyelesaikan penulisan Karya Ilmiah Tertulis yang berjudul “ Pengaruh Penambahan Isolat Khamir pada Pola Pembentukan Asam Asetat selama Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*)”.

Maksud dan tujuan penulisan ini sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan program Sarjana pada Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Pebruari 2000 di Laboratorium Pengendalian Mutu Fakultas Teknologi Pertanian universitas Jember.

Dengan selesainya penelitian ini tidak lupa penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat ;

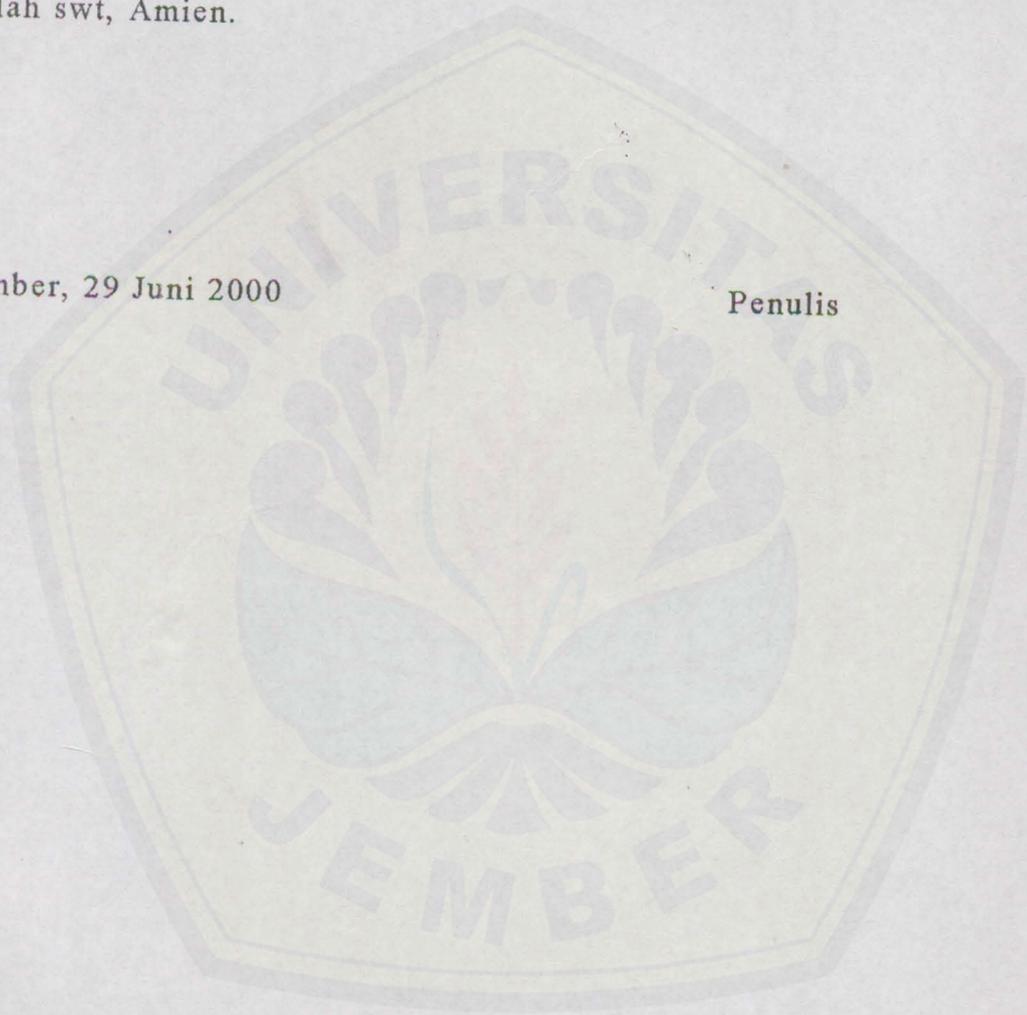
1. Bapak Ir. Wagito, selaku dekan Fakultas Teknologi pertanian;
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS selaku Ketua Jurusan THP sekaligus dosen pembimbing yang banyak memberikan bantuan dalam penulisan ini;
3. Bapak Dr. Ir. Sony Suwasono, MappSc dan Ir. Teguh Wahyudi, MEng selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bantuan guna memperlancar penelitian dan penulisan ini;
4. Ibu Ir. Sulistyowati selaku dosen pembimbing;
5. Segenap karyawan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember yang telah banyak membantu selama penelitian;
6. Shanti dan mbak Widi sebagai tim kakao yang selalu bersama melewati masa-masa sulit;
7. Semua pihak yang telah banyak membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat khususnya bagi mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian dan pada pengolahan biji kakao.

Atas segala bantuan dan jasa yang telah diberikan kepada penulis mudah-mudahan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah swt, Amien.

Jember, 29 Juni 2000

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
RINGKASAN	xiii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	2
1.3 Batasan Permasalahan	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Kegunaan	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Botani Buah Kakao	4
2.2 Komposisi Biji Kakao	4
2.2.1 Komposisi pulp	4
2.2.2 Komposisi biji	5
2.3 Fermentasi	5
2.4 Kondisi Mikrobiologis Biji kakao	7
2.4.1 Aktivitas Mikrobiologis	7
2.4.2 Khamir	8
2.4.3 Bakteri	8
2.4.4 Kapang	9
2.5 Perubahan Suhu selama Fermentasi	10
2.6 Perubahan pH selama Fermentasi	10

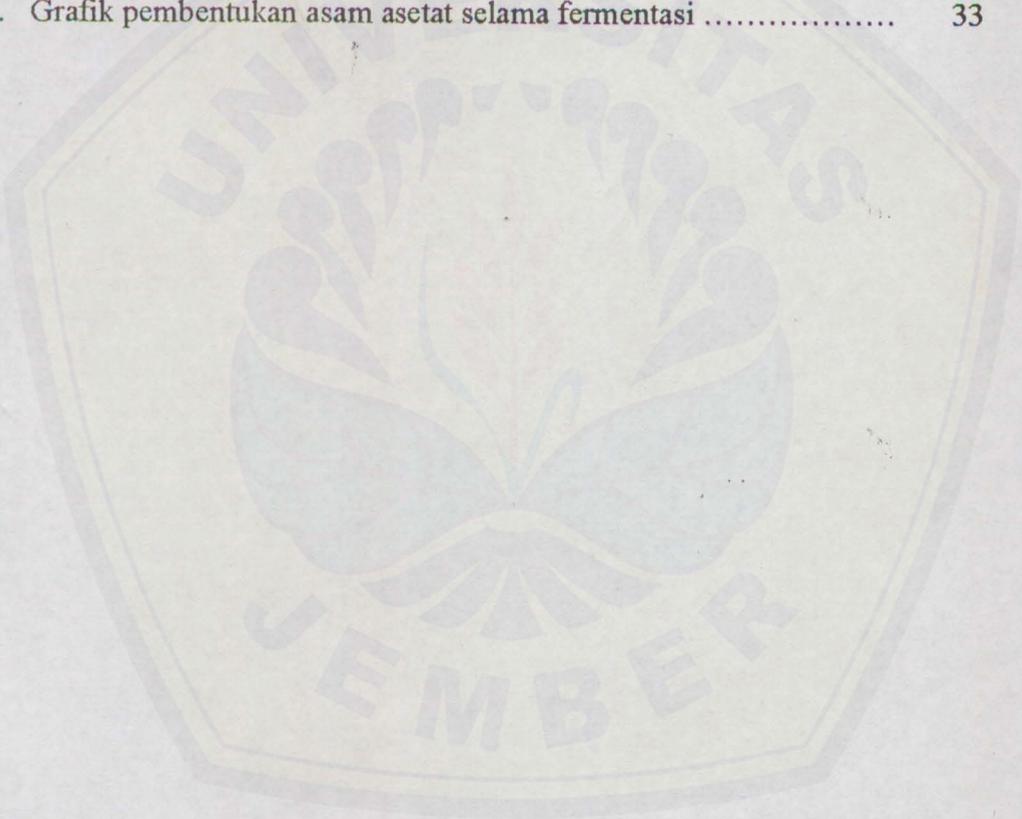
2.7 Pembentukan asam asetat selama Fermentasi	11
2.8 Hipotesis	12
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Bahan dan Alat	13
3.1.1 Bahan	13
3.1.2 Alat	13
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.3 Metode Penelitian	13
3.4 Pelaksanaan Penelitian	14
3.5 Parameter Pengamatan.....	15
3.6 Prosedur Analisa	15
3.6.1 Total Mikroba	15
3.6.2 Total Khamir	16
3.6.3 Total Bakteri	16
3.6.4 pH pulp.....	17
3.6.5 pH kotiledon	17
3.6.6 Suhu Fermentasi	17
3.6.7 Total Asam	17
IV. PEMBAHASAN	
4.1 Total Mikroba	19
4.2 Total Khamir	20
4.3 Total Bakteri	21
4.4 Suhu Fermentasi	22
4.5 pH pulp	25
4.6 pH kotiledon.....	28
4.7 Total Asam	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia pulp biji kakao	4
2. Komposisi kimia biji kakao	5
3. Pertumbuhan mikroba selama fermentasi	19
4. Pertumbuhan khamir selama fermentasi	20
5. Pertumbuhan bakteri selama fermentasi	21
6. Sidik ragam suhu selama fermentasi	23
7. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap suhu	23
8. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap suhu	24
9. Hasil uji Tukey interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap suhu	24
10. Sidik ragam pH pulp selama fermentasi	26
11. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap pH pulp ...	26
12. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap pH pulp	26
13. Hasil uji Tukey interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pH pulp	27
14. Sidik ragam pH kotiledon selama fermentasi	29
15. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap pH kotiledon	29
16. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap pH kotiledon ..	30
17. Hasil uji Tukey interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pH kotiledon	30
18. Sidik ragam asam asetat selama fermentasi	32
19. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap asam asetat	32
20. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap asam asetat ...	33
21. Hasil uji Tukey interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap asam asetat	34

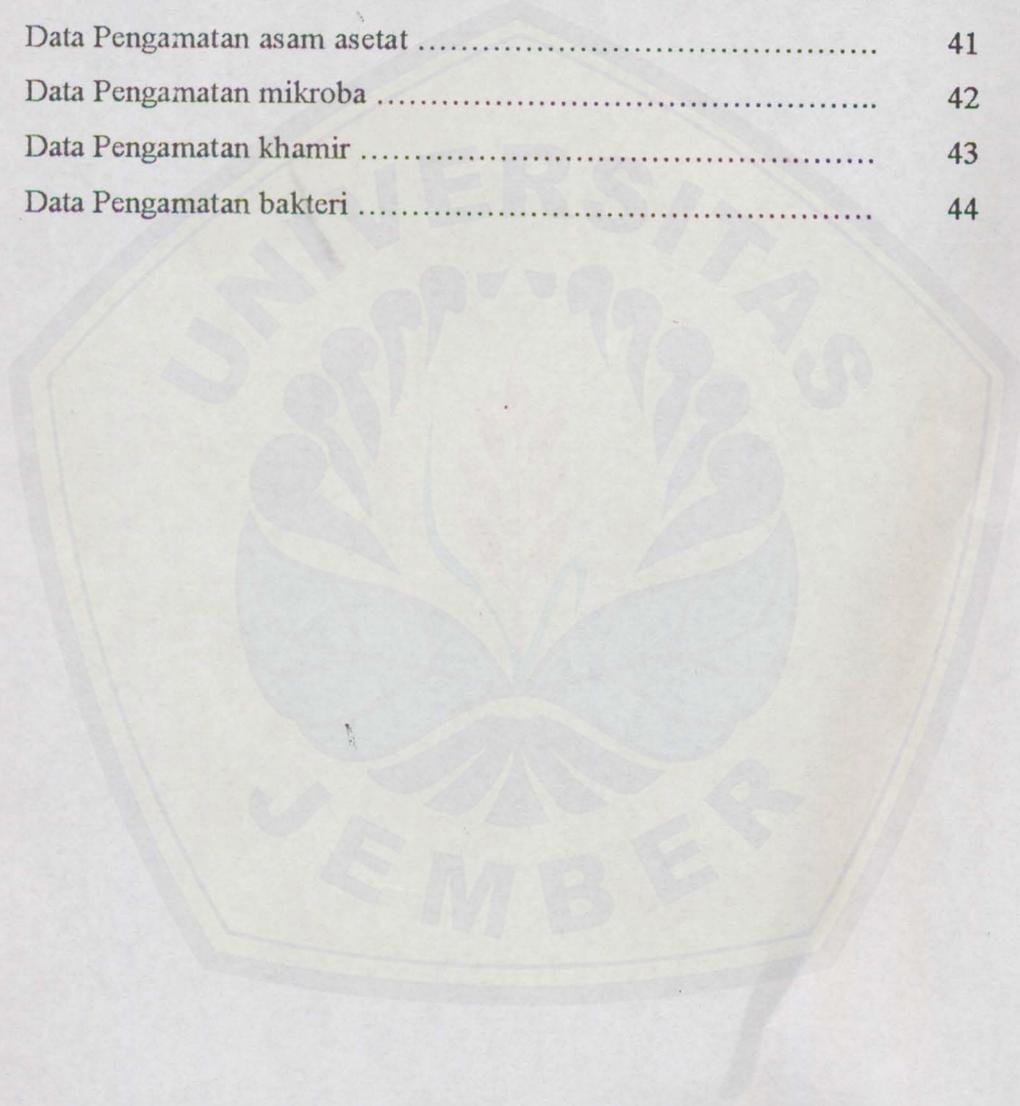
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik pertumbuhan mikroba selama fermentasi	19
2. Grafik pertumbuhan khamir selama fermentasi	20
3. Grafik pertumbuhan bakteri selama fermentasi	22
4. Grafik perubahan suhu selama fermentasi	25
5. Grafik perubahan pH pulp selama fermentasi	28
6. Grafik perubahan pH kotiledon selama fermentasi	31
7. Grafik pembentukan asam asetat selama fermentasi	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Pengamatan suhu	40
2. Data Pengamatan pH pulp	40
3. Data Pengamatan pH kotiledon	40
4. Data Pengamatan asam asetat	41
5. Data Pengamatan mikroba	42
6. Data Pengamatan khamir	43
7. Data Pengamatan bakteri	44



LELY KURNIAWATI (961710101027), PENGARUH PENAMBAHAN ISOLAT KHAMIR PADA POLA PEMBENTUKAN ASAM ASETAT SELAMA FERMENTASI BIJI KAKAO (*Theobroma cacao L.*). Dosen Pembimbing Utama Ir. SUSIJAHADI, MS; Dosen Pembimbing Anggota Dr. Ir. SONY SUWASONO, MappSc; Dosen Pembimbing Lapang Ir. TEGUH WAHYUDI, MEng.

RINGKASAN

Penelitian Pengaruh Penambahan Isolat Khamir pada Pola Pembentukan Asam Asetat selama Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh inokulasi biakan khamir murni terhadap pembentukan asam asetat selama fermentasi biji kakao.

Hasil penelitian ini dianalisa menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial dimana terdiri atas 2 faktor. Faktor A sebagai penambahan isolat khamir dan faktor B yaitu lama fermentasi yang dilakukan sampai 6 hari. Kombinasi perlakuan sebanyak 14 perlakuan dan masing-masing perlakuan dianalisa 3 kali. Beda nyata yang diperoleh dari analisa sidik ragam dianalisa menggunakan uji Tukey. Analisa diskriptif digunakan untuk parameter mikroba dimana data-data yang diperoleh diinterpretasikan menjadi suatu bentuk grafik kemudian dilakukan pembahasan terhadap grafik tersebut. Selanjutnya pengaruh penambahan khamir dalam fermentasi biji kakao dapat dilihat pada parameter-parameter pengamatan yaitu parameter mikrobiologis berupa pertumbuhan mikroba, khamir dan bakteri. Parameter fisik dan kimia yaitu suhu, pH pulp, pH kotiledon, dan total asam.

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan khamir dalam fermentasi biji kakao berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba yang berperan dalam fermentasi. Logaritmik jumlah (m.o/ml) untuk mikroba optimal terjadi pada hari ke-2 dan ke-5 sebesar 8-8,178; khamir optimal pada hari ke-1 dan ke-5 sebesar 8,25 dan 8,35; bakteri asam asetat optimal pada hari ke 3-4 sebesar 7,8-7,91. Pertumbuhan mikroba yang lebih besar dari kontrol menyebabkan aktivitasnya dalam melakukan reaksi-reaksi kimia dalam biji kakao lebih tinggi. Sehingga perubahan-perubahan kimia dalam fermentasi cepat terjadi seperti pembentukan asam asetat yang maksimal pada hari ke-5 sebesar 1,67%.

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia saat ini merupakan produsen kakao terbesar ketiga di dunia bersama-sama Ghana dengan produksi pada tahun 1993/1994 sebesar 245.000 ton. Prospek yang cerah tersebut diantisipasi dengan semakin luasnya areal pertanaman, semula pada tahun 1982 areal kakao seluas 42.429 Ha dengan produksi sebesar 17.260 ton, dan 10 tahun kemudian berkembang menjadi 387.102 Ha, dengan produksi 191.528 ton (Atmawinata, 1994). Tahun 1997 areal pertanaman meningkat menjadi 529.057 Ha dengan produksi 330.219 ton (Anonim, 1998).

Produksi kakao Indonesia selama ini didominasi oleh kakao rakyat yang secara umum masih bermutu rendah yang dicirikan dengan : kadar air yang tinggi, kandungan lemak rendah, cita rasa kurang, dan mutu biji tidak konsisten (Wahyudi, 1994). Kondisi semacam itulah yang menyebabkan diberlakukannya pengenaan diskon atas nilai ekspor biji kakao Indonesia (Aziz, 1996).

Dalam era perdagangan bebas, persaingan akan semakin ketat, sehingga mutu akan menjadi perhatian utama. Kondisi ini dapat menyebabkan kakao Indonesia tidak dihargai dan tidak diterima oleh konsumen. Guna mengatasi dan mengantisipasi masalah tersebut, perlu dilakukan upaya perbaikan dan peningkatan mutu biji kakao rakyat (Aziz, 1996).

Menurut Utami (1995) rendahnya mutu biji kakao disebabkan rendahnya kadar lemak dan kandungan asam yang relatif tinggi yang berakibat rendahnya intensitas aroma. Salah satu cara untuk memperbaiki mutu biji kakao dapat dilakukan melalui proses fermentasi yang berlangsung optimal dimana terjadi proses pembentukan flavor yang baru dimulai setelah biji mati. Kematian biji ini disebabkan adanya asam asetat, alkohol dan panas yang timbul secara bersama-sama akibat adanya aktivitas mikroba yang berperan dalam proses fermentasi.

Menurut Susijahadi *et al* (1998), Biji yang sudah mati akan menyebabkan rusaknya permeabilitas sel pada biji. Kerusakan permeabilitas pada sel biji akan menyebabkan terjadinya difusi senyawa polifenol dari senyawa sel keseluruhan bagian

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia saat ini merupakan produsen kakao terbesar ketiga di dunia bersama-sama Ghana dengan produksi pada tahun 1993/1994 sebesar 245.000 ton. Prospek yang cerah tersebut diantisipasi dengan semakin luasnya areal pertanaman, semula pada tahun 1982 areal kakao seluas 42.429 Ha dengan produksi sebesar 17.260 ton, dan 10 tahun kemudian berkembang menjadi 387.102 Ha, dengan produksi 191.528 ton (Atmawinata, 1994). Tahun 1997 areal pertanaman meningkat menjadi 529.057 Ha dengan produksi 330.219 ton (Anonim, 1998).

Produksi kakao Indonesia selama ini didominasi oleh kakao rakyat yang secara umum masih bermutu rendah yang dicirikan dengan : kadar air yang tinggi, kandungan lemak rendah, cita rasa kurang, dan mutu biji tidak konsisten (Wahyudi, 1994). Kondisi semacam itulah yang menyebabkan diberlakukannya pengenaan diskon atas nilai ekspor biji kakao Indonesia (Aziz, 1996).

Dalam era perdagangan bebas, persaingan akan semakin ketat, sehingga mutu akan menjadi perhatian utama. Kondisi ini dapat menyebabkan kakao Indonesia tidak dihargai dan tidak diterima oleh konsumen. Guna mengatasi dan mengantisipasi masalah tersebut, perlu dilakukan upaya perbaikan dan peningkatan mutu biji kakao rakyat (Aziz, 1996).

Menurut Utami (1995) rendahnya mutu biji kakao disebabkan rendahnya kadar lemak dan kandungan asam yang relatif tinggi yang berakibat rendahnya intensitas aroma. Salah satu cara untuk memperbaiki mutu biji kakao dapat dilakukan melalui proses fermentasi yang berlangsung optimal dimana terjadi proses pembentukan flavor yang baru dimulai setelah biji mati. Kematian biji ini disebabkan adanya asam asetat, alkohol dan panas yang timbul secara bersama-sama akibat adanya aktivitas mikroba yang berperan dalam proses fermentasi.

Menurut Susijahadi *et al* (1998), Biji yang sudah mati akan menyebabkan rusaknya permeabilitas sel pada biji. Kerusakan permeabilitas pada sel biji akan menyebabkan terjadinya difusi senyawa polifenol dari senyawa sel keseluruhan bagian

kotiledon. Difusi polifenol akan menyebabkan kontak antara polifenol dengan enzim polifenol oksidase sehingga terjadi perubahan senyawa polifenol.

Fermentasi biji kakao ini hanya mengandalkan aktivitas mikroba yaitu khamir dan bakteri yang berasal dari inokulasi spontan dari lingkungan, tangan pekerja, dan buah kakao itu sendiri sehingga proses-proses kimia dalam biji kakao berlangsung lama. Fermentasi yang terlalu lama akan menyebabkan penurunan kandungan lemak dan berat serta menambah biaya produksi. Hal ini dapat dihindari dengan memperpendek waktu fermentasi (Rohan, 1963).

Khamir merubah protopektin yang tidak larut dalam air menjadi pektin yang larut dalam air, sehingga pulp berubah menjadi masa bubur yang selanjutnya gula yang terkandung didalamnya akan dihidrolisa menjadi alkohol. Pada tahap berikutnya dalam keadaan aerob alkohol dihidrolisa oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat. Dalam biji kakao yang difermentasi banyak tumbuh bakteri diantaranya bakteri asam laktat, tetapi populasi bakteri asam asetat lebih menonjol dari pada bakteri yang lain (Susijahadi *et al*, 1998). Memperpendek waktu fermentasi dapat dilakukan dengan menambahkan sejumlah mikroba dalam bentuk starter pada awal fermentasi misalnya khamir yang merupakan mikroba yang dominan pada awal fermentasi karena pH pulp biji kakao cukup rendah (pH 4), kandungan gula tinggi (10%) dan terbatasnya oksigen merupakan kondisi substrat yang baik untuk pertumbuhan khamir (Rohan, 1963).

1.2 Permasalahan

Mikroba di alam selalu ditemukan dalam bentuk asosiasi (kehidupan bersama). Bentuk asosiasi antara lain sinergisme dan antibiose. Sinergisme adalah suatu bentuk kehidupan bersama dimana masing-masing mikroba dapat bekerja sama dengan baik sehingga dapat melakukan perubahan-perubahan kimia. Antibiose terjadi jika salah satu mikroba yang bekerja sama tersebut terhambat aktivitasnya atau bahkan terbunuh. (Jutono *et al* dalam Mutmainah, 1999).

Pada fermentasi kakao terdapat kehidupan bersama beberapa jenis mikroba seperti khamir, bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan kapang. Penambahan

isolat khamir pada awal fermentasi belum diketahui aktivitas dan pertumbuhannya dalam fermentasi kakao. Permasalahan disini timbul apabila penambahan isolat khamir pada fermentasi mempengaruhi bentuk asosiasi mikroba yang ada. Perubahan bentuk asosiasi tersebut juga akan mempengaruhi pembentukan asam asetat selama fermentasi biji kakao.

1.3 Batasan Permasalahan

Korelasi antara pertumbuhan mikroba dengan pembentukan asam asetat dalam fermentasi biji kakao.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh inokulasi biakan murni khamir terhadap pertumbuhan khamir dan bakteri yang berperan dalam fermentasi, serta untuk mengetahui pembentukan asam asetat selama fermentasi biji kakao.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang proses pembentukan asam asetat selama fermentasi biji kakao dengan penambahan isolat khamir.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Buah Kakao

Biji kakao komersial adalah biji yang dihasilkan tanaman spesies *Theobroma cacao L.* yang dibagi dalam 2 grup utama yaitu *Criollo* dan *Forastero*, tetapi ada grup ke-3 yang dikenal sebagai *Trinitario* yang merupakan persilangan antara *Criollo* dan *Forastero*. *Forastero* dikenal dalam perdagangan sebagai *bulk* kakao dan *Trinitario* dan *Criollo* dikenal sebagai *fine* atau *flavor* kakao (Minifie, 1980).

2.2 Komposisi Biji Kakao

Biji kakao yang telah masak terdiri dari pulp, kulit biji, dan kotiledon yang masing-masing memiliki komponen sendiri.

2.2.1 Komposisi Pulp

Pulp merupakan jaringan yang berupa lendir yang melekat pada biji kakao sebagai media yang baik bagi pertumbuhan mikroba, karena kaya akan bahan-bahan organik antara lain glukosa dan sukrosa. Komposisi pulp secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia pulp biji kakao

Komponen	Prosentase (%)
Air	80 - 90
Glukosa	8 - 13
Sukrosa	0,4 - 1,0
Pati	sedikit
Asam tidak menguap	0,2 - 0,4
Besi Oksida	0,03
Garam	0,4 - 0,45

Sumber : Rohan (1963)

Menurut Quesnel (1982), kandungan gula baik sukrosa maupun glukosa yang tinggi di dalam pulp merupakan medium yang baik untuk pertumbuhan khamir. Kandungan asam yang ada pada pulp memberikan kondisi pH yang sesuai

untuk aktivitas khamir. Ketika buah dibuka dengan pisau, pulp terkontaminasi oleh bermacam-macam mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Mikroba yang didapat berasal dari tangan pekerja, pisau, keranjang yang tidak dicuci yang digunakan selama transportasi biji dan lendir yang tertinggal pada bak fermentasi sebelumnya (Schwan *et al*, 1995)

2.2.2 Komposisi Biji

Biji kakao terdiri atas dua bagian utama yaitu kulit biji yang presentasinya 10% - 14% dari berat biji kering dan keping biji (kotiledon) yang presentasinya 86% - 90% dari berat biji kering (Nasution *et al*, 1976). Secara lengkap komposisi kimia biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia biji kakao

Komponen	Besarnya Kandungan (%)	
	Kotiledon	Kulit biji
Air	2,1	3,8
Lemak	54,1	3,43
Abu	2,7	8,1
Total N	2,2	2,6
Protein	1,3	2,1
Teobromin	1,4	1,3
Kafein	0,7	0,1
Glukosa	0,1	0,1
Sukrosa	0	8,1
Pati	6,1	-
Pektin	4,1	8,0
Serat Kasar	2,1	18,6
Selulosa	1,9	13,6
Pentosan	1,2	7,0
<i>Mucilage dan gums</i>	1,8	9,1
<i>Cocoa purple / cocoa brown</i>	4,2	2,0
Asam asetat	0,1	0,1
Asam sitrat	-	0,7
Asam oksalat	0,3	0,3

Sumber : Minifie dalam Susijahadi *et al*, 1998.

2.3 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perombakan senyawa organik yang dikatalisa oleh enzim. Proses fermentasi berlangsung di dalam suatu sistem

untuk aktivitas khamir. Ketika buah dibuka dengan pisau, pulp terkontaminasi oleh bermacam-macam mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Mikroba yang didapat berasal dari tangan pekerja, pisau, keranjang yang tidak dicuci yang digunakan selama transportasi biji dan lendir yang tertinggal pada bak fermentasi sebelumnya (Schwan *et al*, 1995)

2.2.2 Komposisi Biji

Biji kakao terdiri atas dua bagian utama yaitu kulit biji yang presentasinya 10% - 14% dari berat biji kering dan keping biji (kotiiledon) yang presentasinya 86% - 90% dari berat biji kering (Nasution *et al*, 1976). Secara lengkap komposisi kimia biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia biji kakao

Komponen	Besarnya Kandungan (%)	
	Kotiledon	Kulit biji
Air	2,1	3,8
Lemak	54,1	3,43
Abu	2,7	8,1
Total N	2,2	2,6
Protein	1,3	2,1
Teobromin	1,4	1,3
Kafein	0,7	0,1
Glukosa	0,1	0,1
Sukrosa	0	8,1
Pati	6,1	-
Pektin	4,1	8,0
Serat Kasar	2,1	18,6
Selulosa	1,9	13,6
Pentosan	1,2	7,0
<i>Mucilage dan gums</i>	1,8	9,1
<i>Cocoa purple / cocoa brown</i>	4,2	2,0
Asam asetat	0,1	0,1
Asam sitrat	-	0,7
Asam oksalat	0,3	0,3

Sumber : Minifie dalam Susijahadi *et al*, 1998.

2.3 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perombakan senyawa organik yang dikatalisa oleh enzim. Proses fermentasi berlangsung di dalam suatu sistem

biologi yang melibatkan reaksi hidrolisa, reaksi oksidasi reduksi, dan juga dapat menghasilkan energi (Winarno, 1983).

Proses fermentasi biji kakao terdiri dari 2 macam proses yaitu fermentasi eksternal dan internal. Pada fermentasi eksternal bertujuan untuk melepaskan pulp dari keping biji, melonggarkan kulit biji sehingga setelah proses pengeringan kulit mudah dilepaskan dari kulit biji. Menurut Susijahadi *et al* (1998) Protopektin di dalam pulp oleh kegiatan enzim protopektinase akan diubah menjadi pektin yang larut dalam air. Selanjutnya oleh Wood & Lass (1984) pektin oleh pektase akan dihidrolisa menjadi asam pektin. Enzim pektinase akan menguraikan asam pektin menjadi galaktosa, asam cromat, arabinose dan asetat. Fermentasi internal bertujuan untuk mematikan keping biji sehingga terjadi perubahan penting dalam biji dapat dengan mudah terjadi. Perubahan tersebut antara lain perubahan warna keping biji, meningkatnya aroma, rasa, dan memperbaiki penampakan fisik biji (Nasution *et al*, 1976).

Pulp yang masih segar pHnya relatif rendah yaitu 3,6, kandungan gula yang tinggi serta rendahnya jumlah oksigen menyebabkan kondisi tersebut sesuai untuk pertumbuhan khamir (Haryadi & Soepriyanto, 1991). Pertumbuhan khamir bertambah banyak selama 12 jam pertama fermentasi kemudian konstan pada 12 jam berikutnya (Ostovar & Keeney, 1973). Khamir dalam kondisi anaerob secara aktif mengkonsumsi gula dan merubahnya menjadi alkohol. Perubahan pH dan suhu yang terjadi selama fermentasi akan mempengaruhi kehidupan khamir. Pada saat kondisi lingkungan kurang cocok untuk pertumbuhan khamir maka pada fase fermentasi selanjutnya bakteri asam asetat mulai aktif mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat (Said, 1987). Menurut Susijahadi *et al* (1998) penurunan khamir selama fermentasi disebabkan karena tidak toleran terhadap alkohol pada konsentrasi diatas 4%.

Selama fermentasi biji kakao terjadi perubahan kimia dan fisik karena bekerjanya mikroba. Perubahan tersebut meliputi perubahan luar dan dalam biji. Perubahan tersebut menyebabkan suasana massa yang difermentasi menjadi aerob dan suhu menjadi lebih tinggi. Perubahan kimia di dalam biji terjadi apabila asam

2.4.2 Khamir

Pulp dari buah kakao yang masak optimal mengandung gula sekitar 10% dan asam sitrat 2% (Quesnel dalam Zulkifli, 1978). Kondisi pulp tersebut sangat cocok untuk pertumbuhan khamir sehingga pada permulaan fermentasi biji kakao mikroba yang paling dominan adalah khamir. Menurut Rombauts hampir 90% dari mikroba yang tumbuh adalah khamir (Haryadi & Supriyanto, 1991).

Peranan khamir antara lain mendegradasi pulp, merubah gula menjadi alkohol, membentuk asam asetat dan sebagainya. Diantaranya terdapat jenis pektinolitik yaitu khamir yang dapat mendegradasi pektin (Wood, 1985).

Menurut Quesnel dalam Mansyur (1978), khamir dapat menghasilkan beberapa enzim yaitu pektase dan pektinase. Pektase dapat menguraikan pektin menjadi alkohol dan asam pektin. Dengan terurainya protopektin yang merupakan bahan perekat dari lamela tengah sel, menyebabkan jaringan pulp hancur sehingga lebih mudah dipisahkan dari keping biji.

Tipe khamir yang tumbuh pada fermentasi kakao bervariasi tergantung pada situasi geografis, lama fermentasi dan jenis kakao yang difermentasi. Pada Fermentasi di Jawa ditemukan jenis khamir *Saccharomyces apicalatus* dan *Saccharomyces ellipsoides* (Knapp dalam Haryadi & Supriyanto, 1991).

Aktivitas khamir merubah gula menjadi alkohol dengan reaksi yang bersifat eksothermis, selain menghasilkan alkohol dan CO₂ juga menghasilkan panas. Akibat panas yang dibebaskan tersebut suhu masa kakao yang diperam menjadi lebih tinggi, sedangkan pulp sebagian sudah hancur menyebabkan suplai oksigen lebih baik. Kondisi ini sangat cocok untuk pertumbuhan mikroba lain yaitu bakteri (Rohan, 1963).

2.4.3 Bakteri

Bakteri yang ditemukan dalam fermentasi kakao menurut Knapp, 1937 dan Rohan, 1963 dalam Haryadi & Supriyanto, 1991 adalah : 1) Bakteri asam laktat genus *Beta bakterium*, *Coli aerogenes*, *Bacillus undulatus*, *Bacillus megatherium*; 2) Bakteri asam asetat genus *Bacillus xylinum*, *Bacillus xylinoides*,

Bacillus orleanense, dan *B. ascedense*; 3) Bakteri perusak yaitu *B. subtilis* jika fermentasi berlangsung relatif lama.

Desimilasi asam sitrat pada pulp oleh khamir menyebabkan kenaikan pH, bersamaan dengan terjadinya kenaikan suhu sebagai hasil fermentasi alkohol. Kondisi tersebut ditunjang dengan aerasi yang lebih sesuai untuk pertumbuhan bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan asam laktat (Rohan, 1963).

Adanya aerasi selama pembalikan dan kenaikan suhu sampai 37°C mendorong pertumbuhan dan aktivitas bakteri asam asetat. Pada periode ini, bakteri asam asetat akan menurunkan konsentrasi alkohol dan asam laktat, tetapi akan meningkatkan asam asetat. Reaksi eksotermis oleh bakteri asam asetat akan meningkatkan suhu fermentasi menjadi 50°C atau lebih. Kenaikan suhu pada massa biji yang difermentasi akan menyebabkan penurunan jumlah bakteri karena bakteri ini inaktif pada suhu 40-45°C. (Susijahadi *et al*, 1998).

Selama proses fermentasi berlangsung akan terjadi kenaikan suhu, oksigen dan pH dari massa fermentasi biji kakao yang merupakan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri pembentuk spora dalam keadaan aerob. Bakteri pembentuk spora yang aerob sudah tumbuh pada awal fermentasi dengan jumlah yang tidak berubah. Setelah fermentasi berjalan 3 hari, bakteri mendominasi populasi mikroba yang ada dan jumlahnya melampaui 80% dari seluruh mikroflora (Schwan *et al* dalam Susijahadi *et al*, 1998). Pada pH diatas 5 mulai tampak adanya pertumbuhan bakteri yang menghasilkan senyawa amin dan amino dari hasil perombakan asam amino (Hariyadi & Supriyanto, 1991)

2.4.4 Kapang

Pertumbuhan kapang pada pengolahan biji kakao merupakan suatu hal yang harus dihindari karena dapat mengakibatkan kakao mempunyai rasa pahit. Kapang yang tumbuh selama fermentasi biji kakao dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu kapang yang tumbuh selama fermentasi berlangsung dan kapang yang tumbuh selama pengeringan dan penyimpanan. Kapang yang tumbuh selama fermentasi kakao sulit dihindarkan karena spora kapang tersebut merupakan kontaminan dari sekeliling.

Kakao terkontaminasi oleh kapang ketika aerasi terbatas seperti timbunan yang tidak dilakukan pembalikan. Kapang yang tumbuh pada permukaan kulit tidak menimbulkan kerugian tetapi bila penetrasi hingga ke keping biji akan berakibat merusak warna dan flavor (Chatt, 1953).

Beberapa kapang yang tumbuh selama fermentasi kakao adalah *Penicillium*, *Sterigmatocyses niger*, *Aspergillus flavus*, *Sterigmatocystis-luteoniger*, *Aspergillus tamari*, dan *A. fumigatus* (Haryadi & Supriyanto, 1991).

2.5 Perubahan Suhu Selama Fermentasi

Fermentasi pulp kakao disertai dengan kenaikan suhu pada biji. Aksi mikrobiologis yang menyebabkan terjadinya kenaikan suhu (Quesnel *et al*, 1960). Sack's (1913) dalam Mutmainah (1999), juga menyimpulkan bahwa kenaikan suhu pada biji kakao dalam kotak fermentasi disebabkan oleh reaksi fermentasi. Khamir akan merombak gula menjadi alkohol dan CO₂ dan juga dapat memecah asam sitrat menjadi asam asetat dan asam laktat. Reaksinya bersifat eksotermis sehingga akan menghasilkan panas.

Reaksi hidrolisa etanol menjadi asam asetat bersifat eksotermis sehingga akan menghasilkan energi dalam bentuk panas yang menyebabkan suhu fermentasi akan meningkat sampai 48-50°C. Pada suhu sekitar 50°C sebagian besar bakteri asam asetat akan mati sehingga aktivitasnya akan turun dan untuk menurunkan suhu dapat dilakukan dengan pembalikan biji dalam tumpukan fermentasi. Pembalikan biji selama fermentasi juga berfungsi untuk menurunkan pH (Susijahadi *et al*, 1998). Hal ini disebabkan karena asam asetat merupakan asam lemah yang mudah menguap dengan adanya O₂.

2.6 Perubahan pH Selama Fermentasi

Gula yang ada dalam pulp dirubah menjadi alkohol oleh khamir dan kemudian dioksidasi menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Sehingga terjadi perubahan pH yang dimulai dari pH 3,6-3,7 menjadi pH 4,5 selama waktu

sekitar 2,5 hari , dan selanjutnya pH akan naik menjadi sekitar 6,5 pada hari ke tujuh (Lopez dalam Susijahadi *et al*, 1998).

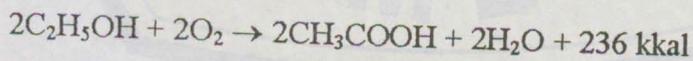
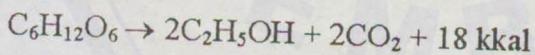
Hasil metabolisme bakteri asam asetat (*Acetobacter aceti*) akan mempengaruhi tingkat keasaman di dalam pulp maupun di dalam biji. Asam asetat sendiri berperan dalam proses kematian biji kakao. Apabila produksi asam asetat berlebihan dan banyak yang masuk ke dalam biji maka pH biji akan rendah sehingga menghasilkan flavor yang rendah (Said dalam Susijahadi *et al*, 1998).

2.7 Pembentukan Asam Asetat Selama Fermentasi

Bakteri yang berperan dalam pembentukan asam asetat menurut Haryadi & Supriyanto (1991) adalah bakteri genus *Beta bacterium* yang bersifat heterofermentif yang dapat menghasilkan asam laktat juga asam asetat. Selain itu juga terdapat bakteri asam asetat yang mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat, dengan melepaskan sejumlah panas.

Setelah fermentasi berlangsung 18 jam akan terjadi kenaikan suhu yang tajam dimana menunjukkan aerasi dini. Suhu tinggi pada saat fermentasi disebabkan oleh reaksi eksotermis yang terjadi pada saat perubahan gula menjadi etanol dan etanol menjadi asam asetat. Perubahan pertama karena terjadi aktivitas khamir sedangkan perubahan kedua oleh aktivitas bakteri asam asetat (Effendi, 1994).

Reaksi pembentukan asam asetat menurut Haryadi & Supriyanto, 1991 :



Pertumbuhan bakteri asam asetat sangat diharapkan karena asam asetat yang dihasilkan sangat diperlukan dalam fermentasi kakao yaitu : 1) dapat mendifusi ke dalam keping biji secara cepat; 2) dapat menyebabkan kematian biji; 3) membantu distribusi senyawa polifenol dari kantong-kantong sel tertentu ke seluruh jaringan keping biji; 4) membantu hidrolisis yang berhubungan dengan pembentukan flavor; 5) dengan senyawa alkohol dapat membentuk ester, beberapa diantaranya dapat menimbulkan aroma yang segar (Haryadi & Supriyanto, 1991).

2.8 Hipotesis

1. Penambahan isolat khamir murni pada fermentasi biji kakao dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba yang berperan dalam fermentasi.
2. Penambahan isolat khamir dapat mempercepat pembentukan asam asetat dalam pulp biji kakao.



III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan biji kakao segar jenis *Forastero*, biakan khamir murni yang telah ditumbuhkan 18 jam, Potatoe Dextrose Agar (PDA), Potatoe Dextrose Broth (PDB), PCA, oxtetracyclin, cyclohexamide, aquadest, NaOH 0,01 N, phenol phtalin (PP), dan buffer pH 4 dan pH 7.

3.1.2 Alat

Alat-alat yang digunakan meliputi kotak fermentasi mini, petridish, erlenmeyer, jarum ose, labu ukur, pipet volume dan pipet tetes, corong, kertas whatman no 4, pH meter, stirer, kompor magnetik, gelas ukur, pemanas, thermometer, biuret, tabung reaksi, bunsen, dan macra.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – April 2000 dan dilaksanakan di laboratorium Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember serta laboratoirum Pengendalian Mutu, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu :

Menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial terdiri dari 2 faktor yaitu:

i) Faktor A (penambahan isolat khamir) terdiri dari 2 taraf :

A0 = tanpa penambahan biakan khamir

A1 = dengan penambahan biakan khamir

ii) Faktor B (lama fermentasi) terdiri dari tujuh taraf yaitu:

B0 = fermentasi 0 hari

B1 = fermentasi 1 hari

B2 = fermentasi 2 hari

B3 = fermentasi 3 hari

B4 = fermentasi 4 hari

B5 = fermentasi 5 hari

B6 = fermentasi 6 hari

Kombinasi perlakuan :

A0B0 A0B1 A0B2 A0B3 A0B4 A0B5 A0B6

A1B0 A1B1 A1B2 A1B3 A1B4 A1B5 A1B6

Dimana masing-masing perlakuan dianalisa 3 kali. Adapun model matematis yang digunakan :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y = hasil/nilai pengamatan untuk faktor A level ke-i, faktor B level ke-j dan pada ulangan ke-k

μ = nilai tengah umum

α_i = pengaruh faktor A pada level ke-i

β_j = pengaruh faktor B level j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interaksi AB pada level A ke-i, level B ke-j

ε_{ijk} = galat percobaan untuk level ke-i (A), level ke-j (B) ulangan ke-k

Data yang diperoleh dianalisa secara sidik ragam (analisa varian). Beda nyata yang diperoleh dianalisa menggunakan uji Tukey (BNJ). Parameter mikroba dianalisa secara deskriptif kemudian data yang diperoleh diinterpretasikan kedalam suatu grafik. Kemudian dilakukan pembahasan dari grafik tersebut.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

1. Penggandaan Isolat Khamir

- a. Menyiapkan 1 tabung biakan khamir dan diambil 1 ose
- b. Menggoreskan pada medium PDA dan diinkubasi 2 hari
- c. Menggoreskan khamir dari medium PDA ke PDB dan diinkubasi 2 hari

2. Fermentasi biji kakao

- a. Fermentasi menggunakan 2 kotak fermentasi kecil dan jumlah biji kakao segar masing-masing 40 kg
- b. Menyiapkan inokulan dengan ukuran 20 ml biakan khamir untuk setiap 10 kg biji kakao dan disemprotkan dalam biji kakao segar yang digunakan sebagai perlakuan
- c. Fermentasi selama 6 hari dan dilakukan pembalikan setiap 2 hari sekali
- d. Pengamatan dilakukan setiap hari

3.5 Parameter Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi

1. Pengamatan mikrobiologis meliputi :
 - a. Total mikroba
 - b. Total khamir
 - c. Total bakteri
2. Pengamatan fisik dan kimia meliputi :
 - a. Suhu fermentasi
 - b. pH pulp
 - c. pH kotiledon
 - d. Total asam

3.6 Prosedur Analisa

3.6.1 Total Mikroba dengan Metode Hitungan Cawan (Hadioetomo, 1993)

1. 1 g sampel (pulp kakao) diencerkan dengan 9 ml aquades dan dibuat pengenceran 1: 100; 1: 1000; 1: 10000; 1: 100000; 1:1000000;1:10000000
2. Medium PCA diencerkan dalam penangas kemudian didinginkan sampai suhu 50°C
3. Sampel yang digunakan 1:100000;1:1000000;1:10000000 digojok sampai homogen dan diambil masing-masing 1 ml dan dituang secara aseptik dengan mediumnya ke dalam petridish, digoyang perlahan-lahan agar suspensi bahan dapat tercampur.
4. Inkubasi selama 2 hari pada suhu 35°C.
5. Menghitung koloni yang tumbuh pada masing-masing petridish.
6. Perhitungan :

$$\text{Jumlah mikroba} : \frac{\text{Jumlah koloni}}{\text{mg sampel}} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

3.6.2 Total Khamir dengan Plate Count Method (Hadioetomo,1993)

1. 1 g sampel (pulp kakao) diencerkan dengan 9 ml aquades dan dibuat pengenceran 1: 100; 1: 1000; 1: 10000; 1: 100000;1:1000000;1:10000000
2. Medium PDA diencerkan dalam penangas kemudian didinginkan sampai suhu 50°C
3. Sampel yang digunakan dengan pengenceran 1: 100000 ; 1:1000000 ; 1:10000000 digojok sampai homogen dan diambil masing-masing 1 ml dan dituang secara aseptik dengan mediumnya ditambah dengan oxytetracyclin ke dalam petridish, digoyang perlahan-lahan agar suspensi bahan dapat tercampur.
4. Inkubasi selama 2 hari pada suhu 35°C.
5. Menghitung koloni yang tumbuh pada masing-masing petridish.
6. Perhitungan :

$$\text{Jumlah mikroba} : \frac{\text{Jumlah koloni}}{\text{mg sampel}} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

3.6.3 Total Bakteri dengan Metode Hitungan Cawan (Hadioetomo, 1993)

1. 1 g sampel (pulp kakao) diencerkan dengan 9 ml aquades dan dibuat pengenceran 1: 100; 1: 1000; 1: 10000; 1: 100000; 1:1000000; 1:10000000
2. Medium PDA diencerkan dalam penangas kemudian didinginkan sampai suhu 50°C
3. Sampel yang digunakan dengan pengenceran 1: 100000 ; 1:1000000 ; 1:10000000 digojok sampai homogen dan diambil masing-masing 1 ml dan dituang secara aseptik dengan mediumnya ditambah dengan cycloheximide ke dalam petridish, digoyang perlahan-lahan agar suspensi bahan dapat tercampur.
4. Inkubasi selama 2 hari pada suhu 35°C.
5. Menghitung koloni yang tumbuh pada masing-masing petridish.
6. Perhitungan :

$$\text{Jumlah mikroba} : \frac{\text{Jumlah koloni}}{\text{mg sampel}} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

3.6.4 pH pulp dengan Metode AOAC (Anonim, 1996)

1. 5 g pulp kakao ditambah 45 ml aquades yang sudah dididihkan dan dihomogenkan menggunakan homoginizer selama 20 detik.
2. Campuran disaring menggunakan kertas Whatman no 4
3. pH larutan diukur menggunakan pH meter yang sudah dikalibrasi menggunakan buffer pH 4 dan pH 7.

3.6.5 pH kotiledon dengan Metode AOAC (Anonim, 1996)

1. 5 g biji kakao ditambah 45 ml aquades yang sudah dididihkan dan dihomogenkan menggunakan homoginizer selama 20 detik.
2. Campuran disaring menggunakan kertas Whatman no 4
3. pH larutan diukur menggunakan pH meter yang sudah dikalibrasi menggunakan buffer pH 4 dan pH 7.

3.6.6 Suhu Fermentasi

Diukur dengan menggunakan thermometer yang dimasukkan dalam bagian permukaan, tengah dan bawah biji kakao.

3.6.7 Total Asam dengan Metode AOAC (Anonim, 1996)

1. 5 g pulp kakao dilarutkan dalam aquades ke labu ukur 250 ml dan disaring.
2. Filtrat diambil 25 ml ditambah 2-3 tetes Phenol Phtalin (PP) dan dititrasi dengan NaOH 0,01 N sampai mencapai pH 8 (berwarna merah jambu).
3. Perhitungan :

$$\text{Kadar total asam} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM asam asetat} \times \text{FP}}{1000 \times \text{berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan :

- N = normalitas
BM = berat molekul
FP = faktor pengenceran

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Total Mikroba

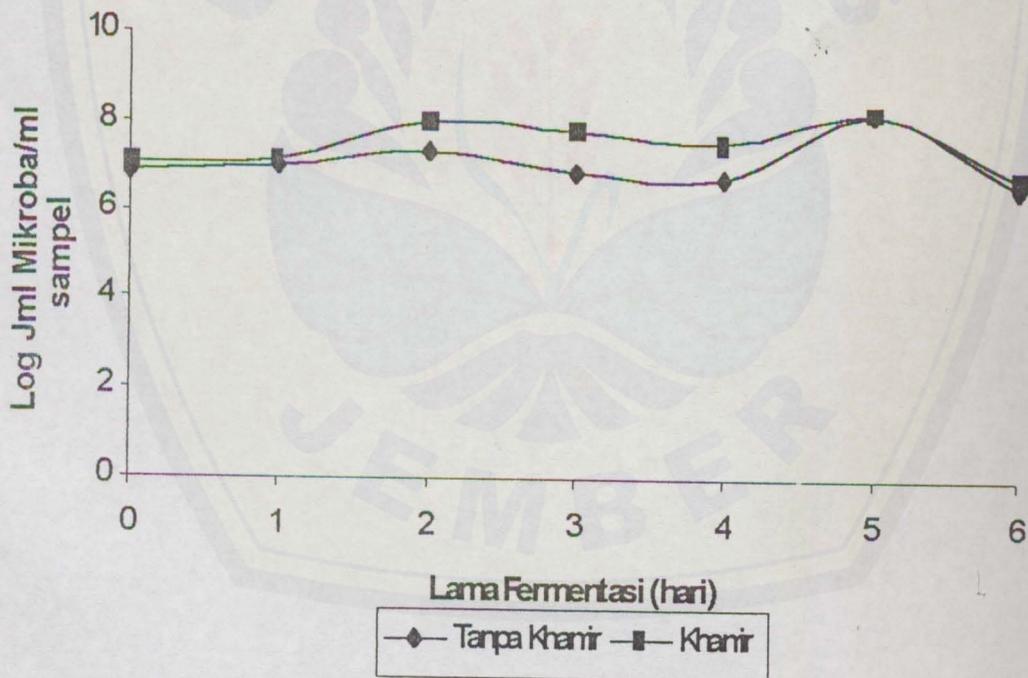
Pertumbuhan mikroba selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pertumbuhan mikroba selama fermentasi

Perlakuan	Logaritmik jml mikroba/ml sampel pada hari ke-						
	0	1	2	3	4	5	6
Tanpa Khamir	6.86	7.01	7.3	6.83	6.72	8.19	6.51
Khamir	7.02	7.1	8	7.8	7.15	8.178	6.69

Tabel 3 menunjukkan pertumbuhan mikroba pada fermentasi dengan penambahan khamir optimal pada hari ke 2 dan ke 5 sebesar 8 - 8,178.

Hasil pengamatan total mikroba selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik pertumbuhan mikroba selama fermentasi

Fermentasi dengan inokulasi khamir akan memperbanyak jumlah mikroba yang berperan dalam fermentasi bila dibandingkan kontrol. Meningkatnya jumlah mikroba menyebabkan aktivitasnya juga meningkat.

4.2 Total Khamir

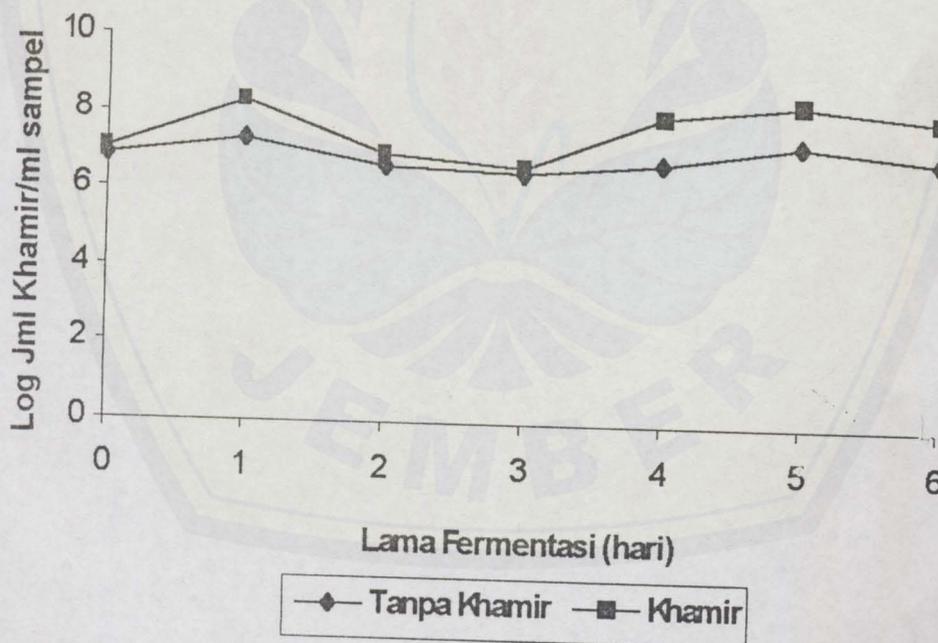
Pertumbuhan khamir selama fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pertumbuhan khamir selama fermentasi

Perlakuan	Logaritmik jml khamir/ml sampel pada hari ke-						
	0	1	2	3	4	5	6
Tanpa Khamir	6.82	7.33	6.65	6.48	6.77	7.28	6.95
Khamir	6.96	8.25	6.9	6.58	7.98	8.35	7.95

Tabel 4 menunjukkan pertumbuhan khamir optimal terjadi pada hari ke-1 dan hari ke-4 sebesar 8,25 dan 8,35.

Hasil pengamatan pertumbuhan khamir selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik pertumbuhan khamir selama fermentasi

Fermentasi dengan penambahan isolat khamir menyebabkan jumlah khamir yang berperan dalam fermentasi lebih banyak dari kontrol. Sehingga dapat mempercepat perombakan gula menjadi alkohol. Pada hari ke-1 terlihat

pertumbuhan khamir maksimum dan kemudian turun drastis yang disebabkan banyaknya khamir yang mati. Setelah khamir merombak gula menjadi alkohol menyebabkan peningkatan suhu dan aerasi pada biji sehingga khamir tidak dapat tumbuh. Anonim (1983) menyebutkan alkohol pada kadar diatas 5% volume hanya sedikit mempengaruhi aktifitas khamir dalam fermentasi. Tetapi adanya alkohol berantai panjang bersifat toksin. Umumnya aktifitas fermentasi terhenti bila kadar alkohol mencapai 12%-18% volume.

Kenaikan jumlah khamir pada hari ke-4 menunjukkan bahwa khamir yang tumbuh adalah khamir *aerophilik*. Menurut Forsyth & Rombouts dalam Rohan (1963), hari ke-3 fermentasi terjadi kerjasama antara bakteri asam asetat, khamir *aerophilik*, dan *Bacillus aerophilus*. Khamir *aerophilik* ini dapat tumbuh karena adanya konsentrasi gula yang rendah, kondisi yang sangat aerobik menyebabkan gula direspirasi menjadi CO₂ dan H₂O (Hadioetomo, 1993).

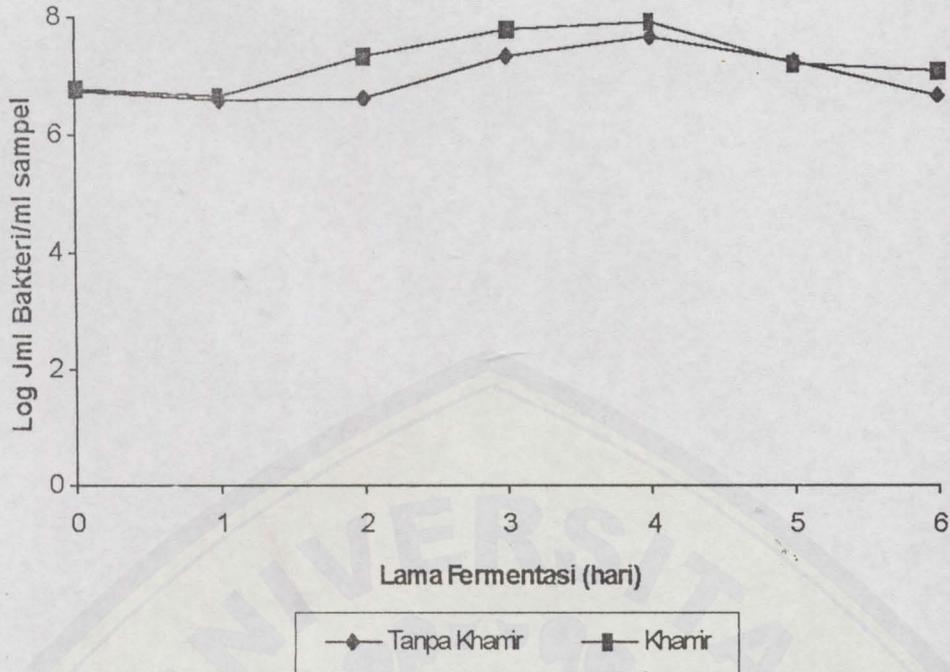
4.3 Total Bakteri

Fermentasi alkohol yang dilakukan oleh khamir pada fermentasi biji kakao menyebabkan pertumbuhan bakteri asam asetat lebih dominan daripada bakteri lain. Oleh sebab itu pengamatan pertumbuhan bakteri selama fermentasi diasumsikan sebagai pertumbuhan bakteri asam asetat. Pertumbuhan bakteri asam asetat selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pertumbuhan bakteri asam asetat selama fermentasi

Perlakuan	Logaritmik jumlah bakteri asam asetat pada hari ke-						
	0	1	2	3	4	5	6
Tanpa Khamir	6.73	6.56	6.6	7.32	7.67	7.26	6.67
Khamir	6.77	6.64	7.34	7.8	7.91	7.225	7.08

Tabel 5 menunjukkan pertumbuhan bakteri asam asetat optimal pada hari ke 3-4 sebesar 7,8-7,91. Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri asam asetat selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik pertumbuhan bakteri asam asetat selama fermentasi

Grafik diatas menunjukkan pertumbuhan bakteri maksimal terjadi pada hari 3-4. Jumlah bakteri asam asetat pada fermentasi dengan penambahan isolat khamir lebih banyak bila dibandingkan kontrol. Hal ini disebabkan dengan penambahan khamir menyebabkan pembentukan alkohol lebih cepat dan lebih banyak. Kondisi yang optimal (suhu dan aerasi) serta jumlah substrat yang lebih banyak menyebabkan pertumbuhan bakteri asam asetat lebih tinggi daripada kontrol.

4.4 Suhu Fermentasi

Hasil analisa sidik ragam perubahan suhu selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik ragam suhu selama fermentasi

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel		
					5%	1%	
Blok	2	0,15	0,07	0,78	ns	3,37	5,53
Perlakuan	13	606,71	46,67	492,92	**	2,125	2,91
Faktor A	1	33,70	33,70	355,90	**	4,22	7,72
Faktor B	6	539,93	89,99	950,46	**	2,47	3,59
Interaksi	6	33,08	5,51	58,23	**	2,47	3,59
Galat	26	2,46	0,095				
Total	41	609,32					

Keterangan :
 *** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Berbeda tidak nyata

Tabel 6 menunjukkan bahwa masing-masing faktor mempunyai pengaruh yang nyata terhadap suhu fermentasi sehingga perlu dilakukan uji lanjutan.

Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap suhu fermentasi dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap suhu

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A1	34,83	1	a
A0	33,03	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Hasil uji Tukey menunjukkan kedua perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda, fermentasi dengan inokulasi khamir mempunyai nilai lebih besar dari kontrol yaitu 34,83. Menurut Lopez (1986) dalam Susijahadi *et al* (1998), khamir merombak gula menjadi alkohol dan CO₂ serta dapat memecah asam sitrat menjadi asam laktat dan asam asetat. Reaksinya bersifat eksotermis sehingga juga menghasilkan panas. Fermentasi dengan inokulasi khamir menyebabkan perubahan kimia dalam pulp cepat berlangsung bersamaan dengan kenaikan suhu

selama fermentasi. Karena dengan bertambahnya jumlah mikroba maka aktivitas metabolismenya juga semakin tinggi.

Pengaruh lama fermentasi terhadap perubahan suhu dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap suhu

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
B6	38.52	1	a
B5	38.13	2	a
B4	36.77	3	b
B3	33.03	4	c
B2	31.67	5	d
B1	30.57	6	e
B0	28.83	7	f

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak Nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Dari Tabel 8 dapat dilihat, bahwa dengan bertambahnya waktu fermentasi maka semakin banyak terjadi reaksi kimia di dalam pulp dimana ditunjukkan dengan kenaikan suhu selama fermentasi.

Pengaruh interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap suhu fermentasi dapat dilihat pada Tabel 9.

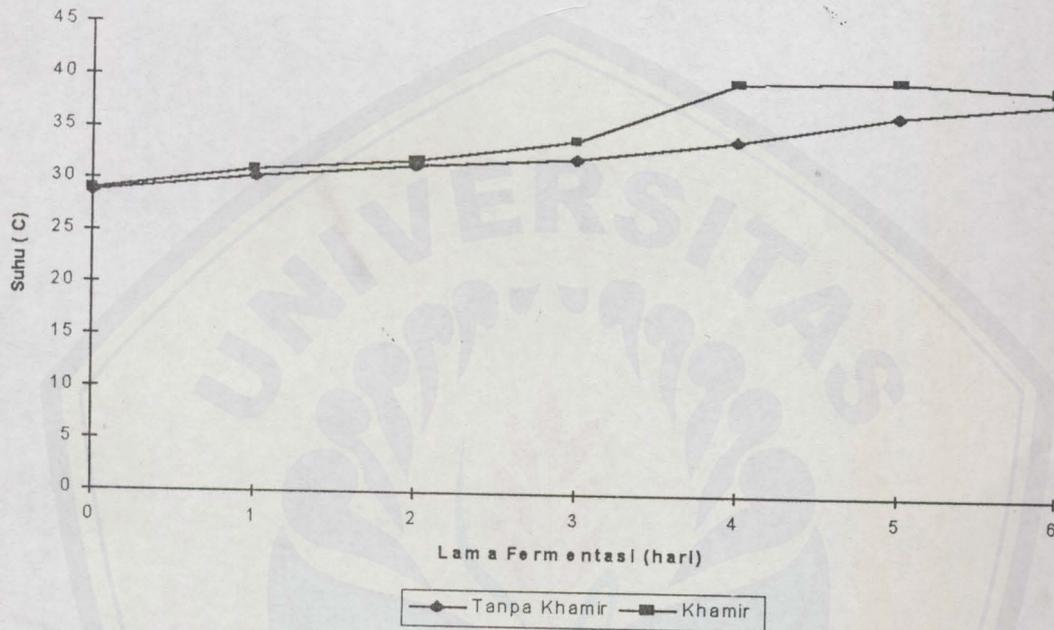
Tabel 9. Hasil uji Tukey interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap suhu

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A1B5	39.77	1	a
A1B4	39.47	2	a
A1B6	39.12	3	a
A0B6	37.91	4	b
A0B5	36.5	5	c
A0B4	34.07	6	d
A1B3	33.85	7	d
A0B3	32.21	8	e
A1B2	31.87	9	e
A0B2	31.47	10	ef
A1B1	30.87	11	fg
A0B1	30.27	12	g
A1B0	28.84	13	h
A0B0	28.82	14	h

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak Nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Tabel 9 menunjukkan interaksi kedua faktor penelitian memberikan pengaruh yang nyata terhadap suhu fermentasi. Suhu maksimal terjadi pada hari ke-5 sebesar $39,77^{\circ}\text{C}$ yang ditunjukkan pada perlakuan A1B5.

Hasil pengamatan suhu selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 1. Grafik perubahan suhu selama fermentasi

Perbedaan suhu fermentasi terjadi pada hari 3-6 yang menunjukkan bahwa perubahan-perubahan kimia dalam pulp lebih cepat terjadi pada fermentasi dengan inokulasi khamir daripada kontrol. Kedua perlakuan menunjukkan pola kenaikan yang sama. Hal ini disebabkan karena reaksi kimia dalam pulp bersifat eksotermis dimana juga menghasilkan panas. Menurut Haryadi & Supriyanto (1991), reaksi-reaksi dalam fermentasi kakao bersifat eksotermis yaitu perubahan-perubahan gula menjadi alkohol oleh khamir dan alkohol menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat.

4.5 pH Pulp

Hasil analisa sidik ragam perubahan pH pulp selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Sidik ragam pH pulp selama fermentasi

Sumber Keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Blok	2	0,0005	0,0003	0,12	ns	3,37 5,53
Perlakuan	13	2,50	0,19	89,87	**	2,125 2,91
Faktor A	1	0,098	0,098	45,82	**	4,22 7,72
Faktor B	6	2,19	0,37	170,66	**	2,47 3,59
Interaksi	6	0,21	0,04	16,41	**	2,47 3,59
Galat	26	0,056	0,002			
Total	41	2,56				

Keterangan :
 ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Berbeda tidak nyata

Dari Tabel 10 dapat dilihat masing-masing faktor memberikan pengaruh nyata terhadap pH pulp selama fermentasi, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan.

Pengaruh faktor pemberian khamir terhadap pH pulp dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap pH pulp

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A1	4,299048	1	a
A0	4,202381	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Penambahan khamir pada fermentasi biji kakao menyebabkan nilai pH pulp lebih tinggi dari kontrol, karena dengan semakin banyaknya jumlah khamir maka jumlah asam sitrat yang dirubah menjadi asam asetat dan asam laktat.

Pengaruh lama fermentasi terhadap pH pulp dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap pH pulp

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
B5	4,53	1	a
B6	4,53	2	a
B4	4,402	3	b
B3	4,25	4	c
B2	4,12	5	d
B0	4,02	6	e
B1	3,91	7	f

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Tabel 12 menunjukkan pH pulp semakin meningkat dengan bertambahnya lama fermentasi. Menurut Roelofsoen dalam Rohan (1963), kenaikan pH pulp selama fermentasi biji kakao disebabkan karena konsumsi asam sitrat oleh khamir dan bakteri asam laktat menjadi asam laktat dan asam asetat.

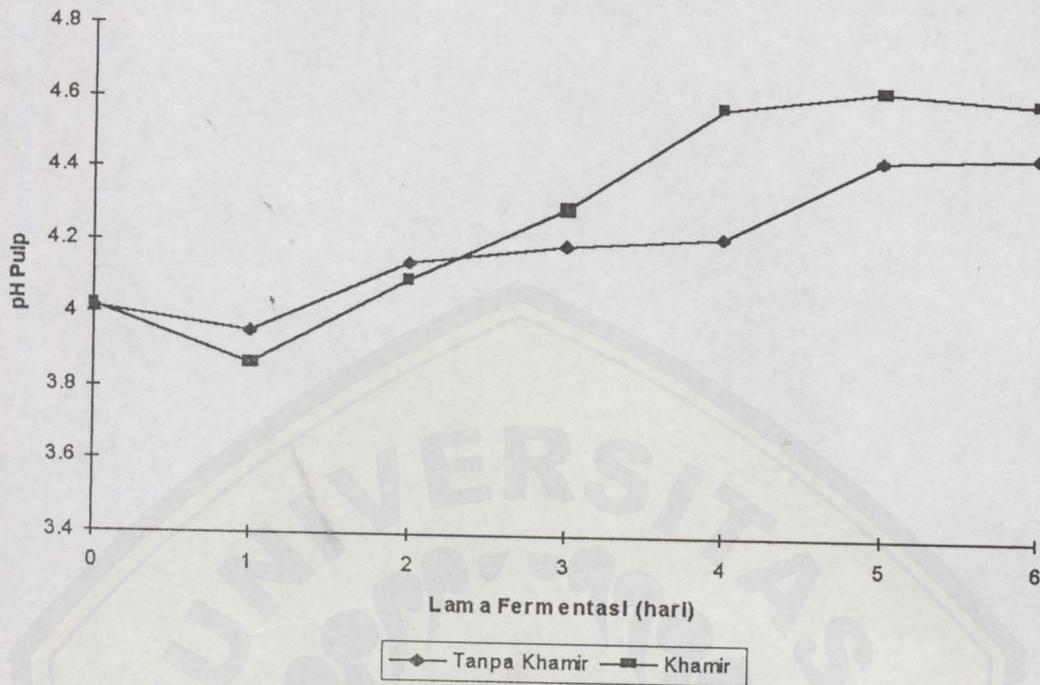
Pengaruh interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pH pulp dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji Tukey interaksi penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pH pulp

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A1B5	4.63	1	a
A1B6	4.597	2	a
A1B4	4.58	3	ab
A0B6	4.45	4	bc
A0B5	4.44	5	cd
A1B3	4.3	6	de
A0B4	4.22	7	ef
A0B3	4.19	8	ef
A0B2	4.14	9	fg
A1B2	4.1	10	fg
A1B0	4.02	11	gh
A0B0	4.01	12	gh
A0B1	3.95	13	hi
A1B1	3.87	14	i

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Tabel 13 menunjukkan pH pulp maksimal terjadi pada hari ke-5 sebesar 4,63. Hasil pengamatan pH pulp selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik perubahan pH pulp selama fermentasi

Nilai pH pulp pada fermentasi dengan inokulasi khamir terjadi kenaikan drastis dimulai hari 1-5 bila dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan fermentasi dengan penambahan khamir mempunyai aktivitas mikroba lebih tinggi dalam merombak asam sitrat bila dibandingkan kontrol. Jumlah mikroba yang berperan dalam fermentasi lebih banyak menyebabkan kecepatan merobak substrat lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol. Kedua perlakuan menunjukkan pola kenaikan yang sama sebab selama fermentasi terjadi konsumsi asam sitrat oleh khamir dan bakteri asam laktat menjadi asam laktat dan asam asetat.

4.6 pH Kotiledon

Hasil analisa sidik ragam pH kotiledon selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Sidik ragam pH kotiledon selama fermentasi

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Blok	2	0,004	0,002	0,57	ns	3,37	5,53
Perlakuan	13	23,76	1,83	523,74	**	2,125	2,91
Faktor A	1	0,20	0,20	56,98	**	4,22	7,72
Faktor B	6	23,50	3,92	1122,32	**	2,47	3,59
Interaksi	6	0,062	0,01	2,95	*	2,47	3,59
Galat	26	0,09	0,0035				
Total	41	23,86					

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
* Berbeda nyata
ns Berbeda tidak nyata

Dari Tabel 14 dapat dilihat masing-masing faktor memberikan pengaruh nyata terhadap nilai pH kotiledon selama fermentasi. Oleh sebab itu perlu dilakukan uji lanjutan.

Pengaruh pemberian khamir terhadap pH kotiledon dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap pH kotiledon

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A0	5,30	1	a
A1	5,16	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Fermentasi dengan penambahan khamir mempunyai pH kotiledon yang lebih rendah dari kontrol yaitu 5,16. Hal ini disebabkan dengan jumlah mikroba yang lebih besar maka aktivitas dalam merombak substrat semakin cepat daripada kontrol. Akibatnya asam asetat dalam pulp cepat terbentuk sehingga penetrasi ke dalam biji lebih cepat dibandingkan kontrol. Menurut Schwan *et al* (1995), selama fermentasi biji kakao hasil metabolisme akan masuk kedalam biji dan menstimulir reaksi biokimia dalam kotiledon..

Pengaruh lama fermentasi terhadap pH kotiledon dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap pH kotiledon

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
B0	6,35	1	a
B1	6,11	2	b
B2	5,54	3	c
B3	5,21	4	d
B4	4,68	5	e
B5	4,38	6	f
B6	4,35	7	f

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Semakin lama fermentasi maka pH kotiledon semakin rendah untuk kedua perlakuan. Hal ini disebabkan karena jumlah asam asetat yang berpenetrasi ke dalam biji kakao semakin banyak. Penetrasi asam asetat ini menyebabkan biji mati sehingga akan terjadi perubahan secara enzimatik dalam biji.

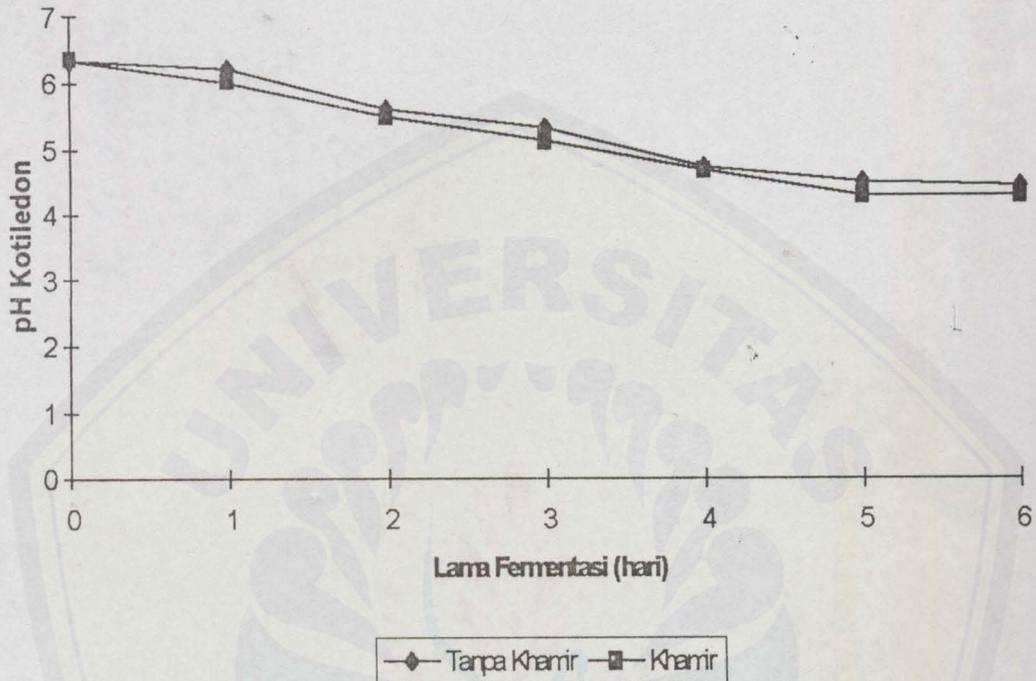
Interaksi pengaruh penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pH kotiledon dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Hasil uji Tukey interaksi penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pH kotiledon

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A0B0	6.35	1	a
A1B0	6.35	2	a
A0B1	6.22	3	a
A1B1	5.997	4	b
A0B2	5.6	5	c
A1B2	5.47	6	cd
A0B3	5.3	7	de
A1B3	5.12	8	e
A0B4	4.72	9	f
A1B4	4.65	10	fg
A0B5	4.49	11	gh
A0B6	4.41	12	hi
A1B6	4.28	13	i
A1B5	4.26	14	i

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Tabel 17 menunjukkan pH kotiledon terendah pada hari ke-5 dan ke-6 yaitu antara 4,26 sampai dengan 4,28. Hasil pengukuran pH kotiledon selama fermentasi untuk kedua perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik perubahan pH kotiledon selama fermentasi

Dari Gambar 6 dapat dilihat pola penurunan pH kotiledon antara kontrol dengan perlakuan sama. Fermentasi dengan penambahan isolat khamir mempunyai nilai yang lebih rendah bila dibandingkan kontrol yang disebabkan karena dengan penambahan khamir pemecahan gula menjadi alkohol lebih cepat terjadi sehingga pembentukan asam asetat cepat. Hal ini menyebabkan asam asetat yang terdapat pada pulp cepat berpenetrasi ke dalam biji kakao. Menurut Quesnel *et al* (1995), penetrasi asam asetat ke dalam biji dan adanya panas menyebabkan kematian biji. Kematian biji ini menyebabkan penghalang biologis yang memisahkan antara substrat dan enzim rusak sehingga komponen sel mudah bercampur dengan mudah. Etanol, asam-asam dan air berdifusi ke dalam kotiledon berupa larutan dan berpindah ke bagian sisi aktif enzim. Masuknya

oksigen ke dalam biji menyebabkan reaksi enzim oksidatif dimulai, hasil reaksi ini berupa pencoklatan kotiledon.

4.7 Total Asam

Akibat adanya pertumbuhan mikroba pada pulp biji kakao selama fermentasi terbentuk beberapa macam asam, disamping adanya asam-asam yang secara alami terdapat dalam pulp. Tetapi asam yang dominan di dalam pulp dan menyebabkan keasaman biji yaitu asam asetat (Sulistyowati, 1988). Oleh sebab itu pengamatan penelitian terhadap total asam diasumsikan sebagai asam asetat.

Hasil analisa sidik ragam pembentukan asam asetat selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Sidik ragam asam asetat selama fermentasi

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Blok	2	0,003	0,0013	0,96	ns	3,37	5,53
Perlakuan	13	10,22	0,79	593,70	**	2,125	2,91
Faktor A	1	0,108	0,108	81,66	**	4,22	7,72
Faktor B	6	10,03	1,67	1262,69	**	2,47	3,59
Interaksi	6	0,08	0,013	10,06	**	2,47	3,59
Galat	26	0,03	0,001				
Total	41	10,26					
Keterangan :	**	Berbeda sangat nyata					
	*	Berbeda nyata					
	ns	Berbeda tidak nyata					

Tabel 18 menunjukkan masing-masing faktor menunjukkan berbeda nyata terhadap pembentukan asam asetat di dalam pulp, sehingga diperlukan uji lanjutan.

Pengaruh pemberian khamir terhadap pembentukan asam asetat dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 19. Hasil uji Tukey pengaruh penambahan khamir terhadap pembentukan asam asetat

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A1	1,011	1	a
A0	0,91	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Fermentasi dengan inokulasi khamir mempunyai nilai rata-rata yang lebih tinggi dari kontrol yaitu 1,011 menunjukkan bahwa dengan penambahan khamir memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada pembentukan asam asetat. Semakin tinggi jumlah alkohol yang dihasilkan oleh khamir maka akan berpengaruh pula terhadap jumlah asam asetat yang dihasilkan oleh bakteri asam asetat. Menurut Schwan *et al* (1995), asam asetat terbentuk dalam pulp melalui proses oksidasi alkohol yang dilakukan oleh bakteri asam asetat.

Pengaruh lama fermentasi terhadap pembentukan asam asetat dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 20. Hasil uji Tukey pengaruh lama fermentasi terhadap pembentukan asam asetat

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
B5	1,54	1	a
B6	1,49	2	a
B4	1,32	3	b
B3	1,12	4	c
B2	0,52	5	d
B1	0,39	6	e
B0	0,34	7	e

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Semakin lama fermentasi berlangsung maka jumlah asam asetat yang dihasilkan semakin banyak dan pada akhir fermentasi hari ke-6. Jumlah asam asetat menurun sesuai dengan kemampuan bakteri asam asetat untuk mengoksidasi asam tersebut. Selain itu juga disebabkan karena jumlah alkohol menurun.

Interaksi antara penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pembentukan asam asetat dapat dilihat pada Tabel 21.

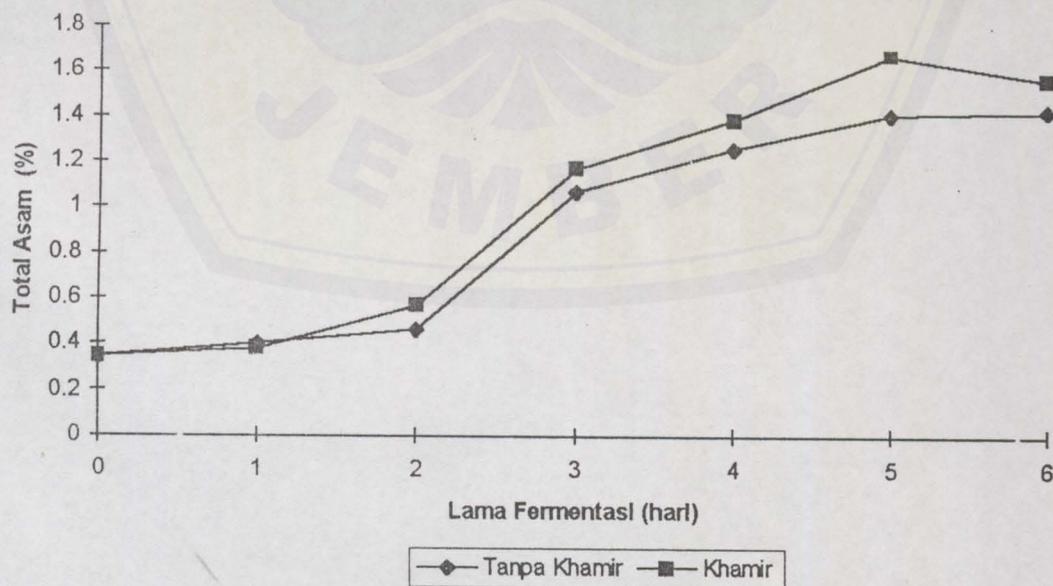
Tabel 21. Hasil uji Tukey interaksi penambahan khamir dengan lama fermentasi terhadap pembentukan asam asetat

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
A1B5	1.67	1	a
A1B6	1.56	2	a
A0B6	1.42	3	b
A0B5	1.41	4	b
A1B4	1.38	5	b
A0B4	1.25	6	c
A1B3	1.17	7	cd
A0B3	1.1	8	d
A1B2	0.57	9	e
A0B2	0.46	10	ef
A0B1	0.4	11	fg
A1B1	0.38	12	fg
A0B0	0.34	13	g
A1B0	0.34	14	g

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 5%.

Tabel 21 menunjukkan interaksi kedua faktor untuk masing-masing perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap pembentukan asam asetat. Jumlah asam asetat maksimal terjadi pada perlakuan A1B5 sebesar 1,67 %.

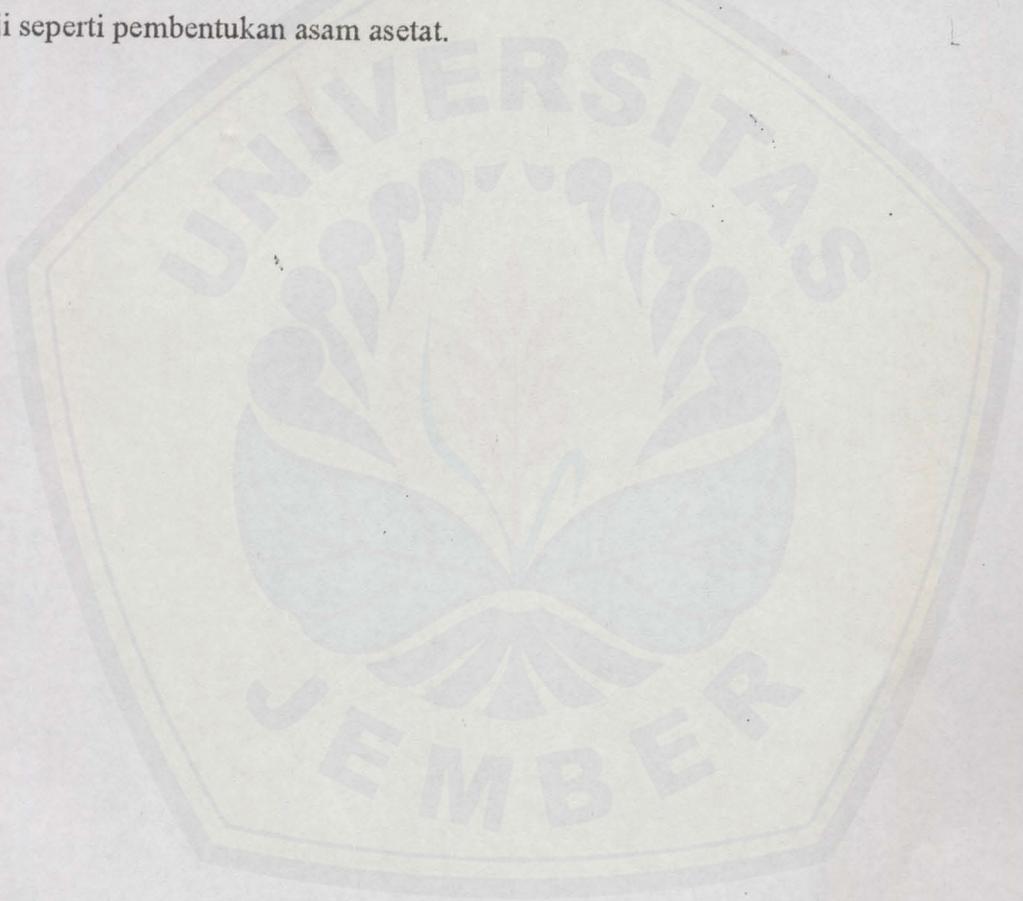
Hasil pengamatan asam asetat selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik hubungan antara asam asetat dengan lama fermentasi

Selama fermentasi kenaikan jumlah asam asetat untuk kedua perlakuan menunjukkan pola yang sama. Fermentasi dengan inokulasi khamir menunjukkan jumlah asam asetat lebih tinggi dari kontrol. Hal ini sesuai dengan hipotesa penelitian yang dimiliki.

Dari Gambar 1 sampai 7 dapat dilihat hasil penelitian sesuai dengan hipotesa penelitian. Fermentasi dengan penambahan khamir akan menyebabkan perbedaan komposisi dari mikroba yang berperan dalam fermentasi. Hal ini mempengaruhi kemampuan mikroba dalam melakukan reaksi-reaksi kimia dalam biji seperti pembentukan asam asetat.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan yang dapat diambil adalah :

1. Penambahan isolat khamir pada fermentasi kakao mempengaruhi pertumbuhan mikroba.
2. Logaritmik jumlah mikroba/ml sampel untuk total mikroba optimal terjadi pada hari ke-2 dan ke-5 sebesar 8-8,178; khamir optimal pada hari ke-1 dan ke-5 sebesar 8,25 dan 8,35 ; bakteri asam asetat optimal pada hari ke 3-4 sebesar 7,8-7,91.
3. Penambahan isolat khamir pada fermentasi menyebabkan pembentukan asam asetat sehingga jumlah asam asetat yang terbentuk lebih tinggi daripada kontrol.
4. Jumlah asam asetat tertinggi yaitu 1,67% yang dapat dicapai pada hari ke-5.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan isolat khamir terhadap mutu biji kering yang dihasilkan sehingga diketahui akhir fermentasi yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1990, *Official Methods of Analysis*, 15th ed, Association Official Analytical Chemists, Washington
- Anonim, 1993, *Statistik Perkebunan Indonesia, Kakao*, Departemen Kehutanan dan Perkebunan, Jakarta
- Alamsyah, T.S dan P.M Nalbaho, 1991, *Pengaruh Pengempaan Sebelum Fermentasi, Pengadukan dan Waktu Fermentasi Terhadap Mutu Biji Kakao Kering*, Konferensi Nasional III, Medan
- Atmawinata O, 1994, *Strategi Penanggulangan Hama Penggerek Buah Kakao di Indonesia*, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember.
- Aziz, M.F, 1996, *Upaya Peningkatan Mutu Biji Kakao Rakyat Melalui Sentralisasi Pengolahan*, Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember.
- Chatt, E.M, 1953, *Cocoa Cultivation Processing and Analysis*, The British Food Manufacturing Industry, London
- Effendi S., 1990, *Pedoman Pengolahan Biji Kakao*, Pusat Penelitian Perkebunan Bogor, Bogor
- Effendi S., 1994, *Pengaruh Aerasi Selama Fermentasi Terhadap Keasaman dan Pembentukan Asam Lemak Volatil Pada Biji Kakao*, Pusat Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor
- Hadioetomo, R.S, 1993, *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*, Gramedia, Jakarta
- Hardjosuwito B, Y. Away, & Hermansyah, 1985, "*Pengolahan Coklat Rakyat di Indonesia dan Perkembangannya*", *Menara Perkebunan*, 53 (6).p.220-224
- Haryadi dan Supriyanto, 1991, *Bahan Ajaran Pengolahan Kakao menjadi Bahan Makanan*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta
- Heddy S, 1990, *Budidaya Tanaman Coklat*, Angkasa, Bandung
- Jinap, S, 1994, *Organic Acids in Cocoa Beans*, Departement of food Science, University Pertanian Malaysia
- Knapp, A.W, 1937, *Cacao Fermentation*, John Bale, Sons and Carnov, London

Digital Repository Universitas Jember

- Mansyur Z & Soenaryo, 1978; *Pengolahan Coklat pada Perkebunan Besar*, Balai Penelitian Perkebunan Bogor, Sub Balai Penelitian Perkebunan, Jember
- Minifie, B.W, 1980, *Chocolate, Cocoa and Confectionery : Science and Technology*, AVI Publishing Company, Westport
- Mutmainah, 1999, *Kombinasi Jenis Khamir yang Dominan dalam Merubah Gula menjadi Alkohol selama Fermentasi Biji Kakao (Theobroma cacao L.)*, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, Jember
- Nasution Z., W. Ciptadi & B.S Laksmi, 1976, *Pengolahan Coklat*, Departemen Teknologi Fatemeta-IPB, Bogor
- Ostovar, K & P.G Keeney, 1973, *Isolation and Characterization of Microorganisms Involved in The Fermentation of Trinidad's Cacao Beans*, *Journal of Food Science*.38
- Rohan, A.T., 1963, *Processing of Raw Cocoa for Market*, Food & Agricultural, UNO, Roma
- Said, M.B. 1987, "Over Fermentation of Cocoa Beans and Its Effect on Quality", In Paper Presented FAMAMCGC Workshop on Cocoa Quality and Grading, Kuala Lumpur on 17 th.
- Schiegel, H.G & Schmidt, 1984, *Mikrobiologi Umum*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta
- Schwan, R.F, A.H Roset and R.G Board, 1995, "Microbial Fermentation of Cocoa Beans, with Emphasis on Enzymatic Degradation of The Pulp", *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*.79.p.965-1075, Brazil
- Sudarmadji, Harijono, S, Suhadi, B, 1976, *Prosedur Analisa Bahan Makanan & Pertanian*, Liberty, Yogyakarta
- Sulistiyowati, 1988, "Keasaman Biji kakao dan Masalahnya", *Pelita Perkebunan*.3(4).p.151-158
- Susijahadi, Wahyudi, T, Unus, A. Santoso & Jinap, S., 1998, *Effect of Frequency Turning on Acetic Acid During Cocoa Bean Fermentation*, Proceeding International Cocoa Conference, Kuala Lumpur
- Susijahadi & Jinap, S, 1998, *Isolation of Yeast in Alcohol Fermentation from Fermented Cocoa Beans (Theobroma cacao L.)*, Proceeding Malaysia Science & Technology Congress, Trengganu Darul Imam, Malaysia

Wahyudi T, 1987, "*Teknologi Pengolahan Untuk Menghasilkan Kakao Bermutu Baik dan Usaha Diversifikasi Produk*", *Pelita Perkebunan* 2(4).p.159-165

Wood.G.A.R.,& Lass.R.A., 1985, *Cocoa*, Longman

Utami, K.P., 1995, *Prospek Kakao Indonesia di Amerika Serikat*, Trubus Thn. XXXVI : 83-86



Lampiran 1.

1. Tabel Data Pengamatan Suhu Fermentasi

Hari	Suhu (°C)	
	kontrol	Perlakuan
0	28.82	28.84
1	30.27	30.87
2	31.47	31.87
3	32.21	33.85
4	34.07	39.47
5	36.5	39.77
6	37.91	39.12

2. Tabel Data pH Pulp selama Fermentasi

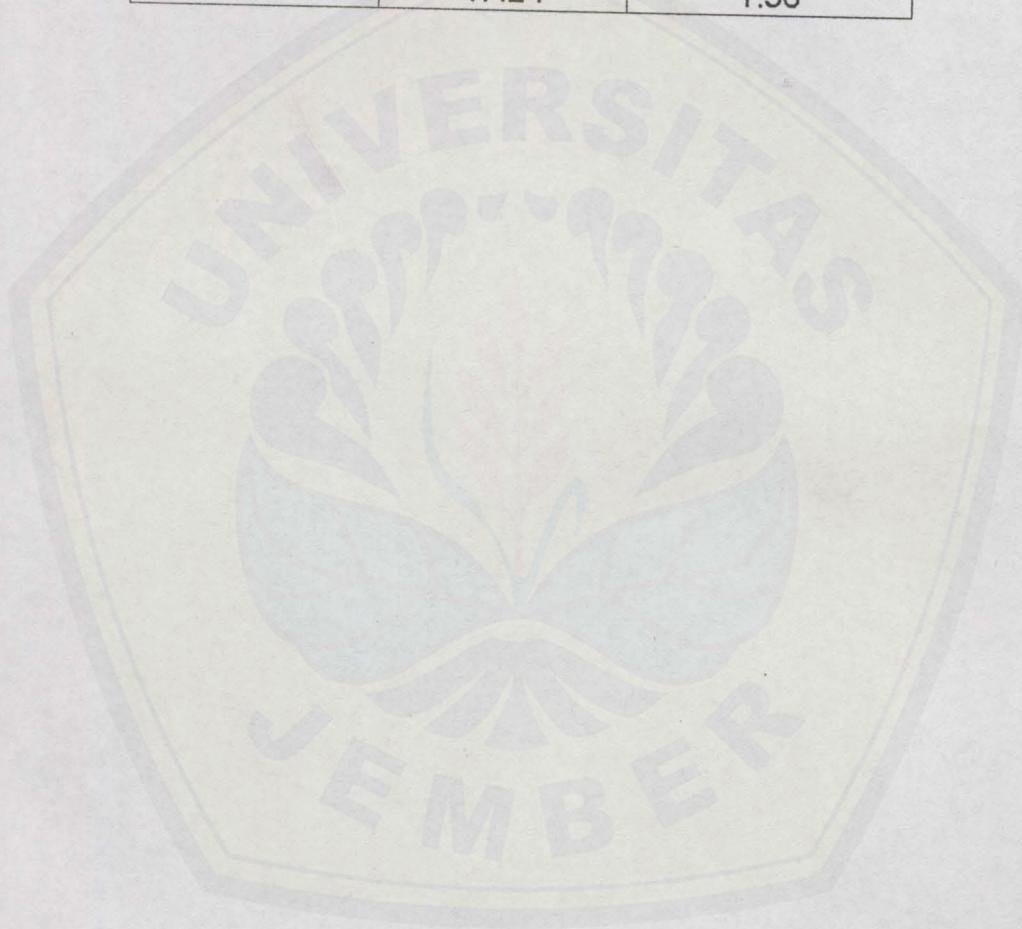
Hari	pH Pulp	
	Kontrol	Perlakuan
0	4.01	4.02
1	3.95	3.87
2	4.14	4.1
3	4.19	4.3
4	4.22	4.58
5	4.44	4.63
6	4.45	4.6

3. Tabel Data pH Kotiledon selama Fermentasi

Hari	pH Kotiledon	
	Kontrol	Perlakuan
0	6.35	6.35
1	6.22	6
2	5.6	5.47
3	5.3	5.12
4	4.72	4.65
5	4.5	4.26
6	4.41	4.28

4. Tabel Data Total Asam selama Fermentasi

Hari	Asam Asetat	
	Kontrol	Perlakuan
0	0.344	0.344
1	0.404	0.28
2	0.464	0.568
3	1.068	1.172
4	1.255	1.38
5	1.408	1.67
6	1.424	1.56



Lampiran 5. Tabel Data Pengamatan Total Mikroba

Hari	Ulangan	Kontrol		rerata	Jml mikroba/g pulp	Perlakuan		rerata
		Jml mikroba/g pulp				Jml mikroba/g pulp	Log mikroba jml/g pulp	
0	1	< 3,0 x 10 ⁶	6.48			3,6 x 10 ⁶	6.56	
	2	< 3,0 x 10 ⁷	7.48	6.86		7,1 x 10 ⁶	6.85	7.02
	3	4,2 x 10 ⁶	6.62			4,4 x 10 ⁷	7.64	
1	1	5,9 x 10 ⁶	6.77			2,3 x 10 ⁷	7.36	
	2	6,2 x 10 ⁶	6.79	7.01		1,15 x 10 ⁷	7.06	7.1
	3	< 3,0 x 10 ⁷	7.48			7,14 x 10 ⁶	6.87	
2	1	3,6 x 10 ⁷	7.56			7,6 x 10 ⁷	7.88	
	2	6,0 x 10 ⁶	6.8	7.3		7,1 x 10 ⁷	7.85	8
	3	3,4 x 10 ⁷	7.56			1,94 x 10 ⁸	8.28	
3	1	9,0 x 10 ⁶	6.95			< 3,0 x 10 ⁷	7.48	
	2	3,1 x 10 ⁶	6.49	6.83		< 3,0 x 10 ⁸	8.48	7.81
	3	1,11 x 10 ⁷	7.04			< 3,0 x 10 ⁷	7.48	
4	1	5,3 x 10 ⁶	6.72			1,58 x 10 ⁷	7.2	
	2	8,6 x 10 ⁶	6.93	6.72		7,5 x 10 ⁶	6.88	7.15
	3	3,2 x 10 ⁶	6.5			2,41 x 10 ⁷	7.38	
5	1	3,0 x 10 ⁶	8.48			7,7 x 10 ⁷	7.89	
	2	5,7 x 10 ⁷	7.76	8.19		4,4 x 10 ⁸	8.004	8.178
	3	3,0 x 10 ⁸	8.33			1,01 x 10 ⁸	8.64	
6	1	< 3,0 x 10 ⁶	6.48			4,0 x 10 ⁶	6.6	
	2	< 3,0 x 10 ⁶	6.48	6.51		< 3,0 x 10 ⁶	6.48	6.69
	3	3,7 x 10 ⁶	6.57			1,00 x 10 ⁷	7	

Lampiran 6. Tabel Data Pengamatan jumlah Khamir

Hari	Ulangan	Kontrol			Perlakuan		
		Jml mikroba/g pulp	Log jml mikroba/g pulp	rerata	Jml mikroba/g pulp	Log jumlah mikroba/g pulp	rerata
0	1	$3,7 \times 10^6$	6.56		$1,7 \times 10^7$	7.23	
	2	$1,53 \times 10^7$	7.18	6.82	$9,3 \times 10^6$	6.97	6.96
	3	$5,4 \times 10^6$	6.73		$4,7 \times 10^6$	6.67	
1	1	$3,3 \times 10^7$	6.48		$3,0 \times 10^8$	8.48	
	2	$1,53 \times 10^7$	6.48	7.33	$1,76 \times 10^8$	8.25	8.25
	3	$2,0 \times 10^7$	6.48		$1,07 \times 10^8$	8.03	
2	1	$9,5 \times 10^6$	6.98		$6,7 \times 10^6$	6.83	
	2	$8,1 \times 10^6$	6.91	6.65	$5,7 \times 10^6$	6.76	6.9
	3	$3,6 \times 10^6$	6.06		$1,28 \times 10^7$	6.107	
3	1	$<3,0 \times 10^6$	6.48		$4,7 \times 10^6$	6.67	
	2	$<3,0 \times 10^6$	6.48	6.48	$3,8 \times 10^6$	6.58	6.58
	3	$<3,0 \times 10^6$	6.48		$<3,0 \times 10^6$	6.48	
4	1	$6,1 \times 10^6$	6.79		$8,9 \times 10^7$	7.95	
	2	$8,6 \times 10^6$	6.93	6.77	$3,3 \times 10^7$	7.52	7.98
	3	$4,0 \times 10^6$	6.6		$<3,0 \times 10^8$	8.48	
5	1	$5,4 \times 10^7$	7.73		$3,9 \times 10^8$	8.59	
	2	$3,8 \times 10^6$	6.53	7.28	$<3,0 \times 10^8$	8.48	8.35
	3	$3,4 \times 10^7$	7.53		$9,3 \times 10^7$	7.97	
6	1	$3,4 \times 10^6$	6.53		$<3,0 \times 10^8$	8.48	
	2	$<3,0 \times 10^6$	6.48	6.95	$<3,0 \times 10^7$	7.48	7.95
	3	$7,1 \times 10^7$	7.85		$7,5 \times 10^7$	7.88	

Tabel 7. Tabel Data Pengamatan jumlah Bakteri Asam Asetat

Hari	Ulangan	Kontrol			Perlakuan		
		Jml mikroba/g pulp	Log jml mikroba/g pulp	rerata	Jml mikroba/g pulp	Log jml mikroba/g pulp	rerata
0	1	1,52 x 10 ⁷	7.18		<3,0 x 10 ⁶	6.48	
	2	3,4 x 10 ⁶	6.53	6.73	3,3 x 10 ⁶	6.52	6.77
	3	<3,0 x 10 ⁶	6.48		2,07 x 10 ⁷	7.32	
1	1	5,2 x 10 ⁶	6.59		<3,0 x 10 ⁶	6.48	
	2	<3,0 x 10 ⁶	6.48	6.56	9,1 x 10 ⁶	6.96	6.64
	3	<3,0 x 10 ⁶	6.48		<3,0 x 10 ⁶	6.48	
2	1	3,7 x 10 ⁶	6.59		6,0 x 10 ⁷	7.78	
	2	4,8 x 10 ⁶	6.68	6.6	3,2 x 10 ⁶	6.51	7.34
	3	3,4 x 10 ⁶	6.53		5,4 x 10 ⁷	7.73	
3	1	1,0 x 10 ⁷	7		5,2 x 10 ⁷	7.72	
	2	<3,0 x 10 ⁷	7.48	7.32	1,82 x 10 ⁸	8.21	7.8
	3	<3,0 x 10 ⁷	7.48		<3,0 x 10 ⁷	7.48	
4	1	5,0 x 10 ⁷	7.7		1,25 x 10 ⁷	7.01	
	2	3,9 x 10 ⁷	7.59	7.67	3,0 x 10 ⁸	8.48	7.91
	3	5,9 x 10 ⁷	7.72		1,78 x 10 ⁸	8.25	
5	1	6,5 x 10 ⁷	7.81		4,0 x 10 ⁷	7.6	
	2	<3,0 x 10 ⁷	7.48	7.26	3,7 x 10 ⁷	7.57	7.225
	3	<3,0 x 10 ⁶	6.48		3,2 x 10 ⁶	6.505	
6	1	4,2 x 10 ⁶	6.62		1,27 x 10 ⁷	7.1	
	2	3,5 x 10 ⁶	6.54	6.67	4,7 x 10 ⁶	6.67	7.08
	3	7,2 x 10 ⁶	6.86		<3,0 x 10 ⁷	7.48	