



**PENCOKLATAN NON-ENZIMATIS MAILLARD TERINDUKSI
(*INDUCED MAILLARD REACTION*) SEBAGAI UPAYA
PENINGKATAN KUALITAS CITARASA DAN
AROMA KAKAO RAKYAT**

SKRIPSI

oleh:

**Radhiyyan Pratiwi
111710101016**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PENCOKLATAN NON-ENZIMATIS MAILLARD TERINDUKSI
(*INDUCED MAILLARD REACTION*) SEBAGAI UPAYA
PENINGKATAN KUALITAS CITARASA DAN
AROMA KAKAO RAKYAT**

SKRIPSI

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

oleh:

Radhiyyan Pratiwi
111710101016

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, saya panjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang serta sholawat kepada Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tuaku. Bapak Sumono dan Ibu Bonatin yang telah memberikan banyak cinta kasih dan perhatian yang tidak terduga.
2. Kakak dan adik-adikku. Firlia Rachmat, Anshori, Mira Merdhika dan Muh. Ilham Aljanani.
3. Bidik Misi. Terimakasih untuk kesempatan yang telah diberikan.
4. Semua guru-guruku sejak TK hingga SMA, serta dosen di FTP yang telah mengajarkan banyak ilmu yang bermanfaat
5. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

MOTTO

Khairunnas anfa'uhum linnas

“Sebaik-baik manusia di antaramu adalah yang paling banyak memberi manfaat”
bagi orang lain

(HR. Bukhari Muslim)

Ojo gumunan, ojo kagetan, ojo getunan, ojo aleman.

Orang boleh salah, agar dengan demikian ia berpeluang menemukan kebenaran
dengan proses autentiknya sendiri

(Emha Anun Najib)

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Radhiyyan Pratiwi

Nim : 111710101016

menyatakan bahwa karya ilmiah yang berjudul “ Pencoklatan Non Enzimatis Maillard Terinduksi (*Induced Maillard Reaction*) sebagai Upaya Peningkatan Kualitas Citarasa dan Aroma Kakao Rakyat” adalah benar-benar hasil karya sendiri dengan project (proyek) yang diberikan oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia dan berdasarkan arahan dosen pembimbing utama (DPU) dan dosen pembimbing anggota (DPA), kecuali dalam kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun 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 sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar

Jember,

Yang menyatakan,

(Radhiyyan Pratiwi)

NIM 111710101016

SKRIPSI

**PENCOKLATAN NON-ENZIMATIS MAILLARD TERINDUKSI
(*INDUCED MAILLARD REACTION*) SEBAGAI UPAYA
PENINGKATAN KUALITAS CITARASA DAN
AROMA KAKAO RAKYAT**

Oleh

Radhiyyan Pratiwi
NIM 111710101016

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc

Dosen Pembimbing Anggota : Noor Ariefandie Febrianto, MSc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul Pencoklatan Non-Enzimatis Maillard Terinduksi (*Induced Maillard Reaction*) Sebagai Upaya Peningkatankualitas Citarasa Dan Aroma Kakao Rakyat telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

hari/tanggal :

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr.Ir. Sony Suwasono, M.App. Sc
NIP 19641109199021002

Noor Ariefandie Febrianto, MSc.
NIK 111000567

Tim Penguji

Ketua

Anggota

Dr.Ir. Jayus
NIP 196805161992031004

Dr. Puspita Sari S.TP.,M.Ph.
NIP 197203011998022001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember,

Dr. Yuli Witono, S.TP, M.P.
NIP. 196912121998021001

RINGKASAN

Pencoklatan Non Enzimatis Maillard Terinduksi (Induced Maillard Reaction) sebagai Upaya Peningkatan Kualitas Citarasa dan Aroma Kakao Rakyat; Radhiyyan Pratiwi, 111710101016; 2016; 75 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Mutu biji kakao di Indonesia relatif rendah disebabkan proses fermentasi yang kurang baik atau tidak dilakukan proses fermentasi pada saat pengolahan pasca panennya. Hal ini menyebabkan biji kakao yang dihasilkan memiliki cita rasa dan aroma cokelat yang lemah akibat jumlah komponen aroma yang dimiliki sedikit. Komponen aroma yang berperan penting dalam pembentukan aroma cokelat adalah produk maillard seperti pirazin. Komponen pirazin terbentuk melalui reaksi maillard yang membutuhkan gula pereduksi dan asam amino sebagai prekursor aroma. Pada biji kakao *unfermented* memiliki asam amino dan gula reduksi dalam jumlah yang sangat sedikit. Oleh karena itu, perlu ada upaya untuk meningkatkan produk maillard melalui penambahan asam amino dan gula reduksi pada biji kakao sehingga terjadi reaksi maillard selama penyangraian. Upaya peningkatan kualitas pada biji kakao *unfermented* dengan penambahan asam amino dan gula reduksi sebagai pemicu terjadinya reaksi maillard disebut metode *Induced Maillard Reaction* (IMR).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan kualitas citarasa dan aroma biji kakao *unfermented* hasil IMR dan mengidentifikasi senyawa aroma pada biji kakao hasil IMR.

IMR dilakukan dengan cara merendam biji kakao *unfermented* selama 5 jam dalam cairan mengandung hidrolisat protein whey (HPW) dan fruktosa. Kemudian biji kakao dikeringkan dan disangrai sehingga terjadi reaksi maillard. Penambahan HPW dengan jumlah variasi 1, 2, 3% dan penambahan fruktosa dengan variasi 0,5; 1; 1,5 % sehingga didapatkan sembilan kombinasi perlakuan dan sebagai kontrol yaitu biji kakao *unfermented* tanpa perlakuan maupun biji kakao *unfermented* yang hanya direndam air. Selanjutnya dilakukan analisis warna dengan *colorimeter* untuk mengetahui perubahan warna yang terjadi,

analisis sensori menggunakan metode *Qualitative Descriptive Analysis* (QDA) dan identifikasi aroma pada tiga produk dengan kualitas terbaik, biji kakao *unfermented* tanpa perlakuan maupun biji kakao *unfermented* yang hanya direndam air menggunakan SPME GC-MS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan IMR dapat menyebabkan warna nib kakao menjadi lebih gelap dibandingkan biji kakao *unfermented* tanpa perlakuan maupun biji kakao *unfermented* yang hanya direndam air. Berdasarkan uji QDA nib kakao hasil perlakuan IMR memiliki kualitas citarasa dan aroma yang sedang (*moderately*). Nib dengan penambahan fruktosa 1% dan HPW 3%; fruktosa 2% dan HPW 2%; serta fruktosa 2% dan HPW 3% memiliki nilai kualitas aroma cokelat, flavor cokelat, karamel, warna dan kesukaan yang lebih tinggi dibandingkan biji kakao *unfermented* tanpa perlakuan, biji kakao *unfermented* yang hanya direndam air dan kombinasi perlakuan lainnya.

Analisis profil komponen aroma menggunakan SPME GC-MS mampu mengidentifikasi enam golongan senyawa volatile yaitu asam karboksilat, ester, aldehida, keton, pirazin dan fenol. Hasil perlakuan IMR dapat meningkatkan jumlah komponen aldehida dan pirazin sedangkan jumlah komponen asam karboksilatnya menurun. Pada perlakuan fruktosa 1 % dan HPW 3 % memiliki jenis pirazin yang tidak dimiliki perlakuan lainnya yaitu *Pyrazine, 2 ethyl-3-methyl* dan jumlah pirazin yang paling banyak yaitu 31,741% area.

SUMMARY

Nonenzymatic Maillard Browning-Induced (Induced Maillard Reaction) as Quality Improvement Effort Of Flavor and Aroma Of Cocoa Folk; Radhiyyan Pratiwi, 111710101016; 2016; 75 pages; Department of Agriculture Product Technology , Faculty of Agriculture Technology, Jember of University

Quality cocoa beans in Indonesia is relatively low due to the fermentation process less well or not done at the time of fermentation post-harvest processing. This causes the resulting cocoa beans have a dream rasadan chocolate aroma weak because it has a number of components that little aroma. One component of the scent which was instrumental in the formation of the chocolate aroma is pyrazine covering nearly 40% of the aroma component fraction (Lindsay, 1996). Pyrazines in the food component has a characteristic nutty aroma, roasted nuts, green, caramel, sweet, cocoa, chocolate, peanut, coffee (Bonvehi and Coll, 2002). According to Hutchings (1994), polymerization-amino aldehydes, Nheterocyclics such as pyrazines, pyridines pyrrolles and formed by the Maillard reaction involving the reducing sugars and amino acids. Unfemented in cocoa beans has an amino acid and a reducing sugar in very small quantities.

Induced Maillard Reaction is one method of improving the quality of the dried cocoa beans are not fermented or partially fermented so it has a better quality. Induced Maillard reaction (IMR) is done by adding whey protein hydrolyzate and fructose as the trigger of the Maillard. Improving the quality of taste and flavor with IMR been done before by Nuwiah (2010) using amino acids and fructose to fat cocoa produced 8 components pyrazines. The process is constrained by the availability of amino acid components are limited and expensive. IMR has also been made on other products include cocoa powder, low-quality coffee beans, meat and other products.

This study was aimed to determine the effect of protein hydrolysates wheydan fructose concentration on improving the quality of flavor and aroma of cocoa beans without fermentation, determine changes in quality flavor and aroma of cocoa beans result of non-enzymatic Maillard browning induced and identify

the aroma compounds in cocoa beans IMR results. Induced Maillard Reaction was carried out by immersed the cocoa beans unfermented to the solution of hydrolysates whey protein that has a variety of additional concentrations of 1, 2, 3 % and the addition of fructose with a variation of 0.5, 1, 1.5 %. Then the cocoa beans are dried and roasted to bring out flavor and aroma. Sensory analysis is then performed using methods Qualitative Descriptive Analysis (QDA), aroma identification (SPME GC-MS) and a color test with a colorimeter to determine the color change.

In general observation color test $L^* a^* b^*$, whiteness, chroma and AE in the nine sample treatment has a greater value than the negative and positive controls. Values obtained sample treatments, L^* ranges from 26.32 to 29.04; a^* ranges from 7.87 to 8.77; b^* ranges from 5.86 to 7.09; whiteness values ranged from 25.46 to 27.92; chroma value from 10.12 to 11.28; AE value from 1.27 to 3.66 negative control and a positive control AE value from 0.42 to 3.25.

QDA test results showed that nine treatment has a better flavor quality compared to the negative control. Pursuant effectiveness test results show the sample F1H3 QDA, F2H2 and F2H3 quality chocolate flavor, chocolate aroma, color, flavor caramel, and preferences better.

Aroma profile analysis using SPME GC-MS is able to identify 24 components of the aroma of various groups among amino carboxylic acids, esters, aldehydes, ketones, pyrazines and phenols. Treatment IMR is able to increase the amount of pyrazine compounds more. The highest response pyrazine components resulting from the treatment F2H3 (addition of fructose 1 gram and 3 grams of whey protein hydrolyzate)

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. Atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul, “Pencoklatan Non Enzimatis Maillard Terinduksi (*Induced Maillard Reaction*) sebagai Upaya Peningkatan Kualitas Citarasa dan Aroma Kakao Rakyat”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayahnya selama penelitian dan pengerjaan skripsi;
2. Bapak Sumono dan Ibu Bonatin yang telah memberikan banyak cinta kasih dan perhatian yang tidak terduga. Terimakasih untuk banyak kesabaran yang ibu bapak beri. Semoga Allah senantiasa melimpahkan rahmatNya untuk kedua orangtuaku
3. Firlia Rachmat dan Anshori. Kakak-kakak terbaik yang terus memberi dorongan, perhatian dan nasihat yang tak kolot. Terimakasih telah memberikan keponakan lucu yang seringkali bikin rindu buatku. Muhammad Azzam Arkhan.
4. Mira Merdhika dan Muh. Ilham Aljanani. Adik-adik kandung yang seringkali gaduh dan menyelinapkan rindu pada rumah.
5. Bidik Misi. Terimakasih untuk kesempatan yang telah diberikan.
6. Pak Noor Arifandie selaku DPA dan Pak Sony Suwasono selaku DPU. Terimakasih banyak pak, telah berbaik hati dan dengan sabar membimbing hingga skripsi ini selesai
7. Sahabat SAC di Jember. Kawan-kawan gila dan penuh tawa yang selalu menyertai sejak aku pertama mengenal Jember. Khalimatus Sa’diah, Rafiqah Anggraeni, Fifi Dewi Kadita, Siska Kristiyani, Siti Alfiah, Silvina Agustina,

Rika Damayanti, Nur Sayidah, Irma Purwanti, Nur Aisyah. Aku bahagia punya kalian. Manusia-manusia keren dan gila yang sepaket.

8. Keluarga Manifest. Manusia-manusia absurd yang seringkali mengajarkan arti tulus dalam balutan sederhana. Mas Cetar, mas Yudha, Joko, Arif, Faiz, Lilik, Dina, Luluk, Sekar, Dita, Desi Amin, Santi, Suli, Desi dan semua keluarga Manifest lainnya. Terimakasih banyak telah berpengaruh banyak di titik balik kehidupanku. Dan manusia yang tak disebutkan, terimakasih banyak untuk kopi dan diskusinya.
9. Penghuni kosan Bluehouse 137. Fitri, Eka, Sriani, Mbak Nisa, Arda, Mbok Nah, Mbok Jah, Feni, Febri, Arda, Santi, Bena, Ayu, dan banyak penghuni lainnya. Terimakasih telah banyak memberi perhatian, canda, tawa dan banyak kenangan berharga. Kalian keluarga yang baik sekali.
10. Kawan-kawan sejak SMA. Wela, Lia, Anang, Aziz, Anjar, Heru, Yupe, Shanti, Malihatul, Novita, Erna, Sriani, Fitri.
11. Khalimatus Sa'diah dan Nafiul Amri. Dua manusia kocak yang berada dalam satu tim puslit. Terimakasih kalian telah banyak memberi kebaikan dan guyonan absurd. Kerjasama yang baik bersama kalian seringkali membuat bahagia.
12. Mbak Fitratin, Bu Ninik, Mas Panji, Mbak Ariza, Pak Abu, Pak Joko, Mbak Yuke, Mbak Exti, bu Dwi, Pak Yusi dan Adik-adik magang SMK 5. Manusia-manusia yang telah banyak membantu dan menemani selama penelitian di puslit. Semua memori disana begitu mengesankan buatku.
13. Kawan Brotherhood 2011. Kalian angkatan paling keren dan kompak. Terimakasih untuk banyak momen, canda, tangis, dan persahabatan yang asyik.

Jember, Oktober 2015

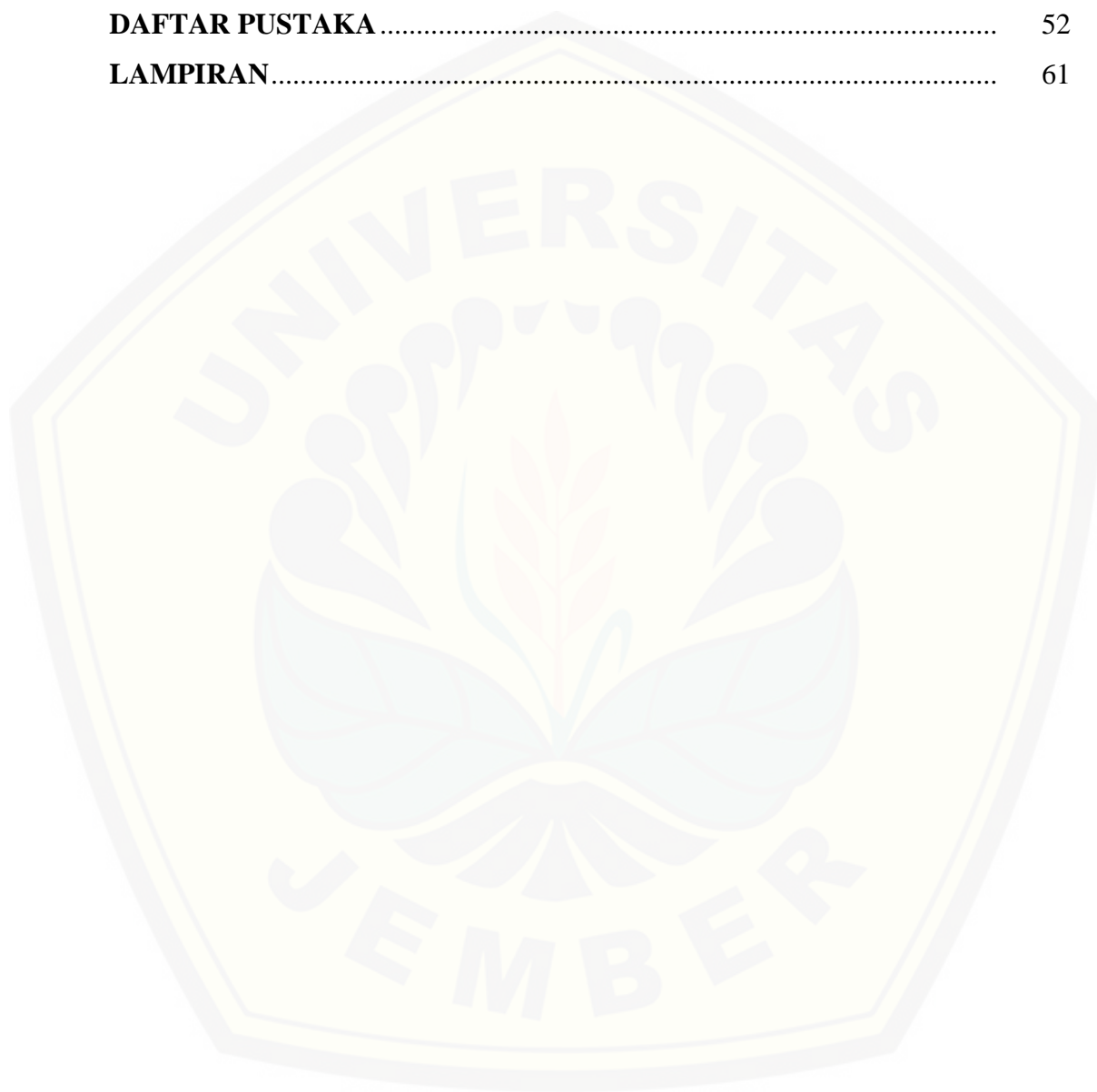
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Permasalahan	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biji Kakao	4
2.2 Prekursor Aroma	6
2.3 Proses fermentasi Kakao	6
2.4 Gula Pereduksi	8
2.5 Reaksi Maillard	10

2.6 Hidrolisat Protein.....	13
2.7 Flavor Kakao.....	16
2.8 SPME GC-MS.....	17
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	22
3.2.1 Bahan Penelitian.....	22
3.2.2 Alat Penelitian.....	22
3.3 Rancangan Penelitian.....	23
3.3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	23
3.3.2 Rancangan Percobaan.....	24
3.3.3 Parameter Pengamatan.....	25
3.4 Prosedur Analisis.....	25
3.4.1 Analisis Warna.....	25
3.4.2 Uji QDA.....	27
3.4.3 Uji Efektifitas.....	28
3.4.4 Identifikasi Profil Aroma.....	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Karakteristik Warna.....	30
4.1.1 L*, a* Dan b*.....	30
4.1.2 Whiteness Index.....	32
4.1.3 Chroma.....	34
4.1.4 Hue.....	35
4.1.4 Total Derajat Warna (ΔE).....	36
4.2 Profil Sensori Aroma dan Citarasa Pasta Kakao.....	37
4.3 Uji Efektifitas.....	42
4.4 Identifikasi Senyaw Volatile.....	42
4.4.1 Kromatogram Senyawa Volatile.....	42
4.4.2 Asam Karboksilat dan Ester.....	46
4.4.3 Keton dan Aldehida.....	47
4.4.4 Pirazin.....	48

4.4.5 Fenol dan Senyawa lainnya	50
BAB 5. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	61



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi kimia pulp biji kakao.....	4
2.2 Komposisi kimia biji kakao yang difermentasi	5
2.3 Komposisi kimia biji kakao Afrika Barat yang tidak difermentasi	5
2.4 Komposisi fraksi gula pada biji kakao tanpa sangrai	9
2.5 Kandungan gula ($\mu\text{mg-1}$) pada biji kakao	9
2.6 Hasil identifikasi komponen aroma pasta kakao dari Jawa timur, Bali, Sulawesi Selatan dan Ghana.....	12
2.7 Warna dan aroma produk maillard oleh asam amino dan glukosa setelah pemanasan 14 dan 24 jam.....	13
2.8 Kandungan asam amino pada hidrolisat protein whey/1000 mg.....	15
2.9 Kandungan asam amino pada biji kakao	15
2.10 Komponen aroma kopi, kakao dan teh	16
3.1 Deskripsi warna Hue	24
4.1 Rata-rata nilai L^* a^* b^* pada sampel hasil perlakuan IMR dan kontrol .	28
4.2 Rata-rata nilai Hue pada hasil perlakuan IMR dan kontrol.....	32
4.3 Nilai ΔE sampel perlakuan IMR terhadap kontrol negatif dan positif. ...	33
4.4 Nilai intensitas aroma, rasa dan warna sampel hasil Induced Maillard Reaction (IMR) dan kontrol.....	36
4.5 Hasil identifikasi senyawa volatile menggunakan SPME GCMS pada nib kakao kontrol dan hasil perlakuan <i>Induced Maillard Reaction</i>	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Perbedaan biji unfermented (<i>fully purple</i> atau <i>slaty</i>) dan biji fermentasi (<i>fully brown</i>).....	8
2.2 Skema pembentukan <i>flavour</i> dari reaksi Maillard pada bahan pangan	11
3.1 Solid Phase Microextraction (SPME).....	20
3.2 Gas Chromatography Mass Spectrofotometry (GC-MS)	20
3.3 Metode pencoklatan non enzimatis Terinduksi atau Induced Maillard Reaction (IMR)	21
4.1 Plot data warna sampel hasil perlakuan IMR dan kontrol	28
4.2 Rata-rata nilai whiteness pada sampel hasil perlakuan IMR dan kontrol	30
4.3 Diagram rata-rata nilai chroma pada sampel hasil perlakuan IMR dan kontrol	31
4.4 Diagram profil kualitas aroma, rasa dan warna sampel hasil Induced Maillard Reaction (IMR) dan pasta kakao kontrol	35
4.5 Nilai efektivitas sampel hasil perlakuan IMR.....	39
4.6 Kromatogram hasil identifikasi senyawa aroma dengan SPME GCMS....	41

DAFTAR LAMPIRAN

A. Analisis Warna	59
A.1 Hasil Pengamatan $L^* a^* b^*$	59
A.1a Pengulangan 1	59
A.1b Pengulangan 2	59
A.1c Rata-rata pengulangan 1 dan 2	60
B. Uji QDA	61
B.1 Hasil Pengamatan QDA	61
B.1a Pengulangan 1	61
B.1b Pengulangan 2	62
B.1c Rata-rata pengulangan 1 dan 2	62
C. Uji Efektifitas	63
D. Hasil Idenifikasi Aroma SPME GCMS	65
E. Dokumentasi	72
F. Form Uji Cita Rasa QDA	75

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi kakao Indonesia menempati peringkat ketiga setelah Pantai Gading dan Ghana dengan kuantitas lebih dari 300 ribu ton pada 2016 (ICCO, 2016). Pada tahun 2015, produktivitas kakao di Indonesia mencapai 792 kg/Ha yang sebagian besar 95% dikelola oleh perkebunan rakyat (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2015). Mutu biji kakao Indonesia relatif rendah disebabkan oleh proses fermentasi yang kurang baik atau tidak dilakukan proses fermentasi. Praktek pengolahan biji kakao tanpa proses fermentasi umum dilakukan oleh petani kakao di Indonesia. Hal ini disebabkan penerapan fermentasi pada produksi kakao membutuhkan waktu yang lebih lama dan terjadi penyusutan bobot 3 - 5% (Julianto, 2014).

Biji kakao fermentasi menghasilkan aroma khas cokelat pada saat disangrai karena terjadi pembentukan senyawa *flavour* dari prekursor yang dihasilkan selama proses fermentasi. Prekursor aroma dalam biji kakao antara lain adalah peptida, asam amino dan gula reduksi (Mohr dkk., 1976). Prekursor tersebut dihasilkan melalui proteolisis dari suatu protein dan hidrolisis sukrosa dalam biji kakao selama fermentasi (Ziegleder dan Biehl, 1988; Rohan dan Stewart, 1967a, 1967b; Rohan 1963). Protein fraksi globulin terdegradasi selama fermentasi menjadi peptida dan asam amino yang merupakan prekursor penting dalam pembentukan aroma kakao selama penyangraian (Amin dkk., 1997 ; Biehl dan Voight, 1994). Pada fermentasi kakao juga terjadi degradasi sukrosa sehingga menghasilkan gula pereduksi antara lain adalah glukosa dan fruktosa (Rohan dan Stewart, 1967a; Hashim dkk., 1998). Gula pereduksi juga berperan sebagai senyawa prekursor *flavour* yang dibutuhkan dalam pembentukan senyawa *flavour* khas cokelat pada reaksi maillard yang berlangsung saat proses penyangraian biji kakao (Rohan dan Stewart, 1967b). Kurangnya proses fermentasi atau tidak dilakukannya proses fermentasi menyebabkan biji kakao memiliki citarasa lemah, tidak terbentuk aroma cokelat ketika proses penyangraian (Misnawi dkk., 2002a).

Metode pencokelatan non enzimatis maillard terinduksi (*Induced Maillard Reaction*) merupakan salah satu metode peningkatan mutu biji kakao kering yang tidak terfermentasi atau terfermentasi sebagian sehingga memiliki mutu yang lebih baik. *Induced maillard reaction* (IMR) dilakukan dengan cara menambahkan asam amino dan gula reduksi sebagai pemicu terjadinya maillard. Peningkatan kualitas citarasa dan *flavour* dengan IMR pernah dilakukan sebelumnya oleh Nuwiah (2010) menggunakan asam amino dan fruktosa pada lemak kakao yang menghasilkan 8 komponen pirazin. Proses tersebut terkendala oleh ketersediaan komponen asam amino yang terbatas dan mahal. IMR juga pernah dilakukan pada produk yang lainnya antara lain bubuk kakao, biji kopi bermutu rendah, daging dan produk lainnya.

Hidrolisat protein whey memiliki kandungan asam amino leusin yang tinggi. Asam amino leusin merupakan asam amino dominan pada biji kakao Ghana yang merupakan biji kualitas baik. Leusin merupakan salah satu asam amino yang berperan penting untuk pengembangan citarasa dan aroma biji kakao (Watterson dkk., 1997). Berdasarkan hasil penelitian Brito dkk. (2000), gula pereduksi fruktosa merupakan gula pereduksi yang paling banyak bereaksi dengan asam amino ketika penyangraian. Pada penelitian ini, pencokelatan non enzimatis pada biji kakao dilakukan dengan penambahan hidrolisat protein dan gula pereduksi fruktosa untuk meningkatkan kualitas citarasa dan aroma pada biji kakao tanpa fermentasi. Dari hasil penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan kualitas citarasa dan aroma biji kakao tanpa fermentasi.

1.2 Perumusan Masalah

Biji kakao tanpa fermentasi atau terfermentasi sebagian memiliki citarasa lemah dan tidak terbentuk aroma coklat ketika proses penyangraian (Misnawi, 2002a). Salah satu komponen aroma yang berperan penting dalam pembentukan aroma coklat adalah pirazin yang mencakup hampir 40% dari fraksi komponen aroma (Lindsay, 1996) yang terbentuk melalui reaksi maillard. Peningkatan kualitas biji kakao kering tanpa fermentasi dapat dilakukan dengan metode IMR. IMR pada biji kakao dilakukan dengan cara merendam biji kakao dengan

penambahan hidrolisat protein whey dan gula reduksi fruktosa sebelum penyangraian sebagai pembentuk reaksi maillard saat penyangraian. Hidrolisat protein whey memiliki kandungan asam amino leusin yang tinggi. Leusin merupakan salah satu asam amino yang berperan penting untuk pengembangan citarasa dan aroma biji kakao (Watterson dkk., 1997). Fruktosa merupakan gula pereduksi yang paling banyak bereaksi dengan asam amino ketika penyangraian (Brito dkk., 2000). Belum diketahui konsentrasi hidrolisat protein whey dan konsentrasi fruktosa yang tepat untuk membentuk reaksi maillard dan meningkatkan kualitas biji kakao tanpa fermentasi.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui perubahan kualitas warna, citarasa dan aroma biji kakao hasil IMR
2. Untuk mengidentifikasi senyawa aroma pada biji kakao hasil perlakuan IMR

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah meningkatkan kualitas citarasa dan aroma biji kakao kering tanpa fermentasi

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Komposisi Kimia Biji Kakao

Biji kakao mengandung bermacam-macam senyawa kimia termasuk diantaranya senyawa-senyawa pembentuk flavor. Jumlah kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam biji kakao fermentasi dan biji kakao tanpa fermentasi berbeda. Komponen utama penyusun biji kakao adalah lemak yang mencapai 54,7%. Kandungan senyawa kimia biji kakao fermentasi dan biji kakao tanpa fermentasi ditunjukkan **Tabel 2.2** dan **Tabel 2.3**.

Tabel 2.2 Komposisi kimia biji kakao yang difermentasi.

Komponen	Persentase (%)
Kulit biji	9,63
Kecambah	0,77
Keping biji	
Lemak	54,7
Air	2,1
Abu	2,7
Nitrogen	
Total N	2,2
Protein N	1,3
Theobromin	1,4
Kafein	0,07
Karbohidrat	
Glukosa	0,1
Pati	6,1
Pektin	4,1
Serat	2,1
Selulosa	1,9
Pentosa	1,2
Gum	1,8
Tanin	6,2
Asam organik	
Asetat	0,1
Oksalat	0,3
Sitrat	0,7

Sumber: Minnifie, (1999).

Biji kakao sangat diperlukan dalam berbagai macam industri karena sifatnya yang khas, yaitu : (1) biji kakao mengandung lemak yang cukup tinggi (sekitar 55 %) dan lemaknya mempunyai sifat yang unik yaitu padat pada suhu kamar, akan tetapi mencair pada suhu tubuh, (2) bagian padatan biji kakao mengandung komponen flavor dan pewarna yang sangat dibutuhkan dalam industri makanan dengan rasa yang sangat sepat, yang mempunyai kandungan antosianin dan leukoantosianin 3%, katekin 3%, dan polifenol kompleks (Susanto, 1994). Biji kakao tanpa atau kurang fermentasi biasanya memiliki citarasa lemah dan tidak terbentuk aroma cokelat ketika proses (Misnawi dkk., 2002)

Tabel 2.3 Komposisi Kimia Biji Kakao Afrika Barat yang Tidak Difermentasi.

Komponen	Persentase (%)
Kulit biji	9,63
Kecambah	0,77
Keping biji	
Lemak	53,05
Air	3,65
Nitrogen	
Total N	2,28
Protein N	1,50
Amonia N	0,028
Amida N	0,188
Theobromin	1,71
Kafein	0,085
Karbohidrat	
Glukosa	0,3
Pati	6,1
Pektin	2,25
Serat	2,09
Selulosa	1,97
Pentosa	1,27
Gum	0,38
Tanin	7,54
Asam organik	
Asetat	0,014
Oksalat	0,29

Sumber: Nasution (1976).

2.2 Prekursor Aroma Biji Kakao

Prekursor merupakan istilah umum yang digunakan untuk menunjuk suatu senyawa atau bahan yang berkontribusi dalam suatu reaksi kimia tertentu yang nantinya menghasilkan suatu komponen baru. Prekursor aroma dan flavor dalam biji kakao merupakan suatu senyawa atau komponen yang berperan dalam menghasilkan senyawa aroma atau flavor pada saat proses penyangraian. Senyawa prekursor tersebut antara lain adalah peptida, asam amino dan gula reduksi (Mohr dkk., 1976). Prekursor tersebut dihasilkan melalui proteolisis dari suatu protein dan hidrolisis dari sukrosa dalam biji kakao selama proses fermentasi (Ziegleder dan Biehl, 1988; Rohan dan Stewart, 1967a, 1967b; Rohan, 1963). Proteolisis menghasilkan asam amino dan oligopeptides (Biehl dkk., 1982) yang dipengaruhi oleh proses kematian biji, kondisi pH dan suhu selama proses fermentasi (Biehl dkk., 1994). Flavor kakao terutama terbentuk setelah biji mengalami proses fermentasi dan diikuti dengan proses penyangraian.

Hasil kajian sebelumnya menunjukkan bahwa gula yang terdapat dalam biji kakao yang difermentasi terdiri dari glukosa dan fruktosa, sedangkan gula dari

biji yang tidak difermentasi hanya mengandung sukrosa. Rohan (1964) berpendapat bahwa gula reduksi merupakan faktor penting dalam pembentukan aroma kakao. Reaksi *Maillard* dapat berlangsung apabila gula pereduksi bereaksi dengan senyawa-senyawa yang mempunyai gugus NH_2 (protein, asam amino, peptida, amonium) dan bahan dipanaskan atau didehidrasi (Winarno, 1997).

2.3 Proses Fermentasi Kakao

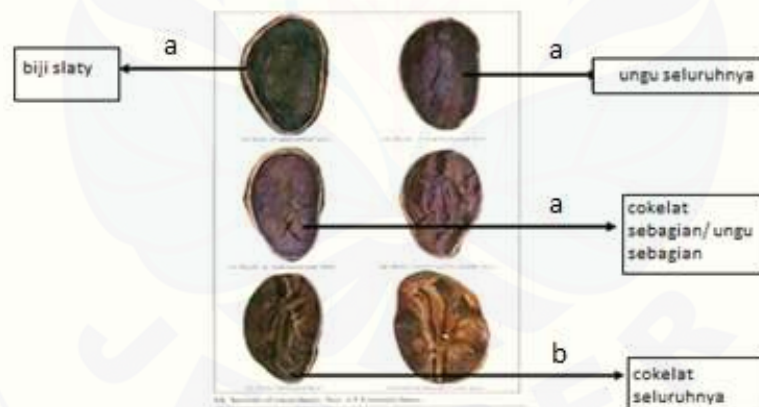
Proses fermentasi adalah penentu dari pengolahan biji kakao. Salah satu tolok ukur tidak sempurnanya fermentasi adalah dihasilkannya biji *slaty*. Biji *slaty* merupakan biji yang memiliki tekstur pejal seperti keju, berwarna ungu dominan (pada kakao lindak) dan tidak menghasilkan cita rasa khas kakao. Biji kakao yang tidak difermentasi warnanya lebih pucat bila dibanding dengan yang terfermentasi sempurna (berwarna coklat sempurna), ada pula yang mengalami fermentasi sebagian sehingga berwarna keunguan (Susanto, 1994).

Cita rasa khas kakao dibentuk oleh senyawa-senyawa kimia penyusunnya baik senyawa pembentuk aroma maupun senyawa penentu rasa. Pembentukan cita rasa ini didahului oleh pembentukan senyawa prekursor (calon) cita rasa selama fermentasi, yang selanjutnya dikembangkan menjadi cita rasa yang sebenarnya waktu penyangraian. Biji kakao tanpa fermentasi sama sekali tidak menghasilkan aroma khas coklat dan memiliki rasa sepat dan pahit yang biasanya berlebihan (Wahyudi dkk., 2008).

Selama fermentasi di dalam biji kakao akan terjadi penguraian senyawa polifenol, protein dan gula oleh adanya enzim yang akan menghasilkan senyawa prekursor aroma, perbaikan cita rasa dan perubahan warna. Selama fermentasi derajat keasaman (pH) mula-mula menurun sampai hari ketiga, stabil pada hari kelima dan meningkat dengan cepat atau meningkat sedikit demi sedikit sejak hari ketiga hingga hari kelima. Kadar polifenol mengalami penurunan, karena terjadinya difusi senyawa polifenol keluar dari keping biji. Komponen pembentuk polifenol adalah antosianin, epikatekin dan katekin. Selama fermentasi antosianin dihidrolisa oleh enzim menjadi gula dan sianidin. Total asam mula-mula rendah, kemudian meningkat sampai hari kedua dan mengalami penurunan

lagi. Gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) mula-mula rendah dan cenderung meningkat sampai akhir fermentasi (Atmawijaya, 1993).

Fermentasi biji kakao umumnya tidak memerlukan penambahan kultur starter (biang), karena pulp/daging kakao yang mengandung banyak glukosa, fruktosa, sukrosa dan asam sitrat sudah dapat mengundang terbentuknya pertumbuhan mikroorganisme sehingga terjadi fermentasi. Cita rasa dan aroma khas cokelat akan muncul pada biji kakao yang telah mengalami proses fermentasi yang sempurna. Secara kualitatif, kesempurnaan proses fermentasi dapat dilihat dari perubahan warna keping biji kakao dengan uji belah yang dilakukan dengan cara membelah biji kakao memanjang di bagian tengah. Permukaan biji yang terbelah akan memperlihatkan warna dominan ungu (violet) pada keping biji tanpa fermentasi atau *slaty*. Warna tersebut akan berubah cokelat selama fermentasi. Semakin panjang fermentasinya, maka warnanya semakin dominan cokelat. Perbedaan antara biji *unfermented* dan biji yang sudah terfermentasi dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.



Gambar 2.1 Perbedaan biji kakao a. biji *unfermented* (*fully purple* atau *slaty*) b. biji fermentasi (*fully brown*) (sumber : <http://agritech.tnau.ac.in>, 2016)

Fermentasi kakao yang telah selesai biasanya ditandai atau dapat diketahui, antara lain ialah pulp mudah dibersihkan dari kulit biji, kulit biji berwarna cokelat, dan bau asam cuka yang sangat jelas. Biji-biji kakao yang belum cukup mengalami fermentasi warna pulpnya putih, kulit biji belum berwarna cokelat dan baunya masih berbau alkohol (Rohan, 1963).

2.4 Peran Gula Pereduksi

Gula pereduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi. Sifat mereduksi ini disebabkan adanya gugus hidroksi yang bebas dan reaktif (Lehninger, 1982). Fruktosa dan glukosa merupakan gula pereduksi yang umum ditemukan dalam biji kakao terfermentasi.

Fruktosa merupakan mono-sakarida, terdiri atas 6 atom karbon (heksosa) yang merupakan isomer glukosa ($C_6H_{12}O_6$) dan mengandung gugus karbonil sebagai keton (Wasserman, 2010). Fruktosa digunakan sebagai pemanis oleh industri makanan karena mempunyai rasa paling manis diantara jenis karbohidrat lainnya, bahkan 1,7 kali lebih manis bila dibandingkan sukrosa dengan harga yang relatif murah (Basciano dkk., 2005 ; Bantle dkk., 2008).

Hashim dkk. (1998) menyebutkan bahwa pada biji kakao *unfermented*, sukrosa merupakan gula dengan konsentrasi terbesar yang mencapai 18,78 g/kg, 95% dari total gula. Hasil kajian lain menyebutkan bahwa fruktosa, glukosa dan total gula dalam biji kakao *unfermented* adalah masing-masing sebesar 24,8 g/kg; 0,9 g/kg; 0,7 g/kg; dan 27,1 g/kg dari biji (Berbert, 1979). Selama proses fermentasi, sukrosa mengalami hidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa oleh invertase (Rohan dan Stewart, 1967a; Hashim dkk., 1998). Ziegleder dan Biehl (1998) menemukan bahwa kandungan sukrosa dalam biji terfermentasi adalah sebesar <10 mg/100 gram sedangkan kandungan fruktosa dan glukosa adalah sekitar 600 mg/100 gram.

Pada saat fermentasi, sukrosa akan mengalami penurunan konsentrasi, sedangkan kandungan glukosa dan fruktosa mengalami peningkatan. Kandungan glukosa dan fruktosa ini akan mengalami penurunan pada proses pengeringan dan penyangraian, terutama pada fruktosa. Fruktosa mengalami penurunan paling besar setelah penyangraian dibandingkan gula reduksi lainnya. Tingginya penurunan kandungan gula reduksi, terutama fruktosa ini dikaitkan dengan reaksi maillard yang terjadi selama penyangraian (Brito dkk., 2000). Hal ini dapat dilihat pada **Tabel 2.5**

Tabel 2.4. Komposisi fraksi gula pada biji kakao tanpa sangrai

Gula	Varietas biji kakao			
	Sanchez*	Arriba**	Bahia***	Ghana***
		% (jumlah gula bebas)		
Pentitol	2.4	4.5	2.7	3.0
Fruktosa	19.4	21.8	52.3	57.0
Sorbose	2.4	3.3	9.8	6.1
α dan β -Glukosa	18.5	14.0	3.3	8.2
Mannitol	2.2	2.3	21.4	8.9
Tidak teridentifikasi	0.9	1.2	2.1	0.5
Inositol	1.6	1.5	4.2	2.3
Sukrosa	53.6	51.4	4.2	14.0
		g kg ⁻¹ biji		
Sukrosa	10.0	6.8	0.6	1.2
Reduksi	7.5	5.1	8.6	6.1
Total gula	18.6	13.3	13.1	8.6

*biji *unfermented*, **biji *under-fermented*, ***biji *fermented*

Sumber: Reineccius dkk. (1972)

Tabel 2.5 Kandungan gula (μmg^{-1}) pada biji kakao

Gula	Fermentasi		Pengeringan	Penyangraian
	0 jam	72 jam		
Glukosa	89.6	90.5	28.3	27.4
Fruktosa	188.7	259.5	127.2	49.7
Sukrosa	184.2	146.5	81.9	42.7

Sumber : Brito (2000)

2.5 Produk Hasil Reaksi Maillard

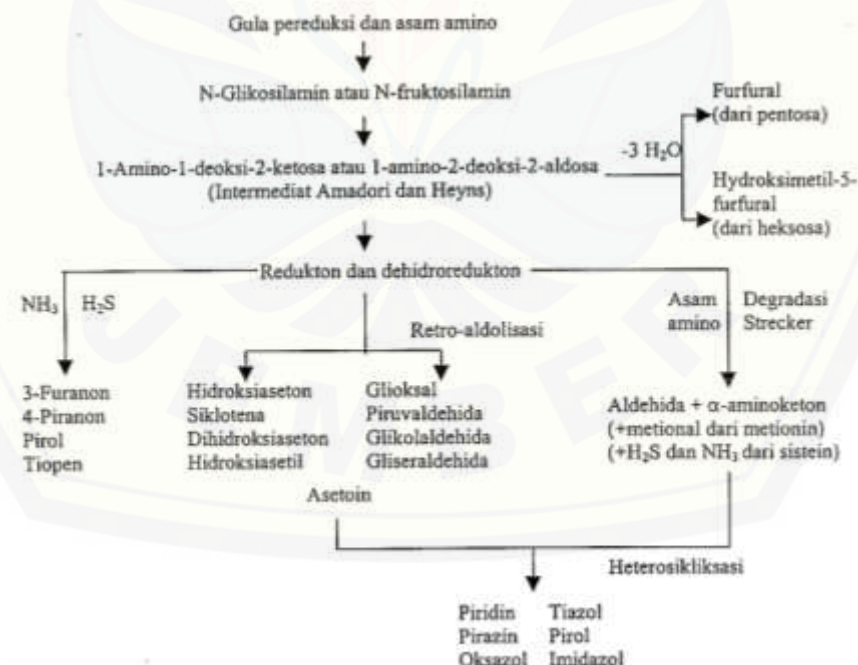
Reaksi maillard adalah reaksi non enzimatis antara karbohidrat khususnya gula pereduksi dengan gugus amina primer, hasil reaksi tersebut menghasilkan bahan berwarna coklat yang disebut melanoidin (Winarno, 1984). Perubahan warna yang terjadi bisa dari kuning lemah sampai coklat gelap, tergantung pada jenis bahan dan jalannya reaksi. Banyak faktor yang mempengaruhi reaksi Maillard seperti temperatur, aktivitas air, pH, kadar uap air dan komposisi kimia suatu bahan (Morales dkk., 1998).

Reaksi Maillard pada biji kakao terjadi pada proses penyangraian. Penyangraian bertujuan untuk membentuk aroma dan cita rasa khas coklat dari biji kakao serta untuk memudahkan lemak keluar dari dalam biji. Melalui proses fermentasi dan pengeringan yang tepat, biji kakao akan mengandung cukup banyak senyawa pembentuk cita rasa dan aroma khas coklat, antara lain asam amino dan gula reduksi yang akan bereaksi membentuk senyawa Maillard (melanoidin). Kesempurnaan reaksi sangrai tidak hanya ditentukan oleh

keberadaan senyawa calon pembentuk aroma dan cita rasa, tetapi juga dipengaruhi oleh panas, waktu, dan kadar air (Mulato dkk., 2004).

Tahap awal dari reaksi Maillard melibatkan kondensasi gugus karbonil dari gula pereduksi dengan gugus amino, diikuti dengan degradasi dari produk terkondensasi tersebut menghasilkan berbagai senyawa teroksigenasi. Tahap selanjutnya melibatkan interaksi senyawa teroksigenasi tersebut dengan senyawa reaktif lainnya seperti amina, amonia, asam amino, aldehida dan hidrogen sulfida. Reaksi tersebut menghasilkan beberapa kelas komponen *flavour* yang cukup penting seperti furan, pirazin, pirol, oksazol, tiopen, tiazol serta komponen heterosiklik lainnya (Mottram, 1994). Skema pembentukan flavor dari reaksi Maillard dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.

Nursten (1986) menyatakan bahwa komponen aroma yang dihasilkan dari reaksi maillard terbagi menjadi tiga golongan. Golongan pertama adalah golongan aroma yang terbentuk dari fragmentasi maupun dehidrasi gula, meliputi furan, piron, siklopentana, karbonil dan asam.



Gambar 2.2 Skema pembentukan *flavour* dari reaksi Maillard pada bahan pangan (Ho, 1996)

Golongan kedua adalah golongan aroma yang terbentuk dari degradasi asam amino, meliputi aldehida dan komponen bersulfur. Golongan ketiga adalah komponen aroma yang terbentuk dari interaksi lebih lanjut antara berbagai komponen yang telah terbentuk, golongan ketiga meliputi pirol, piridin, imidazol, pirazin, oksazol, tiazol dan komponen hasil kondensasi aldol.

Saat ini sudah ditemukan sekitar 200 macam senyawa komponen aroma kakao (Minnifie, 1999). Terdapat 30 macam senyawa pyrazine, 10 pyrole dan 15 furan (Reneccius dkk., 1972). Keberadaan senyawa ini menunjukkan bahwa selama penyangraian terjadi juga reaksi pencokelatan non enzimatis, yaitu reaksi Maillard.

Tabel 2.6 Hasil identifikasi komponen aroma pasta kakao dari Jawa timur, Bali, Sulawesi Selatan dan Ghana

Komponen	Rt	Konsentrasi (ppm)			
		Jawa timur	Bali	Sulawesi Selatan	Ghana
3-hidroksi-2 butanon	27,51	8.23	0.86	1.37	-
1-metilperidin	29,67	4.09	-	-	-
2,6-dimetilpirazin	29,30	2.46	-	0.40	-
2,3-Dimetilpirazin	30,48	-	-	0.60	-
2-isopropil-5 metil-2-heksanal	30,75	21.34	1.31	4.73	37.21
2,3,5-trimetilpirazin	33,05	25.99	0.63	3.90	26.29
3-etil-2,5 dimetilpirazin	34,83	-	0.25	1.27	18.62
2-etil-3-metil pirazin	34,51	6.91	-	-	-
Asam asetat	35,03	191.51	8.46	51.50	338.17
2-etil 3,5-dimetilpirazin	35,49	8.00	0.31	1.87	98.58
3,5-Dietil 2-metilpirazin	36,39	2.05	-	-	-
Tetrametilpirazin	36,04	69.98	2.21	12.28	3.59
2,3 dietil-5 metilpirazin	37,61	7.26	0.29	1.34	4.17
Benzaldehid	38,19	3.58	-	0.75	-
Linalool	38,85	-	0.32	0.60	-
2,3 butanediol	39,98	29.95	1.47	9.48	5.58
1,3 metoksipropil asetat	39,51	-	-	2.28	-
3-isobutil-2-metoksipirazin	39,53	24.70	-	-	-
2-asam metilpropanoat	39,67	-	0.85	2.28	28.58
Dehidro-2(3H)-furanon	42,2	2.71	0.16	0.54	2.75
3-metil-asam-butanoat	43,41	54.68	1.67	3.51	99.44
Etil fenil asetat	47,61	5.04	0.17	0.28	10.01
2-Fenetil Asetat	48,61	7.13	0.32	1.39	27.66
1-asam heksanoat	49,43	-	-	-	7.74
2-feniletanol	51,69	7.54	0.57	2.13	47.33
(2Z)-2-fenil-2-butenal	52,24	2.76	0.12	0.37	7.12
5-Metil-2-fenil-2-heksenal	56,53	4.40	0.29	0.84	12.92
3,5-Dihidroksi-6-Metil-2,3 dihidro-4H-piran-4on	62,35	-	0.12	-	3.76
Persen teridentifikasi (%)		55.26%	50.0%	56.4%	50.0%
Total (ppm)		490.31	20.4	103.71	779.52

(Sumber : Kusumaningrum, 2014)

Menurut Maarse (1991), beberapa senyawa yang berperan dalam pembentukan aroma kakao antara lain senyawa-senyawa hidrokarbon, alkohol, aldehida, keton, asam karboksilat, ester, furan, fenol dan eter, furan, pirol (*pyrroles*), *oxazoles*, *thiazoles*, piridin (*pyridine*) dan *quinolines*, pirazin, amina, komponen-komponen bersenyawa nitrogen serta komponen bersenyawa belerang.

Penelitian Kusumaningrum (2014) berhasil mengidentifikasi komponen aroma aktif yang terdapat pada biji fermentasi dari Jawa Timur, Bali, Sulawesi Selatan dan Ghana menggunakan GCMS. Komponen aroma aktif adalah komponen volatil yang berkontribusi pada sensori dan dapat memberikan *flavour* pada produk tersebut (Wijaya dkk., 2005). Beberapa komponen yang teridentifikasi merupakan komponen pirazin seperti ditunjukkan pada **Tabel 2.6**.

IMR merupakan salah satu metode peningkatan mutu pada biji kakao kering yang tidak terfermentasi atau terfermentasi sebagian sehingga memiliki mutu yang lebih baik. IMR dilakukan dengan cara menambahkan asam amino dan gula reduksi sebagai pemicu terjadinya maillard. Kajian IMR ini sebelumnya telah dilakukan pada biji kopi bermutu rendah, bubuk kakao dan beberapa produk lainnya. Penelitian yang telah dilakukan antara lain oleh Samira dkk. (2014) yang menggunakan *ribose-induced maillard reaction* pada gelatin film, Tan dkk. (2012) yang menggunakan *ribose-induced maillard reaction* pada daging ayam cincang, Nuwiah (2010) yang menggunakan asam amino hidrofobik dan fruktosa pada lemak kakao dan Ginz dkk. (2000) yang menggunakan asam alifatik dan karbohidrat pada biji kopi.

Hasil rekayasa pencokelatan non enzimatis tersebut dapat menghasilkan aroma-aroma tertentu. Pada penelitian Wong (2008), ditemukan hasil reaksi antara gula pereduksi dan berbagai asam amino yang berupa bermacam-macam aroma, seperti pada **Tabel 2.7**.

Tabel 2.7 Warna dan aroma produk *maillard* oleh asam amino dan glukosa setelah pemanasan 14 dan 24 jam

Asam amino	Warna	Aroma
Alanine	Cokelat	Seperti buah, sedap/manis, bunga
Arginine	Kuning cerah	Tidak beraroma, pahit
Asam aspartat	Cokelat sangat cerah	buah (sawo, kurma segar), sedap
Cysteine	Kuning cerah	seperti belerang
Glutamic acid	Tidak berubah	Tidak beraroma, masam
Glycine	Cokelat	Seperti karamel, sedap/manis
Histidine	Kuning cerah	Tidak beraroma, rasa masam dan agak manis
Isoleucine	Cokelat	gosong, seperti karamel
Leucine	Cokelat	gosong, seperti karamel
Lysine	Cokelat	sedap/manis, seperti karamel, pahit
Methionine	Cokelat	Kentang goreng, keripik udang
Threonine	Cokelat cerah	Sedap/ manis, rasa manis sepat
Serine	Cokelat	Buah (sawo muda, kurma segar), sedap/manis
Proline	Cokelat cerah	bunga, sedap/manis, pandan, kesemek, rasa pahit
Phenylalanine	Cokelat	Bunga (mawar kering), almond, rasa pahit
Tyrosine	Cokelat	Bunga (agak mawar kering), rasa manis
Valine	Cokelat	Seperti karamel, rasa pahit

Sumber: Wong dkk. (2008)

2.6 Kandungan Hidrolisat protein Whey

Hidrolisat protein merupakan hasil hidrolisis protein baik secara kimiawi maupun secara enzimatis yang mengandung peptida yang berat molekulnya lebih rendah dan asam amino-asam amino bebas. Hidrolisat protein merupakan sumber protein alami yang dihidrolisis secara parsial sehingga lebih mudah diasimilasi oleh makhluk hidup. Hidrolisis secara parsial mampu memecah molekul protein menjadi beberapa gugus asam amino maupun peptida melalui pemutusan ikatan rantai peptida (Rehm dan Reed, 1995). Hidrolisat protein untuk menghasilkan peptida dan asam amino dapat dilakukan secara parsial dengan penambahan enzim. Sifat enzim yang sangat spesifik memerlukan pemilihan kondisi hidrolisis yang tepat. Kondisi yang perlu diperhatikan selama hidrolisis berlangsung adalah suhu, nilai pH, dan waktu hidrolisis (Gesualdo dan Li-Chan, 1999).

Hidrolisis menggunakan enzim berlangsung secara spesifik, maka proses hidrolisis secara ekstensif mampu mempengaruhi pembentukan peptida dan asam-asam amino. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan hidrolisis dan kekhasan hidrolisat yang dihasilkan adalah suhu, waktu, pH, konsentrasi, dan perbandingan enzim dengan protein. Warna, bau, rasa, dan tingkat kerusakan asam amino

dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, kondisi serta bahan penghidrolisis yang digunakan. Bila hidrolisis berjalan sempurna maka akan dihasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 18-20 macam asam amino (Kirk dan Othmer, 1953).

Hidrolisat protein whey merupakan salah satu hidrolisat protein yang berbahan dasar susu sapi. Hidrolisat protein whey sebagai sumber asam amino mengandung bermacam-macam asam amino esensial dan non esensial. Pada **Tabel 2.8** terlihat bahwa kandungan asam amino yang paling tinggi pada hidrolisat protein whey adalah leusin dan asam glutamat.

Tabel 2.8 Kandungan asam amino pada hidrolisat protein whey/1000 mg

Asam amino	Kandungan
Asam amino esensial	
L-Leucine	378mg
L-Isoleucine	188mg
L-Valine	148mg
L-Lysine	323mg
L-Threonine	127mg
L-Methionine	63mg
L-Phenylalanine	117mg
L-Tryptophan	78mg
Asam amino non esensial	
L-Arginine	56mg
L-Aspartic Acid	313mg
L-Cystine/cystein	112mg
L-Alanine	154mg
L-Glutamic Acid	515mg
L-Glycine	58mg
L-Histidine	63mg
L-Proline	126mg
L-Serine	119mg
L-Tyrosine	105mg

Sumber : Ultimate Nutrition, 2015

Pada biji kakao fermentasi Ghana yang merupakan biji kakao kualitas baik, kandungan asam amino paling banyak adalah leusin seperti ditunjukkan pada **Tabel 2.9**. Leusin, valine dan phenylalanine merupakan asam amino yang berperan penting dalam pembentukan aroma biji kakao (Watterson dkk., 1997).

Tabel 2.9 Kandungan asam amino pada biji kakao

Asam amino	Jumlah asam amino (%)			
	<i>Unfermented</i>		<i>Fermented</i>	
	West Africa	Malaysia	Ghana	Malaysia*
Asam	30.32	30.38	15.9	20.5
▪ Aspartic + Asparagin	12.00	12.40	8.2	9.9
▪ Glutamine + Glutamic	18.32	17.98		
▪ Glutamine + Glutamic + Histidine			7.7	10.6
Hidrofobik	33.00	34.08	58.3	58.6
▪ Leucine	7.52	6.74	17.4	16.4
▪ Alanine	7.49	7.50	14.4	13.6
▪ Phenylalanine	4.82	4.52	9.1	11.3
▪ Tyrosine	2.62	4.02	4.0	9.1
▪ Valine	6.81	7.38	8.6	5.0
▪ Isoleucine	3.74	3.92	4.8	3.2
Lainnya	36.65	35.54	25.8	21.1
▪ Lysine	6.58	3.87	7.0	3.0
▪ Arginine	5.69	6.86	4.0	6.9
▪ Histidine	1.79	1.32	n.d	n.d
▪ Threonine	5.11	5.24	4.0	2.4
▪ Serine	7.75	7.82	5.1	4.1
▪ Glycine	8.81	9.35	3.2	2.6
▪ Methionine	0.92	1.08	2.5	2.1
Total	99.97	100.00	100.0	100.2

*biji inkubasi n.d, tidak terdeteksi

Sumber : Kirchhoff dkk. (1989)

2.7 Komponen Aroma Kakao

Bau (*odor*) dan rasa (*taste*) merupakan penyusun utama dari aroma (*flavor*). Karakteristik terpenting dalam aroma adalah bau (Reineccius dan Henry, 1999). Mayoritas penelitian tentang aroma yang dilakukan sejak dulu merupakan penelitian mengenai unsur volatil pada makanan dan pecita rasa (Reineccius dan Henry, 2006).

Biehl (1984) menyatakan bahwa penelitian dibidang fermentasi kakao masih sedikit yang menetapkan senyawa paling khas pada flavor coklat. Prekursor flavor kakao yang paling sering mendapat perhatian adalah asam amino dan gula reduksi. Reaksi pembentukan flavor kakao dari asam amino dan gula reduksi terbentuk selama proses penyangraian dan salah satu senyawa yang dihasilkan adalah pyrazin (Reymond, 1978)

Sejauh ini sudah ditemukan sekitar 200 macam senyawa komponen aroma kakao (Minnifie, 1999). Menurut Maarse (1991), beberapa senyawa yang berperan dalam pembentukan aroma kakao diantaranya hidrokarbon, alkohol,

aldehida, keton, asam karboksilat, ester, furan, fenol (pyroles), oxazoles, thiazoles, piridin dan quinolines, pirazin, amina dan komponen-komponen senyawa nitrogen serta komponen bersenyawa belerang (**Tabel 2. 10**)

Tabel 2.10 Komponen Aroma Kopi, Kakao dan Teh

Gugus fungsi	Jumlah yang ditemukan		
	Kopi	Kakao	Teh
Hidrokarbon	50	39	37
Alkohol	20	25	46
Aldehida	28	22	55
Keton	70	24	57
Asam karboksilat	20	51	71
Ester	29	58	55
Furan	8	7	16
Fenol	42	6	19
Furan	99	19	9
<i>Thiopene</i>	26	-	1
<i>Pyrroles</i>	67	18	10
<i>Oxazoles</i>	27	15	2
<i>Thiazoles</i>	28	9	7
Piridin	13	12	23
Pirazin	79	94	22
Amina dan komponen bersenyawa-N	24	45	18
Sulfida dan produk bersenyawa-S	16	10	5
Komponen lain	9	8	14

Sumber : Maarse, 1991

Senyawa-senyawa ini menunjukkan bahwa selama proses penyangraian terjadi reaksi browning non enzimatis, yaitu reaksi Maillard. Maillard dapat berlangsung disebabkan gula pereduksi bereaksi dengan senyawa-senyawa yang memiliki gugus NH_2 (protein, asam amino, peptida, amonium) dan bahan dipanaskan atau didehidrasi (Winarno, 1997).

Menurut De Zaan (1975), flavor kakao terbentuk dari dua kelompok besar berdasarkan komponen penyusunnya yaitu yang mudah menguap dan tidak mudah menguap. Kelompok mudah menguap terdiri atas 400 senyawa kimia. Kelompok yang tidak mudah menguap diantaranya theobromin dan kafein yang menjadi penyebab rasa pahit dan tannin menyebabkan rasa sepat.

Hampir pada semua bahan pangan yang disangrai, ditemukan aldehida dan keton. Keduanya memberikan kontribusi yang signifikan pada bahan pangan seperti kopi dan coklat. Ester juga komponen penyusun aroma buah yang memiliki peran penting dalam penyusunan aroma pada kopi, kakao dan teh. Sedikitnya terdapat 58 senyawa ester teridentifikasi pada kakao (Maarse, 1991).

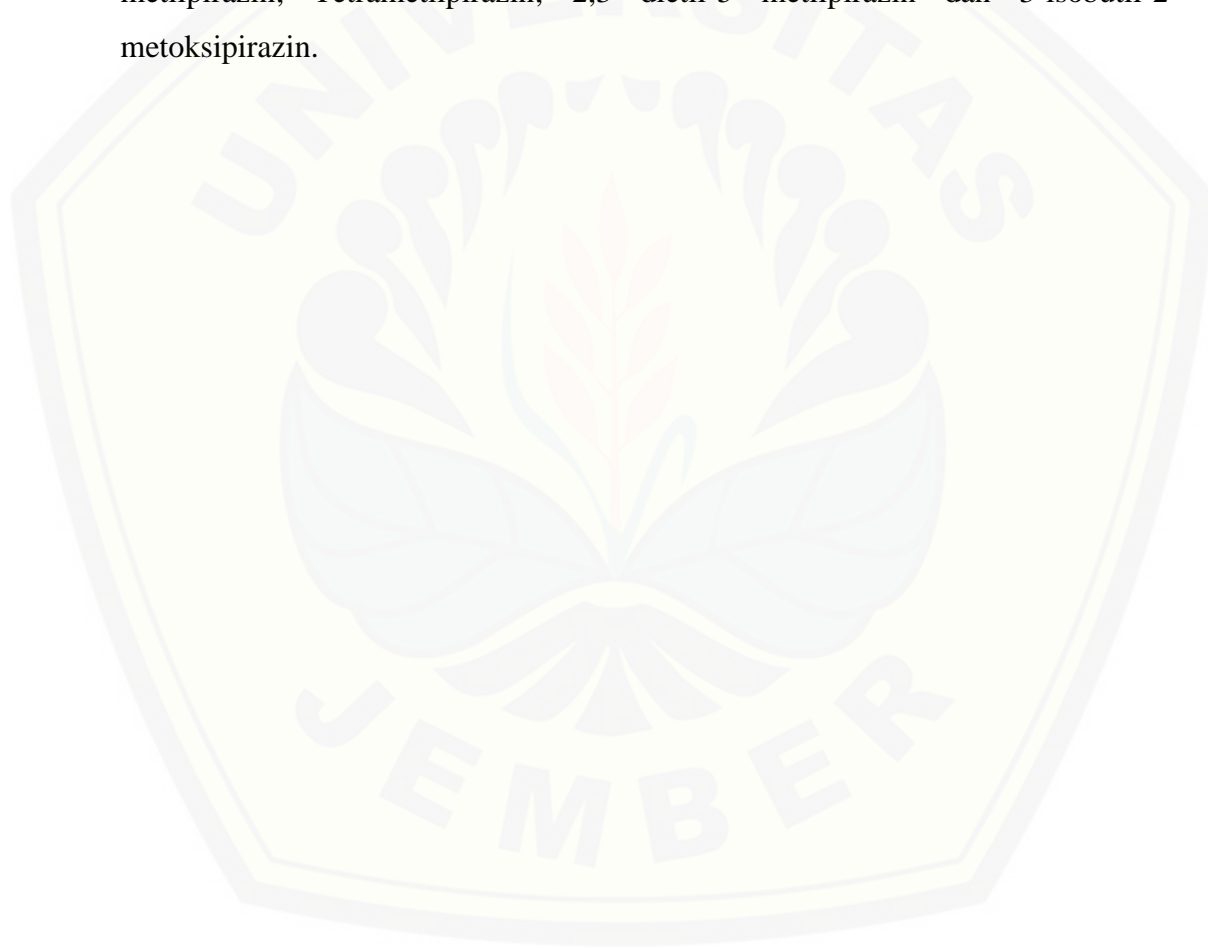
2.8 Identifikasi Aroma Kakao dengan SPME GC-MS

Identifikasi senyawa aroma dapat dilakukan dengan beberapa cara salah satunya dengan metode SPME GC-MS. SPME merupakan salah satu metode sampling tanpa menggunakan pelarut yang menyerap komponen volatil dan semi volatil dari rongga udara diatas sampel padatan dan cairan. (Self, 2005). SPME telah banyak digunakan untuk menganalisis kandungan aroma pada beberapa bahan antara lain pada kakao seperti yang dilaporkan oleh Kusumaningrum (2014), analisis komponen flavor pada bubuk kopi, minuman jus buah dan minyak sayur (Yang, 1994). Kemudian analisis komponen dapat dilakukan dengan cara fraksinasi dan karakterisasi. Fraksinasi dapat dilakukan secara fisik dan atau kimia. Fraksinasi secara kimia dapat dilakukan dengan penambahan zat seperti *phenylhydrazones*, *oximes*, bisulfit dan lain-lain, sedangkan fraksinasi secara fisik dapat dilakukan dengan distilasi fraksional, kristalisasi fraksional, distilasi molekuler, sublimasi dan kromatografi (Fenaroli, 1970).

Kromatografi adalah metode pemisahan komponen bahan secara fisika dimana komponen tersebut terdistribusi menjadi 2 fase, yaitu fase stasioner dan fase mobil. Fase stasioner dapat berupa padatan atau cairan pada matriks padat (Grob, 2004a). Kromatografi gas pertama kali diperkenalkan oleh James dan Martin pada tahun 1952. Menurut Kitson dkk. (2002) prinsip kerja kromatografi gas secara umum mencakup pengubahan fase sampel menjadi fase gas dengan pemanasan pada tempat penyuntikan, pemisahan komponen campuran secara spesifik pada kolom yang telah dipersiapkan dan pendeteksian tiap komponen menggunakan detektor. Menurut Grob (2004b) terdapat beberapa keuntungan dari penggunaan kromatografi gas yaitu waktu analisis yang relatif singkat, kemampuan pemisahan yang sangat baik, mudah diotomatisasi, mudah dalam penyimpanan data dan memiliki sistem kromatografi gas yang mampu diaplikasikan untuk analisis komponen bahkan dengan titik didih yang hampir sama. Dengan pemilihan komponen yang tepat, kromatografi gas mampu memisahkan komponen yang mirip secara fisika maupun kimia.

Kromatografi gas menjadi populer karena memiliki kemampuan memisahkan yang sangat baik dan sensitifitas yang sangat tinggi. Penggunaan

kromatografi gas semakin berkembang dengan adanya perangkat tambahan seperti spektrometri massa dan olfactometry (Reineccius dan Henry, 2006). Penelitian Kusumaningrum (2014) menggunakan GCMS berhasil mengidentifikasi 28 komponen aroma aktif pada empat jenis pasta kakao dari Jawa Timur, Sulawesi Selatan, Bali dan Ghana dengan masing-masing memiliki 21, 19, 22 dan 18 komponen volatil. Sepuluh komponen diantaranya adalah komponen pirazin yaitu 2,6-dimetilpirazin; 2,3-Dimetilpirazin; 2,3,5-trimetilpirazin; 3-etil-2,5 dimetilpirazin; 2-etil-3-metil pirazin; 2-etil 3,5-dimetilpirazin; 3,5-Dietil 2-metilpirazin; Tetrametilpirazin; 2,3 dietil-5 metilpirazin dan 3-isobutil-2-metokspirazin.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium pasca panen Pusat Penelitian Kopi Kakao Indonesia bertempat di Kaliwining, Desa Nogosari, Kec. Rambipuji, Kab. Jember, dan Laboratorium Pasca Panen Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia di Jalan PB Soedirman dan Laboratorium Analisis Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dimulai pada bulan Juli 2015 sampai Maret 2016.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji kakao kering tanpa fermentasi yang diperoleh dari Kebun Rakyat dari kabupaten Blitar, hidrolisat protein whey (Ultimate Nutrition Amino Gold, Ultimate Nutrition Inc, U.S.A), fruktosa (KGaA, EMD Millipore Corporation, Darmstadt Germany) dan aquades.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah *form* QDA, colorimeter Minolta CR 300, plastik, oven, tabung reaksi, penggiling nib kakao, vial, dan perangkat *Solid Phase Microextraction* (SPME) yang terdiri dari *Solid Phase Microextraction holder for manual sampling* (Supelco, Bellefonte) dan *Fiber Assembly 30/50 μ m PDMS/DVB/Carboxen on Stableflex* (Supelco, Bellefonte) (**Gambar 3.1**), GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrofotometry*) tipe *Agilent Technologies 5973* yang dilengkapi dengan kolom HP-5MS ((5%-phenyl) - methylpolysiloxane, 0.25mm ID, 30m and 0.25 μ m film) dan 2 mm inlet liner (**Gambar 3.2**).



Gambar 3.1 *Solid Phase Microextraction* (SPME)

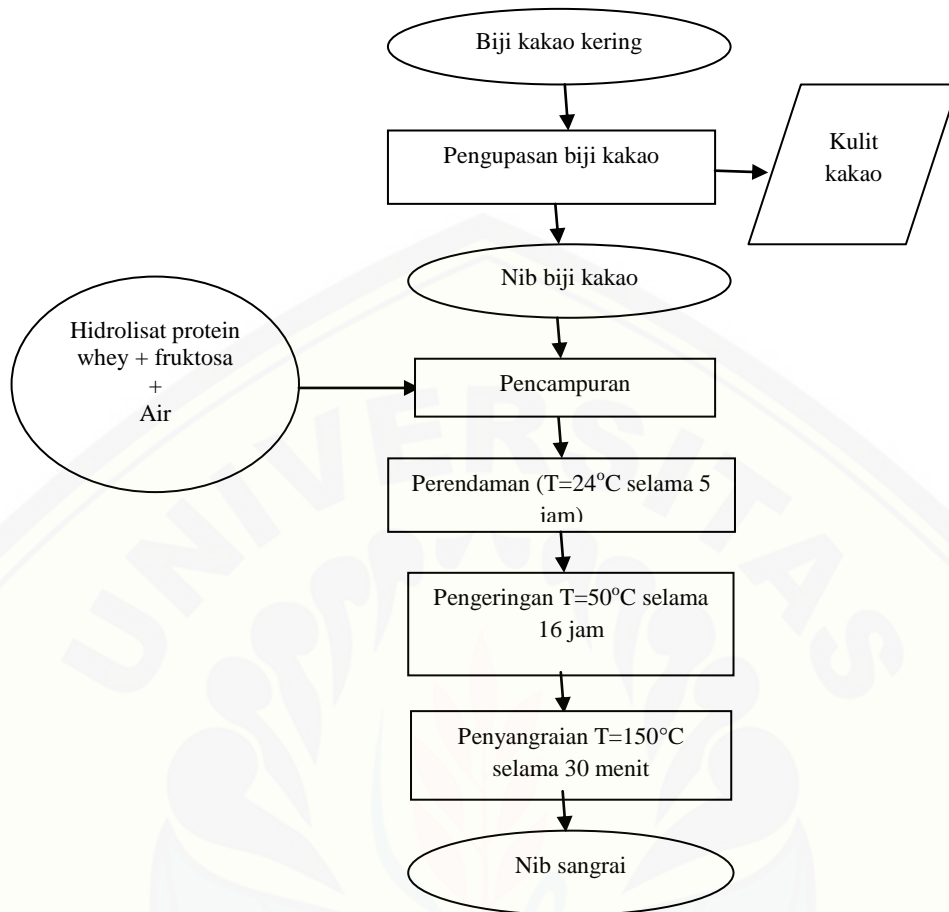


Gambar 3.2 GC-MS(*Gas Chromatography-Mass Spectrofotometry*)

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Biji kakao tanpa fermentasi dikupas kulitnya untuk mendapatkan nib kakao dan ditimbang per 100 gram, kemudian siapkan hidrolisat protein whey (1, 2, 3 %) dan fruktosa (0,5; 1; 1,5 %) sesuai perlakuan. Selanjutnya bahan tersebut dicampur dan ditambah aquades sehingga membentuk larutan. Aquades yang ditambahkan memiliki perbandingan 1:1 dengan nib. Kemudian nib kakao direndam dalam larutan fruktosa dan hidrolisat protein whey tersebut selama 5 jam. Fungsi perendaman ini untuk memudahkan fruktosa dan hidrolisat whey protein terserap dalam nib kakao. Setelah 5 jam nib kakao ditiriskan untuk dipisahkan dengan air rendaman. Kemudian nib kakao hasil rendaman dikeringkan dengan oven suhu 50°C selama 16 jam. Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan nib kakao dengan kadar air sekitar 7%. Setelah itu nib kakao disangrai pada suhu 150°C selama 30 menit. Fungsi penyangraian untuk membentuk reaksi *maillard* antara asam amino dan gula pereduksi yang ditambahkan sehingga diharapkan dapat membentuk aroma dan cita rasa yang diinginkan. Hasil selanjutnya adalah nib kakao sangrai. Adapun prosedur penelitian dalam menghasilkan nib kakao sangrai dapat dilihat pada **Gambar 3.3**.



Gambar 3.3 Metode pencokelatan non enzimatis terinduksi atau *Induced Maillard Reaction (IMR)*

3.3.2 Rancangan percobaan

Pada penelitian ini terdapat dua faktor yang digunakan yaitu faktor A konsentrasi hidrolisat protein whey dan faktor B konsentrasi fruktosa. Masing-masing faktor terdiri dari tiga level dan dilakukan pengulangan tiga kali, sehingga diperoleh sembilan kombinasi dan dua perlakuan kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Konsentrasi hidrolisat protein whey yang digunakan yaitu :

- H0 : 0 %
- H1 : 1 %
- H2 : 2 %
- H3 : 3 %

Sedangkan konsentrasi fruktosa yang digunakan yaitu :

- F0 : 0%
 F1 : 0,5 %
 F2 : 1 %
 F3 : 1,5 %

Dari kedua faktor perlakuan, didapatkan sebelas kombinasi perlakuan sebagai berikut :

Perlakuan	Keterangan
F0H0 (-)	0% fruktosa : 0% hidrolisat protein whey
F0H0 (+)	0% fruktosa : 0% hidrolisat protein whey (direndam air)
F1H1	0,5 % fruktosa : 1 % hidrolisat protein whey
F1H2	0,5 % fruktosa : 2 % hidrolisat protein whey
F1H3	0,5 % fruktosa : 3 % hidrolisat protein whey
F2H1	1 % fruktosa : 1 % hidrolisat protein whey
F2H2	1% fruktosa : 2 % hidrolisat protein whey
F2H3	1% fruktosa : 3 % hidrolisat protein whey
F3H1	1,5 % fruktosa : 1 % hidrolisat protein whey
F3H2	1,5 % fruktosa : 2 % hidrolisat protein whey
F3H3	1,5 % fruktosa : 3 % hidrolisat protein whey

Hasil penelitian disajikan dalam bentuk deskriptif dimana data hasil penelitian kemudian disusun dalam tabel, lalu dirata-rata dan digambarkan dalam bentuk grafik untuk kemudian diinterpretasikan sesuai hasil yang didapatkan.

3.3.3 Parameter Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi :

1. Warna (dengan Metode *Colorimeter* CR-300 Minolta)
2. Sensori (dengan QDA; Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 2015)
3. Uji Efektivitas (De Garmo, dkk., 1984)
4. Identifikasi Senyawa Volatile (dengan SPME GC-MS; Supelco, 1998)

3.4 Prosedur Analisis

3.4.1 Analisis Warna

Nib kakao hasil perlakuan IMR dilakukan pemastaan. Setelah menjadi pasta coklat kemudian tunggu hingga pasta berbentuk padat. Analisis warna pasta kakao IMR menggunakan alat colorimeter Minolta (CR 300, Osaka, Jepang).

Hasil analisis disajikan dalam notasi L yang menunjukkan parameter kecerahan (*light*). Parameter L memiliki nilai 0 (hitam) sampai 100 (putih). Notasi L menunjukkan pencahayaan cahaya pantul yang menghasilkan warna akromatik putih abu-abu dan hitam. Notasi a menunjukkan warna kromatik campuran merah dan hijau. Nilai +a (positif) untuk warna merah berkisar 0 sampai 100 dan -a (negatif) untuk warna hijau dari 0 sampai dengan -80. Notasi b menunjukkan warna kromatik campuran biru kuning dengan notasi +b (positif) untuk warna kuning dari 0 sampai dengan +70 dan nilai -b (negatif) untuk warna biru dari 0 sampai dengan -70 (Soekarto, 1990).

ΔE^* merupakan parameter yang digunakan untuk menilai sejauh mana perubahan/perbedaan nilai Lab* yang dihasilkan. Semakin besar nilai ΔE^* maka semakin besar pula perubahan/perbedaan nilai Lab* yang terjadi dan begitu sebaliknya. Rumus ΔE sebagai berikut :

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Menentukan tingkat perbedaan warna dapat dilakukan dengan menghitung indeks tingkat warna putih (*whiteness index*, WI). Whiteness ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$W1 = \sqrt{100 - ((100 - L)^2 + (a)^2 + (b)^2)}$$

Chroma adalah sebuah nilai yang menunjukkan tingkat kekuatan atau kemurnian sebuah warna. Semakin tinggi nilai intensitasnya maka akan semakin cemerlang warna tersebut yang berarti akan semakin murni warna tersebut. Semakin rendah nilai intensitas maka warna yang ada akan semakin suram semakin kusam atau semakin redup. Rumus menentukan chroma sebagai berikut :

$$\Delta C^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

Hue digunakan untuk membedakan warna-warna dan menentukan kemerahan (*redness*), kehijauan (*greenness*), dan sebagainya dari cahaya (Hariyanto, 2009). Nilai Hue menunjukkan warna dominan dari sampel. Nilai Hue adalah tangensial dari nilai b* dengan a*. Rumus menentukan Hue sebagai berikut :

$$H = 90 - \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

Adapun deksripsi warna berdasar Hue dapat dilihat pada **Tabel 3.1**

Tabel 3.1 Deskripsi warna berdasarkan Hue

Hue [arc tan (b/a)]		Deskripsi warna
18	54	Red (R)
54	90	Yellow Red (YR)
90	126	Yellow (Y)
126	162	Yellow Green (YG)
162	198	Green (G)
198	234	Blue Green (BG)
234	270	Blue (B)
270	306	Blue Purple (BP)
306	342	Purple (P)
342	18	Red Purple (RP)

Sumber : Hutcing (1999).

3.4.2 QDA (Pusat Penelitian Kopi Kakao, 2007)

Uji *Qualitatif Descriptive Analysis* digunakan untuk menilai karakteristik atribut mutu sensori dalam bentuk angka-angka kuantitatif (Hui, 2006). Uji sensori deskriptif dilakukan oleh 3 orang panelis terlatih (SNI, 2009). Panelis memberikan penilaian terhadap profil sensori dari sampel dengan dua skala garis yaitu berdasarkan kualitas dan kuantitas dengan skala lemah, sedang, kuat dan memiliki skala nilai 0 (terendah) dan 10 (tertinggi). Atribut sensori yang diuji adalah aroma coklat (*chocolate aroma*), flavor coklat (*Chocolate flavour*), warna, karamel (*caramelly*), krim (*creamy*), manis (*sweetness*), asam (*acidity*), pahit (*bitterness*), sepat (*astringency*) dan kesukaan (*preference*).

Nib kakao disajikan dalam bentuk pasta coklat pada suhu 40-60°C tanpa penambahan gula. Sampel disajikan satu persatu untuk menghindari bias saat penilaian. Pada uji cita rasa panelis diminta menilai pasta kakao dengan merasakan dan ditelan. Pada setiap pergantian sampel, panelis diberi air minum dan roti tawar untuk menetralkan indera pengecap panelis sehingga tidak terjadi bias selama penilaian sampel yang berbeda. Panelis diminta untuk menghirup aroma pasta kakao untuk uji aroma.

Pada tahap terakhir panelis mengisikan *score sheet* pada form yang disediakan. Kemudian dihitung nilai setiap panelis per ulangan dan diambil nilai

rata-rata seluruh panelis. Hasil yang diperoleh dari uji sensori tersebut ditampilkan dalam bentuk diagram laba-laba (*spider web*).

3.4.3 Uji Efektivitas (De Garmo dkk, 1984)

Uji efektivitas dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dengan cara menentukan bobot nilai (BN) pada masing-masing parameter dengan angka relatif 0 -1. Bobot nilai tergantung dari kepentingan masing-masing parameter yang diamati. Bobot normal parameter (BNP) dan nilai efektivitas dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Bobot Normal Parameter (BNP)} = \frac{\text{Bobot Nilai (BN)}}{\text{Bobot Nilai Total}}$$

$$\text{Nilai efektivitas} = \frac{\text{Nilai perlakuan-nilai terjelek}}{\text{Nilai terbaik-nilai terjelek}}$$

3.4.4 Identifikasi Profil Aroma (Supelco, 1998)

Identifikasi Profil Aroma dilakukan dengan uji sensori QDA (*Qualitative Descriptive Analysis*), selanjutnya dilakukan uji efektifitas untuk diambil tiga perlakuan terbaik yaitu F1H3, F2H2 dan F2H3. Kemudian ketiga perlakuan terbaik dan dua kontrol yaitu positif dan negatif dilakukan identifikasi aroma dengan SPME GC-MS. Nib kakao sebanyak 100 g dihancurkan dengan menggunakan blender. Setelah menjadi bubuk kakao digiling menjadi pasta kakao. Kemudian pasta kakao ditimbang 2 gram dan dimasukkan dalam vial (kapasitas 40 mL). Kemudian vial berisi sampel pasta kakao ditutup dengan tutupnya yang sebelumnya telah dilubangi dengan jarum dibagian tengahnya.

Vial dipanaskan menggunakan *shaker water bath* pada suhu 70°C selama 10 menit hingga pasta mencair. Lalu jarum SPME dimasukkan pada vial dan ditempatkan pada rongga udara diantara tutup vial dan pasta, sehingga tidak terjadi kontak antara fiber dengan pasta. Setelah jarum SPME masuk, kemudian fiber SPME dikeluarkan dengan menekan plunger dan menahan pada Z slot.

Ekstraksi tersebut dilakukan selama 30 menit dengan kondisi sampel tetap dipanaskan pada *shaker water bath* pada suhu konstan 70°C.

Fiber SPME dimasukkan kembali dengan cara melepas tahanan pada Z-slot dan mengembalikan posisi *plunger* seperti semula. Selanjutnya, jarum SPME dikeluarkan dari vial dan vial dikeluarkan dari *water bath*. Fiber SPME yang telah digunakan untuk mengekstrak dianalisis dengan menggunakan kromatografi gas.

Analisis dilakukan dengan kromatografi gas yang dilengkapi dengan 2 mm inlet liner dan kolom tipe HP-5MS ((5%-phenyl) - methylpolysiloxane, 0.25mm ID, 30m and 0.25µm film) dan dirangkai dengan spektrometri massa tipe *electronimpact*. Injeksi GC ditetapkan pada suhu 260°C dan desorpsi dilakukan dalam *splitless* mode selama 5 menit. Kolom diatur pada suhu awal 40°C (5 menit), kemudian dinaikkan perlahan sampai 230°C pada 4°C/menit. Hasil analisis kromatografi gas tersebut selanjutnya ditelusuri dengan menggunakan *library* pada spektrometri massa. Ion spektrometer massa ($m/z = 30-350$ pada 0,6 detik /scan) digunakan untuk identifikasi senyawa.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan beberapa hal berikut :

1. Perlakuan *Induced Maillard Reaction* (IMR) memiliki warna nib kakao yang lebih gelap dibandingkan biji kakao *unfermented* tanpa perlakuan dan biji kakao *unfermented* yang hanya direndam air. Berdasarkan uji QDA nib kakao hasil perlakuan IMR memiliki kualitas citarasa dan aroma yang sedang (*moderately*) pada atribut cokelat, flavor cokelat, warna, karamel, krim, manis, asam, pahit, sepat. Nib dengan penambahan fruktosa 1% dan hidrolisat protein whey (HPW) 3%, fruktosa 2% dan HPW 2%; serta fruktosa 2% dan HPW 3% memiliki nilai kualitas cokelat, flavor cokelat, karamel, warna dan kesukaan yang lebih tinggi dibandingkan biji kakao *unfermented* tanpa perlakuan dan biji kakao *unfermented* yang hanya direndam air.
2. Analisis GC-MS menggunakan perangkat SPME mampu mengidentifikasi enam golongan senyawa aroma meliputi aldehida, keton, asam karboksilat, ester, pirazin dan fenol. Perlakuan *Induced Maillard Reaction* mampu meningkatkan jumlah senyawa pirazin lebih banyak yaitu 29,699% area.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh jenis gula yang berbeda terhadap biji kakao tanpa fermentasi dengan *Induced Maillard Reaction*, sehingga dapat diketahui jenis gula yang lebih berpengaruh dalam peningkatan kualitas biji kakao tanpa fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, J.B. dan H.M, Brown. 2007. Discoloration in raw and processed fruits and vegetables. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, Vol. 47: 319-333
- Amin, I., Jinap, S., dan Jamilah, B. 1997. Vicilin-Class Globulin and Their Degradation During Cocoa Fermentation. *Journal Food Chemistry*, Vol. 59, 1–5.
- Anis, Muhammad. 2013. Kajian Enzim Protease Dari Limbah Pengolahan Lateks Hevea Brasiliensis Untuk Peningkatan Mutu Kakao *Theobroma cacao L.* Skripsi. Makasar: Universitas Hasanudin
- Apriantono, Anton, dan Bakti Kumara. 2004. Identifikasi Character Impact Odorants Buah Kawista (Feronia limonia). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. XV, No.1.
- Arctander, S. 1960. *Perfume and Flavor Materials of Natural Origin*. Elizabeth, N.J : S. Actander:
- Arnoldi, A. Arnoldi. C., Baldi, O., dan Graffini, A. 1988. Flavour Component in the Maillard Reaction of Different Amino Acids with Fructose in Cococa Butter – Water Quantitave Analysis of Pyrazine. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol. 36, 98 –992.
- Assoumani, M.B., D. Maxime, dan N.P Nguyen. 1994. Evaluation of a Lysine-glucose Maillrd Model System Using Three Rapid Analytical Methods. Dalam T.P. Labuza, G.A. Reineceius, V. Monnier, J.O. Brien dan J. Bayus (ed) : *Maillard Reaction in Chemistry, Food and Health*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Atmawijaya. 1993. “Pengkajian terhadap Beberapa Parameter Biji Kakao Selama Waktu Fermentasi pada Proses Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cocoa L.*)”.Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknik Pertanian Universitas Djuanda.
- Bahri, S. 2002. *Bercocok Tanaman Perkebunan Tahunan*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Bantle, J.P. 2008. Dietary Fructose And Metabolic Syndrome And Diabetes. *Journal Nutrition*. Vol. 1263S-67S.
- Basciano, H., Federico, L., dan Adeli, K. 2005. Fructose, Insulin Resistance, and Metabolic Dyslipidemia. *Nutrition dan Metabolism*. Vol. 2(5):1-14.

- Belitz, H.D, dan Grosch. 1999. *Food Chemistry, 2nd Edition*. Berlin: Springer.
- Berbert, P. R. F. 1979. "Contribuicao Para O Conhecimento Dos Acucares Componentes Da Amendoa E Do Mel De Cacao. Rev Theobroma". Dalam Hashim, P., Selamat J., Syed M.S.H., dan Asbi. A. Changes In Free Amino Acid, Peptide-N, Sugar and Pyrazine Concentration During Cocoa Fermentation. *Journal Food science and Technology*. Vol. 78, 535-542.
- Biehl, B. dan Passern, D. 1982. Proteolysis during Fermentation-like Incubation of Cocoa Seeds. *Journal of the Science Food and Agriculture*. Vol. 33, 1280-1290.
- Biehl, B. 1984. "Cocoa Fermentation and Problems of Acidity, Over Fermentation and Low Cocoa Flavor". Makalah. Kuala Lumpur Malaysia: International Conference of Cocoa and Coconut.
- Biehl, B. dan Voigt, J. 1994. "Biochemical Approach to Raw Cocoa Quality Improvement: Comparison of Seed Proteins and Proteases in Their Ability to Produce Cocoa Aroma Precursors". Makalah. Kuala Lumpur Malaysia : International Conference of Cocoa and Coconut.
- Bintoro, M.H. 1977. *Periode Cukup Panen, Panen dan Periode Setelah Panen Cokelat*. Bogor: IPB-Press.
- Blum, A. dan Langley, P. 1997. Selection of Relevant Features and Examples in Machine Learning. *Artificial Intelligence*. Vol. 97 (1997), 245–271.
- Bonvehi, J.S. dan Coll, F.V. 2002. Factor Affecting The Formation of Alkylpyrazines During Roasting Treatment In Natural and Alkalized Cocoa Powder. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 50, 3743–3750.
- Brito, Edy. S., Garcí'a, Nelson, H.P., Gallaño, MI., Cortelazzo, Angelo. L., Fevereiro P.S., dan Braga, M. R. 2000. Structural and Chemical Changes in Cocoa (*Theobroma Cacao* L) During Fermentation, Drying and Roasting. *Journal Food science and Technology*. Vol. 81:281-288.
- Britton, G., Jensen, L., dan Fander, P. 1995. Carotenoids. Volume 1A. Verlag Berlin: Birkhauser.
- Burdock, George. A. 2001. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, Fourth Edition*. New York: CRC Press
- Counet, C., D. Callemien, C. Ouwerx, dan S. Collin. 2002. Use of Gas Chromatography Olfactometry to Identify Key Odorant Compounds in

- Dark Chocolate. Comparison of Samples Before and After Conching. *Journal Agricultural Food Chemistry*. Vol. 50: 2385-2391.
- De Garmo, E.P., Sullivan, W.G., dan Canada, J.R., 1984. *Engineering Economy Seventh Edition*. New York : Macmillan Publishing Company.
- De Zaan. 1975. Cocoa Powder and Nutritional Labelling. *Tehcnical Information*. Bull. Vol. 11, No. 75.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2015. *Cokelatku, budayaku, Indonesiaku*. <http://ditjenbun.pertanian.go.id>. [8 Juli 2015]
- Doyle, M.P., L.R, Beuchat, dan T.J, Montville. 2001. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers 2nd Edition*. Washington DC : ASM Press.
- Eriksson. 1981. *Maillard Reaction in Food: Chemical, Physical and Tecnological Aspect*. New York: Pergamon Press
- Fayle, S. E, Gerrard, J. A. 2002. *The Maillard Reaction*. Great Britain : Royal Society of Chemistry
- Febrianto, Noor Ariefandie. 2009. “Identifikasi dan Analisa Komponen Aroma Pada Lemak Kakao Hasil Refermentasi dengan Metode SPME-GC (Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography)”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Febrianto, Noor Ariefandie. 2013. “Effects of Fermentation and Roasting Treatment on Fat of Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Seed and Its potential Utilization as Confectionery Fat”. Tidak Diterbitkan. Thesis. Malaysia: Universiti Sains Malaysia.
- Fenaroli, G. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients Volume 1 2nd Edition*. Terjemahan oleh Furia, T. E dan Bellanca N. 1970. New York: CRC Press
- Fraudendorfer, Felix dan Peter Schieberle. 2006. Identification of The Key Aroma Compounds in Cocoa Powder Based on Molecular Sensory Correlations. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol. 54, 5521–5529
- Furia, T.E. 1980. *CRC Handbook of Food Additives 2nd ed Volume 2*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Gaspersz, V. 1994. *Metode Perancangan Percobaan*. Bandung: Armico.

- Ginz, M., H.H. Balzer., Bradbury, dan H,G Maier. 2000. Formation of aliphatic Acids by Carbohydrate Degradation During Roasting of Coffee. *European Food Research and Technology*. Vol. 211:404-410
- Gesualdo, A.M.L. dan Li Can, E.C. 1999. Functional Properties of Fish Protein Hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). *Journal Food and Science*. Vol. (6): 1000-1004.
- Grob, R.L. 2004a. *History and Development of Chromatography*. New York: Wiley-IEEE.
- Grob, R.L. 2004b. *Theory of Gas Chromatography*. New York: Wiley-IEEE.
- Hansen, C.E., Del Olmo M., dan Burri C. 1998. Enzyme Activities in Cocoa Beans During Fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 77 : 273 – 281.
- Haryadi, M. dan Supriyanto. 2001. *Pengolahan Kakao Menjadi Bahan Pangan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Hashim, P., Selamat J., Syed M.S.H., dan Asbi. A. 1998. Changes in Free Amino Acid, Peptide-N, Sugar and Pyrazine Concentration During Cocoa Fermentation. *Journal Food science and Technology*. Vol 78, 535-542.
- Ho, Chi Tong. 1996. Thermal Generation of Maillard Aromas. Dalam Ikan, R. (ed). *The Maillard Reaction: Cosequences for the Chemical and Life Sciences*. Chisester: John Wiley and Sons.
- Hui, Y.H. 2006. *Handbook of Food Science, Technology, and, Engineering Volume. I*. New York: CRC Press.
- Hutchings, J.B. 1999. *Food Colour and Appearance 2nd edition*. Maryland: Aspen Pub.
- ICCO (International Cocoa Organization). "Production of Cocoa Beans". *ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics*. Vol. XLII, No. 1. 2015-2016.
- Jay, J. M., M. J. Loessner, dan D. A. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology. 7rd ed*. USA: Springer Science Business Media, Inc.
- Julianto (Ed). 2014. Tahun 2016, Sulsel Targetkan Produksi Kakao 320 Ribu Ton. <http://tabloidsinartani.com/content/read/tahun-2016-sulsel-targetkan-produksi-kakao-320-ribu-ton/> [5 Februari 2016].

- Kirchhoff, P.M, Biehl, B., dan Crone, G. 1989. Peculiarity of the Accumulation of Free Amino Acids During Cocoa Fermentation. *Food Chemistry*. Vol. 31: 295-311.
- Kirk, R.E. dan Othmer, D.F., 1953. Encyclopedia of Chemical Technology. *The Interscience Encyclopedia Inc*. Vol. 7, 10, 11.
- Kitson, F.G., Larsen, B.S. dan McEwen C.N. 2002. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry : A Practical Guide*. USA : Academic Press.
- Kurniawati dan Fitriyono. A., 2012. Pengaruh Substitusi Tepung Terigu dengan Tepung Tempe dan Tepung Ubi Jalar Kuning Terhadap Kadar Protein, Kadar B-Karoten, dan Mutu Organoleptik Roti Manis. *Journal of Nutrition College*. Vol. 1.
- Kusumaningrum, Intan Wijaya. H., Kusnandar F., Misnawi, dan Sari A.B.T. 2014. Profil Aroma dan Mutu Sensori Citarasa Pasta Kakao Unggulan dari Beberapa Daerah di Indonesia. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 25 No.1
- Kusnandar, F. 2010. *Kimia pangan*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Lee, S.Y., Yoo, S.S., Lee, M.J., Kwon, I.B., dan Pyun, Y.R. 2001. Optimization of Nibs Roasting in Cocoa Bean Processing with Lotte-Better Taste and Color Process. *Food Science and Biotechnology*. Vol. 10(3): 286-293
- Lehninger. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Lewis, R.J. Sr. 2007. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary 15th Edition*. New York: John Wiley and Sons
- Lindsay, R.C. 1996. *Food Chemistry 3rd Edition*. New York : Marcel Dekker Inc.
- Lopez, A. S. 1986. "Chemical Changes Occurring During the Processing of Cacao". Dalam P. S. Dimmick (Ed.). Makalah. The Pennsylvania State University: Proceeding of the symposium Cacao Biotechnology.
- Maarse, H. 1991. *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Majda, Teresa dan Ewa, Nebesny. 2006. *An Effect Of Relative Humadityon The Content of Volatile Compounds In Roasting Cocoa Beans*. Nova Science Publisher.
- Minnifie, B.W. 1999. *Chocolate, Cocoa, and Confectionery: Science and Technology Third Edition*. New York : Van Nostrand Reinhold.

- Minolta. 2002. *Komunikasi Warna Presisi*. Minolta.
- Misnawi, Jinap. S., Bakar, J., dan Sari, N. 2002a. Oxidation of Polyphenols in Unfermented and Partly Fermented Cocoa Beans by Cocoa Polyphenol 96 Oxidase and Tyrosinase. *Journal of the Science Food and Agriculture*. Vol. 82 : 559 – 566.
- Misnawi, Jinap. S., Bakar, J., dan Sari, N. 2002b. Activation of Remaining Key Enzymes In Dried Underfermented Cocoa Beans and its Effet on Aroma Precursor Formation. *Food Chemistry*. Vol. 78. 2002. 407-417
- Misnawi, Susijahandi, Jinap. S., Teguh. W., dan Novita P. 2006. Pengaruh Konsentrasi Alkali Dan Suhu Koncing Terhadap Citarasa, Kekerasan Dan Warna Permen Cokelat. *Jurnal Pelita Perkebunan*. Vol. 22(2) 119-135
- Mohr, W., Landschreiber, E., dan Severin, T. H. 1976. On the Specificity of Cocoa Aroma. *Fette Seifen Anstrichmittel*. Vol. 2, 88–95.
- Morales, F.J. dan Van Boekel, M.A.J.S. 1998. A Study on Advanced Maillard Reaction in Heated Casein/Sugar Solutions: Color Formation. *International Daily Journal* . Vol. 8: 907-915.
- Mosciano, G. 2006. Successful Flavors – From Formulations to QC to Applications and Beyond, Carol Strea. USA: Allured Publishing Corp.
- Mottram, D.S. 1994. Flavor Compounds Formed during the Maillard Reaction. Dalam Parliamen, T.H., Morello, M.J dan McGorin, R.J. *Thermally Generated Flavors: Maillard, Microwave and Extrusion Processes*. Washington DC : American Chemical Society.
- Mulato, S., S. Widyotomo., Misnawi, Sahali, dan E. Suharyanto. 2004. *Petunjuk Teknis Pengolahan Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., dan Rodwell, V.W. 2003. *Biokimia Klinik Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Nasution, Z. 1976. *Pengolahan Cokelat*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Pertanian. IPB-Press.
- Nursten, H.E. 1986. Aroma Compounds from the Maillard Reaction. Dalam Birch dan Lindley. *Food Flavour*. London UK: Elsevier Applied Science
- Nursten, H.E. 2005. *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry, and Implications*. Great Britain : Royal Society of Chemistry.

- Nuwiah, Asrin. 2010. Uji Senyawa Aroma Khas Coklat Hasil Roasting Asam Amino Hidrofobik dan Fruktosa dalam Lemak Kakao. *Jurnal Agriplus*. Vol. 20, ISSN 0854-0128
- O'Neil, M.J. 2013. *The Merck Index- An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- Owusu, M., Petersen, M.A., dan Hemida, H. 2011. Effect of Fermentation Method, Roasting and Coanching Conditions on The Aroma Volatiles of Dark Chocolate. *Journal food process*. Vol. 446-456
- Perego, P., Febiano, B., Cavicchioli, M., dan Borghi, M. 2004. Cocoa Quality and Processing a Study by Solid Phae Microextraction and Gas Chromatography Analysis of Metylpyrazines. *Food Bioprod Process*. Vol. 84 291-297.
- Popov-Raljic, J.V. dan J.G. Lalicic-Petronijevic. 2009. Sensory Properties and Color Measurements of Dietary Chocolates with Different Compositions During Storage for Up to 360 Days. *Chemical Sensors*. Vol. 9, 1996-2016
- Prawoto, A. dan Sulistyowati. 2001. *Sifat-Sifat Fisiko Kimia Lemak Kakao dan Faktor-Faktor yang Berpengaruh*. Jember: Pusat Penelitian Perkebunan.
- Rehm, H.J. dan G. Reed.1995. *Biotechnology Volume 9 Enzymes, Biomass, Food And Feed*. New York: VCH.
- Reineccius, G.A., Andersen, D.A., Kavanagh, T.E., dan Keeney, P.G. 1972. Identification and Quantification of the Free Sugars in Cocoa Beans. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol. 20 199È202.
- Reineccius, G. dan Henry B.H. 1999. *Source Book of Flavors*. Berlin: Springer
- Reineccius, G. dan Henry B.H. 2006. *Flavor Chemistry and Technology*. New York: CRC Press
- Reymond, D. 1978. Flavor Chemistry of Tea, Cacao, and Coffee. *Agriculture and Food Chemistry*.. Westfort Connecticut : The AVI Publishing, Co Inc.
- Ribeiro, B., J, Rangel., P, Valentao., P.B Andrade., J.A, Pereira., H Bolke, dan R.M, Seabra. 2007. Organic acids in two Portuguese chestnut (*Castanea sativa Miller*) Varieties. *Food Chemistry*. Vol. 100:504-508.
- Rohan, T. A. 1963. Precursors of Chocolate Aroma. *Journal Science Food Agriculture*. Vol. 14 799È805.

- Rohan, T. A. 1964. The Precursors Of Chocolate Aroma : Acom- Parative Study On Fermented And Unfermented Cocoa Beans. *Journal Food Science*. Vol. 29 460-463.
- Rohan, T.A. dan Stewart, T. 1967a. The Precursors Of Chocolate Aroma: Production of Free Amino Acids During Fermentation of Cocoa Beans. *Journal Food Science*. Vol. 32 395-398.
- Rohan, T.A. dan Stewart, T. 1967b. The Precursors Of Chocolate Aroma: Production Of Reducing Sugars During Fermentation Of Cocoa Beans. *Journal Food Science*. Vol. 32 399-402.
- Rosida, Dedin F. 2005. *Penurunan Kadar Asam Amino Lisin Dalam Kecap Manis Akibat Reaksinya dengan Senyawa Karbonil dalam Reaksi Maillard*. Surabaya : Departemen of food Technology, UPN Veteran.
- Samira, S., Thuan-Chew Tan, T. C., dan Azhar, M. E. 2014. Effect Of Ribose-Induced Maillard Reaction On Physical And Mechanical Properties Of Bovine Gelatin Fims Prepared By Oven Drying. *International Food Research Journal*. Vol. 21(1): 269-276.
- Sari, Indah Anita, Agung, W.S., Yusianto, dan Suryo Wardani. 2012. Karakterisasi dan Penentuan Warna Biji pada Beberapa Genotipe kakao Mulia (*Theobroma cacao* L.) Sebagai Kriteria Seleksi. *Jurnal Pelita Perkebunan*. Vol. 28 (3) 2012, 136-144.
- Sartika, I.J. 2013. Sifat Fisik dan Mekanik Edibel Film dengan Variasi Proporsi Protein Whey Tapioka dan pH. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Self, R. 2005. *Extraction of Organic Analytes From Foods*. Great Britain : Royal Society of Chemistry.
- Sinha, Nirmal. 2007. *Handbook of Food Products Manufacturing, 2 Volume Set*. New York: Wiley Publisher.
- Siregar, H.S., Riyadi, S., dan Nuraeni, L. 2005. *Cokelat : Pembudidayaan, Pengolahan, Pemasaran*. Yogyakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Shahidi, F. dan Botta J.R. 1994. *Seafoods Chemistry Processing Technology and Quality*. London: Blackie Academic and Professional.
- SNI. 2009. *Cara Uji Lemak Kakao*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Soekarto. 1990. *Penilaian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian*. Jakarta: Bhatara Aksara.

- Specht, K. dan Baltes, W. 1994. Identification of volatile flavor compounds with high aroma values from shallow-fried beef. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol. 42:2246-2253.
- Standar Nasional Indonesia. 2009. *Standarisasi Mutu Biji Kakao Indonesia*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Stoll, M., M. Winter., F. Gautschi, I. Flament, dan B. William. 1967. Aroma Research The Coffee Aroma. *Helv Chim Acta*. Vol. 50: 628-694.
- Subagio, A., Siti H, Wiwik S. W., Unus, Fauzi M., dan Bambang H. 2002. Kajian Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Hidrolisat Tempe Hasil Hidrolisis Protease. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 8 (3): 85,87.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhandi. 1984. *Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi II. Bandung: Penerbit Alumi.
- Sudarmadji, S. dan B. Haryono, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan dan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty.
- Sukmadinata. 2006. *Metode Penelitian Pendidikan*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Susanto, F.X. 1994. *Tanaman Kakao, Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suseno, S.H., Tajul, A.Y., Nadiyah, W.A., dan Noor, A.F. 2012. Improved of Color Properties on Sardinella lemuru Oil during Adsorbent Refining Using Magnesol xl. *Journal International Food Research*. Vol.19 (4): 1383-1386.
- Supelco. 1998. Solid Phase Microextraction of Volatile Compounds. *SPME Newsletter Winter*. No. T 498259.
- Tan, Thuan Chew., Abbas F.M, Alkarkhi, dan Azhar Mat Easa. 2012. Ribose Induced Maillard Reaction As A Quality Index in Frozen Minced Chicken and Pork Meats. *Journal of Food Quality*. ISSN 1745-4557.
- Tranggono dan Sutardi. 1989. *Biokimia dan teknologi Pasca Panen*. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas –Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.
- Ultimate Nutrition. 2015. Typical Amino Acid Profile Amino Gold. Distributed by Ultimate Nutrition Inc USA.

- Wahyudi, T., Panggabean T.R., dan Pujiyanto. 2008. *Panduan Lengkap Kakao*. Jakarta : PT.Niaga Swadaya.
- Wasserman, L. 2010. *Fructose is a 'simple' sugar*. [http://bodybasicsbootcamps.homestead.com/bonuses/Fructose vs Glucose.pdf](http://bodybasicsbootcamps.homestead.com/bonuses/Fructose%20vs%20Glucose.pdf). [7 Juli 2015].
- Watterson, Julia. J., Miller, Kenneth. B., Furjanic, Joseph. J., dan David. A.S. 1997. Process of Producing Cacao Flavour by Roasting Combination of Amino Acids and Reducing Sugar. *Google Patent*. Vol. 5,676,993 (1997).
- Widyotomo, S., Mulato, Sri, dan Handaka. 2004. Mengenal Lebih Dalam Teknologi Pengolahan Biji Kakao. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Vol. 26 No. 2.
- Wijaya, C.H., Ulrich, D. Lestari, R., Schippel K., dan Ebert G. 2005. Identification of potent odorants in different cultivars of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaert.) using gas chromatography-olfactometry. *Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 53: 1637-1641
- Winarno, F.G. 1984. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wong, K.H., Aziz, S.A., dan Suhaila. M. 2008. Sensory Aroma From Maillard Reaction of Individual and Combinations of Amino Acids with Glucose in Acidic Conditions. *Journal Food Science and Technology*. Vol. 43. 1512-1519.
- Yang, X. dan Terry. P. 1994. Solid Phase Microextraction for Flavor Analysis. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol. 42, 1925-1930.
- Yusriana dan Rachman, J. 2015. Karakteristik Mutu Spesifik Kakao Aceh: Fisik, Kimia Dan Sensori. *Hasil Riset dan Standarisasi Industri V*. Banda Aceh: Balai Riset dan Standarisasi Industri Banda Aceh.
- Yusuf, R.P., Davit M.J., dan Sri Y.D.A. 2013. Pengaruh Cara Pengolahan Kakao Fermentasi dan Non Fermentasi Terhadap Kualitas, Harga Jual Produk pada Unit Usaha Produktif (UUP) Tunjung Sari, Kabupaten Tabanan. Universitas Udayana. *Jurnal Agribisnis dan Agrowisata*. Vol. 2, No. 4.
- Ziegleder, G. dan Biehl, B. 1988. *New Series, Vol. 8: Analysis of Non- alcoholic Beverages*, eds Lickens Hf dan Johnson JF. Berlin, Germany: Springer.

LAMPIRAN

Lampiran A. Analisa Warna

A.1 Hasil Pengamatan L*a*b*

A.1a Pengulangan 1

Perlakuan	1			2			3			Rata-Rata			Whiteness
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	
F0H0 (-)	28,60	6,74	5,86	31,73	5,89	5,85	29,37	7,06	6,30	29,90	6,56	6,00	29,34
F0H0 (+)	29,08	7,14	5,80	29,43	7,50	5,06	28,60	7,15	4,79	29,04	7,26	5,22	28,48
F1H1	29,39	8,07	6,67	29,51	8,02	6,52	29,46	7,96	6,63	29,45	8,02	6,61	28,69
F1H2	29,36	8,34	6,10	29,33	8,20	6,26	28,35	8,68	6,71	29,01	8,41	6,36	28,24
F1H3	27,99	8,54	6,89	28,01	8,39	6,54	28,15	8,29	6,43	28,05	8,41	6,62	27,26
F2H1	27,72	8,39	6,59	28,62	7,74	6,00	27,38	8,21	6,37	27,91	8,11	6,32	27,18
F2H2	27,81	8,11	7,18	27,31	8,56	6,19	27,51	8,56	6,19	27,54	8,41	6,52	26,77
F2H3	26,69	8,58	6,74	28,82	9,11	6,97	26,34	8,69	6,75	27,28	8,79	6,82	26,44
F3H1	26,96	8,47	6,50	26,69	8,55	6,14	28,27	7,85	5,48	27,31	8,29	6,04	26,59
F3H2	26,40	7,63	5,66	28,34	7,59	5,58	26,79	8,05	6,01	27,18	7,76	5,75	26,54
F3H3	25,93	8,81	7,55	26,32	9,12	7,57	27,28	8,29	6,95	26,51	8,74	7,36	25,63

A.1b Pengulangan 2

Perlakuan	1			2			3			Rata-Rata			Whiteness
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	l	a	b	
F0H0 (-)	28,52	6,87	5,46	28,05	7,41	5,63	28,23	6,80	5,30	28,27	7,03	5,46	27,72
F0H0 (+)	28,99	8,15	7,02	29,21	7,94	6,58	29,69	8,16	6,61	29,30	8,08	6,74	28,52
F1H1	28,77	8,08	6,11	28,20	7,51	5,41	28,90	8,09	6,18	28,62	7,89	5,90	27,95
F1H2	27,95	8,57	6,47	28,02	7,98	5,89	28,98	7,63	6,06	28,32	8,06	6,14	27,60
F1H3	27,81	8,14	6,58	27,46	8,41	6,56	27,83	8,36	6,44	27,70	8,30	6,53	26,93
F2H1	28,31	7,83	6,37	28,49	7,22	6,73	28,02	7,82	6,65	28,27	7,62	6,58	27,57
F2H2	28,96	7,65	6,59	28,08	7,65	6,48	28,95	8,33	5,85	28,66	7,88	6,31	27,95
F2H3	27,29	8,26	5,93	27,39	8,09	5,62	27,45	8,05	5,78	27,38	8,13	5,78	26,69
F3H1	28,08	7,94	5,70	27,11	8,28	5,83	28,48	7,65	5,48	27,89	7,96	5,67	27,23
F3H2	27,93	8,66	8,66	27,63	8,31	9,31	28,49	8,15	8,01	28,02	8,37	8,01	27,09
F3H3	25,65	8,96	6,97	26,82	8,46	6,50	25,90	8,99	7,02	26,12	8,80	6,83	25,29

Keterangan :



= data terjelek

A.1c Rata-rata pengulangan 1 dan 2

Perlakuan	Rata-rata			whiteness	Chroma
	l	a	b		
F0H0 (-)	29,08	6,80	5,73	46,17	8,89
F0H0 (+)	29,17	7,67	5,98	58,88	9,73
F1H1	29,04	7,96	6,25	63,28	10,12
F1H2	28,67	8,23	6,25	67,79	10,34
F1H3	27,88	8,36	6,57	69,81	10,63
F2H1	28,09	7,87	6,45	61,91	10,18
F2H2	28,10	8,14	6,41	66,31	10,37
F2H3	27,33	8,46	6,30	71,63	10,55
F3H1	27,60	8,12	5,86	65,99	10,01
F3H2	27,60	8,07	6,88	65,04	10,60
F3H3	26,32	8,77	7,09	76,94	11,28

Lampiran B. Uji QDA

B.1 Hasil Pengamtan QDA

B.1a Pengulangan 1

No	Attribute	F1H1		F1H2		F1H3		F2H1		F2H2		F2H3		F3H1		F3H2		F3H3		F0H0 (-)		F0H0 (+)	
		Q	i	Q	i	q	i	q	i	q	i	Q	I	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i
1	Aroma Cokelat	6,4	6,6	5,9	5,9	6,8	6,0	7,2	6,5	7,0	6,3	7,4	7,0	6,5	6,2	6,3	6,2	6,8	6,3	6,6	6,6	6,5	4,4
2	Flavor Cokelat	6,7	6,3	6,0	6,0	6,5	6,3	7,2	6,8	6,3	5,6	7,3	7,0	6,7	5,8	6,5	5,8	6,7	5,7	6,6	6,6	6,5	4,8
3	Warna	6,7	6,5	6,5	6,2	6,5	6,5	6,8	6,5	6,8	6,8	6,9	6,8	6,8	6,5	6,2	6,2	6,5	6,5	6,5	6,2	6,2	4,6
4	Karamel	6,7	5,7	6,7	6,3	6,6	6,1	7,3	7,0	6,8	6,3	7,0	6,7	6,9	5,9	6,3	5,6	6,3	6,3	6,0	5,0	5,8	3,6
5	Krim	7,2	6,5	6,8	6,5	6,3	5,8	6,5	6,2	6,9	6,2	6,6	6,3	6,5	6,5	6,2	5,5	5,8	5,8	6,3	5,5	6,5	4,4
6	Manis	6,0	5,3	5,7	5,7	6,4	6,3	6,7	6,7	6,3	5,7	6,7	6,3	6,5	5,7	6,3	5,3	6,3	6,0	7,0	6,0	6,7	4,3
7	Asam	6,8	5,0	6,7	4,7	6,8	5,7	6,7	5,0	6,7	5,0	6,0	4,7	5,7	5,0	6,3	5,0	6,3	5,0	7,2	5,0	6,5	3,8
8	Pahit	5,3	6,2	6,2	5,0	6,7	5,3	5,0	6,3	5,7	6,0	5,3	6,0	5,0	6,3	4,8	6,2	5,8	4,5	6,7	5,2	6,5	3,7
9	Sepat	5,0	6,2	6,2	5,0	6,7	5,3	6,0	6,0	5,7	6,0	5,7	5,3	5,3	5,7	5,8	6,2	5,8	4,8	6,7	5,2	6,5	3,4
10	Kesukaan	6,3		6,6		6,8		7,2		7,0		7,2		6,5		6,3		6,6		6,6		6,5	

B.1b Pengulangan 2

No	Attribute	F1H1		F1H2		F1H3		F2H1		F2H2		F2H3		F3H1		F3H2		F3H3		FOH0 (-)		FOH0 (+)	
		q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	I	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i
1	Aroma Cokelat	6,8	5,8	6,8	6,1	6,9	6,7	6,8	5,8	6,7	6,2	6,7	6,3	7,2	6,2	6,2	5,7	7,2	6,7	5,8	5,0	7,0	6,6
2	Flavor Cokelat	6,5	5,8	6,8	5,9	7,5	6,7	6,5	5,8	6,8	6,2	6,9	6,1	6,5	5,3	6,2	5,3	7,2	6,5	5,5	5,3	7,1	5,9
3	Warna	7,0	6,2	7,1	6,6	7,2	6,3	6,6	5,9	6,7	5,8	6,7	6,3	6,5	6,2	6,8	6,3	7,1	6,8	6,2	5,0	6,4	5,8
4	Karamel	6,4	5,9	7,3	6,3	6,9	6,0	6,3	5,8	7,0	6,2	7,2	6,3	6,0	5,5	6,3	5,3	7,3	6,3	5,8	4,7	6,8	5,8
5	Krim	6,3	5,8	6,5	5,8	7,6	6,3	6,3	5,8	6,7	5,7	6,9	6,2	6,3	5,5	6,4	5,5	6,7	6,0	6,0	4,5	7,2	6,2
6	Manis	6,0	5,5	6,7	5,7	6,8	5,7	6,2	5,4	7,0	6,3	6,8	5,8	6,2	5,4	6,6	5,3	6,8	6,1	5,7	3,8	6,8	6,2
7	Asam	6,2	5,3	6,5	5,3	6,5	5,3	5,8	6,1	6,3	5,3	6,3	5,5	6,8	4,8	6,6	5,3	6,8	4,7	6,0	5,2	6,3	5,5
8	Pahit	5,8	6,0	6,1	6,2	6,2	5,7	5,9	6,0	6,8	5,0	6,5	5,5	5,9	5,0	6,6	5,3	6,8	5,0	5,1	6,7	6,2	6,2
9	Sepat	6,5	5,3	6,2	5,3	6,2	5,7	6,5	5,3	6,2	5,7	6,5	5,8	6,1	6,0	6,3	6,3	6,2	5,7	5,3	6,0	6,3	5,5
10	Kesukaan	6,6		6,6		7,4		6,6		6,8		6,9		6,1		6,6		6,9		5,8		7,2	

B.1c Rata-rata pengulangan 1 dan 2

No	Attribute	F1H1		F1H2		F1H3		F2H1		F2H2		F2H3		F3H1		F3H2		F3H3		FOH0(-)		FOH0 (+)	
		q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i	q	i
1	Aroma Cokelat	6,6	6,2	6,3	6,0	6,9	6,3	7,0	6,2	6,8	6,2	7,0	6,6	6,8	6,2	6,3	5,9	7,0	6,5	6,2	5,8	6,8	5,5
2	Flavor Cokelat	6,6	6,1	6,4	6,0	7,0	6,5	6,8	6,3	6,5	5,9	7,1	6,5	6,6	5,6	6,3	5,6	6,9	6,1	6,0	6,0	6,8	5,3
3	Warna	6,8	6,3	6,8	6,4	6,8	6,4	6,7	6,2	6,8	6,3	6,8	6,5	6,7	6,3	6,5	6,3	6,8	6,7	6,3	5,6	6,3	5,2
4	Karamel	6,5	5,8	7,0	6,3	6,8	6,0	6,8	6,4	6,9	6,3	7,1	6,5	6,5	5,7	6,3	5,5	6,8	6,3	5,9	4,8	6,3	4,7
5	Krim	6,8	6,2	6,7	6,2	7,0	6,1	6,4	6,0	6,8	5,9	6,8	6,2	6,4	6,0	6,3	5,5	6,3	5,9	6,2	5,0	6,8	5,3
6	Manis	6,0	5,4	6,2	5,7	6,6	6,0	6,4	6,0	6,7	6,0	6,8	6,1	6,3	5,5	6,5	5,3	6,6	6,0	6,3	4,9	6,8	5,2
7	Asam	6,5	5,2	6,6	5,0	6,7	5,5	6,3	5,5	6,5	5,2	6,2	5,1	6,2	4,9	6,5	5,2	6,6	4,8	6,6	5,1	6,4	4,6
8	Pahit	5,6	6,1	6,1	5,6	6,4	5,5	5,5	6,2	6,3	5,5	5,9	5,8	5,5	5,7	5,7	5,8	6,3	4,8	5,9	5,9	6,3	4,9
9	Sepat	5,8	5,8	6,2	5,2	6,4	5,5	6,3	5,7	5,9	5,8	6,1	5,6	5,7	5,8	6,0	6,3	6,0	5,3	6,0	5,6	6,4	4,5
10	Kesukaan	6,4		6,6		7,1		6,9		6,9		7,0		6,3		6,5		6,8		6,2		6,8	

Lampiran C. Uji Efektifitas

Parameter	Data terjelek	Data terbaik	Perlakuan								
			F1H1	F1H2	F1H3	F2H1	F2H2	F2H3	F3H1	F3H2	F3H3
Aroma Cokelat	6,25	7,04	6,60	6,33	6,88	7,00	6,83	7,04	6,83	6,25	6,96
Flavor Cokelat	6,33	7,13	6,58	6,38	7,00	6,83	6,54	7,13	6,58	6,33	6,92
Warna	6,50	6,83	6,83	6,79	6,83	6,71	6,75	6,79	6,67	6,50	6,79
Karamel	6,25	7,08	6,54	7,00	6,75	6,83	6,88	7,08	6,46	6,25	6,83
Krim	6,25	6,96	6,75	6,67	6,96	6,42	6,79	6,75	6,42	6,29	6,25
Manis	6,00	6,75	6,00	6,17	6,63	6,42	6,67	6,75	6,33	6,46	6,58
Asam	6,17	6,67	6,50	6,58	6,67	6,25	6,50	6,17	6,21	6,46	6,58
Pahit	5,46	6,42	5,58	6,13	6,42	5,46	6,25	5,92	5,46	5,67	6,29
Sepat	5,71	6,42	5,75	6,17	6,42	6,25	5,92	6,08	5,71	6,00	5,96
Kesukaan	6,29	7,13	6,42	6,58	7,13	6,88	6,92	7,04	6,29	6,46	6,75

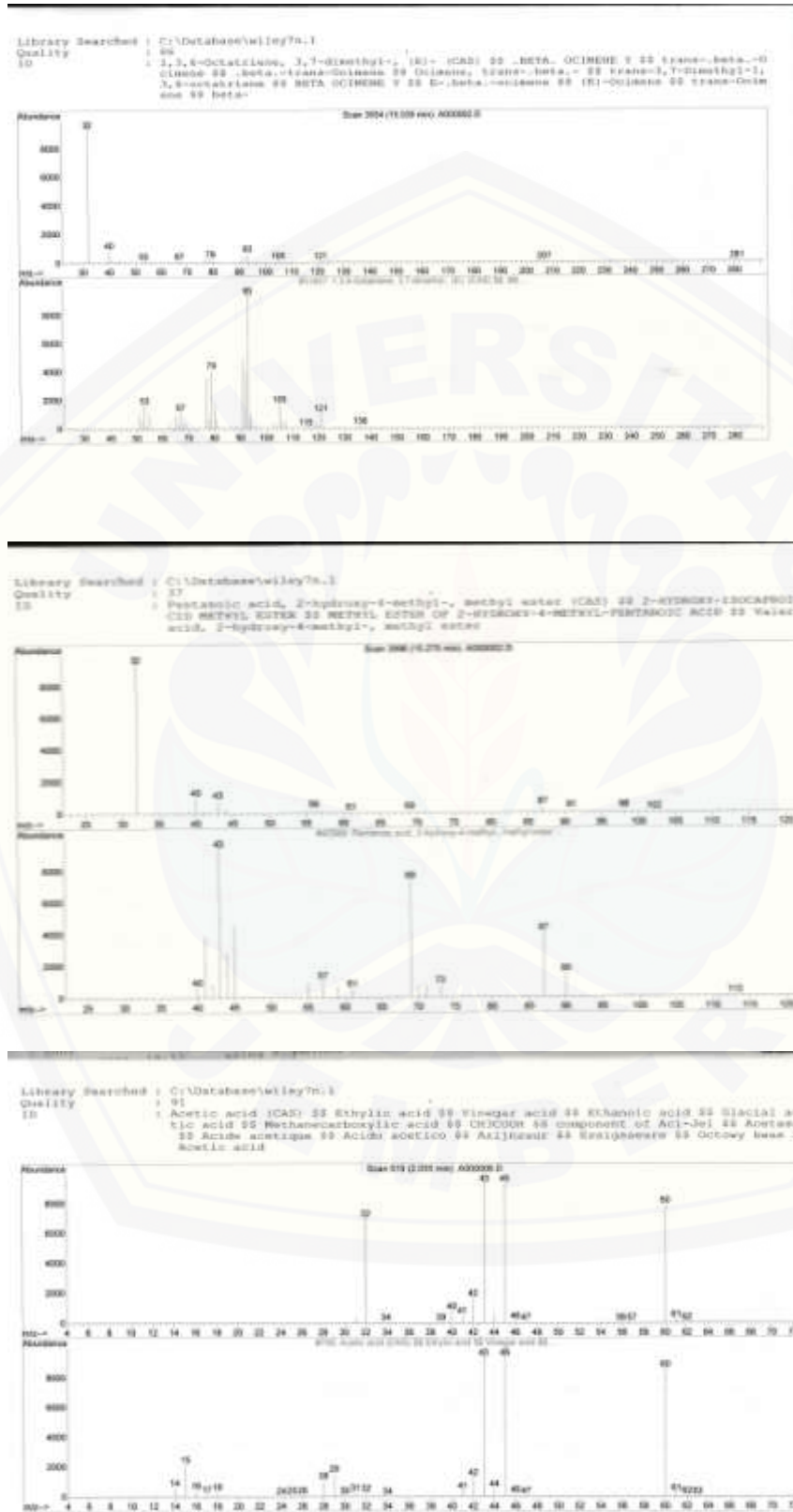
Parameter	Bobot Variabel	Bobot Normal	Nilai Hasil Perlakuan								
			F1H1	F1H2	F1H3	F2H1	F2H2	F2H3	F3H1	F3H2	F3H3
Aroma Cokelat	1,00	0,11	0,05	0,01	0,08	0,10	0,08	0,11	0,08	0,00	0,09
Flavor Cokelat	1,00	0,11	0,03	0,01	0,09	0,07	0,03	0,11	0,03	0,00	0,08
Warna	0,90	0,09	0,09	0,08	0,09	0,06	0,07	0,08	0,05	0,00	0,08
Karamel	1,00	0,11	0,04	0,09	0,06	0,07	0,08	0,11	0,03	0,00	0,07
Krim	0,90	0,09	0,07	0,06	0,09	0,02	0,07	0,07	0,02	0,01	0,00
Manis	0,90	0,09	0,00	0,02	0,08	0,05	0,08	0,09	0,04	0,06	0,07
Asam	0,90	0,09	0,06	0,08	0,09	0,02	0,06	0,00	0,01	0,06	0,08
Pahit	1,00	0,11	0,01	0,07	0,11	0,00	0,09	0,05	0,00	0,02	0,09
Sepat	0,90	0,09	0,01	0,06	0,09	0,07	0,03	0,05	0,00	0,04	0,03
Kesukaan	1,00	0,11	0,02	0,04	0,11	0,07	0,08	0,09	0,00	0,02	0,06
Total	9,50	1	0,38	0,52	0,90	0,54	0,67	0,76	0,26	0,20	0,66

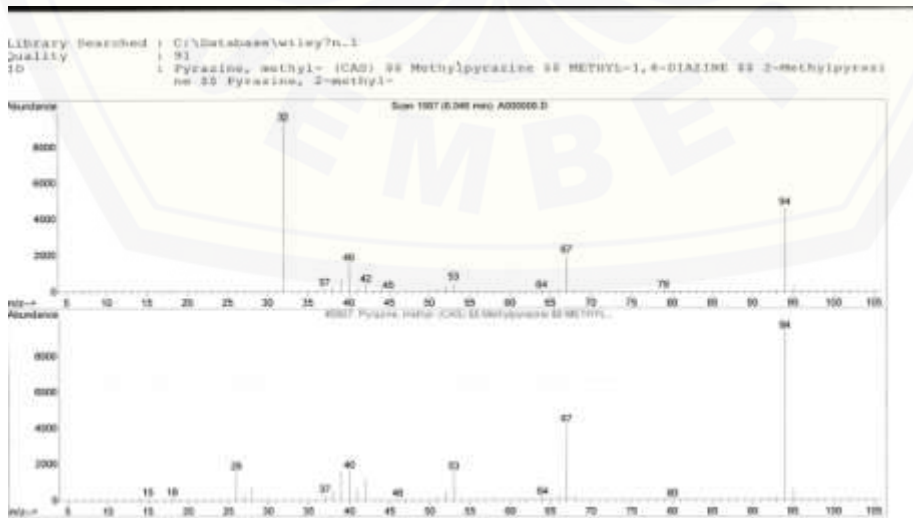
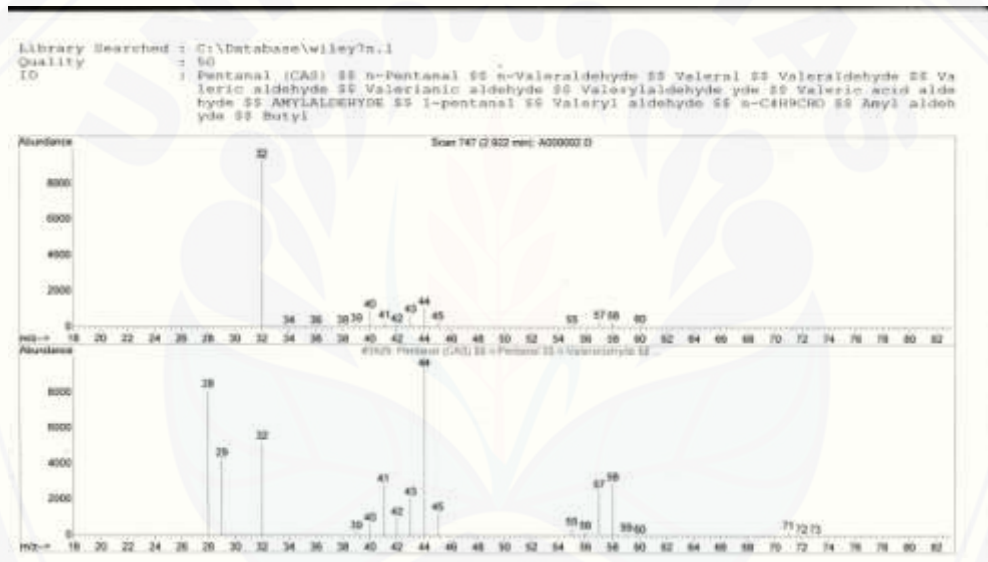
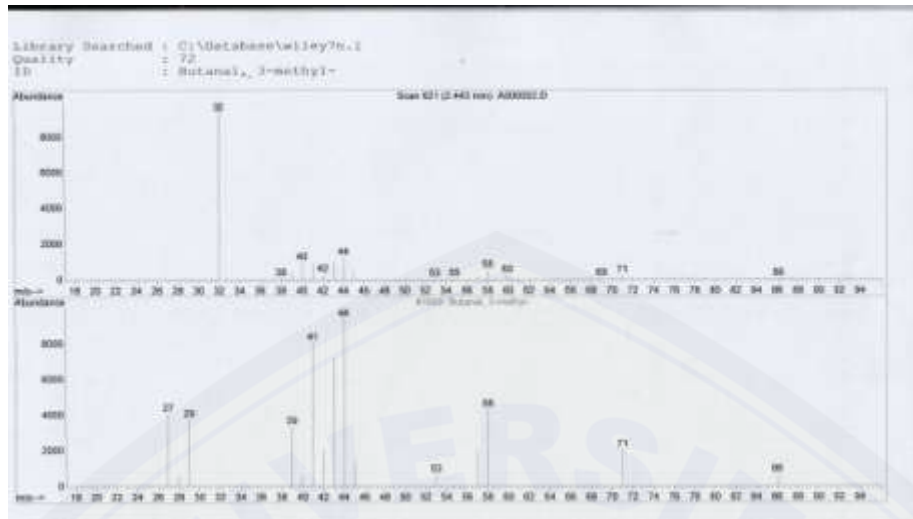
Keterangan :

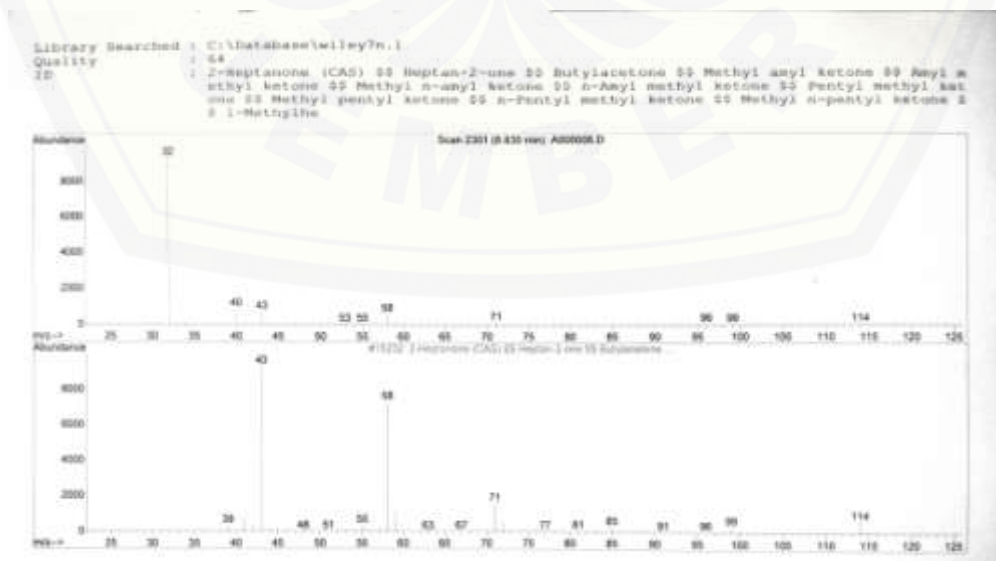
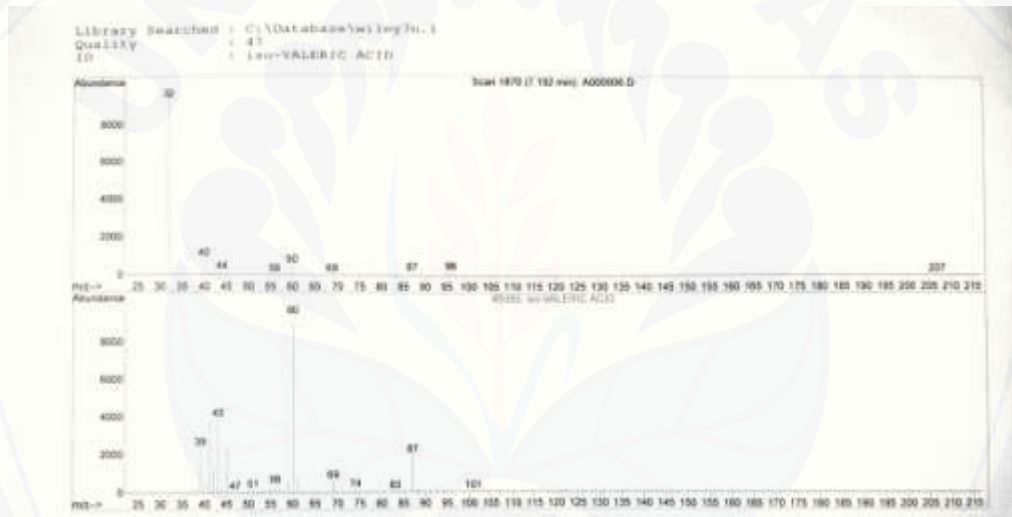
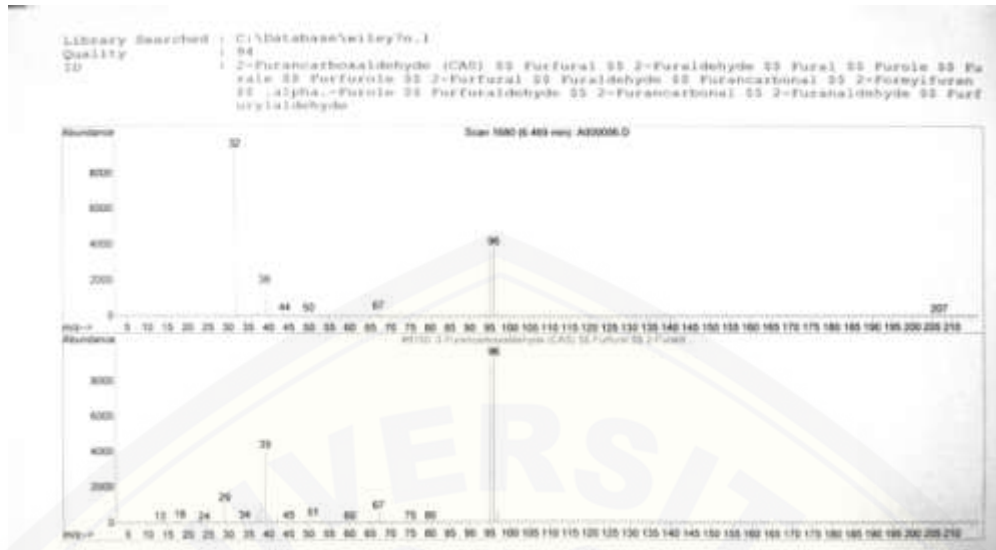


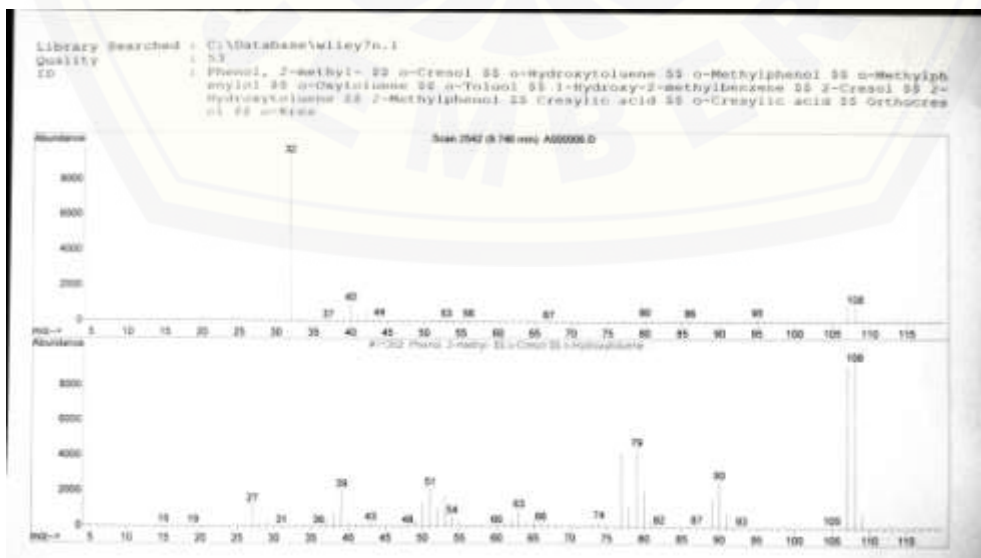
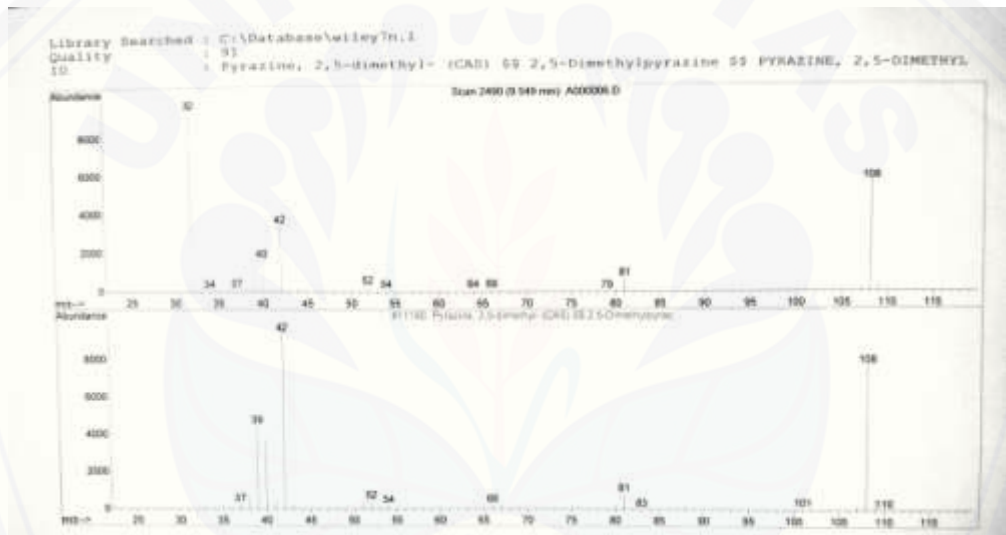
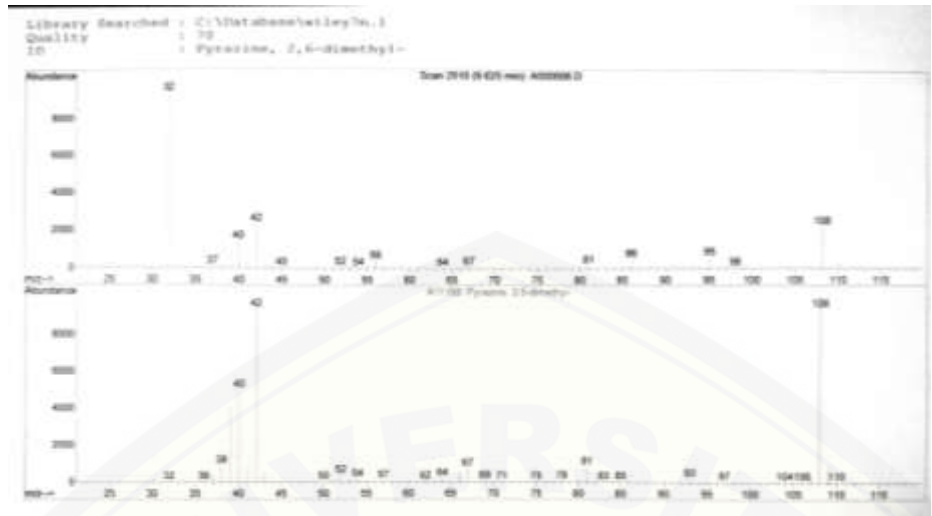
Perlakuan terbaik

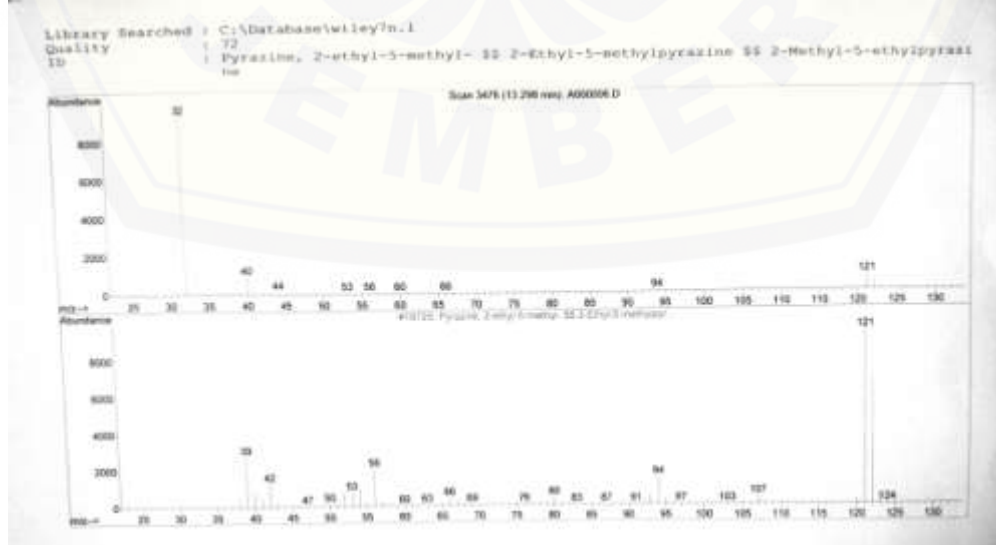
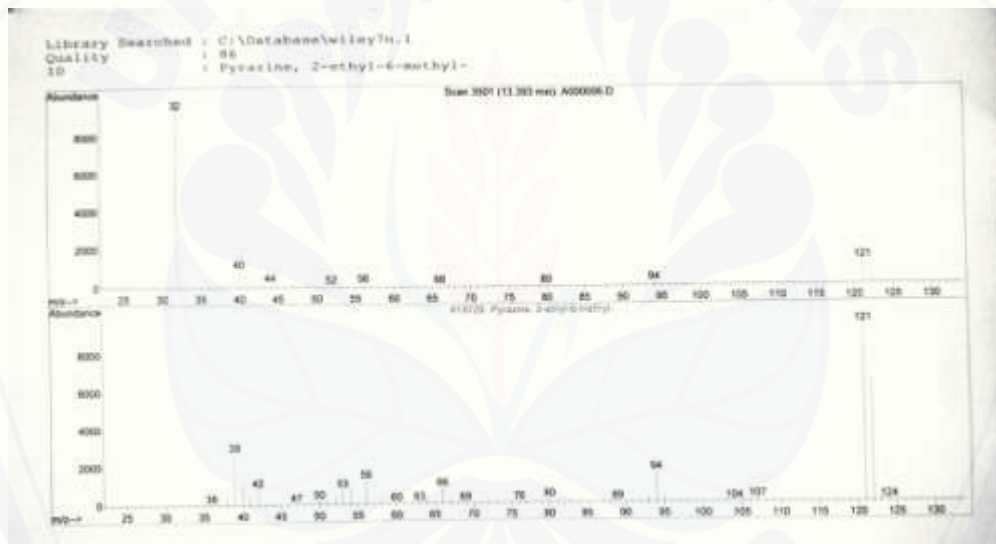
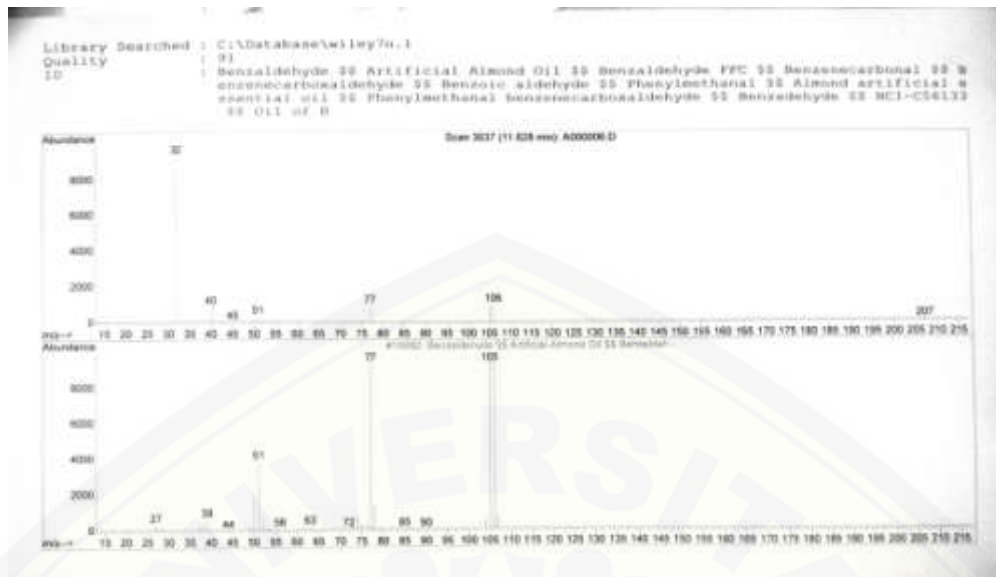
Lampiran D. Hasil Identifikasi Aroma SPME GCMS

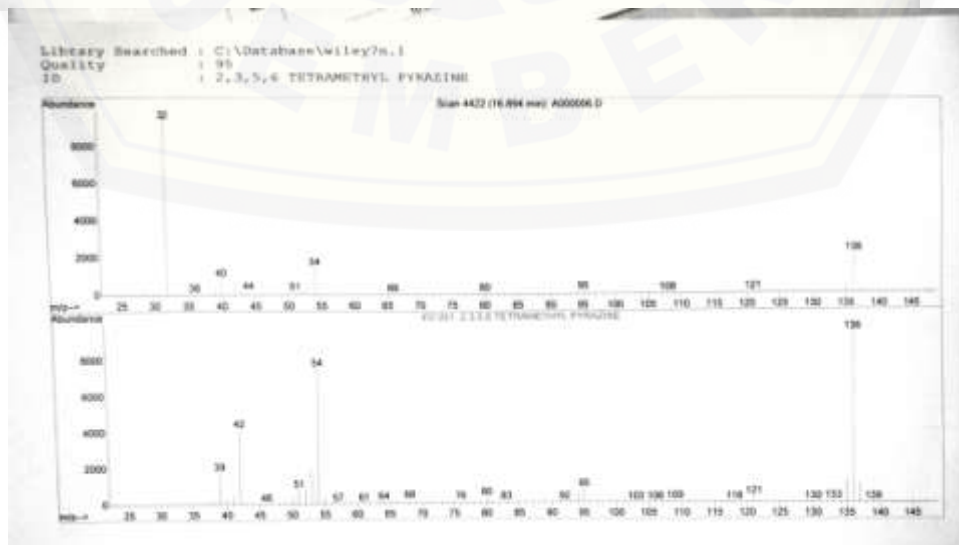
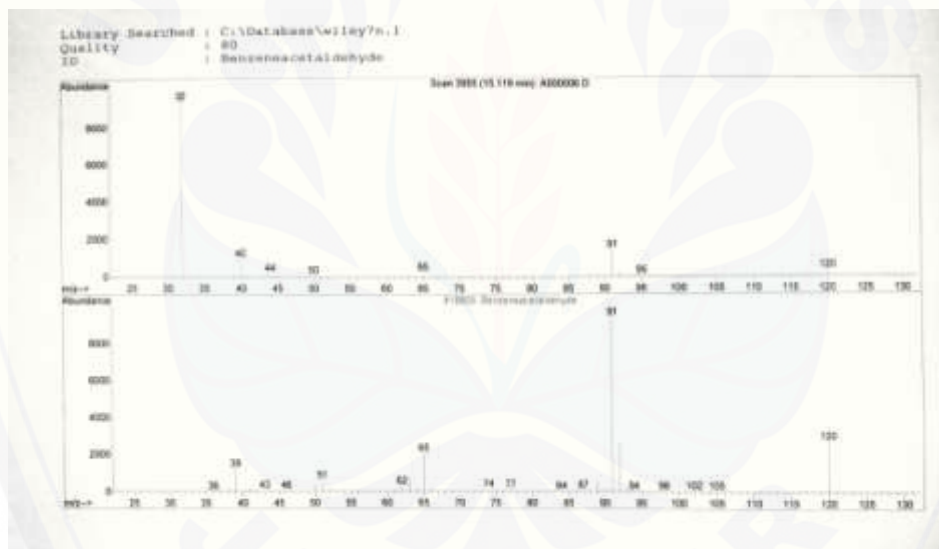
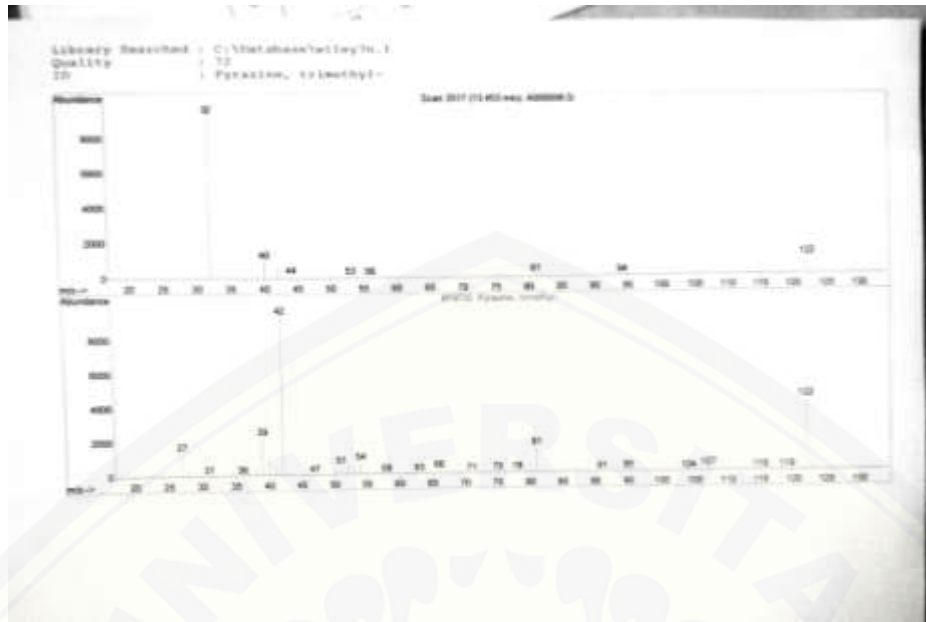


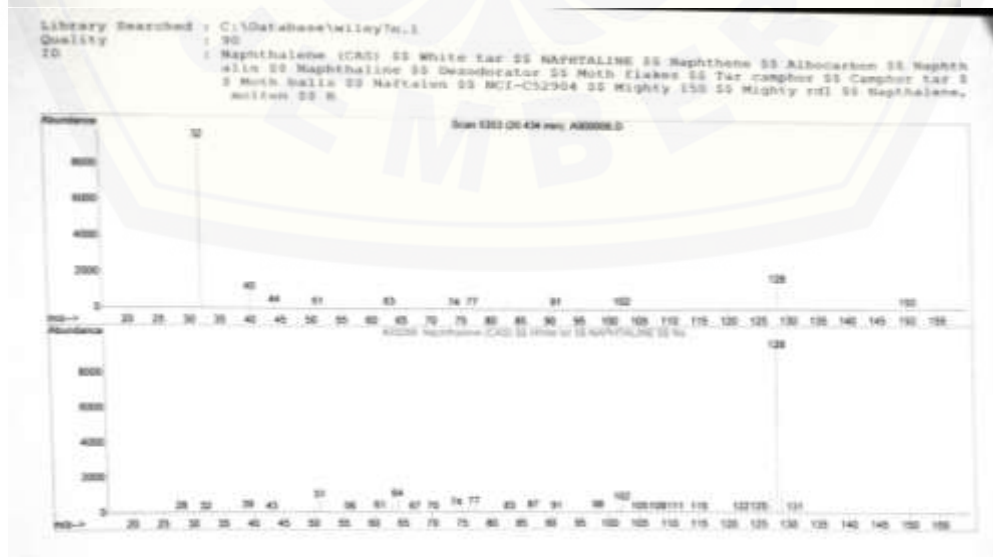
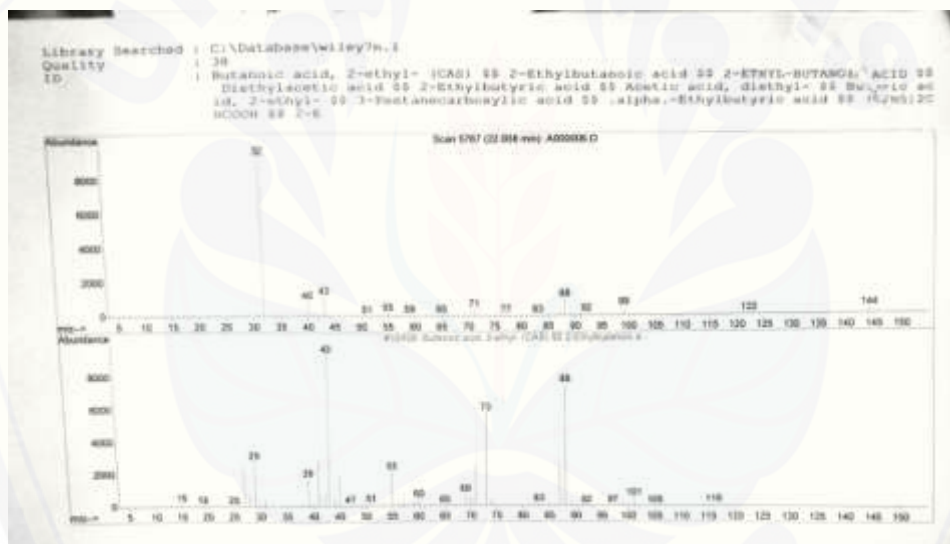
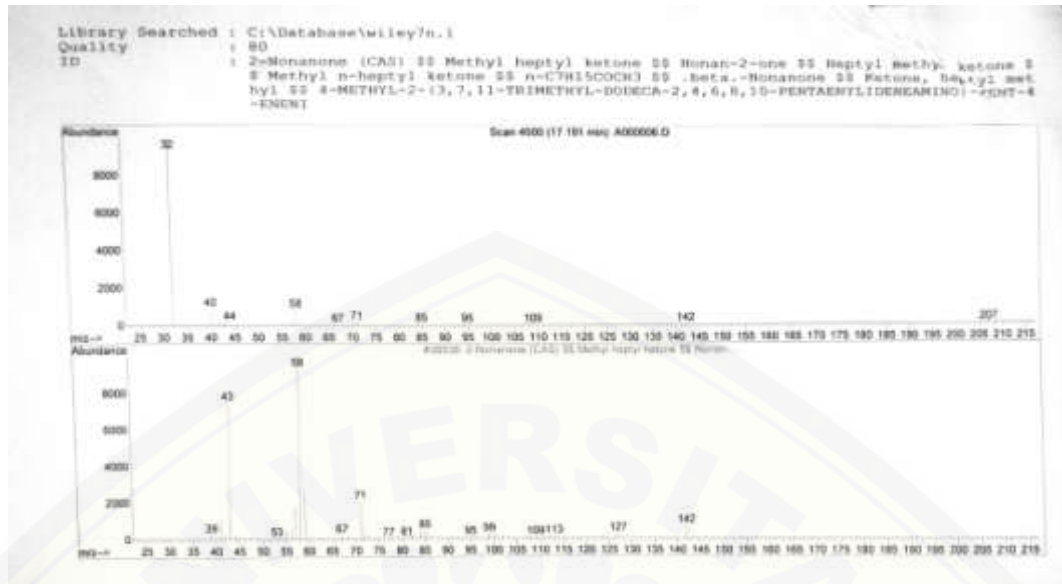












Lampiran E. Dokumentasi



Perendaman nib kakao dalam larutan fruktosa dan hidrolisat protein whey



Perendaman nib kakao dalam larutan fruktosa dan hidrolisat protein whey



Sample pasta kakao, biskuit, air dan tisu untuk uji citarasa QDA



Analisa warna dengan colorimeter



colorimeter



Pasta tiga perlakuan terbaik hasil uji efektifitas dan pasta kontrol



Kalibrasi alat colorimeter



Sample pasta untuk analisa warna



Uji citarasa QDA oleh bu Ninik pengulangan 1(atribut aroma)



Uji citarasa QDA oleh bu Ariza



Uji citarasa QDA oleh bu Ninik pengulangan 1



Uji citarasa QDA oleh bu Ninik pengulangan 1 (atribut aroma)



SPME



Pasta kakao hasil perlakuan IMR dan kontrol



Nib kakao sebelum persiapan penyangraian



Vial dan tutup vial



GCMS

JEMBER

Lampiran F. Form Uji Cita Rasa QDA



PUSAT PENELITIAN KOPI DAN KAKAO INDONESIA

Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute

Jl PB Sudirman No 90 Jember 68118 Telp (0331)757130, 757132, 757055, Fax (0331) 757131 Mail ipr@p2i.zen.net

Nama _____ L/P _____ Usia _____ Tanggal _____

FORM UJI CITA RASA KAKAO

No.	Atribut	Q		I		Q		I		Q		I	
1	Aroma cokelat <i>Chocolate Aroma</i>												
2	Flavor cokelat <i>Chocolate flavor</i>												
3	Kehalusan <i>Smoothness</i>												
4	Karamel <i>Caramelly</i>												
5	Krim <i>Creamy</i>												
6	Manis <i>Sweetness</i>												
7	Asam <i>Acidic</i>												
8	Pahit <i>Bitterness</i>												
9	Sepat <i>Astringency</i>												
10	Kesukaan <i>Preference</i>												
	Komentar <i>Comments</i>												

Quality

0
Buruk /Bad

5
Biasa /Average

10
Baik /Good

Intensity

0
Lemah /Weak

5
Sedang /Moderate

10
Kuat /Strong

Daftar Isiah
Glossary

Buzz	Kuning
Burnt	Gosong
Cereals	Bi-ajukan
Chemical	Zat kimia
Earthy	Tanah
Floral	Bunga
Fruity	Buah
Grassy	Rumput
Green	Langu
Humid	Dingin
Harsh	Getir
Medicinal	Oat
Mineral	Logam
Musty	Jamur
Muddy	Lumut
Nutty	Kacang
Oil	Ter Minyak
Papery	Kertas
Rancid	Tengik
Rubbery	Karet
Sandy	Asap
Sour	Kecat
Spicy	Busuk
Stale	Apak
Woody	Kayu-Arang