



**PROFIL MIKROFLORA DAN KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA BIJI
KAKAO DARI KABUPATEN SOLOK YANG DIFERMENTASI DENGAN
PERBEDAAN JENIS STARTER DAN LAMA INKUBASI**

SKRIPSI

Oleh:

Devita Nurinsani

151710101093

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**PROFIL MIKROFLORA DAN KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA BIJI
KAKAO DARI KABUPATEN SOLOK YANG DIFERMENTASI DENGAN
PERBEDAAN JENIS STARTER DAN LAMA INKUBASI**

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi
Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

Devita Nurinsani

NIM 151710101093

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, penulis panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang serta sholawat kepada Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih yang tidak terkira kepada :

1. Ayah Mudasir dan Ibu Sumiyati yang sangat saya sayangi dan cintai. Terima kasih selalu memberi kepercayaan dan dukungan kepada anakmu ini. Penulis merasa sangat beruntung, bahagia dan bangga berada diantara Ayah dan Ibu.
2. Dr. rer. nat. Fahrurrozi Izzudin, M.Si yang telah memberikan kesempatan dan dukungan baik waktu, pikiran dan perhatian kepada penulis untuk melakukan penelitian dan juga memberikan bimbingan, koreksi dan saran pada penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Jayus yang telah memberikan bimbingan, koreksi, saran, dan segala bantuan yang diberikan dalam menyempurnakan karya tulis ilmiah ini.
4. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

Tuhan menaruhmu di tempat sekarang bukan karena kebetulan. Orang hebat tidak dihasilkan melalui kemudahan, kesenangan dan kenyamanan. Mereka dibentuk dengan kesukaran, tantangan dan air mata.



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Devita Nurinsani

NIM : 151710101093

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Profil Mikroflora dan Karakteristik Fisikokimia Biji Kakao dari Kabupaten Solok yang Difermentasi dengan Perbedaan Jenis Starter dan Lama Inkubasi”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 November 2020

Yang menyatakan,



Devita Nurinsani

NIM 151710101093

SKRIPSI

**PROFIL MIKROFLORA DAN KARAKTERISTIK BIJI KAKAO DARI
KABUPATEN SOLOK SUMATERA BARAT YANG DIFERMENTASI
DENGAN PERBEDAAN JENIS STARTER DAN LAMA INKUBASI**

Oleh

Devita Nurinsani

NIM 151710101093



LEMBAR PENGESAHAN

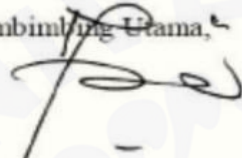
Skripsi berjudul **“Profil Mikroflora dan Karakteristik Fisikokimia Biji Kakao dari Kabupaten Solok yang Difermentasi dengan Perbedaan Jenis Starter dan Lama Inkubasi”** karya Devita Nurinsani telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : 24 November 2020

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Pembimbing

Pembimbing Utama,



Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Pembimbing Anggota,



Dr. rer. nat. Fahrurrozi, M.Si.
NIP. 198105032008011017

Tim Penguji :

Penguji Utama,



Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.
NIP. 196411091989021002

Penguji Anggota,




Aji Sukoco, S.Pt., M.Si.
NIP. 760018065

Mengesahkan,
Dekan

Fakultas Teknologi Pertanian




Widyono Soekarno, S.TP., M.Eng.
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Profil Mikroflora dan Karakteristik Fisikokimia Biji Kakao dari Kabupaten Solok yang Difermentasi dengan Perbedaan Jenis Starter dan Lama Inkubasi; Devita Nurinsani, 151710101093 ; 91 halaman ; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kabupaten Solok merupakan wilayah di bagian barat Indonesia yang mempunyai produktivitas kakao yang cukup tinggi yaitu sebesar 3.181 ton pada tahun 2018 dan terus meningkat pada tahun selanjutnya. Peningkatan produktivitas kakao masih belum diiringi dengan peningkatan mutu biji kakao yang dihasilkan. Permasalahan yang terjadi adalah biji kakao yang dihasilkan belum terfermentasi sempurna, sehingga sebagian besar mutu biji kakao yang dihasilkan belum seragam, seperti ukuran biji dan cita rasa bervariasi. Fermentasi umumnya dilakukan selama 5 – 7 hari dan dinilai cukup lama. Salah satu cara untuk memperpendek waktu fermentasi yaitu dengan menambahkan starter dengan komposisi mikroorganisme seperti khamir, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat. Efek dari fermentasi menyebabkan perubahan reaksi biokimia, perubahan fisika, dan mikrobiologis di dalam biji kakao.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui populasi mikroflora, karakteristik fisik dan kimia pada biji kakao fermentasi spontan, penambahan starter cair dan serbuk. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh populasi mikroflora cenderung lebih banyak pada fermentasi spontan. Namun, tidak dengan mutu fisik dan kimia yang dihasilkan. Mutu fisik dan kimia yang baik dihasilkan oleh fermentasi dengan penambahan starter serbuk karena memiliki kadar lemak yang tinggi dan karakteristik fisik yang sesuai dengan SNI 2323-2008

SUMMARY

Microflora Profile and Physicochemical Characteristics of Solok Cocoa Beans Fermented by Different Starter Culture Types and Incubation Times;

Devita Nurinsani, 151710101093; 91 pages; Department of Agricultural Product Technology, University of Jember.

Solok is an area in the west of Indonesia where cocoa trees have been allowed with an estimated total production of about 3.181 tons in 2018 and it has increased throughout the year. The increase of cocoa production should not be offset by the improvement in the quality of cocoa beans. The problem is the cocoa beans have not been fully fermented, so most of the quality of the cocoa beans produced has low quality, such as the size of the beans and the taste of the product has not same. Generally, the fermentation process can be performed quite long for 5-7 days. The solution to shorten the fermentation process is adding a starter culture with a composition of microorganisms such as yeast, lactic acid bacteria, and acetic acid bacteria.

The effects of fermentation cause changes in biochemical reactions, physical changes, and microbiological changes in cocoa beans. The purpose of this study was to determine the population of microflora, physical quality and chemical quality of spontaneously fermented cocoa beans and using the addition of liquid and powder starter culture. Based on the results of this research showed that microflora populations are higher in spontaneous fermentation than by adding the starter culture. However, the physical and chemical quality produced by fermentation with the addition of powder starter culture has good result because it has a high-fat content and physical characteristics following SNI 2323-2008.

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah, berupa skripsi yang berjudul “Profil Mikroflora dan Karakteristik Fisikokimia Biji Kakao dari Kabupaten Solok yang Difermentasi dengan Perbedaan Jenis Starter dan Lama Inkubasi”. Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember ;
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember sekaligus Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah memberikan bimbingan, koreksi, saran, dan segala bantuan yang diberikan dalam menyempurnakan karya tulis ilmiah ini ;
3. Dr. rer. nat. Fahrurrozi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah memberikan kesempatan dan dukungan baik waktu, pikiran dan perhatian kepada penulis untuk melakukan penelitian ini dan memberikan bimbingan, koreksi dan saran pada penyusunan skripsi ini;
4. Kedua orang tua yang sangat saya sayangi dan cintai, Ayah Mudasir dan Ibu Sumiyati serta kakak saya Aolia Rahmawati dan adik saya Ikhwan Fuadi yang telah memberikan doa, semangat dan perhatian kalian selama ini ;
5. Ibu Nurud Diniyah dan Bapak M. Fauzi selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) dan semua dosen serta staff Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmu kepada penulis sampai akhir ;
6. Dr.Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc. dan Aji Sukoco, S.Pt., M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan pemahaman lebih melalui ujian skripsi serta

masukan dan pengarahan demi terselesainya penyusunan karya tulis ilmiah ini ;

7. Dr. Yantyati Widyastuti selaku Kepala Laboratorium Mikrobiologi Terapan yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian serta staff Laboratorium Mikrobiologi Terapan terutama Teh Nunik yang telah membantu dan memberikan saran dan masukan selama melaksanakan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Terapan, Pusat Penelitian Bioteknologi;
8. Tete Mira, Mas Aryo, Stefanie, Mba Delvi, Mba Ai dan Mas Haris yang telah menemani dan menerima segala keluhan kesah dan selalu memberikan semangat, dukungan, serta saran hingga akhir penulisan skripsi ini;
9. Keluarga THP C 2015 dan keluarga besar THP angkatan 2015 yang telah memberikan banyak cerita pengalaman senang maupun susah selama menjalani kehidupan perkuliahan di Fakultas Teknologi Pertanian; dan
10. Pihak yang mengenal penulis yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas doa dan dukungannya kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah dalam bentuk skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan serta pengetahuan bagi semua pembaca.

Jember, Januari 2020

Penulis

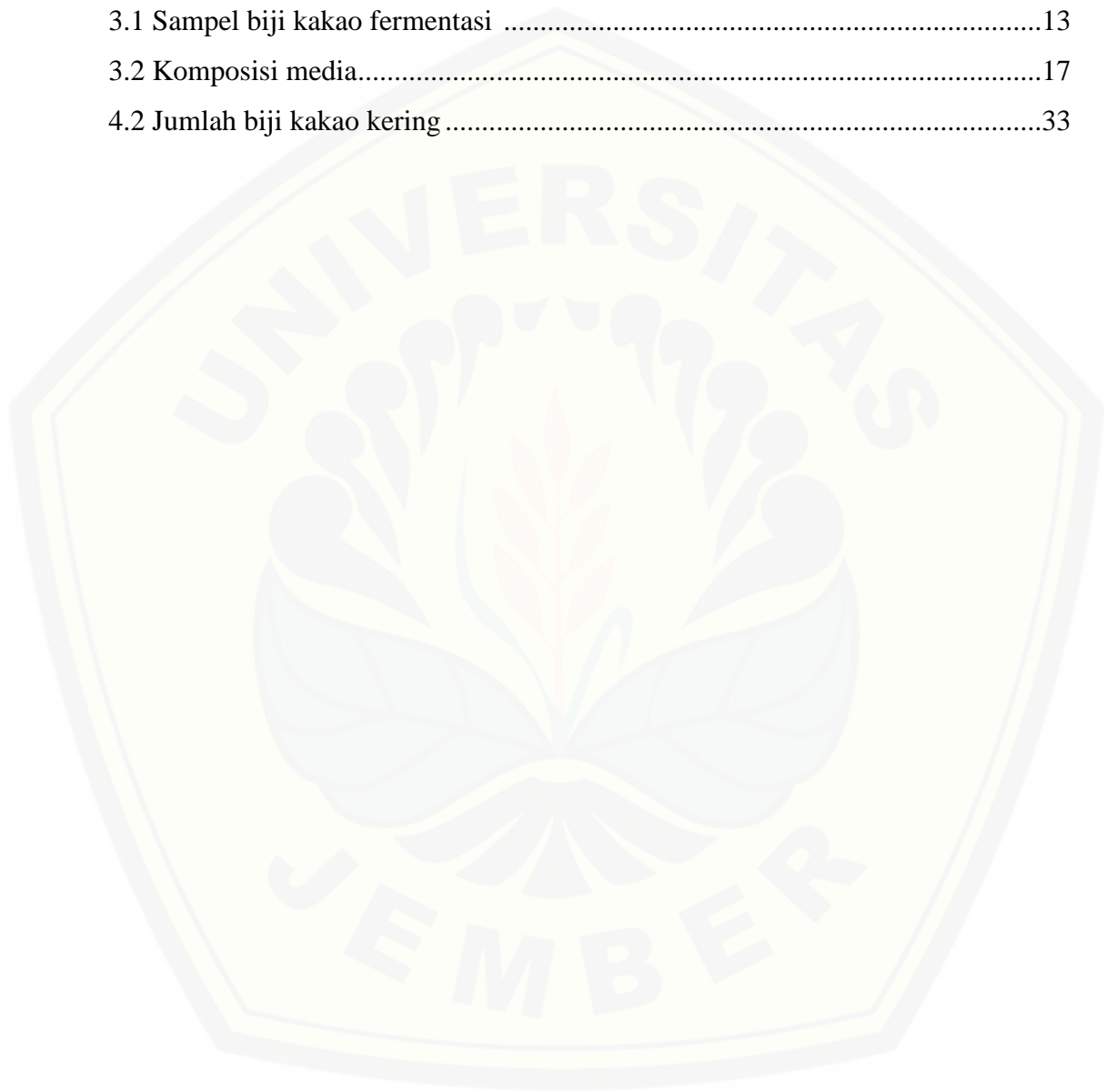
DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sifat Kakao Forastero	4
2.2 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Kakao	4
2.3 Penggolongan Mutu Biji Kakao Kering.....	6
2.4 Mutu Biji Kakao	7
2.5 Mikroorganisme yang Digunakan.....	8
2.5.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
2.5.2 <i>Lactobacillus plantarum</i>	9
2.5.3 <i>Acetobacter pasteurinus</i>	10
BAB 3. METODE PENELITIAN	12
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	12

3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	12
3.2.1 Alat Penelitian.....	12
3.2.2 Bahan Penelitian	12
3.3 Rancangan Percobaan	13
3.4 Metode Penelitian	13
3.4.1 Pelaksanaan Penelitian.....	13
3.4.2 Fermentasi Biji Kakao	15
3.4.3 Analisis Populasi Mikroflora	16
3.4.4 Analisis Fisikokimia Biji Kakao	19
3.4.5 Analisis Data	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Suhu Fermentasi.....	24
4.2 pH Fermentasi.....	25
4.3 Populasi Mikroflora	27
4.4 Ukuran dan Keseragaman Biji Kering	33
4.5 Penggolongan Mutu Berdasarkan Tekstur dan Warna Biji.....	34
4.6 Indeks Fermentasi	36
4.7 Kadar Air	37
4.8 Kadar Lemak.....	38
4.9 Kadar Abu.....	40
4.10 Kadar Protein	41
BAB 5 PENUTUP.....	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

2.1 Persyaratan umum mutu biji kakao.....	8
2.2 Persyaratan khusus mutu biji kakao	8
3.1 Sampel biji kakao fermentasi	13
3.2 Komposisi media.....	17
4.2 Jumlah biji kakao kering	33



DAFTAR GAMBAR

3.1 Diagram alir tahapan penelitian	14
3.2 Diagram alir proses fermentasi spontan biji kakao	15
3.3 Diagram alir proses fermentasi biji kakao dengan penambahan starter	16
3.3 Diagram alir <i>total plate count</i>	18
4.1 Perubahan suhu selama proses fermentasi	24
4.2 Perubahan pH selama proses fermentasi.....	26
4.3 Populasi mikroflora selama fermentasi	28
4.3a Populasi khamir selama fermentasi	28
4.3b Populasi bakteri asam laktat selama fermentasi.....	29
4.3c Populasibakteri asam asetat selama fermentasi.....	29
4.3d Populasi totalmikroorganisme selama fermentasi.....	30
4.5a Presentase biji <i>slaty</i>	34
4.5b Presentase biji ungu.....	34
4.5c Presentase biji coklat	35
4.6 Indeks fermentasi biji kakao kering	36
4.7 Kadar air biji kakao kering.....	37
4.8 Kadar lemak biji kakao kering	38
4.9 Kadar abu biji kakao kering	40
4.10 Kadar protein biji kakao kering.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Total plate count</i>	47
Lampiran 2. Dokumentasi biji/100 gram dan <i>cut test</i>	49
Lampiran 3. Indeks fermentasi.....	51
Lampiran 4. Data berat kadar air.....	52
Lampiran 5. Data berat kadar abu	53
Lampiran 6. Kadar protein	54
Lampiran 7. ANOVA kadar abu	55
Lampiran 8. ANOVA kadar lemak	59
Lampiran 9. ANOVA kadar protein.....	64
Lampiran 10. ANOVA indeks fermentasi	69
Lampiran 11. Perhitungan kadar air.....	74
Lampiran 12. Perhitungan kadar lemak	74
Lampiran 13. Perhitungan kadar abu	74
Lampiran 14. Perhitungan kadar protein.....	75

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditi hasil perkebunan yang terbesar kedua di Indonesia setelah kelapa sawit dan berperan penting dalam perekonomian karena memiliki peluang pasar yang sangat tinggi. Kakao digunakan sebagai sumber bahan baku industri pangan, farmasi, dan kosmetik (Adrista *et al.*, 2016). Pada tahun 2018, Indonesia menjadi produsen kakao terbesar ke-6 di dunia dengan produksi sebesar 220.000 ton (ICCO, 2019).

Provinsi Sumatera Barat merupakan salah satu daerah sentra produksi kakao di kawasan barat Indonesia. Salah satu daerah yang dijadikan sentra pengembangan kakao di Sumatera Barat yakni Kabupaten Solok (Badan Perencanaan dan Pembangunan Daerah Provinsi Sumatera Barat, 2014). Produktivitas kakao di Kabupaten Solok cukup tinggi sebesar 1.499 ton pada tahun 2015 dan terus meningkat pada tahun 2018 mencapai 3.181 ton (Badan Pusat Statistik, 2018). Produktivitas biji kakao secara signifikan terus meningkat tetapi tidak diimbangi dengan kualitas biji kakao yang dihasilkan. Akibatnya biji kakao Indonesia tidak dapat bersaing dengan kakao dari negara lain untuk memenuhi standar ekspor.

Penanganan pascapanen biji kakao sangat penting karena menentukan kualitas biji kakao yang dihasilkan. Penanganan biji kakao ditingkat petani dengan dua cara yaitu produksi biji kakao kering difermentasi dan biji kakao tanpa fermentasi yang dikeringkan. Menurut Badan Pusat Statistik (2019) produksi kakao kering di Solok pada tahun 2018 mencapai ± 3.000 ton dan biji kakao kering tidak difermentasi mencapai 62% . Sisanya, sebanyak 38% biji kakao yang dihasilkan dengan fermentasi belum memenuhi persyaratan kualitas. Biji kakao fermentasi dihasilkan dengan fermentasi spontan. Permasalahan proses fermentasi biji kakao secara spontan yakni fermentasi berlangsung lama sekitar 5-7 hari. Namun, biji kakao yang dihasilkan memiliki kualitas rendah, warna belum optimal, fermentasi kurang matang, aroma dan flavor yang kurang, biji berekacambah dan kontaminan jamur.

Manfaat fermentasi biji kakao dapat mempercepat peluruhan *pulp*, menekan pertumbuhan jamur, meningkatkan nilai fungsional coklat, pengendalian proses dan kualitas kakao fermentasi sesuai yang diinginkan. Usaha yang dapat dilakukan untuk memperbaiki kekurangan dari fermentasi spontan yaitu dapat dengan menambahkan starter. Fermentasi biji kakao dengan starter mikroba diharapkan memperbaiki proses fermentasi dengan memperpendek waktu fermentasi dan menghasilkan biji kakao fermentasi berkualitas.

Mikroba yang digunakan untuk fermentasi biji kakao tersedia dalam bentuk cair dan serbuk yang mengandung spesies khamir, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat tertentu. Starter cair mengandung mikroba yang ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan perbanyakkan dalam media cair. Keunggulan starter cair adalah proses pembuatan lebih cepat karena tanpa proses pengeringan dan mengandung mikroba aktif dengan fase lag yang pendek sehingga fermentasi berjalan lebih cepat. Namun, kelemahan dari starter cair adalah apabila waktu penyiapan dengan penggunaan terlalu lama maka populasi sel akan turun. Berbeda dengan starter serbuk, proses pembuatannya memang cukup rumit karena harus melalui tahapan pengeringan dan ditambahkan dengan bahan penyalut untuk sel. Ketika akan digunakan, starter serbuk masih harus melalui tahap preservasi terlebih dahulu, sehingga populasi sel masih cukup banyak. Pengaruh fermentasi terhadap biji kakao dapat mengembangkan prekursor rasa, aroma, warna, dan flavor coklat, mengembangkan citarasa, untuk mengurangi rasa pahit, sepat, dan juga memperbaiki kenampakan biji kakao (Ho *et al.*, 2015). Semua perubahan tersebut terjadi karena reaksi biokimia dan enzimatis akibat adanya aktivitas mikroorganisme di dalam biji kakao.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang terjadi pada penanganan pascapanen biji kakao oleh petani adalah biji tidak difermentasi terlebih dahulu dan meskipun dilakukan fermentasi secara spontan biji kakao fermentasi yang dihasilkan memiliki kualitas rendah, warna belum optimal, fermentasi kurang matang, aroma dan flavor yang kurang, biji berkecambah dan kontaminan jamur. Selain itu, proses fermentasi spontan juga berjalan cukup lama sekitar 5-7 hari. Usaha yang dapat dilakukan

untuk memperbaiki kekurangan dari fermentasi spontan yaitu dapat dengan menambahkan starter cair dan serbuk. Starter cair memiliki fase lag yang pendek, sehingga ketika digunakan akan mempercepat proses fermentasi. Namun, populasi sel akan turun jika rentang waktu antara pembuatan dan penggunaan terlalu lama. Berbeda dengan starter serbuk, proses pembuatannya cukup rumit. Namun, populasi sel dapat dipertahankan pada jumlah tertentu. Penambahan starter diharapkan dapat memperpendek waktu fermentasi dan menghasilkan kualitas biji kakao fermentasi yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik. Efek dari fermentasi menyebabkan perubahan reaksi biokimia, perubahan fisik, dan mikrobiologis di dalam biji kakao. Oleh karena itu dilakukan penelitian terkait populasi mikroflora dan karakteristik fisik dan kimia pada biji kakao fermentasi yang berasal dari Kabupaten Solok, Sumatera Barat.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan sebagai berikut :

1. Mengetahui populasi mikroflora pada biji kakao hasil fermentasi spontan, penambahan starter cair dan serbuk
2. Mengetahui karakteristik fisik biji kakao hasil fermentasi spontan, penambahan starter cair dan serbuk
3. Mengetahui karakteristik kimia biji kakao hasil fermentasi spontan, penambahan starter cair dan serbuk

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan kualitas biji kakao fermentasi yang dihasilkan dan mengembangkan starter untuk proses fermentasi biji kakao.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat Kakao Forastero

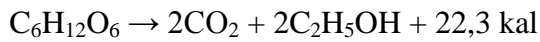
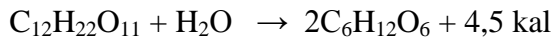
Kakao *Forastero* berasal dari daerah Amazon dan tumbuh terutama di Afrika Barat. Jenis kakao ini berukuran besar dan umum di pasaran, diproduksi terutama di Pantai Gading, Ghana, Indonesia, Nigeria, Ekuador, Kamerun dan Malaysia (Afoakwa, 2016). Kakao *Forastero* memiliki tingkat produksi yang lebih tinggi dari varietas lainnya dan lebih tahan terhadap hama dan penyakit (Fowler, 2009). Biji kakao ini disebut juga dengan kakao lindak atau *bulk cocoa*. Jenis ini memiliki endosperma yang berwarna ungu tua dan berbentuk gepeng. Proses fermentasi kakao lindak lebih lama dibandingkan *Criollo* yaitu 3-7 hari karena memiliki *pulp* pada biji yang lebih tebal dan rasa biji lebih pahit. Berat biji kering rata-rata 1 gram, kandungan lemak 56%, ukuran dan berat biji heterogen, setelah mengalami proses fermentasi dan pengeringan biji berwarna coklat tua dan bila disangrai aromanya kurang kuat bila dibandingkan dengan kakao *criollo*. Jenis kakao ini banyak diusahakan diberbagai negara produsen coklat dan menghasilkan coklat yang bermutu sedang (Sunanto, 2012).

Buah kakao secara umum terdiri atas empat bagian yaitu kulit, plasenta, *pulp*, dan biji. Kulit buah merupakan komponen terbesar dari buah kakao, yaitu lebih dari 70% berat buah masak. Presentase biji kakao didalam buah hanya sekitar 27-29%, sedangkan sisanya adalah plasenta yang merupakan pengikat. Buah kakao masak berisi 30-40 biji. Biji kakao terdiri atas dua bagian yaitu kulit biji dan keping biji. Keping biji meliputi 86% sampai 90% dari berat kering keping biji, sedangkan kulit biji sekitar 10 – 14% (Misnawiet *al.*, 2005).

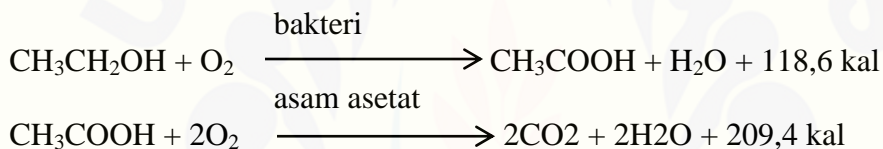
2.2 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Kakao

Fermentasi merupakan tahapan awal proses yang penting dari seluruh rangkaian pengolahan kakao. Senyawa pembentuk citarasa dan aroma khas coklat akan terbentuk melalui mekanisme reaksi biokimia yang kompleks pada proses fermentasi. Proses ini dipicu oleh pertumbuhan mikroba yang terdiri dari khamir, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat. Khamir akan memanfaatkan substrat gula dari *pulp* untuk memproduksi etanol dan terjadi peningkatan suhu

biji hingga 47-50°C. Reaksi perombakan gula menjadi etanol dan CO₂ adalah sebagai berikut:



Panas yang dibebaskan mengakibatkan massa kakao yang diperam menjadi lebih tinggi dan sebagian *pulp* akan hancur sehingga suplai oksigen lebih baik. Hal ini menjadikan kondisi fermentasi lebih aerob. Kondisi aerob yang dihasilkan oleh khamir menghasilkan kondisi lingkungan yang memicu bakteri untuk tumbuh. Senyawa alkohol hasil dari perombakan gula oleh khamir kemudian diubah oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat secara eksotermis (Suwasono, 2005). Reaksi perombakan alkohol menjadi asam asetat adalah sebagai berikut:



Asam asetat yang terbentuk kemudian berdifusi ke dalam daging biji melalui dinding daging biji dan berperan dalam proses kematian biji serta penurunan pH keping biji. Struktur daging biji terdiri atas sel lemak yang berwarna putih dan sel polifenol yang berwarna ungu. Keberadaan asam asetat pada lingkungan suhu tinggi menyebabkan dinding sel dalam struktur daging biji terpecah atau rusak. Senyawa-senyawa kimia yang semula didalam sel menjadi terbebas dan bereaksi satu sama lain dengan bantuan enzim-enzim tertentu membentuk senyawa pembentuk citarasa dan aroma khas cokelat (Camu *et al.*, 2008).

Enzim-enzim seperti endoprotease, amino peptidase, karboksi peptidase, polifenol oksidase dan glikosidase sangat berperan selama proses fermentasi (Hansen *et al.*, 1998). Protein yang terkandung dalam biji akan terurai oleh enzim protease menjadi senyawa polipeptida dan asam amino. Senyawa gula reduksi akan terlepas dalam bentuk glukosa dan fruktosa. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa pembentuk citarasa cokelat melalui reaksi Maillard. Senyawa

polifenol teroksidasi dengan bantuan enzim polifenol oksidase membentuk senyawa tanin sehingga warna keping biji yang semula ungu berubah menjadi coklat. Oleh karena itu, perubahan warna keping biji dipakai sebagai salah satu tolok ukur untuk penghentian proses fermentasi. Melalui metode uji belah keping biji (*cut test*) dan indeks fermentasi, perubahan warna ini digunakan untuk membedakan kesempurnaan proses fermentasi dari berbagai sampel biji kakao (Misnawi, 2008).

2.3 Penggolongan Mutu Biji Kakao Kering

Karakteristik biji kakao kering merupakan hal yang paling penting dalam menentukan mutu biji kakao. Mutu inilah yang akan menentukan harga biji kakao di pasaran. Semakin baik karakteristik bijinya, maka harganya pun akan semakin mahal. Menurut Wahyudi *et al* (2008), karakteristik biji kakao kering yang baik harus memiliki beberapa persyaratan sebagai berikut:

a. Ukuran dan keseragaman biji

Ukuran biji kakao pada umumnya dinyatakan dalam jumlah biji per 100 gram. Konsumen pada umumnya menginginkan ukuran biji rata-rata antara 1,0-1,2 gram yang ekuivalen dengan 85-100 gram/100 biji.

b. Kadar lemak

Kadar lemak pada umumnya dinyatakan dalam persen dari berat kering keping biji. Lemak merupakan komponen termahal dari biji kakao dan rata-rata kandungan lemak pada biji kakao berkisar antara 55-58%. Kandungan lemak pada biji kakao ditentukan oleh jenis tanaman dan faktor musim dimana buah kakao yang berkembang pada musim hujan akan menghasilkan biji kakao yang berkadar lemak tinggi.

c. Kadar air

Kadar air menentukan mutu biji kakao karena berkaitan dengan daya simpan biji kakao. Biji kakao yang memiliki kadar air tinggi akan mudah diserang oleh serangga dan jamur. Standar kadar air pada biji kakao tidak boleh melebihi 7,5% (Badan Standarisasi Nasional, 2008), karena jika kadar air lebih dari standar

maka yang turun bukan hanya hasil rendemennya saja, melainkan juga beresiko terserang bakteri dan jamur, namun apabila kadar air kurang dari 5%, maka kulit biji akan mudah pecah atau rapuh dan biji harus dipisahkan karena mengandung kadar biji pecah yang tinggi.

d. Derajat fermentasi berdasarkan warna keping biji

Biji kakao yang dapat memberi cita rasa khas cokelat adalah biji kakao yang difermentasi. Pembentukan calon cita rasa selama fermentasi terbentuk seiring dengan terjadinya degradasi warna ungu pada keping biji. Biji yang berwarna sebagian ungu dan sebagian cokelat tidak dianggap merusak cita rasa apabila jumlahnya tidak lebih dari 20%, dan masih dapat diterima apabila jumlahnya antara 30-40%, namun apabila jumlahnya melebihi 50% akan menimbulkan rasa pahit. Penentuan derajat fermentasi berdasarkan warna keping biji dilakukan dengan membelah biji kakao (uji belah/*cut* test) dengan arah melintang sehingga permukaan biji yang terbelah dapat dilihat dengan jelas (Wahyudi *et al.*, 2008).

2.4 Mutu Biji Kakao

Mutu biji kakao merupakan aspek paling penting dalam produksi kakao, apabila biji kakao bermutu rendah, maka tidak hanya harganya yang akan turun, melainkan juga produk olahannya pun akan berkualitas buruk. Badan Standarisasi Nasional mengatur penggolongan mutu biji kakao kering maupun persyaratan umum dan khususnya untuk menjaga konsistensi mutu biji kakao yang dihasilkan. Klasifikasi atau penggolongan mutu biji kakao kering menurut SNI 2323 – 2008 terbagi menjadi tiga, yaitu menurut jenis tanaman, jenis mutu dan ukuran berat biji per 100 gram. Menurut jenis tanaman kakao, biji kakao digolongkan menjadi dua, yaitu biji mulia yaitu biji kakao yang berasal dari tanaman kakao jenis Criolo atau Trinitario dan biji kakao lindak yaitu biji kakao yang berasal dari tanaman kakao jenis Forastero (BSN, 2008). Biji kakao kering menurut persyaratan mutunya, terbagi menjadi 3 kelas, yaitu mutu kelas I, II, dan III, dengan ketentuan telah memenuhi persyaratan umum dan khusus. Persyaratan umum dan khusus biji kakao kering tercantum dalam Tabel 2.1 dan Tabel 2.2

Tabel 2.1. Persyaratan Umum Mutu Biji Kakao

No	Jenis uji	Satuan	Persyaratan
1	Serangga hidup	-	Tidak ada
2	Kadar air	% fraksi massa	Maks. 7,5
3	Biji berbau asap dan atau <i>hammy</i> dan atau berbau asing.	-	Tidak ada
4	Kadar benda asing	-	Tidak ada

Tabel 2.2 Persyaratan Khusus Mutu Biji Kakao

Jenis mutu		Persyaratan				
Kakao Mulia (<i>Fine Cocoa</i>)	Kakao Lindak (<i>Bulk Cocoa</i>)	Kadar biji berjamur (biji/biji)	Kadar biji slaty (biji/biji)	Kadar biji berserangga (biji/biji)	Kadar kotoran waste (biji/biji)	Kadar biji berkecambah (biji/biji)
I – F	I – B	Maks. 2	Maks. 3	Maks. 1	Maks. 1,5	Maks. 2
II – F	II – B	Maks. 4	Maks. 8	Maks. 2	Maks. 2,0	Maks. 3
III – F	III – B	Maks. 4	Maks. 20	Maks. 2	Maks. 3,0	Maks. 3

Sumber. Badan Standarisasi Nasional, 2008.

2.5 Mikroorganisme yang Digunakan

2.5.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan cendawan berupa khamir (yeast) sejati tergolong eukariot mempunyai potensi kemampuan yang tinggi sebagai imunostimulan, dan bagian yang bermanfaat tersebut adalah dinding selnya. *Saccharomyces cerevisiae* secara morfologi hanya membentuk blastospora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya. Berkembang biak dengan membelah diri melalui “budding cell”. Reproduksiya dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel. *Saccharomyces cerevisiae* yang mempunyai kemampuan fermentasi telah lama dimanfaatkan untuk pembuatan berbagai produk makanan (Agawane & Lonkar, 2004). Menurut Yiannikouris *et al.*, (2006) *saccharomyces cerevisiae* termasuk dalam golongan Ascomycomycetes karena

dapat membentuk askospora dalam askus. Spesies ini dapat bereproduksi secara seksual dengan membentuk spora seksual berupa konidium atau juga bereproduksi secara aseksual dengan membentuk spora aseksual berupa askospora sebanyak 4-8 buah dalam askus serta melakukan pertunasan. Pertunasan pada spesies ini dapat berupa pertunasan multilateral, yaitu tunas dapat tumbuh disekitar ujung sel.

Sel *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh pada medium yang mengandung air gula dengan konsentrasi tinggi. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan golongan khamir yang mampu memanfaatkan senyawa gula yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik untuk pertumbuhannya. Spesies ini dapat memfermentasikan berbagai karbohidrat dan menghasilkan enzim invertase yang bisa memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa serta dapat mengubah glukosa menjadi alkohol dan karbon dioksida sehingga banyak digunakan dalam industri pembuatan bir, roti ataupun anggur. *Saccharomyces cerevisiae* berperan dalam memecah karbohidrat dari *pulp* dan memproduksi etanol serta karbon dioksida (Schwan & Wheals, 2004). Etanol yang dihasilkan akan masuk dan menyebabkan kematian biji, serta akan menjadi substrat untuk bakteri asam asetat (Schwan *et al.*, 2015). Karbon dioksida yang dihasilkan menyebabkan lingkungan menjadi mikroaerobik yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Schwan, *et al.*, 2015). Beberapa jenis *yeast* seperti *Candida spp.* dan *Pichia spp.* juga memetabolisme asam sitrat sehingga terjadi kenaikan pH. Kenaikan pH ini merupakan kondisi yang memungkinkan untuk tumbuhnya bakteri (Schwan & Wheals, 2004). *Yeast* juga memproduksi asam organik seperti asam asetat, asam oksalat, asam fosfat, asam suksinat dan asam malat yang berfungsi sebagai larutan penyangga untuk mengurangi fluktuasi pH (Schwan & Wheals, 2004).

2.5.2 *Lactobacillus plantarum*

Bakteri *Lactobacillus plantarum* adalah bakteri asam laktat dari famili Lactobacillaceae dan genus *Lactobacillus*. Bakteri ini bersifat gram positif, non motil, dan berukuran 0,6-0,8 μm x 1,2-6,0 μm . Bakteri ini memiliki sifat antagonis terhadap mikroorganisme penyebab kerusakan makanan seperti

Staphylococcus aureus, *Salmonella*, dan gram negatif lainnya (Buckle *et al.*, 1987). *Lactobacillus plantarum* bersifat toleran terhadap garam, memproduksi asam dengan cepat dan memiliki pH 5,3 hingga 5,6 (Buckle *et al.*, 1987). Pengolahan pangan dan pakan menggunakan bakteri asam laktat adalah teknologi yang telah ada sejak dulu yang dapat meningkatkan kandungan obat dan anti penyakit serta mencegah kebusukan dan perjangkitan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen (Elegado *et al.*, 2004). Bakteri *L. plantarum* umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Bakteri ini sering digunakan dalam fermentasi susu, sayuran, dan daging (sosis). Fermentasi dari *L. plantarum* bersifat homofermentatif sehingga tidak menghasilkan gas (Buckle *et al.*, 1987). Bakteri *Lactobacillus plantarum* terutama berguna untuk pembentukan asam laktat, penghasil hidrogen peroksida tertinggi dibandingkan bakteri asam laktat lainnya dan juga menghasilkan bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang bersifat bakterisidal (James *et al.*, 1992).

Peran *L. plantarum* pada fermentasi biji kakao akan memanfaatkan glukosa untuk memproduksi asam laktat, etanol, asam asetat, gliserol, manitol dan karbon dioksida. Selain itu, bakteri asam laktat juga memproduksi asam sitrat yang akan meningkatkan pH. Selanjutnya pH akan menurun karena bakteri asam laktat memetabolisme asam sitrat dan memetabolisme asam malat dan menghasilkan produk sampingan yang tidak bersifat asam (Schwan & Wheals, 2004).

2.5.3 *Acetobacter pasteurinus*

Acetobacter pasteurinus merupakan salah satu jenis bakteri asam asetat yang berperan pada proses fermentasi biji kakao. Bakteri asam asetat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Asam asetat yang terbentuk kemudian dioksidasi menjadi karbon dioksida dan air. Reaksi eksotermik yang disebabkan oleh aktivitas bakteri asam asetat menyebabkan terjadinya peningkatan suhu hingga mencapai 50°C atau lebih. Sebagian asam asetat yang terbentuk akan ter volatilisasi dan sebagian lagi akan terpenetrasi ke dalam testa (Schwan & Wheals, 2004). Asam asetat yang berdifusi ke dalam biji bersama dengan etanol

dan suhu yang meningkat akan menyebabkan kematian biji. Perubahan ini dan turunnya pH memicu reaksi endogen yang menyebabkan pembentukan rasa dan warna coklat. Asam asetat juga memiliki sifat antimikroba yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *yeast*, bakteri dan fungi yang berdampak pada kualitas coklat (Schwan, *et al.*, 2015).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terapan, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong pada bulan Maret hingga Oktober 2019.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas neraca digital A&D E-200i (A&D, San Jose, USA), gelas ukur 100 ml (Iwaki Pyrex, USA), beaker glass, Erlenmeyer 500 mL (Corning, New York, USA), tabung reaksi (Iwaki Pyrex, USA), tabung falcon (Corning, New York, USA), autoklaf Raypa (Raypa, Barcelona, Spain), stirrer Variomag Mono (Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, USA), magnetic stirrer, inkubator Raypa (Raypa, Barcelona, Spain), laminar Biobase (Biobase, Jinan, China), laminar Telstar BH-100 (Telstar Life Sciences, Japan), vortexer IKA MS3 Basic (IKA, Guangzhou, China), rak tabung reaksi, mikropipet, cawan petri, ose, spreader, mikropipet, tips, bunsen, spektrofotometer UV-1800 (Shimadzu, USA), kuvet QS 10 mm (Hellma Analytic, Munich, Germany), protein analyzer Kjeltec™ 8400 (DKSH, Myanmar), fat analyzer Soxtec™ 8000 (DKSH, Myanmar), dan desikator Duran (Niaga Mandiri, Jakarta).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi biji kakao masak dari Kabupaten Solok Sumatera Barat, starter cair 0,1% dan starter serbuk 0,1% yang diperoleh dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, chloramphenicol, cycloheximide, plastik, aquades, aluminium foil, NaCl (Merck, Damstardt, Germany), malt extract broth (Sigma, St. Louis, USA), MRS broth (Merck, Damstardt, Germany), CaCO₃ (Merck, Damstardt, Germany), Bacto™ pepton (Becton Dickinson and Company, Le Pont de Claix, France), Bacto™ yeast extract (Becton Dickinson and Company, Le Pont de Claix, France), D-glukosa

(Merck, Damstadt, Germany), agar teknis (Aneka Sarana Lab, Jakarta), metanol 70% teknis, HCl, NaOH, H₂SO₄ teknis dan tisu.

3.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor yaitu perbedaan jenis starter yang digunakan untuk fermentasi yaitu fermentasi spontan, starter cair dan starter serbuk. Faktor yang kedua yaitu perbedaan waktu inkubasi biji kakao selama 3, 4 dan 5 hari dalam kotak fermentasi. Setiap perlakuan dilakukan dua kali pengulangan. Daftar sampel yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

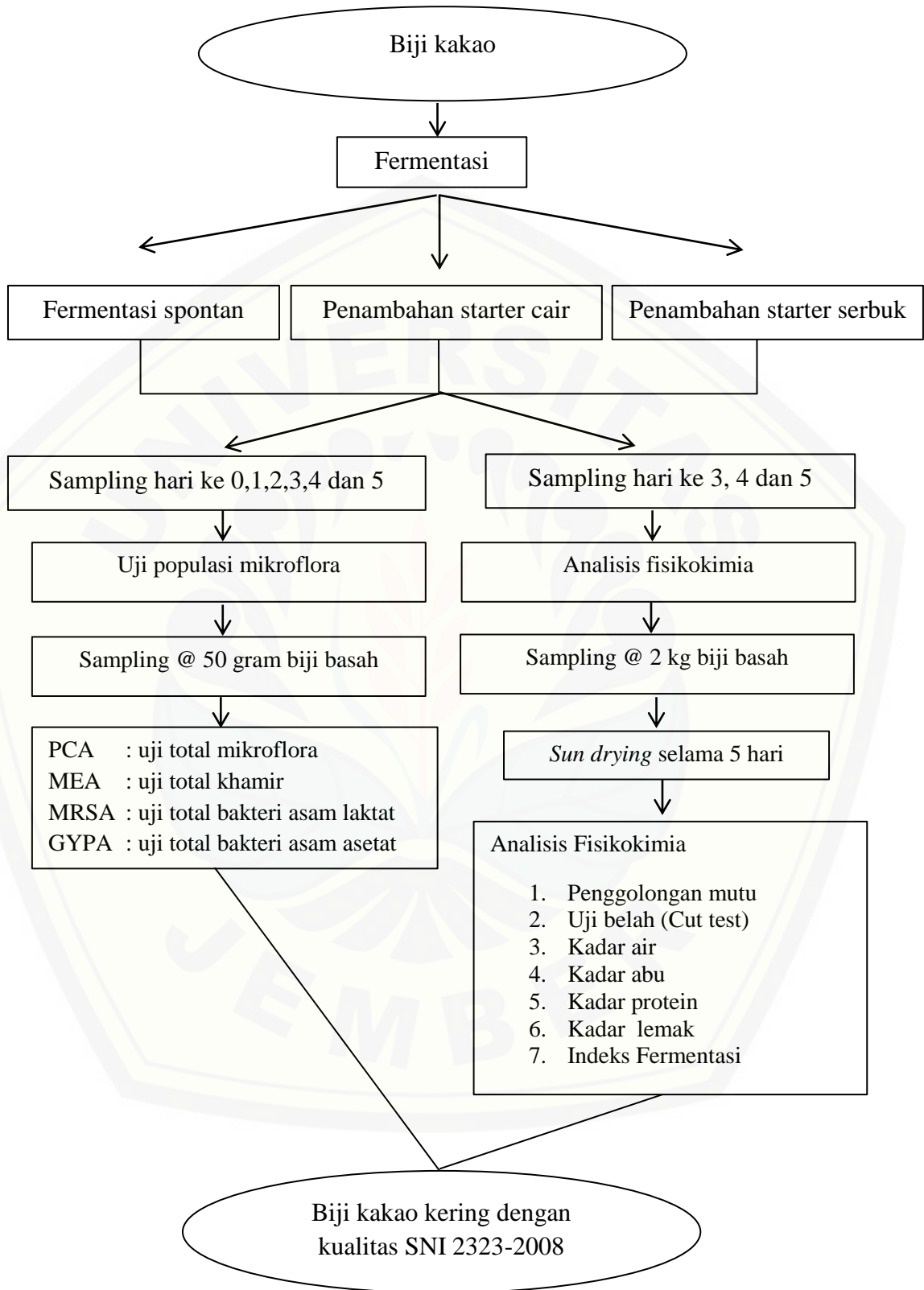
Tabel 3.1 Sampel biji kakao kering hasil fermentasi

No.	Kode	Keterangan
1	A-3	Biji kakao kering fermentasi spontan selama 3 hari
2	A-4	Biji kakao kering fermentasi spontan selama 4 hari
3	A-5	Biji kakao kering fermentasi spontan selama 5 hari
4	B-3	Biji kakao kering dengan penambahan starter cair selama 3 hari
5	B-4	Biji kakao kering dengan penambahan starter cair selama 4 hari
6	B-5	Biji kakao kering dengan penambahan starter cair selama 5 hari
7	C-3	Biji kakao kering dengan penambahan starter serbuk selama 3 hari
8	C-4	Biji kakao kering dengan penambahan starter serbuk selama 4 hari
9	C-5	Biji kakao kering dengan penambahan starter serbuk selama 5 hari

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Pelaksanaan Penelitian

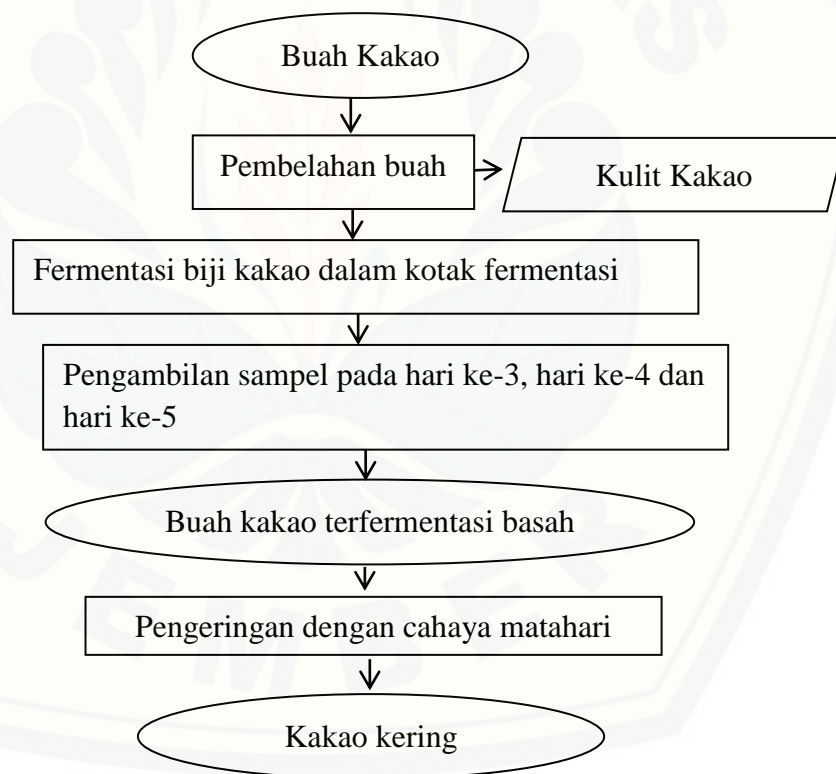
Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahapan yaitu fermentasi biji kakao, analisis populasi mikroorganisme dan analisis fisikokimia. Analisis populasi mikroorganisme dilakukan dengan perhitungan *total plate count*. Analisis fisikokimia dibagi menjadi dua tahap yaitu pengamatan mutu fisik berdasarkan SNI 2323-2008 dan pengujian kimia biji kakao yang terdiri dari pengujian kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Diagram alir tahapan penelitian dilihat pada Gambar 3.1



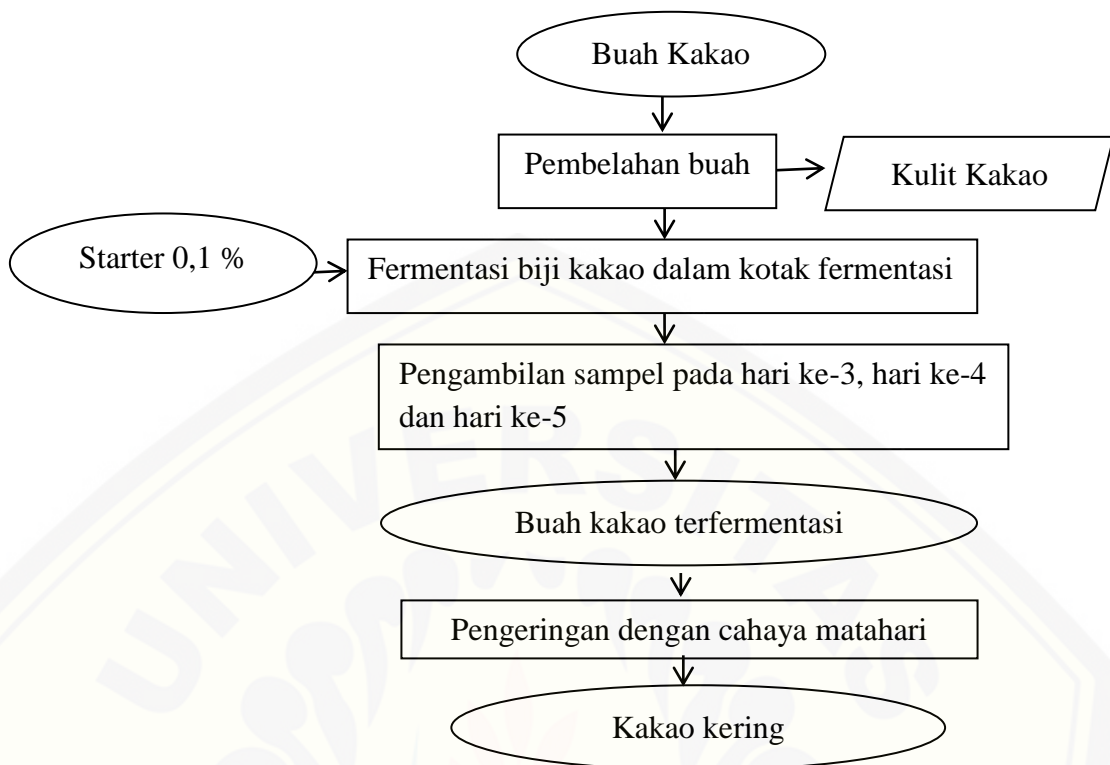
Gambar 3.1. Diagram alir tahapan penelitian

3.4.2 Fermentasi Biji Kakao

Biji kakao yang digunakan pada proses fermentasi sebanyak 40 kg yang berasal dari Kabupaten Solok, Sumatera Barat. Proses fermentasi berlangsung dalam kotak berukuran 40 x 50 x 50 cm yang dilapisi dengan daun pisang. Terdapat tiga jenis kotak yang digunakan yaitu kotak dengan proses fermentasi spontan, kotak dengan perlakuan penambahan starter cair dan kotak dengan perlakuan penambahan starter serbuk. Starter yang ditambahkan yaitu campuran kultur *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter pasteurinus* (De Vuyst & Weckx, 2016). Proses fermentasi berlangsung selama 5 hari dan sampel diambil sebanyak 50 gram secara duplo untuk diidentifikasi. Diagram alir proses fermentasi kakao dapat dilihat pada Gambar 3.2. dan Gambar 3.3.



Gambar 3.2. Diagram alir proses fermentasi spontan biji kakao



Gambar 3.3. Diagram alir proses fermentasi biji kakao dengan penambahan starter

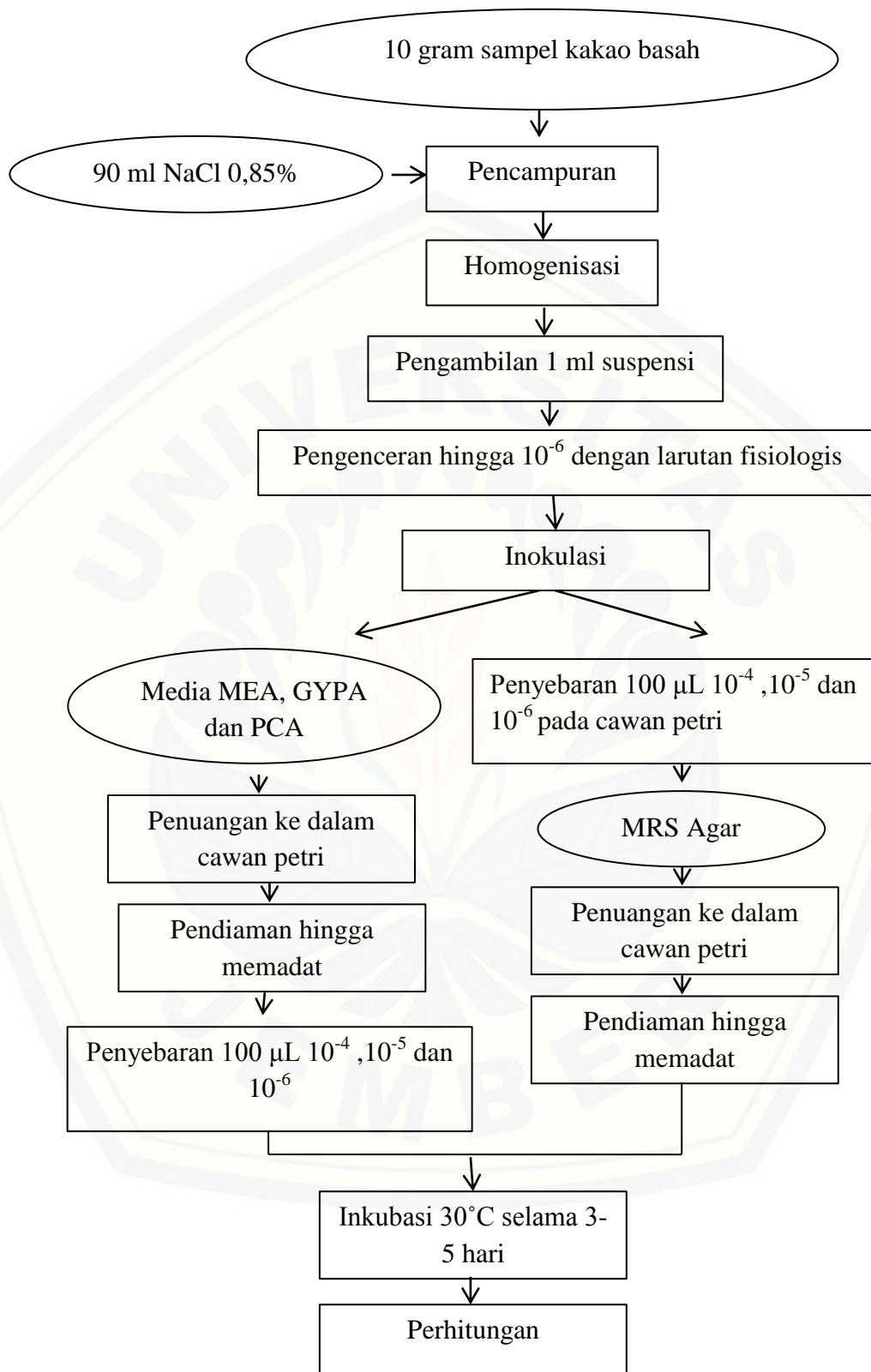
3.4.3 Analisis Populasi Mikroflora

Mikroflora dari sampel kakao yang telah difermentasi kemudian diisolasi dengan menggunakan metode *serial dilution*, *spread plate* dan *pour plate*. Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu PCA untuk menumbuhkan semua jenis mikroorganisme, *Malt Extract Agar* (MEA) yang mengandung *chloramphenicol* sebanyak 100 mg/L untuk menghambat pertumbuhan bakteri, *De Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) yang mengandung 0,1 % *cycloheximide* untuk menumbuhkan *fungi* dan khamir dan *Glucose Yeast Extract Peptone Agar* (GYPA) yang mengandung 0,1% *cycloheximide* untuk menumbuhkan *fungi* dan khamir. Pembuatan media dilakukan dengan mencampurkan seluruh bahan yang digunakan dengan menggunakan aquades kemudian dihomogenisasi. Komposisi media yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Komposisi media MEA, MRS *agar*, PCA dan GYP *agar*

Media	Bahan	Konsentrasi (g/300 mL)
MEA	Malt extract broth	6
	Bacto agar	7,5
	Chloramphenicol	0,03
MRS agar	MRS broth	15,66
	Bacto agar	7,5
	Cycloheximide	0,3
PCA	Peptone	1,5
	Yeast extract	0,75
	Glucose	0,3
GYP agar	Glucose	3
	Yeast extract	1,5
	Peptone	1
	Calcium Carbonate	0,9
	Bacto agar	7,5
	Cycloheximide	0,3

Sebanyak 10 gram sampel kakao dimasukkan pada 90 ml larutan fisiologis dan dihomogenisasi selama 2 menit menggunakan vortex pada kecepatan medium. Inokulasi ini menggunakan metode *serial dilution* yang diambil pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Isolasi dengan media PCA, MEA dan GYP dilakukan dengan metode cawan sebar, sedangkan inokulasi dengan media MRSA dilakukan dengan metode cawan tuang. Sebelum digunakan, media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit untuk mencegah kontaminasi. Setiap perlakuan dilakukan dua kali pengulangan. Sampel diinkubasi pada suhu 30°C selama 3-5 hari. Setelah inkubasi, mikroorganisme yang tumbuh pada media dihitung jumlahnya (Ardhana dan Fleet, 2003). Diagram alir proses dapat dilihat pada Gambar 3.4



Gambar 3.4. Diagram alir *total plate count*

3.4.4 Analisis Fisikokimia Biji Kakao

3.4.4.1 Ukuran dan Keseragaman Biji

Berdasarkan SNI 2323:2008 tentang standar mutu biji kakao, biji kakao digolongkan dalam dua jenis yaitu jenis mulia (*fine cocoa*/F) dan jenis lindak (*bulk cocoa*/B). Penggolongan biji kakao menurut ukuran berat bijinya, yang dinyatakan dengan jumlah biji per 100 g sampel, biji kakao digolongkan dalam 5 golongan ukuran dengan penandaan:

AA : maksimum 85 biji per seratus gram

A : 86-100 biji per seratus gram

B : 101-110 biji per seratus gram

C : 111-120 biji per seratus gram

S : lebih banyak dari 120 biji per seratus gram

3.4.4.2 Penggolongan Mutu Berdasarkan Tekstur dan Warna Biji

Pengujian menggunakan metode *cut test* dilakukan untuk, persentase biji ungu sebagian, persen biji terfermentasi penuh, dan persen biji *slaty*. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengamati perubahan warna secara visual dan subyektif. Sebanyak 50 biji kakao dibelah membujur tepat di bagian tengahnya menjadi dua dengan ukuran yang sama besar. Kemudian, sebanyak 100 belahan biji tersebut diamati satu per satu warna keping biji kakao berdasarkan klasifikasinya (Misnawiet *al.*, 2005). Pada penelitian ini dilakukan klasifikasi menjadi 3 kelas dimana warna *slaty* (berwarna ungu agak keabu-abuan dan bertekstur pejal), warna ungu dominan terhadap coklat, dan warna coklat dominan. Persentase dari ketiga klasifikasi dihitung persentasenya dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kelas biji} = \Sigma \frac{\text{belahan biji berdasarkan kelas}}{\text{belahan total biji}} \times 100 \%$$

3.4.4.3 Kadar air

Pengukuran kadar air biji kakao menurut *Association of Official Agricultural Chemist* (2005) dilakukan dengan menggunakan metode thermogravimetri. Prinsipnya yaitu menguapkan molekul air bebas yang ada dalam sampel. Banyaknya air yang diuapkan merupakan selisih bobot sebelum dan sesudah pengeringan. Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C. Cawan didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 10 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 6 jam. Sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (C). Penentuan kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kadar air}(\%) = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat cawan kosong (g)

B : berat cawan + sampel awal (g)

C : berat cawan + sampel kering (g)

3.4.4.4 Kadar abu

Analisi kadar abu biji kakao menurut *Association of Official Agricultural Chemist* (2005) dilakukan dengan menggunakan metode thermogravimetri. Prinsipnya adalah pembakaran bahan-bahan organik yang diuraikan menjadi air dan karbondioksida tetapi zat anorganik tidak terbakar. Zat anorganik ini disebut abu. Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C. Cawan didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 10 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur bersuhu 600°C selama 5 jam sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pembakaran dalam tanur diulangi sampai didapat bobot yang konstan. Penentuan kadar abu dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kadar abu}(\%) = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat cawan kosong (g)

B : berat cawan + sampel awal (g)

C : berat cawan + sampel kering (g)

3.4.4.5 Kadar protein

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode kjeldahl (AOAC, 2005). Terdapat tiga tahap utama yaitu tahap destruksi, tahap destilasi, dan tahap titrasi. Tahap destruksi dilakukan dengan menimbang 1 gram serbuk biji kakao, dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 mL. Tambahkan 5,7 gram garam kjeldahl serta beberapa batu didih. Pasangkan labu kjeldahl pada statif dengan kemiringan 45°C, kemudian tambahkan 25 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding labu. Selanjutnya dekstruksi di ruang asam dengan menggunakan api kecil hingga larutan menjadi jernih. Labu kjeldahl kemudian direndam dalam air untuk menurunkan suhu kemudian tambahkan aquades sebanyak 25 ml. Tanda bataskan larutan dalam labu takar 250 ml dengan aquades dan homogenkan. Tahap destilasi dilakukan dengan memasukkan sebanyak 25 ml larutan sampel hasil dekstruksi kedalam labu destilasi dan menambahkan 50 ml NaOH 50% serta granula Zn. Selama proses destilasi, destilat yang dihasilkan ditampung kedalam labu erlenmeyer berisikan 25 ml HCl 0,1 N. Destilat ditampung kedalam keadaan adaptor tercelup dalam HCl. Proses destilasi dihentikan apabila destilat telah menjadi asam yang ditandai dengan berubahnya warna indikator menjadi merah. Tahap titrasi dilakukan dengan menggunakan hasil destilat yang tertampung dalam HCl 0,1 N kemudian ditambahkan 2 tetes indikator PP dan dititrasi dengan larutan baku NaOH 0,1 N hingga titik ekuivalen berwarna merah jambu. Jumlah titrasi sampel (Vs) dan titrasi blanko (Vb).

$$\% \text{Protein} = \frac{(Vb - Vs) \times N \text{ NaOH} \times Ba \text{ N} \times FP \times 6,25}{W \times 1000} \times 100$$

Keterangan :

V_b = ml HCl untuk titrasi blanko

V_s = ml HCl untuk titrasi sampel

N = normalitas NaOH standar yang digunakan

Ba N = berat atom nitrogen (14,008)

FP = faktor pengenceran yang digunakan

W_s = berat sampel dalam gram

FK = faktor konversi (6,25)

3.4.4.6 Kadar lemak

Analisis kadar lemak dilakukan dengan metode soxhlet (AOAC, 2005). Prinsipnya adalah lemak yang terdapat dalam sampel diekstrak dengan menggunakan pelarut non polar. Labu lemak yang akan digunakan dioven selama 30 menit pada suhu 100-105°C. Labu lemak didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Serbuk biji kakao ditimbang sebanyak 2 g (B) kemudian dibungkus dengan kertas saring, ditutup dengan kapas bebas lemak dan dimasukkan ke dalam sokhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak. Sampel sebelumnya telah dioven dan diketahui bobotnya. Pelarut heksan dituangkan sampai sampel terendam dan dilakukan refluks atau ekstraksi selama 5-6 jam atau sampai pelarut lemak yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut lemak yang telah digunakan, disuling, dan ditampung. Ekstrak lemak yang ada dalam labu lemak dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105°C selama 1 jam. Labu lemak didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pengeringan labu lemak diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan. Penentuan kadar lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kadar lemak}(\%) = \frac{C - A}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat labu alas bulat kosong (g)

B : berat sampel (g)

C : berat labu alas bulat dan lemak hasil ekstraksi (g)

3.4.4.7 Indeks Fermentasi

Pengukuran indeks fermentasi berdasarkan metode Gourieva dan Tserevitinov (1979). Keping biji kakao yang telah dihaluskan sampai 40 mesh ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diekstrak dengan campuran metanol dan HCl pekat 30 % dengan perbandingan 97 : 3 sebanyak 50 ml. Ekstrak biji kakao dihomogenkan kemudian disimpan selama 20 jam pada suhu 8°C. Setelah itu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 460 nm dan 530 nm. Nilai indeks fermentasi dihitung sebagai berikut:

$$\text{Indeks fermentasi} = \frac{\text{Absorbansi 460}}{\text{Absorbansi 530}}$$

3.4.5 Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan menggunakan tabel atau histogram dan kemudian dijelaskan. Data yang diperoleh dari uji kimia (proksimat) diolah secara statistik dengan ANOVA dan jika berbeda nyata akan dilanjutkan dengan uji lanjutan metode DMRT pada taraf nyata 5%.

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Populasi mikroorganisme yang tumbuh meliputi khamir, bakteri asam laktat, bakteri asam asetat dan bakteri lain sebanyak 10^6 CFU/ml pada masing-masing fermentasi. Populasi khamir paling banyak diperoleh pada fermentasi spontan hari kelima sebanyak $7,30 \times 10^6$ CFU/ml, populasi bakteri asam laktat diperoleh pada fermentasi spontan hari kelima sebanyak $10,2 \times 10^6$ CFU/ml, populasi bakteri asam asetat pada fermentasi dengan penambahan starter serbuk hari kelima sebanyak $7,40 \times 10^6$ CFU/ml dan total mikroorganisme pada fermentasi spontan hari kelima sebanyak $14,5 \times 10^6$ CFU/ml.
2. Biji kakao hasil pengolahan dari Kabupaten Solok Sumatera Barat berdasarkan hasil analisis fisik, jumlah biji/100 gram sampel berkisar 84-85 biji yang diklasifikasikan dalam golongan AA. Biji *slaty* yang ditemukan pada produk masih kedalam persyaratan SNI 2323-2008 yaitu dibawah 20%.
3. Biji kakao kering hasil fermentasi memiliki kadar air paling tinggi 6,93% pada fermentasi spontan hari ketiga dan terendah 6,377% pada penambahan starter serbuk, kadar air yang dihasilkan masih memenuhi persyaratan SNI 2323-2008 yakni dibawah 7,5%. Kadar lemak paling rendah 39% pada fermentasi spontan hari ketiga dan paling tinggi 42% pada penambahan starter serbuk hari kelima. Kadar abu paling rendah 2,8% pada fermentasi spontan hari kelima dan paling tinggi 3,5% pada fermentasi spontan hari ketiga. Kadar protein paling rendah 12,7% pada fermentasi spontan hari kelima dan paling tinggi 14,5% pada penambahan starter serbuk hari ketiga. Indeks fermentasi terendah pada fermentasi spontan hari ketiga sebesar 1,101 dengan biji *slaty* 10% dan tertinggi pada penambahan starter serbuk hari kelima sebesar 1,441 dengan biji *slaty* 6,0%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi lanjutan mengenai jenis mikroorganisme yang terkandung pada biji kakao fermentasi asal Kabupaten Solok sehingga dapat diketahui peran masing-masing mikroorganisme agar dapat meningkatkan kualitas biji yang dihasilkan.

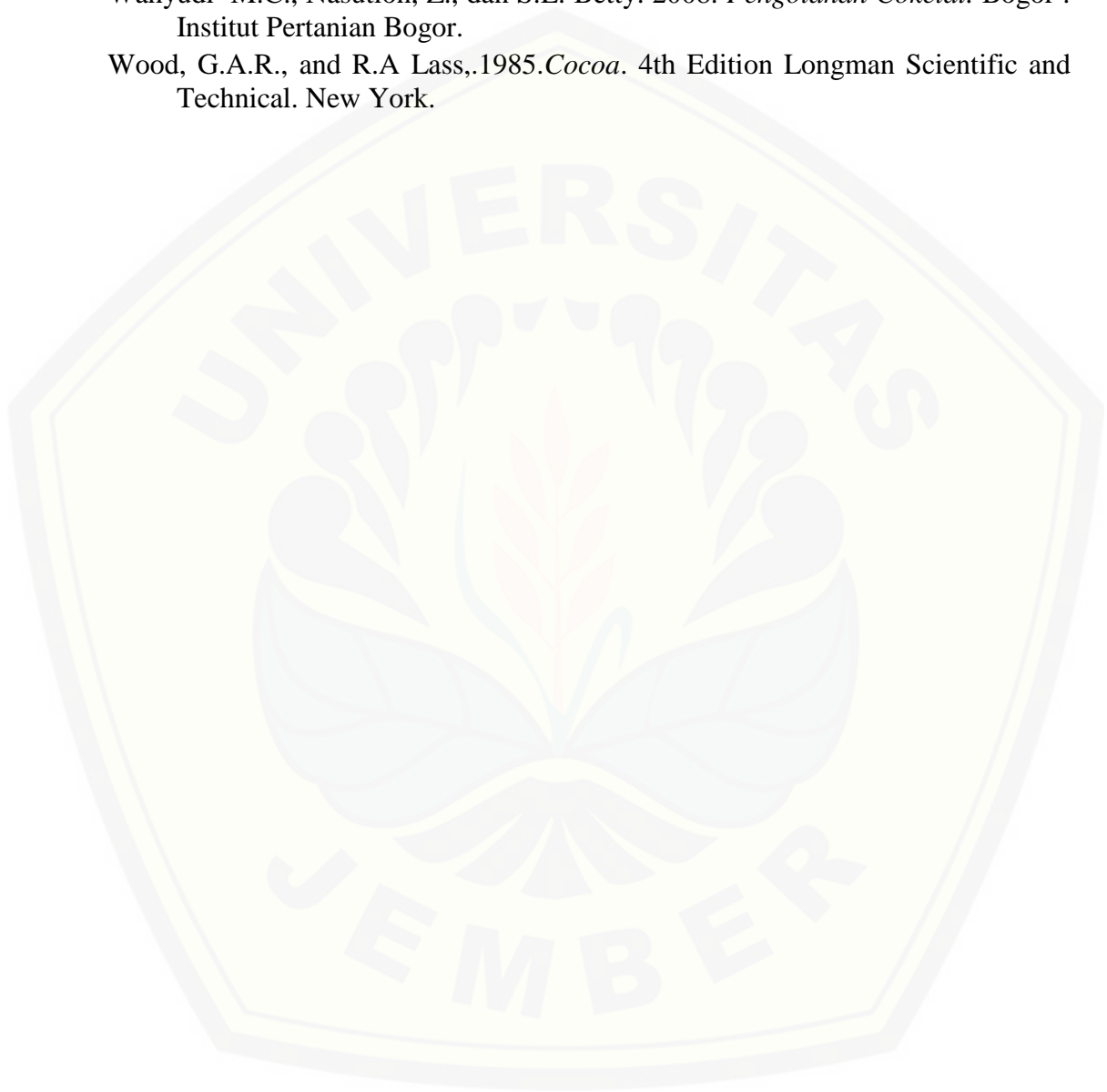


DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E.O., Quao, J., Takrama, J., Budu, A.S., Saalia, F.K., 2013. Chemical Composition And Physical Quality Characteristics Of Ghanaian Cocoa Beans As Affected By Pulp Pre-Conditioning And Fermentation. *Journal of Food Science Technology (November–December 50, 1097–1105. doi:10.1007/s13197-011-0446-5*
- AOAC. 2005. *Official Methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*. Published by the Association of Official Analytical Chemists. Maryland, USA.
- Ardhana dan Fleet. 2003. The microbial ecology of cocoa bean fermentation sin Indonesia. *International Journal of Food Microbiology* 86:87-99.
- Atmawijaya, 1993. Pengkajian terhadap Beberapa Parameter Biji Kakao Selama Waktu Fermentasi pada Proses Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cocoa L.*). *Skripsi*. Fakultas Teknik Pertanian Universitas Djuanda, Bogor.
- Badan Perencanaan Pembangunan Nasional (Bappenas). 2014. *Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) 2015-2019*. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik Jakarta Pusat. 2017. *Produktivitas Kakao*. Diakses melalui www.ditjenbun.pertanian.go.id pada 3 Maret 2019
- Badan Standar Nasional. 2008. SNI 01 – 2323 - 2008. *Biji Kakao*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Camu, N., T.D. Winter., S.K. Addo., J.S. Takrama., H. Bernart. dan L.D. Vuyst. 2008. Fermentation of Cocoa Beans: Influence of Microbial Activities and Polyphenol Concentrations on The Flavour of Chocolate. *Journal of Science, Food and Agriculture. Vol. 88: 2288-2297.*
- Direktorat Jendral Perkebunan.2010. *Produktivitas Kakao di Sumatera Barat*. Diakses melalui www.ditjenbun.pertanian.go.id pada 3 Maret 2019
- Emmanuel, O.A., Jennifer, Q., Agnes, S.B., Jemmy, S.T., Firibu, K.S., 2012. Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Journal of Food Processing* 19, 127–133.
- Fahrurrozi. 2015. Microbiological and Biochemical Investigations of Cocoa Bean Fermentation. *Dissertation*. Department of Chemistry Faculty of Mathematics, Informatics, and Natural Sciences, University of Hamburg.
- Gálvez, L.M.; García-Alamilla, R. 2007. Description and Physical Properties of Mexican Criollo Cacao During Post-Harvest Processing. *Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México. Vol 13, Num 1.*
- Hansen, C.E., M.D. Olmo. dan C. Burri. 1998. Enzyme Activities in Cocoa Beans During Fermentation. *Journal of Science Food Agricultural. Vol. 77: 273-281.*
- Haryadi dan Supriyanto. 2012. *Teknologi Cokelat*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Hatmi, R.U., Kobarsih, M., Cahyaningrum, N., 2015. Fungi level analysis of

- cocoa beans based on fermentation box type and duration. *Procedia of Food Science* 3, 371–382. doi:10.1016/j.profoo.2015.01.041
- Hayati, R., Yusmanizar, Y., Mustafiril, M., Fauzi, H., 2012. Kajian fermentasi dan suhu pengeringan pada mutu kakao (*Theobroma cacao* L.). *Journal Keteknik Pertanian* 26, 129–135.
- Ho, V.T.T., Zhao, J., Fleet, G., Thuy, V.T., 2015. The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology* doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.031
- Kurniawan, N . 2013. *Review Teknologi Proses Pengolahan Kakao*. Pekanbaru: Universitas Riau
- Kustyawati dan Setyani. 2008. Pengaruh Penambahan Inokulum Campuran terhadap Perubahan Kimia dan Mikrobiologi Selama Fermentasi Cokelat. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Volume 13, No. 2*, September 2008
- Lay, B.W., 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Misnawi S. 2008. *Petunjuk Teknis Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia
- Misnawi, S., Widyotomo, Mulato, Sanali, dan E. Suharyanto. 2005. *Petunjuk Teknis Pengolahan Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Kopi dan Kakao, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Nasution, MZ, Tjiptadi W dan Laksmi BS. 2006. *Pengolahan Cokelat*. Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fateta IPB: Agroindustri Press
- Schwan R.F. and Wheals A.E., 2004. The microbiology of Cocoa fermentation and its role in Chocolate quality. *Journal of Food Sci Nutrition* .44.205-221.
- Schwan, R. F., Pereira, G. V., & Fleet, G. H. (2015). Microbial Activities during Cocoa Fermentation. In R. F. Schwan, & G. H. Fleet, *Cocoa and Coffer Fermentations*. Boca Raton: CRC Press.
- Silfia, K., Diza, Y.H., Hermianti, W. 2017. *Influence Type of Starter to Increase Efficiency of Fermentation Time and Proximate Analysis of Cocoa Seeds*. Balai Riset dan Standardisasi Industri Padang
- Siregar, H.T.S., Riyadi, L. Nuraeni. 2006. *Budidaya Pengolahan dan Pemasaran*. Jakarta: Penebar Swadaya,
- Siswoputranto, P.S., 2005. *Perkembangan Teh, Kopi, Cokelat Internasional*. Jakarta: PT. Gramedia,
- Spillane, J.J., 2005. *Komoditi Kakao Peranannya Dalam Perekonomian Indonesia*. Yogyakarta : Kanisius
- Sunanto, H. 2012. *Cokelat Pengolahan Hasil dan Aspek Ekonominya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Susanto. 2012. *Tanaman Kakao*. Yogyakarta: Kanisius
- Suwasono, S. 2005. *Bioteknologi Produksi Agensia Antikapang Pada Fermentasi Kakao*. Jember: Universitas Jember.

- Thompson, S.S., K.B.Miller., A.S.Lopez. 2001. *Cocoa and coffee*. In: Doyle, M.P.
- Towaha, J., Anggraini, D.A.E., Rubiyo, 2012. *Keragaman Mutu Biji Kakao dan Produk Turunannya Pada Berbagai Tingkat Fermentasi : Studi kasus di Tabanan, Bali*. Pelita Perkeb. 28, 166–183.
- Wahyudi M.C., Nasution, Z., dan S.L. Betty. 2008. *Pengolahan Cokelat*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Wood, G.A.R., and R.A Lass.,1985.*Cocoa*. 4th Edition Longman Scientific and Technical. New York.



Lanjutan lampran 1

B2	TB	TB	65	82	14	4	TB	TB	24 7	211	0	0	1	3	0	0	0	1	198	200	15	3	3	1
B3	TB	0	12	13	0	0	1	1	0	0	0	0	1	3	0	0	0	1	134	120	0	0	0	1
B4	TB	TB	39	42	3	3	36	16	28	15	3	1	TB	TB	67	44	6	9	TB	197	54	44	2	1
B5	TB	TB	30	56	0	3	42	40	10	3	6	7	194	TB	65	65	5	13	TB	TB	59	69	8	5
C0	TB	TB	116	17 8	19	21	12 2	101	23	49	5	8	3	8	2	2	0	1	TB	TB	58	45	0	0
C1	TB	TB	87	76	23	17	17 3	173	11 0	106	1	2	10	12	5	3	0	1	TB	TB	96	78	0	0
C2	TB	TB	53	67	21	5	TB	TB	23 3	218	0	0	TB	TB	10	4	1	3	TB	TB	100	88	0	0
C3	TB	TB	8	10	0	0	1	1	0	0	0	0	17	18	23	2	4	0	0	TB	20	1	6	5
C4	TB	111	46	61	15	19	92	98	8	10	1	1	TB	TB	44	37	10	11	TB	TB	58	62	10	7
C5	TB	TB	62	55	2	0	60	60	7	4	3	5	TB	TB	74	101	4	5	TB	TB	101	89	10	4

Lampiran 2 Dokumentasi biji/100 gram dan *cut test*



Biji kakao kering/ 100 gram



Fermentasi spontan hari ke-3



Fermentasi spontan hari ke-4



Fermentasi spontan hari ke-5



Fermentasi dengan penambahan starter cair hari ke-3



Fermentasi dengan penambahan starter cair hari ke-4



Fermentasi dengan penambahan starter cair hari ke-5



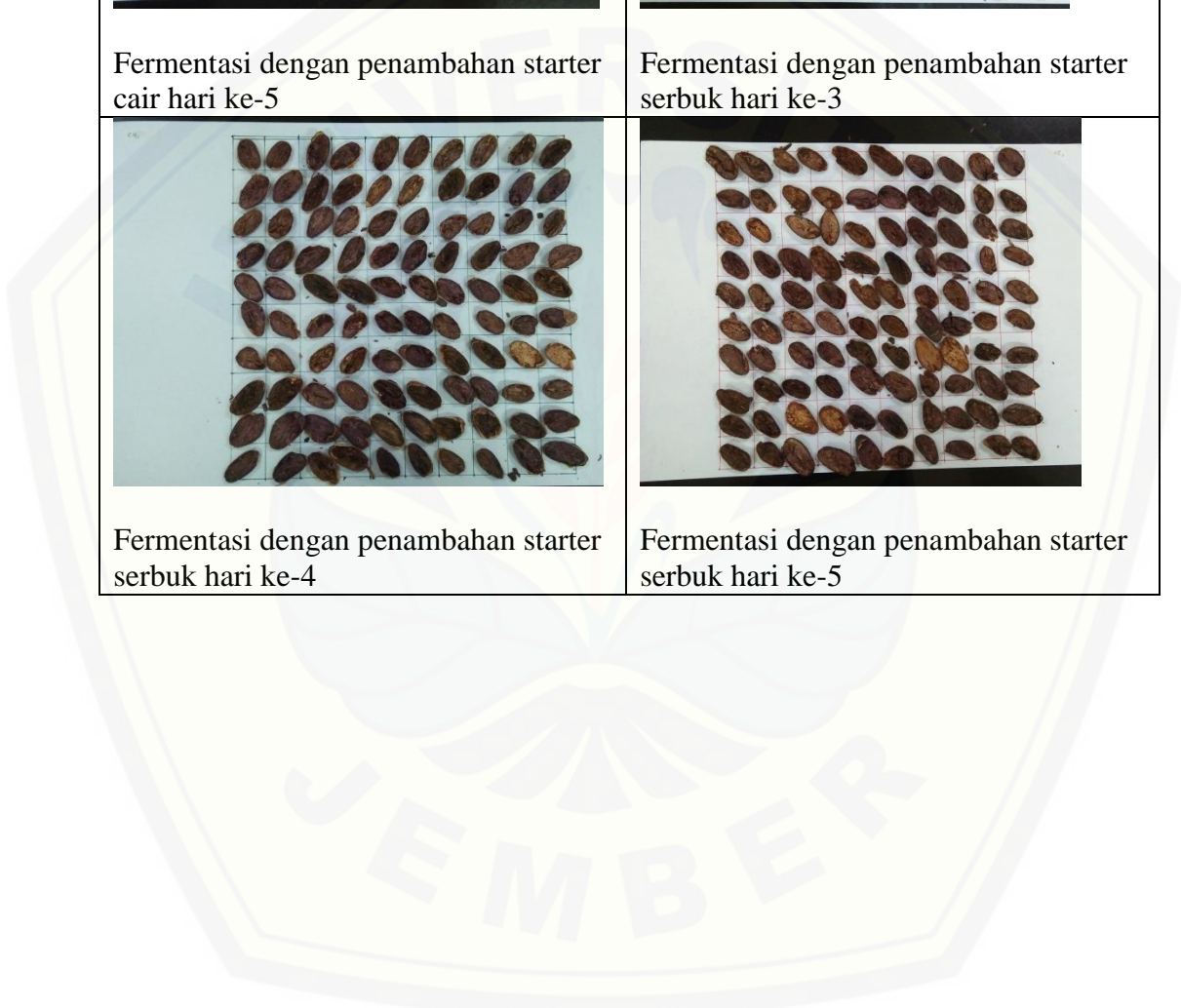
Fermentasi dengan penambahan starter serbuk hari ke-3



Fermentasi dengan penambahan starter serbuk hari ke-4



Fermentasi dengan penambahan starter serbuk hari ke-5



Lampiran 3 Indeks Fermentasi

No	Kode Sampel	Abs 460 nm	Abs 530 nm
1	A3-1	0,371	0,410
2	A3-2	0,389	0,414
3	A4-1	0,733	0,655
4	A4-2	0,71	0,656
5	A5-1	0,612	0,462
6	A5-2	0,602	0,468
7	B3-1	0,393	0,410
8	B3-2	0,380	0,423
9	B4-1	0,537	0,455
10	B4-2	0,541	0,447
11	B5-1	0,562	0,426
12	B5-2	0,561	0,421
13	C3-1	0,370	0,411
14	C3-2	0,377	0,413
15	C4-1	0,574	0,492
16	C4-2	0,571	0,473
17	C5-1	0,601	0,460
18	C5-2	0,593	0,458

Lampiran 4 Data Berat (Kadar Air)

No	Kode sampel	No cawan	Berat Cawan (A)	Berat sampel	Berat cawan + sampel (B)	Berat setelah oven (C)
1	A3-1	R18	35,6068	1,0459	36,6527	36,5821
2	A3-2	A5	39,1353	1,0037	40,139	40,0702
3	A4-1	O	43,6449	1,0021	44,647	44,5781
4	A4-2	A2O3	36,4388	1,0961	37,5349	37,462
5	A5-1	A49	32,7053	1,0525	33,7578	33,6912
6	A5-2	C4	43,0365	1,0545	44,091	44,0221
7	B3-1	25	36,6691	1,0131	37,6822	37,6125
8	B3-2	MT1	41,4049	1,0314	42,4363	42,3643
9	B4-1	81	40,2652	1,0129	41,2781	41,2106
10	B4-2	J2	40,5526	1,0022	41,5548	41,4863
11	B5-1	A2O4	42,5925	1,0386	43,6311	43,5617
12	B5-2	A31	33,3699	1,0033	34,3732	34,3079
13	C3-1	TL4	41,9034	1,076	42,9794	42,9069
14	C3-2	63	42,6927	1,0188	43,7115	43,6418
15	C4-1	A33	33,1188	1,0093	34,1281	34,0614
16	C4-2	181	43,2996	1,06	44,3596	44,2902
17	C5-1	05	40,1978	1,0022	41,2	41,1398
18	C5-2	01	41,8755	1,0227	42,8982	42,8302

Lampiran 5 Data Berat (Kadar Abu)

No	Kode sampel	No cawan	Berat Cawan (A)	Berat sampel	Berat cawan + sampel (B)	Berat setelah tanur (C)
1	A3-1	O	43,6449	1,0021	44,647	43,6801
2	A3-2	A2O3	36,4388	1,0961	37,5349	36,4781
3	A4-1	A49	32,7053	1,0525	33,7578	32,7385
4	A4-2	C4	43,0365	1,0545	44,091	43,0707
5	A5-1	R18	35,6068	1,0459	36,6527	35,6375
6	A5-2	A5	39,1353	1,0037	40,139	39,1639
7	B3-1	A2O4	42,5925	1,0386	43,6311	42,6276
8	B3-2	A31	33,3699	1,0033	34,3732	33,4035
9	B4-1	25	36,6691	1,0131	37,6822	36,7012
10	B4-2	MT1	41,4049	1,0314	42,4363	41,4376
11	B5-1	81	40,2652	1,0129	41,2781	40,2971
12	B5-2	J2	40,5526	1,0022	41,5548	40,5839

Lampiran 6 Kadar Protein

No Tabung	Berat Awal	Kadar Protein
1	1,0564	13,69%
2	1,0239	14,49%
3	1,0542	12,51%
4	1,0242	13,46%
5	1,0148	12,16%
6	1,0068	13,18%
7	1,0013	13,08%
8	1,0299	14,63%
9	1,0338	13,22%
12	1,0013	14,30%
13	1,0131	12,56%
14	1,0208	13,55%
17	1,0093	13,95%
20	1,0182	14,97%
23	1,0119	13,11%
32	1,0005	14,11%
37	1,0039	13,55%
38	1,0324	13,75%

Lampiran 7 ANOVA Kadar Abu

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Jenis	1	Non	6
	2	Cair	6
	3	Serbuk	6
Hari	1	Ketiga	6
	2	Keempat	6
	3	Kelima	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Ash

Jenis	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Non	Ketiga	3.54900	.050912	2
	Keempat	3.19850	.062933	2
	Kelima	2.89200	.060811	2
	Total	3.21317	.297505	6
Cair	Ketiga	3.36450	.021920	2
	Keempat	3.16900	.001414	2
	Kelima	3.13600	.018385	2
	Total	3.22317	.111207	6
Serbuk	Ketiga	3.41250	.037477	2
	Keempat	3.16600	.024042	2
	Kelima	3.01150	.028991	2
	Total	3.19667	.182453	6
Total	Ketiga	3.44200	.090695	6
	Keempat	3.17783	.034149	6
	Kelima	3.01317	.113508	6
	Total	3.21100	.198964	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Ash

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.659 ^a	8	.082	53.366	.000
Intercept	185.589	1	185.589	1.202E5	.000
Jenis	.002	2	.001	.696	.524
Hari	.562	2	.281	181.890	.000
Jenis * Hari	.095	4	.024	15.439	.000
Error	.014	9	.002		
Total	186.262	18			
Corrected Total	.673	17			

a. R Squared = ,979 (Adjusted R Squared = ,961)

1. Jenis

Dependent Variable: Ash

Jenis	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Non	3.213	.016	3.177	3.249
Cair	3.223	.016	3.187	3.259
Serbuk	3.197	.016	3.160	3.233

3. Jenis * Hari

Dependent Variable: Ash

Jenis	Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Non	Ketiga	3.549	.028	3.486	3.612
	Keempat	3.198	.028	3.136	3.261
	Kelima	2.892	.028	2.829	2.955
Cair	Ketiga	3.364	.028	3.302	3.427
	Keempat	3.169	.028	3.106	3.232
	Kelima	3.136	.028	3.073	3.199
Serbuk	Ketiga	3.412	.028	3.350	3.475
	Keempat	3.166	.028	3.103	3.229
	Kelima	3.012	.028	2.949	3.074

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ash

	(I) Jenis	(J) Jenis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Non	Cair	-.01000	.022685	.670	-.06132	.04132
		Serbuk	.01650	.022685	.485	-.03482	.06782
	Cair	Non	.01000	.022685	.670	-.04132	.06132
		Serbuk	.02650	.022685	.273	-.02482	.07782
	Serbuk	Non	-.01650	.022685	.485	-.06782	.03482
		Cair	-.02650	.022685	.273	-.07782	.02482

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,002.

Ash

			Subset
Jenis		N	1
Duncan ^a	Serbuk	6	3.19667
	Non	6	3.21317
	Cair	6	3.22317
	Sig.		.293

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 8 ANOVA Kadar Lemak

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Jenis	1	Non	6
	2	Cair	6
	3	Serbuk	6
Hari	1	Ketiga	6
	2	Keempat	6
	3	Kelima	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Lemak

Jenis	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Non	Ketiga	4.04830E1	.500632	2
	Keempat	4.16440E1	.493561	2
	Kelima	4.21400E1	.002828	2
	Total	4.14223E1	.823080	6
Cair	Ketiga	3.90870E1	1.675843	2
	Keempat	3.92130E1	.429921	2
	Kelima	3.94100E1	2.942978	2
	Total	3.92367E1	1.533650	6
Serbuk	Ketiga	3.92860E1	1.813022	2
	Keempat	4.13980E1	.345068	2
	Kelima	4.24160E1	.001414	2
	Total	4.10333E1	1.649362	6
Total	Ketiga	3.96187E1	1.313541	6
	Keempat	4.07517E1	1.241814	6
	Kelima	4.13220E1	1.985172	6

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Lemak

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	29.508 ^a	8	3.688	2.134	.140
Intercept	29618.048	1	29618.048	1.714E4	.000
Jenis	16.313	2	8.156	4.719	.040
Hari	9.021	2	4.510	2.610	.128
Jenis * Hari	4.174	4	1.044	.604	.670
Error	15.555	9	1.728		
Total	29663.111	18			
Corrected Total	45.063	17			

a. R Squared = ,655 (Adjusted R Squared = ,348)

1. Jenis

Dependent Variable:Lemak

Jenis	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Non	41.422	.537	40.208	42.636
Cair	39.237	.537	38.023	40.451
Serbuk	41.033	.537	39.819	42.247

2. Hari

Dependent Variable:Lemak

Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Ketiga	39.619	.537	38.405	40.833
Keempat	40.752	.537	39.538	41.966
Kelima	41.322	.537	40.108	42.536

3. Jenis * Hari

Dependent Variable:Lemak

Jenis	Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Non	Ketiga	40.483	.930	38.380	42.586
	Keempat	41.644	.930	39.541	43.747
	Kelima	42.140	.930	40.037	44.243
Cair	Ketiga	39.087	.930	36.984	41.190
	Keempat	39.213	.930	37.110	41.316
	Kelima	39.410	.930	37.307	41.513
Serbuk	Ketiga	39.286	.930	37.183	41.389
	Keempat	41.398	.930	39.295	43.501
	Kelima	42.416	.930	40.313	44.519

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Lemak

	(I) Jenis	(J) Jenis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Non	Cair	2.18567*	.759014	.018	.46866	3.90268
		Serbuk	.38900	.759014	.621	-1.32801	2.10601
	Cair	Non	-2.18567*	.759014	.018	-3.90268	-.46866
		Serbuk	-1.79667*	.759014	.042	-3.51368	-.07966
	Serbuk	Non	-.38900	.759014	.621	-2.10601	1.32801
		Cair	1.79667*	.759014	.042	.07966	3.51368

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,728.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Lemak

	Jenis	N	Subset	
			1	2
Duncan ^a	Cair	6	3.92367E1	
	Serbuk	6		4.10333E1
	Non	6		4.14223E1
	Sig.		1.000	.621

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,728.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Lemak

	(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Ketiga	Keempat	-1.13300	.759014	.170	-2.85001	.58401
		Kelima	-1.70333	.759014	.051	-3.42034	.01368
t	Keempat	Ketiga	1.13300	.759014	.170	-.58401	2.85001
		Kelima	-.57033	.759014	.472	-2.28734	1.14668
t	Kelima	Ketiga	1.70333	.759014	.051	-.01368	3.42034
		Keempat	.57033	.759014	.472	-1.14668	2.28734

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,728.

Lemak

Duncan ^a	Hari	N	Subset
			1
	Ketiga	6	3.96187E1
	Keempat	6	4.07517E1
	Kelima	6	4.13220E1
	Sig.		.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,728.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 9 ANOVA Kadar Protein

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Jenis	1	Non	6
	2	Cair	6
	3	Serbuk	6
Hari	1	Ketiga	6
	2	Keempat	6
	3	Keempat	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Protein

Jenis	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Non	Ketiga	.14100	.005657	2
	Keempat	.13000	.007071	2
	Keempat	.12700	.007071	2
	Total	.13267	.008359	6
Cair	Ketiga	.13850	.010607	2
	Keempat	.13750	.007778	2
	Keempat	.13050	.006364	2
	Total	.13550	.007609	6
Serbuk	Ketiga	.14450	.007778	2
	Keempat	.13600	.007071	2
	Keempat	.13650	.002121	2
	Total	.13900	.006419	6
Total	Ketiga	.14133	.006947	6
	Keempat	.13450	.006686	6
	Keempat	.13133	.006121	6
	Total	.13572	.007537	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Protein

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.001 ^a	8	6.314E-5	1.234	.378
Intercept	.332	1	.332	6.480E3	.000
Jenis	.000	2	6.039E-5	1.180	.351
Hari	.000	2	.000	3.063	.097
Jenis * Hari	7.089E-5	4	1.772E-5	.346	.840
Error	.000	9	5.117E-5		
Total	.333	18			
Corrected Total	.001	17			

a. R Squared = ,523 (Adjusted R Squared = ,099)

1. Jenis

Dependent Variable:Protein

Jenis	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Non	.133	.003	.126	.139
Cair	.136	.003	.129	.142
Serbuk	.139	.003	.132	.146

2. Hari

Dependent Variable:Protein

Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Ketiga	.141	.003	.135	.148
Keempat	.134	.003	.128	.141
Keempat	.131	.003	.125	.138

3. Jenis * Hari

Dependent Variable:Protein

Jenis	Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Non	Ketiga	.141	.005	.130	.152
	Keempat	.130	.005	.119	.141
	Keempat	.127	.005	.116	.138
Cair	Ketiga	.138	.005	.127	.150
	Keempat	.138	.005	.126	.149
	Keempat	.130	.005	.119	.142
Serbuk	Ketiga	.145	.005	.133	.156
	Keempat	.136	.005	.125	.147
	Keempat	.136	.005	.125	.148

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Protein

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Non	Cair	-.00283	.004130	.510	-.01218	.00651
		Serbuk	-.00633	.004130	.160	-.01568	.00301
	Cair	Non	.00283	.004130	.510	-.00651	.01218
		Serbuk	-.00350	.004130	.419	-.01284	.00584
	Serbuk	Non	.00633	.004130	.160	-.00301	.01568
		Cair	.00350	.004130	.419	-.00584	.01284

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,12E-005.

Protein

	Jenis	N	Subset
			1
Duncan ^a	Non	6	.13267
	Cair	6	.13550
	Serbuk	6	.13900
	Sig.		.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,12E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Multiple Comparisons

Dependent

Variable:Protein

	(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Ketiga	Keempat	.00683	.004130	.132	-.00251	.01618
		Keempat	.01000*	.004130	.039	.00066	.01934
	Keempat	Ketiga	-.00683	.004130	.132	-.01618	.00251
		Keempat	.00317	.004130	.463	-.00618	.01251
	Keempat	Ketiga	-.01000*	.004130	.039	-.01934	-.00066
		Keempat	-.00317	.004130	.463	-.01251	.00618

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,12E-005.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Protein

	Hari	N	Subset	
			1	2
Duncan ^a	Keempat	6	.13133	
	Keempat	6	.13450	.13450
	Ketiga	6		.14133
	Sig.		.463	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,12E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 10 ANOVA Indeks Fermentasi

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Jenis	1	Non	6
	2	Cair	6
	3	Serbuk	6
Hari	1	Ketiga	6
	2	Keempat	6
	3	Kelima	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable:IF

Jenis	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Non	Ketiga	1.10050	.026163	2
	Keempat	1.30550	.027577	2
	Kelima	1.36650	.023335	2
	Total	1.25750	.126220	6
Cair	Ketiga	1.19500	.021213	2
	Keempat	1.24150	.000707	2
	Kelima	1.32600	.009899	2
	Total	1.25417	.060317	6
Serbuk	Ketiga	1.18700	.028284	2
	Keempat	1.30100	.008485	2
	Kelima	1.44150	.028991	2
	Total	1.30983	.115513	6
Total	Ketiga	1.16083	.050831	6
	Keempat	1.28267	.034460	6
	Kelima	1.37800	.055172	6
	Total	1.27383	.101825	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:IF

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.172 ^a	8	.022	45.527	.000
Intercept	29.208	1	29.208	6.184E4	.000
Jenis	.012	2	.006	12.384	.003
Hari	.142	2	.071	150.533	.000
Jenis * Hari	.018	4	.005	9.596	.003
Error	.004	9	.000		
Total	29.384	18			
Corrected Total	.176	17			

a. R Squared = ,976 (Adjusted R Squared = ,954)

1. Jenis

Dependent Variable:IF

Jenis	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Non	1.257	.009	1.237	1.278
Cair	1.254	.009	1.234	1.274
Serbuk	1.310	.009	1.290	1.330

2. Hari

Dependent Variable:IF

Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Ketiga	1.161	.009	1.141	1.181
Keempat	1.283	.009	1.263	1.303
Kelima	1.378	.009	1.358	1.398

3. Jenis * Hari

Dependent Variable:IF

Jenis	Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Non	Ketiga	1.100	.015	1.066	1.135
	Keempat	1.305	.015	1.271	1.340
	Kelima	1.366	.015	1.332	1.401
Cair	Ketiga	1.195	.015	1.160	1.230
	Keempat	1.241	.015	1.207	1.276
	Kelima	1.326	.015	1.291	1.361
Serbuk	Ketiga	1.187	.015	1.152	1.222
	Keempat	1.301	.015	1.266	1.336
	Kelima	1.441	.015	1.407	1.476

Multiple Comparisons

Dependent Variable:IF

	(I) Jenis	(J) Jenis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Non	Cair	.00333	.012547	.796	-.02505	.03172
		Serbuk	-.05233*	.012547	.002	-.08072	-.02395
	Cair	Non	-.00333	.012547	.796	-.03172	.02505
		Serbuk	-.05567*	.012547	.002	-.08405	-.02728
	Serbuk	Non	.05233*	.012547	.002	.02395	.08072
		Cair	.05567*	.012547	.002	.02728	.08405

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

IF

	Jenis	N	Subset	
			1	2
Duncan ^a	Cair	6	1.25417	
	Non	6	1.25750	
	Serbuk	6		1.30983
	Sig.		.796	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable:IF

	(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Ketiga	Keempat	-.12183*	.012547	.000	-.15022	-.09345
		Kelima	-.21717*	.012547	.000	-.24555	-.18878
t	Ketiga	Keempat	.12183*	.012547	.000	.09345	.15022
		Kelima	-.09533*	.012547	.000	-.12372	-.06695
t	Kelima	Ketiga	.21717*	.012547	.000	.18878	.24555
		Keempat	.09533*	.012547	.000	.06695	.12372

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

IF

Hari	N	Subset		
		1	2	3
Duncan ^a Ketiga	6	1.16083		
Keempat	6		1.28267	
Kelima	6			1.37800
Sig.		1.000	1.000	1.000

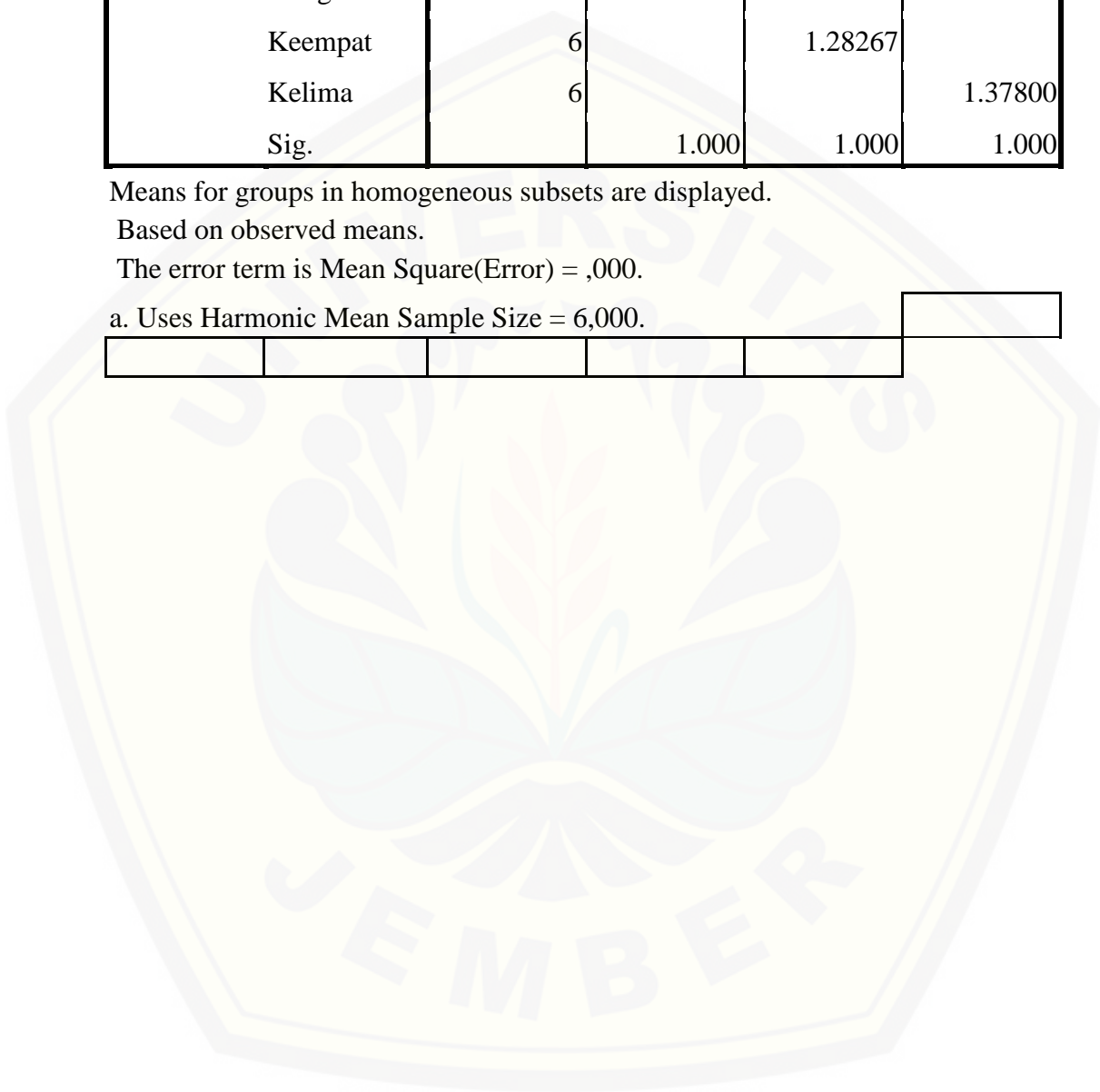
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

--	--	--	--	--



Lampiran 11 Perhitungan kadar air

Kode	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata	STDEV	SE
A3	6,750	6,855	6,802	0,074	0,052
A4	6,876	6,651	6,763	0,159	0,112
A5	6,328	6,534	6,431	0,146	0,103
B3	6,880	6,981	6,930	0,071	0,050
B4	6,664	6,835	6,749	0,121	0,085
B5	6,682	6,509	6,595	0,123	0,087
C3	6,738	6,841	6,790	0,073	0,052
C4	6,609	6,547	6,578	0,043	0,031
C5	6,007	6,649	6,328	0,454	0,321

Lampiran 12 Perhitungan kadar lemak

Kode	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata	STDEV	SE
A3	40,129	40,837	40,483	0,501	0,354
A4	41,993	41,295	41,644	0,493	0,349
A5	42,142	42,138	42,140	0,003	0,002
B3	40,272	37,902	39,087	1,676	1,185
B4	39,517	38,909	39,213	0,430	0,304
B5	41,491	37,329	39,410	2,943	2,081
C3	40,568	38,004	39,286	1,813	1,282
C4	41,642	41,154	41,398	0,345	0,244
C5	42,417	42,415	42,416	0,001	0,001

Lampiran 13 Perhitungan kadar abu

Kode	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata	STDEV	SE
A3	3,513	3,585	3,549	0,051	0,036
A4	3,154	3,243	3,199	0,063	0,044
A5	2,935	2,849	2,892	0,061	0,043
B3	3,380	3,349	3,364	0,022	0,015
B4	3,168	3,170	3,169	0,001	0,001
B5	3,149	3,123	3,136	0,019	0,013
C3	3,439	3,386	3,412	0,037	0,026
C4	3,183	3,149	3,166	0,024	0,017
C5	3,032	2,991	3,011	0,029	0,021

Lampiran 14 Perhitungan kadar protein

Kode	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata	STDEV	SE
A3	0,137	0,145	0,141	0,006	0,004
A4	0,125	0,135	0,130	0,007	0,005
A5	0,122	0,132	0,127	0,007	0,005
B3	0,131	0,146	0,139	0,011	0,008
B4	0,132	0,143	0,138	0,008	0,005
B5	0,126	0,135	0,131	0,007	0,005
C3	0,139	0,150	0,145	0,007	0,005
C4	0,131	0,141	0,136	0,007	0,005
C5	0,125	0,127	0,126	0,001	0,001