



**PENGARUH PENAMBAHAN ISOLAT KHAMIR  
TERHADAP DIFFERENSIASI WARNA PADA BIJI KAKAO  
(*Theobroma cacao L.*) SELAMA FERMENTASI**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk  
Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu  
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Pada Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember



Asal : Hindiah  
Periksa Tgl: 26 OCT 2000  
No. Buk : 10231 10/2000  
Klasifikasi: S  
Klasifikasi: 663.92  
AKH  
p

Disusun Oleh :

Shanti Akhiriani  
NIM : 96170101195

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
Oktober 2000**

HALAMAN DOSEN PEMBIMBING

**DOSEN PEMBIMBING :**

- \* Ir. SUSIJAHADI, MS (DPU)
- \* Ir. DJUMARTI (DPA I)
- \* Ir. TEGUH WAHYUDI, M Eng. (DPA II)



HALAMAN PENGESAHAN

Diterima Oleh:

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**UNIVERSITAS JEMBER**

sebagai **KARYA ILMIAH TERTULIS (SKRIPSI)**

Dipertahankan pada:

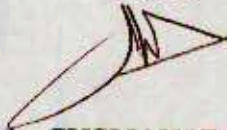
Hari : Sabtu

Tanggal : 30 September 2000

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua



Ir. SUSIJAHADI, MS

NIP. 130 287 109

Anggota I



Ir. DJUMARTI

NIP. 136 875 932

Anggota II



Ir. TEGUH WAHYUDI, M Eng.

Mengesahkan

Dekan



Ir. WAGITO

NIP. 130 516 238

MOTTO

*" Jadikanlah SABAR dan SHOLAT sebagai penolongmu.  
Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi  
orang-orang yang khusyu".*

*(QS. AL-BAQARAH ; 45)*

*"Ikatlah ILMU PENGETAHUAN yang kamu dapatkan dengan  
TULISAN, dan ikatlah KENIKMATAN yang dikaruniakan ALLAH SWT  
kepadamu dengan KESYUKURAN".*

*(N N)*



HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan penuh ketulusan hati, kupersembahkan **KARYA ILMIAH TERTULIS** ini untuk :

- ♥ Ibu dan Bapak yang senantiasa mengiringi setiap langkahku dengan do'a, cinta dan kasih sayang.
- ♥ Kakak-kakaku: Mas Poer, Mas Sony, Mbak Aning, Mbak Iin dan (Alm) Mbak Shinta Anggraeni. Terima kasih atas dukungan moral maupun materilnya, hanya ALLAH SWT yang bisa membalas kebaikan Mas-mas dan Mbak-mbak tercinta.
- ♥ Someone, thank's a million for your praying and our togetherness for all this time.
- ♥ Sobat-sobatku (Ninuk, Nurul, Devi, Lely, Budi dan Sandra) serta rekan-rekan TP '96.
- ♥ Almamater yang kubanggakan.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Rabbil 'Aalamiin, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena hanya dengan rahmat dan karunia-Nya maka penulisan Karya Ilmiah Tertulis dengan judul **"Pengaruh Penambahan Isolat Khamir Terhadap Differensiasi Warna pada Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Selama Fermentasi"** ini bisa terselesaikan dengan baik.

Maksud dan tujuan penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini adalah guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian pada Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih dan rasa hormat kepada:

1. Bapak Ir. Wagito, selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dan sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Utama dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
3. Ibu Ir. Djumarti dan Bapak Ir. Teguh Wahyudi, M. Eng. selaku Dosen Pembimbing Anggota dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
4. Bapak Ir. Noer Novijanto, MApp. Sc. selaku Dosen Wali dan para Dosen Fakultas Teknologi Pertanian yang telah membimbing, mendidik dan memberi ilmu kepada penulis selama di bangku kuliah.
5. Direktur beserta seluruh staf dan karyawan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember yang telah memberikan ijin dan membantu penulis dalam melaksanakan penelitian di Laboratorium Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember.
6. Pihak Perpustakaan Fakultas Teknologi Pertanian, Perpustakaan Pusat Universitas Jember dan Perpustakaan Pusat Penelitian Kopi



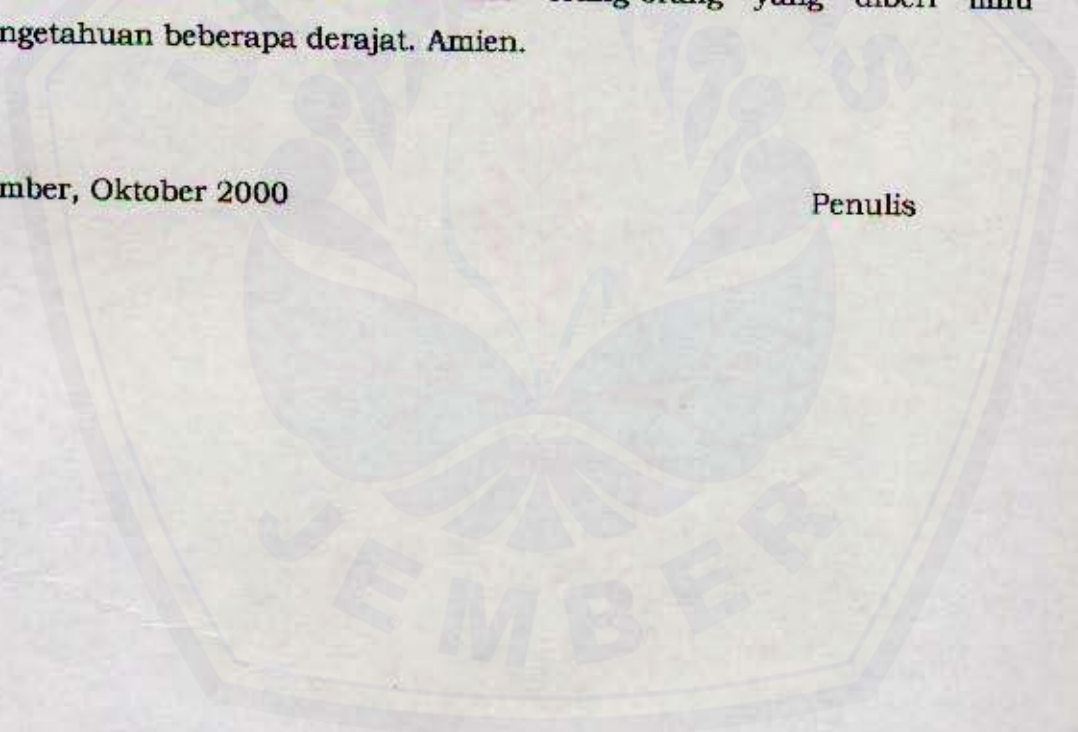
dan Kakao Kaliwining Jember yang turut membantu menunjang studi pustaka dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini:

7. Segenap teknisi Laboratorium Jurusan Teknologi Hasil Pertanian yang telah banyak memberikan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.
8. Semua pihak yang turut membantu dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.

Penulis berharap Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat khususnya bagi para pembaca yang ingin meneliti lebih lanjut tentang proses fermentasi kakao dan hubungannya dengan kualitas biji kakao yang dihasilkan. Allah SWT senantiasa meninggikan kedudukan orang yang beriman diantara kita dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Amien.

Jember, Oktober 2000

Penulis







DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL -----	i
HALAMAN DOSEN PEMBIMBING -----	ii
HALAMAN PENGESAHAN -----	iii
MOTTO -----	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN -----	v
KATA PENGANTAR -----	vi
DAFTAR ISI -----	viii
DAFTAR TABEL -----	xi
DAFTAR GAMBAR -----	xiii
DAFTAR LAMPIRAN -----	xv
RINGKASAN -----	xvi
I. PENDAHULUAN -----	1
1.1 Latar Belakang -----	1
1.2 Permasalahan -----	2
1.3 Batasan Permasalahan -----	3
1.4 Tujuan Penelitian -----	3
1.5 Kegunaan Penelitian -----	3
II. TINJAUAN PUSTAKA -----	4
2.1 Klasifikasi Tanaman Kakao -----	4
2.2 Komposisi Kimia Kakao -----	5
2.2.1 Komposisi Kimia Pulp Kakao -----	5
2.2.2 Komposisi Kimia Biji Kakao -----	5
2.3 Fermentasi -----	6
2.3.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Biji Kakao -----	7
2.3.2 Perubahan-perubahan yang Terjadi Selama Fermentasi Biji Kakao -----	8



2.4	Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi	
	Biji kakao -----	11
2.4.1	Khamir -----	12
2.4.2	Bakteri -----	13
2.5	Peranan Khamir Selama Fermentasi Biji Kakao -----	13
2.6	Peranan Bakteri Selama Fermentasi Biji Kakao -----	14
2.7	Pembentukan Asam Asetat dan Proses	
	Kematian Biji -----	15
2.8	Penggolongan Mutu dan Standardisasi Biji Kakao -----	17
2.9	Hipotesa -----	18
III.	BAHAN DAN METODE PENELITIAN -----	19
3.1	Bahan dan Alat Penelitian -----	19
3.1.1	Bahan -----	19
3.1.2	Alat -----	19
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian -----	19
3.3	Metode Penelitian -----	20
3.3.1	Metode Analisa -----	20
3.3.2	Pelaksanaan Penelitian -----	21
3.3.3	Parameter Pengamatan -----	22
3.3.4	Prosedur Analisa -----	22
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN -----	26
4.1	Suhu Fermentasi -----	26
4.2	pH-pulp -----	30
4.3	pH-kotiledon -----	34
4.4	Pembentukan Asam Asetat -----	38
4.5	Pertumbuhan Khamir -----	42
4.6	Pertumbuhan Bakteri Asam Asetat -----	43
4.7	<i>Cut-test</i> -----	45
4.8	Indeks Fermentasi -----	48
4.9	<i>Colour Reader</i> -----	52
4.9.1	Nilai L <i>Colour Reader</i> -----	52
4.9.2	Nilai a <i>Colour Reader</i> -----	55
4.9.3	Nilai b <i>Colour Reader</i> -----	59



4.10 Analisis Korelasi Antara Dua Variabel Warna Secara Regresi -----	63
4.10.1 Analisis Korelasi Antara <i>Cut-test</i> dan Indeks Fermentasi -----	64
4.10.2 Analisis Korelasi Antara <i>Cut-test</i> dan Nilai L <i>Colour Reader</i> -----	66
4.10.3 Analisis Korelasi Antara <i>Cut-test</i> dan Nilai a <i>Colour Reader</i> -----	67
4.10.4 Analisis Korelasi Antara <i>Cut-test</i> dan Nilai b <i>Colour Reader</i> -----	69
4.10.5 Analisis Korelasi Antara Nilai L <i>Colour Redaer</i> dan Indeks Fermentasi -----	70
4.10.6 Analisis Korelasi Antara Nilai a <i>Colour Reader</i> dan Indeks Fermentasi -----	72
4.10.7 Analisis Korelasi Antara Nilai b <i>Colour Reader</i> dan Indeks Fermentasi -----	73
V. KESIMPULAN DAN SARAN -----	75
5.1 Kesimpulan -----	75
5.1.1 Kesimpulan Utama -----	75
5.1.2 Kesimpulan Penunjang -----	75
5.2 Saran -----	76
DAFTAR PUSTAKA -----	77
LAMPIRAN -----	80



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Pulp Biji Kakao -----	5
2. Komposisi Kimia Biji Kakao Afrika Barat Sebelum Difermentasi -----	6
3. Sidik Ragam Suhu Fermentasi -----	26
4. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Suhu Fermentasi -----	26
5. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Suhu -----	27
6. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	28
7. Sidik Ragam pH-pulp -----	30
8. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap pH-pulp -----	31
9. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap pH-pulp -----	31
10. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	32
11. Sidik Ragam pH-kotiledon -----	34
12. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap pH-kotiledon -----	34
13. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap pH-kotiledon -----	35
14. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	36
15. Sidik Ragam Asam Asetat -----	38
16. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Pembentukan Asam Asetat -----	38
17. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Pembentukan Asam Asetat -----	39



18. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	40
19. Pertumbuhan Khamir Selama Fermentasi -----	42
20. Pertumbuhan Bakteri Asam Asetat Selama Fermentasi -----	44
21. Sidik Ragam Indeks Fermentasi -----	48
22. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Indeks Fermentasi -----	49
23. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Indeks Fermentasi -----	49
24. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	50
25. Sidik Ragam Nilai <i>L Colour Reader</i> -----	52
26. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Nilai <i>L Colour Reader</i> -----	52
27. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Nilai <i>L Colour Reader</i> -----	53
28. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	54
29. Sidik Ragam Nilai <i>a Colour Reader</i> -----	56
30. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Nilai <i>a Colour Reader</i> -----	56
31. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Nilai <i>a Colour Reader</i> -----	57
32. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	58
33. Sidik Ragam Nilai <i>b Colour Reader</i> -----	60
34. Hasil Uji Tukey Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Nilai <i>b Colour Reader</i> -----	60
35. Hasil Uji Tukey Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Nilai <i>b Colour Reader</i> -----	61
36. Hasil Uji Tukey Interaksi Antara Faktor Perlakuan Pendahuluan dan Lama Fermentasi -----	62

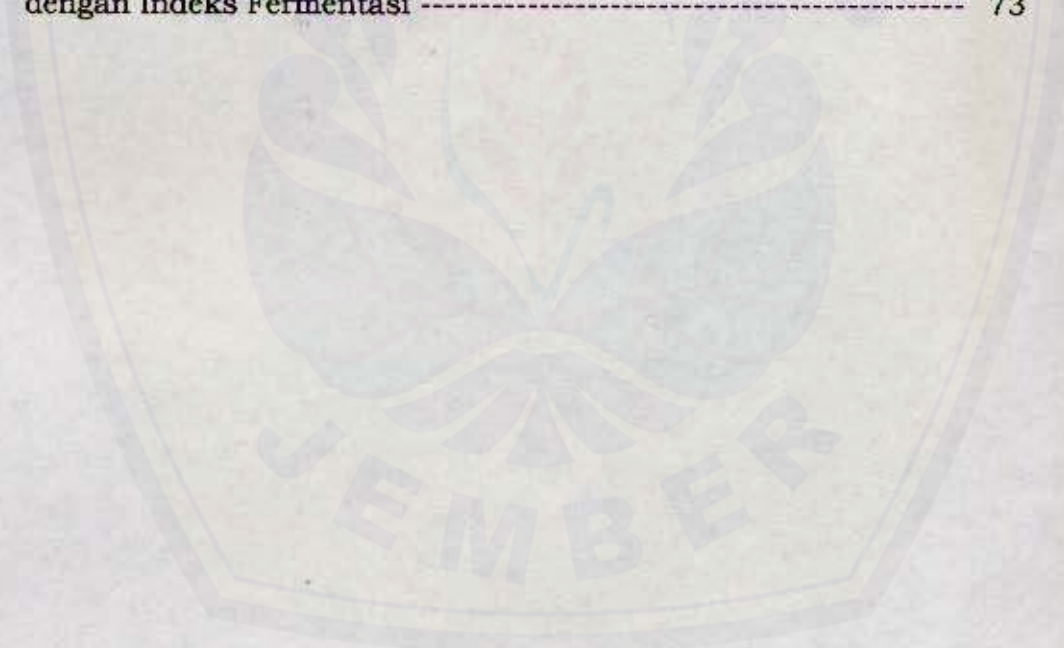


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram Perubahan yang Terjadi pada Masa Biji kakao Selama Fermentasi -----	8
2. Grafik Hubungan Antara Suhu dengan Lama Fermentasi -----	29
3. Grafik Hubungan Antara pH-pulp dengan Lama Fermentasi -----	33
4. Grafik Hubungan Antara pH-kotiledon dengan Lama Fermentasi -----	37
5. Grafik Hubungan Antara Asam Asetat dengan Lama Fermentasi -----	41
6. Grafik Hubungan Antara Log Jumlah Khamir dengan Lama Fermentasi -----	42
7. Grafik Hubungan Antara Log Jumlah Bakteri Asam Asetat dengan Lama Fermentasi -----	44
8. Grafik Nilai Uji Belah terhadap 100 Biji Kakao Hasil Fermentasi -----	46
9. Grafik Hasil Pengujian terhadap 100 Biji Kakao Hasil Fermentasi untuk Perlakuan Tanpa Khamir (Kontrol) -----	47
10. Grafik Hasil Pengujian terhadap 100 Biji Kakao Hasil Fermentasi untuk Perlakuan dengan Penambahan Isolat Khamir -----	47
11. Grafik Hubungan Antara Indeks Fermentasi dengan Lama Fermentasi -----	51
12. Grafik Hubungan Antara Nilai L <i>Colour Reader</i> dengan Lama Fermentasi -----	55
13. Grafik Hubungan Antara Nilai a <i>Colour Reader</i> dengan Lama Fermentasi -----	59
14. Grafik Hubungan Antara Nilai b <i>Colour Reader</i> dengan Lama Fermentasi -----	63



15. Grafik Regresi Hubungan Antara NUB <i>Cut-test</i> dengan Indeks Fermentasi .....	65
16. Grafik Regresi Hubungan Antara NUB <i>Cut-test</i> dengan Nilai L <i>Colour Reader</i> .....	66
17. Grafik Regresi Hubungan Antara NUB <i>Cut-test</i> dengan Nilai a <i>Colour Reader</i> .....	68
18. Grafik Regresi Hubungan Antara NUB <i>Cut-test</i> dengan Nilai b <i>Colour Reader</i> .....	69
19. Grafik Regresi Hubungan Antara Nilai L <i>Colour Reader</i> dengan Indeks Fermentasi .....	71
20. Grafik Regresi Hubungan Antara Nilai a <i>Colour Reader</i> dengan Indeks Fermentasi .....	72
21. Grafik Regresi Hubungan Antara Nilai b <i>Colour Reader</i> dengan Indeks Fermentasi .....	73





DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel Syarat Umum -----	80
2. Tabel Syarat Khusus -----	81
3. Tabel Rekomendasi -----	82
4. Tabel Data Pengamatan Suhu Fermentasi -----	83
5. Tabel Data Pengamatan pH-pulp -----	83
6. Tabel Data Pengamatan pH-kotiledon -----	84
7. Tabel Data Pengamatan Pembentukan Asam Asetat -----	84
8. Tabel Data Pengamatan Pertumbuhan Khamir -----	85
9. Tabel Data Pengamatan Pertumbuhan Bakteri Asam Asetat -----	86
10. Tabel Data Pengamatan Pengujian Warna dengan <i>Cut-test</i> -----	87
11. Tabel Data Pengamatan Indeks Fermentasi, Nilai L, a dan b <i>Colour Reader</i> -----	88
12. Contoh Perhitungan Analisis Korelasi Antara Dua Variabel Warna Secara Regresi -----	89



RINGKASAN

SHANTI AKHIRIANI (961710101195), **PENGARUH PENAMBAHAN ISOLAT KHAMIR TERHADAP DIFFERENSIASI WARNA PADA BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) SELAMA FERMENTASI**, Dosen Pembimbing Utama Ir. Susijahadi, MS. ; Dosen Pembimbing Anggota I Ir. Djumarti ; Dosen Pembimbing Anggota II Ir. Teguh Wahyudi, M. Eng.

Kakao dalam Pelita IV merupakan salah satu komoditi yang diperhatikan secara khusus. Salah satu proses utama yang dilakukan pada pengolahan kakao adalah fermentasi. Pada proses ini terjadi pembentukan calon cita rasa, pengurangan rasa pahit dan perbaikan kenampakan fisik biji kakao yang meliputi warna dan konsistensi keping biji kakao.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan isolat khamir terhadap differensiasi warna pada biji kakao selama fermentasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk memperbaiki proses fermentasi kakao dalam rangka meningkatkan kualitas biji kakao, terutama warnanya.

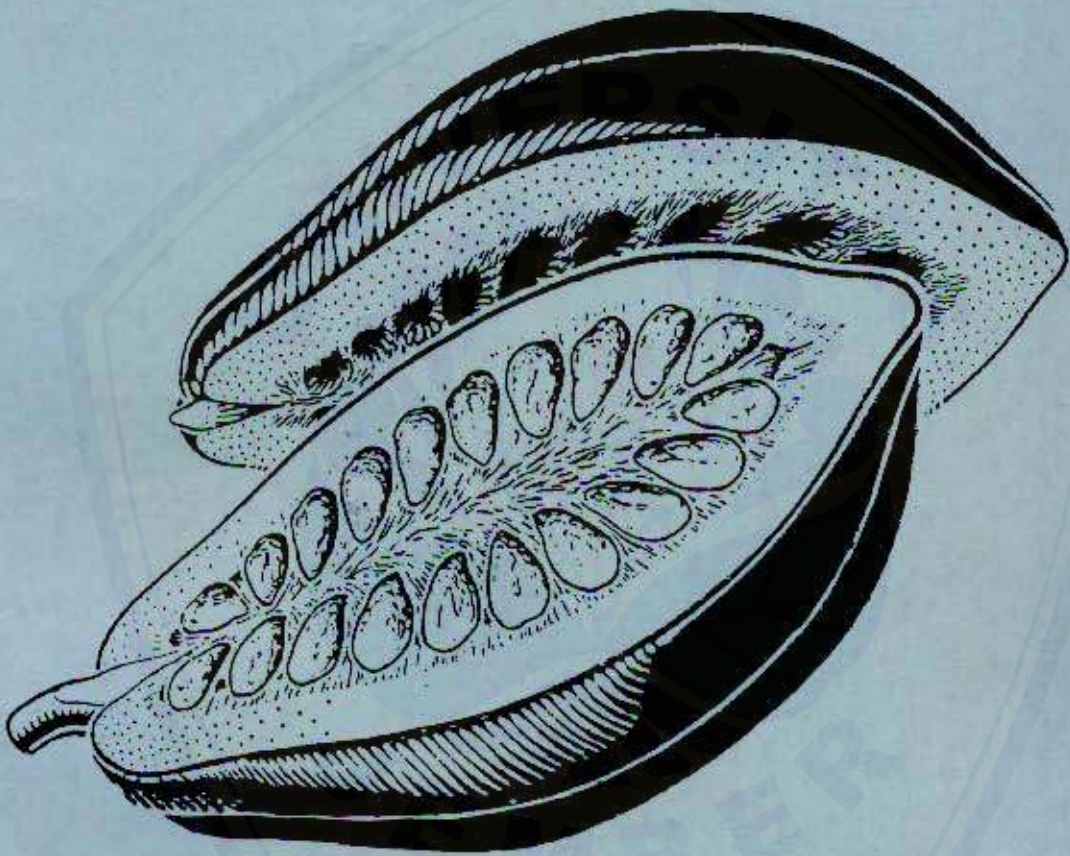
Penelitian Pengaruh Penambahan Isolat Khamir Terhadap Differensiasi Warna pada Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Selama Fermentasi ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu Fakultas Teknologi Pertanian dan Laboratorium Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember.

Penelitian dilakukan dalam Rancangan Acak Kelompok dengan susunan Faktorial dimana terdiri dari 2 faktor, yaitu faktor perlakuan pendahuluan sebelum proses fermentasi (A) dengan 2 taraf, yaitu A0 = tanpa penambahan isolat khamir (kontrol) dan A1 = dengan penambahan isolat khamir. Faktor kedua adalah lama fermentasi (B) dengan 7 taraf, yaitu fermentasi hari ke-0 sampai fermentasi hari ke-6 (B0 - B6).

Kesimpulan dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan isolat khamir dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap Indeks Fermentasi serta nilai L, a dan b *Colour Reader*. Interaksi antara penambahan isolat khamir dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap Indeks Fermentasi serta nilai L, a dan b *Colour Reader*. Dengan penambahan isolat khamir dan semakin lamanya waktu fermentasi, maka warna coklat yang muncul pada biji kakao hasil fermentasi menjadi lebih baik. Indeks Fermentasi pada perlakuan dengan penambahan isolat khamir pada hari ke-5 adalah 1,84 dengan nilai b *Colour Reader* yang dicapai 17,5.



*Theobroma cacao* L.





## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari hutan tropis Amazon dimana tanaman tersebut tumbuh rindang pada kelembaban tinggi, tetapi beberapa varietas berasal dari Mexico sampai Peru.

Menurut Soeriapoetra (1974), tanaman kakao mulai masuk Indonesia pada tahun 1560 yang pada saat itu dibawa oleh bangsa Spanyol melalui Philipina. Akan tetapi secara komersial budidaya tanaman ini baru diusahakan pada tahun 1880, terutama di Pulau Jawa.

Kakao dalam Pelita IV merupakan salah satu komoditi yang diperhatikan secara khusus. Untuk mendorong peningkatan penerimaan devisa negara, maka pemerintah mengalihkan perhatian serius terhadap peningkatan dan pengembangan komoditi kakao. Adapun usaha-usaha yang dilakukan antara lain adalah perluasan, rehabilitasi, intensifikasi dan diversifikasi.

Sementara itu menurut Siregar (1989), konsumsi kakao dunia dalam dekade terakhir rata-rata adalah 1.500.000 ton per tahun. Konsumsi kakao tersebut menunjukkan kecenderungan yang terus meningkat. Dengan adanya kemunduran yang dialami oleh negara-negara penghasil kakao lainnya, maka peluang untuk memasarkan kakao Indonesia di pasaran internasional masih cukup besar.

Berdasarkan data Statistik Perkebunan Indonesia, volume ekspor kakao Indonesia tahun 1997 mencapai 265.949 ton dengan nilai ekspor sebesar \$ 274.526.000 US. Sedangkan volume impor kakao Indonesia mencapai 6.410 ton dengan nilai impor sebesar \$ 9.981.000 US (Badan Pusat Statistik, 1998).

Makin ketatnya persaingan dalam memasarkan kakao biji di pasar internasional memerlukan berbagai usaha untuk meningkatkan daya saing ini, antara lain dengan meningkatkan mutu, efisiensi dan promosi (Hardjosuwito, dkk., 1985).



Menurut Wahyudi (1994) dalam Aziz (1996), produksi kakao Indonesia selama ini didominasi oleh kakao rakyat yang secara umum masih bermutu rendah yang dicirikan dengan: kadar air tinggi, kandungan lemak rendah, cita rasa kurang dan mutu biji tidak konsisten.

Salah satu proses utama yang dilakukan pada pengolahan kakao adalah fermentasi. Banyak perubahan penting yang terjadi selama proses fermentasi yang berpengaruh positif pada mutu biji kakao yang diolah. Pada proses ini akan terbentuk senyawa pembentuk aroma biji kering. Menurut Rohan (1963), tujuan fermentasi antara lain melepaskan pulp dari biji dan mematikan biji, yaitu dengan pembentukan etanol dari gula yang terdapat dalam pulp dan diikuti dengan pembentukan asam asetat dari etanol. Fermentasi juga dapat membentuk calon perisa (flavor) dan memperbaiki warna. Pembentukan calon perisa terjadi secara enzimatik setelah biji mati.

Titik berat dalam pengolahan biji kakao terletak dalam proses fermentasi. Pada proses ini terjadi pembentukan calon cita rasa, pengurangan rasa pahit dan perbaikan kenampakan fisik biji kakao yang meliputi warna dan konsistensi keping biji kakao. Kegagalan dalam proses fermentasi tidak dapat diperbaiki dengan proses-proses pengolahan lebih lanjut dan dapat diartikan sebagai kegagalan total proses pengolahan biji kakao (Wahyudi dkk., 1988).

## **1.2 Permasalahan**

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

Selama proses fermentasi biji kakao, mikroba yang berperan adalah khamir dan bakteri pembentuk asam. Pada umumnya fermentasi biji kakao hanya memanfaatkan aktivitas mikroba yang berasal dari



inokulasi spontan, baik kontaminasi dari lingkungan, tangan pekerja, buah kakao sendiri maupun dari alat yang dipergunakan di dalam prosesing. Yang menjadi permasalahan adalah apabila di dalam fermentasi ditambahkan isolat khamir murni, belum dapat diketahui pengaruhnya terhadap produk akhir dari fermentasi terutama terhadap kualitas warna biji kakao. Sehubungan dengan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang : **"Pengaruh Penambahan Isolat Khamir terhadap Differensiasi Warna pada Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Selama Fermentasi"**.

### **1.3 Batasan Permasalahan**

Batasan permasalahan pada penelitian ini adalah hubungan antara pertumbuhan mikroba, pembentukan asam asetat dan differensiasi warna pada biji kakao selama proses fermentasi.

### **1.4 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

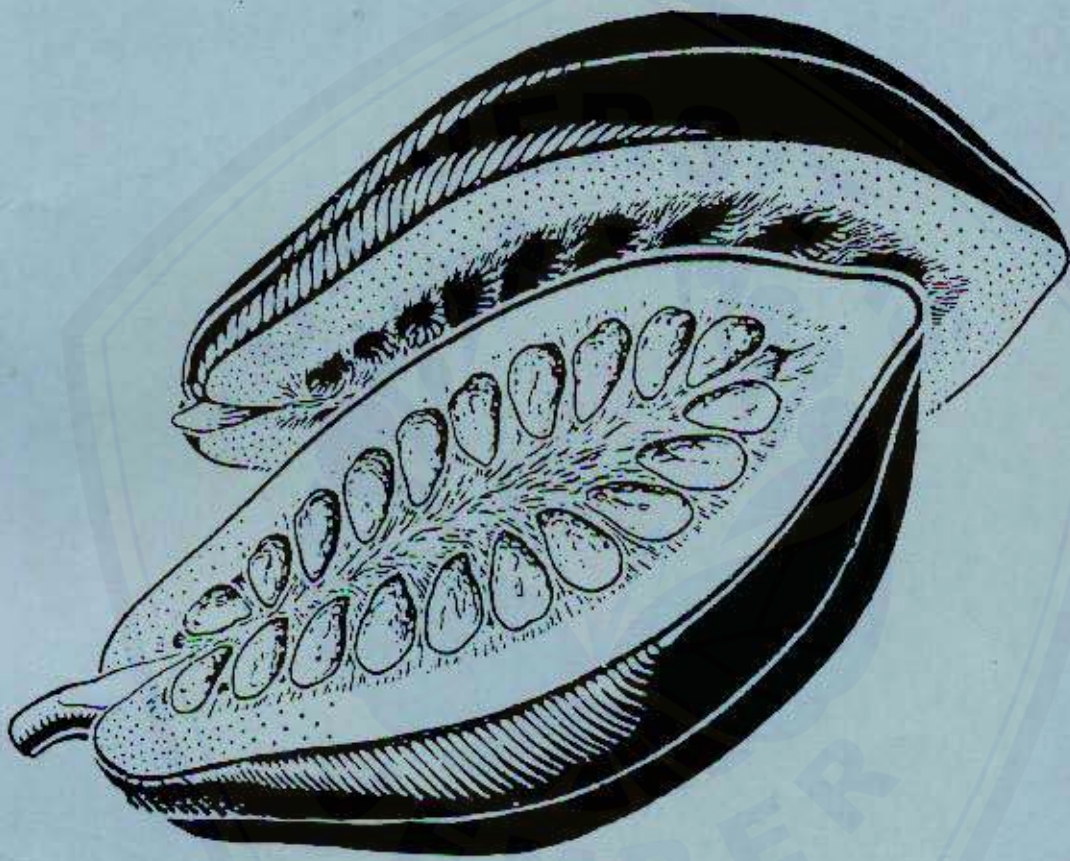
1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan isolat khamir terhadap differensiasi warna pada biji kakao yang dihasilkan.
2. Untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap differensiasi warna pada biji kakao yang dihasilkan.
3. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi antara penambahan isolat khamir dan lama fermentasi terhadap differensiasi warna pada biji kakao yang dihasilkan.

### **1.5 Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk memperbaiki proses fermentasi kakao dalam rangka meningkatkan kualitas biji kakao, terutama warnanya.



*Theobroma cacao* L.





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi Tanaman Kakao

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) termasuk famili *Sterculiaceae*. Tanaman ini berasal dari hutan tropis di daerah Amerika Selatan, yang kemudian tanaman ini diusahakan penanamannya oleh orang-orang Indian Aztek.

Sesungguhnya terdapat banyak jenis tanaman kakao, namun jenis yang paling banyak ditanam untuk produksi kakao secara besar-besaran menurut Sunanto (1992) hanya 3 jenis, yaitu:

- a. Jenis *Criollo*, yang terdiri dari *Criollo* Amerika Tengah dan *Criollo* Amerika Selatan. Jenis ini menghasilkan biji kakao yang mutunya sangat baik dan dikenal sebagai: kakao mulia, *fine flavour cocoa*, *choiced cocoa*, atau *edel cocoa*. Buahnya berwarna merah atau hijau, kulitnya tipis berbintil-bintil kasar dan lunak. Biji buahnya berbentuk bulat telur dan berukuran besar dengan kotiledon berwarna putih pada waktu basah.
- b. Jenis *Forastero*, banyak diusahakan di berbagai negara produsen kakao dan menghasilkan biji kakao yang mutunya sedang atau *bulk cocoa*, atau dikenal juga sebagai *ordinary cocoa*. Buahnya berwarna hijau, kulitnya tebal. Biji buahnya tipis atau gepeng dan kotiledon berwarna ungu pada waktu basah.
- c. Jenis *Trinitario*, merupakan campuran atau hibrida dari jenis *Criollo* dengan jenis *Forastero* secara alami, sehingga kakao jenis ini sangat heterogen. Kakao *Trinitario* menghasilkan biji yang termasuk *fine flavour cocoa* dan ada yang termasuk *bulk cocoa*. Buahnya berwarna hijau atau merah dan bentuknya bermacam-macam. Biji buahnya juga bermacam-macam dengan kotiledon berwarna ungu muda sampai ungu tua pada waktu basah.

Menurut Forsyth dan Quesnel (1963) dalam Schwan *et al.* (1995), terdapat perbedaan utama terhadap konsentrasi pigmen dalam kotiledon antara *Criollo* dan *Forastero*. Warna pembentuk kotiledon untuk *Criollo* adalah putih atau pink agak pucat, sedangkan untuk *Forastero*



berwarna ungu tua. *Anthocyanin* menyusun sekitar 0,5 % dari berat kering *Forastero*, tetapi tidak terdapat di dalam biji *Criollo*. Senyawa polifenol dalam kotiledon *Criollo* mengandung *leucoanthocyanidin* (*procyanidin*).

## 2.2 Komposisi Kimia Kakao

### 2.2.1 Komposisi Kimia Pulp Kakao

Pulp sebagian besar terdiri atas air dan sebagian kecil gula yang sangat berperan selama proses fermentasi biji (Nasution dkk., 1976). Menurut Rohan (1963), pulp merupakan jaringan halus berlendir dan melekat pada biji kakao sebagai media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme, karena kaya akan bahan organik, antara lain glukosa dan sukrosa. Adapun komposisi pulp secara lengkap dapat dilihat pada **Tabel 1** di bawah ini.

**Tabel 1. Komposisi Kimia Pulp Biji Kakao**

Komponen	Persentase (%)
Air	80-90
Glukosa	8-13
Sukrosa	0,4-1,0
Pati	Sedikit
Asam tak menguap (Asam Sitrat)	0,2-0,4
Besi Oksida	0,03
Garam (K, Na, Ca, Mg)	0,4-0,45

**Sumber:** Rohan (1963).

### 2.2.2 Komposisi Kimia Biji Kakao

Nasution dkk. (1976) mengemukakan bahwa biji kakao terdiri atas dua bagian utama. Bagian yang pertama adalah kulit biji yang persentasenya 10 % sampai 14 % dari berat kering biji. Sedangkan bagian kedua adalah keping biji (cotyledon) yang persentasenya 86 % sampai 90 % dari berat kering biji. Secara lengkap komposisi kimia biji atau kotiledon dapat dilihat pada **Tabel 2**.



**Tabel 2. Komposisi Kimia Biji Kakao Afrika Barat Sebelum Difermentasi**

Komponen	Persentase (%)
Lemak	53,05
Air	3,65
Total abu	2,63
Nitrogen	5,78
Total N	2,28
Protein	1,50
Theobromin	1,71
Karbohidrat	14,31
Glukosa	0,30
Pati	6,10
Sellulosa	1,92
Tanin	7,54
Asam-asam	0,304
Asetat	0,014
Oksalat	0,29

**Sumber:** Rohan (1963).

### 2.3 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perombakan senyawa organik yang dikatalisa oleh enzim. Proses fermentasi berlangsung di dalam suatu sistem biologi yang melibatkan reaksi hidrolisa, reaksi oksidasi reduksi dan juga dapat menghasilkan energi (Winarno, 1983).

Fermentasi merupakan tahap pengolahan yang harus dilakukan agar biji kakao mempunyai calon cita rasa khas cokelat. Fermentasi yang baik memerlukan kondisi yang baik pula. Ada beberapa hal yang menentukan hasil fermentasi, yaitu jumlah biji kakao atau ukuran tempat fermentasi serta pengadukan atau aerasi (Rohan, 1963).

Proses fermentasi biji kakao sebenarnya melibatkan dua macam proses, yaitu fermentasi eksternal dan internal. Pada fermentasi eksternal bertujuan untuk melepaskan pulp dari keping biji dan mematikan keping biji yaitu dengan pembentukan etanol dari gula yang terdapat dalam pulp kemudian diikuti dengan pembentukan asam asetat dari etanol. Fermentasi internal bertujuan untuk mengadakan perubahan di dalam keping biji, yaitu perubahan warna, pembentukan



aroma dan rasa keping biji kakao (Quesnel dan Lopez dalam Effendi , 1990).

### 2.3.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Biji Kakao

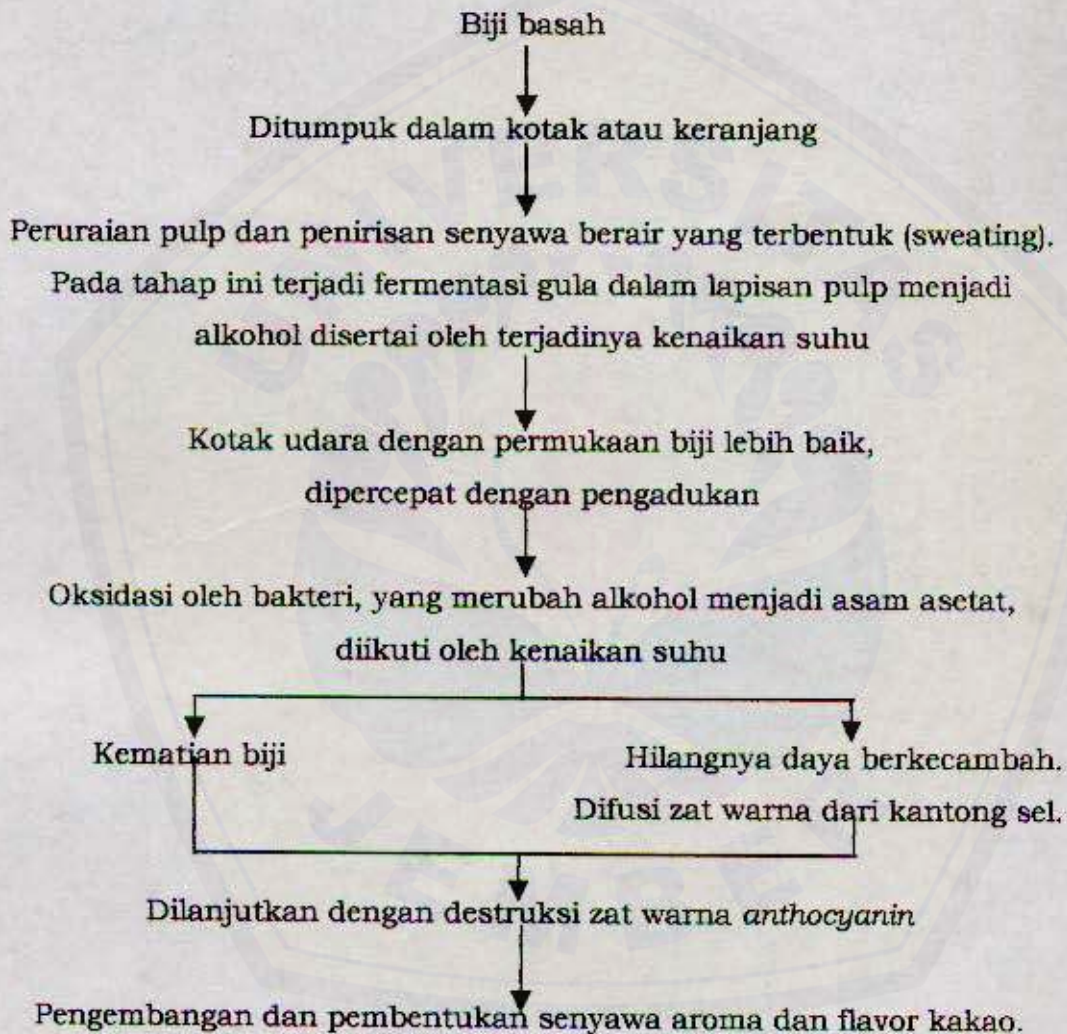
Menurut Wood dan Lass (1985), faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi biji kakao antara lain sebagai berikut:

- a. Kematangan buah. Biji dari buah yang masak akan terfermentasi sempurna, tetapi biji dari buah kurang masak tidak terfermentasi dengan baik. Hal ini diduga karena pulp kekurangan gula sehingga kehilangan berat selama fermentasi dan pengeringan lebih daripada normalnya. Selain itu, buah yang lewat masak kemungkinan mengandung biji bertunas.
- b. Penyakit buah. Jika biji diserang penyakit, maka akan mengakibatkan peningkatan asam lemak bebas dan cokelat yang dihasilkan dari biji ini akan mempunyai flavor cokelat yang tidak normal.
- c. Jenis kakao. Terdapat perbedaan mendasar antara jenis *Criollo* dan *Forastero* dalam fermentasinya. Jenis *Criollo* waktu fermentasinya pendek, yaitu 2 sampai 3 hari, sedangkan jenis *Forastero* 3 sampai 7 hari dan kadang-kadang lebih lama. Akibat perbedaan ini, pencampuran dari keduanya pada proses fermentasi sebaiknya dihindari.
- d. Penundaan pemecahan buah. Penundaan waktu antara pemanenan dengan pemecahan buah mengakibatkan terjadinya peningkatan suhu yang cepat. Selama penundaan waktu tersebut terjadi kehilangan air hingga mencapai 50 %.
- e. Pembalikan. Tujuan pembalikan biji selama fermentasi adalah untuk memastikan keseragaman. Pembalikan ini juga penting untuk membantu penetrasi udara.



### 2.3.2 Perubahan-perubahan yang Terjadi Selama Fermentasi Biji Kakao

Menurut Rohan (1963), masa biji kakao yang diperam dalam kotak atau keranjang akan mengalami beberapa perubahan. Secara skematis, perubahan-perubahan tersebut adalah seperti pada diagram berikut:



**Gambar 1. Diagram Perubahan yang Terjadi pada Masa Biji Kakao Selama Fermentasi (Rohan, 1963).**

Tanda-tanda bahwa fermentasi sudah selesai adalah pulp mudah dibersihkan dari kulit biji, kulit biji berwarna coklat, bau asam cukup jelas. Biji yang belum selesai fermentasinya pulp putih, kulit biji belum



berwarna coklat, berbau alkohol (Soenaryo dan Situmorang, 1978). Dengan matinya biji kakao akan terjadi perubahan-perubahan yang penting dalam biji. Perubahan-perubahan ini antara lain perubahan warna keping biji, meningkatkan aroma dan rasa serta memperbaiki konsistensi keping biji kakao (Nasution dkk., 1976).

Proses fermentasi akan menyebabkan kakao mudah dilepaskan dari pulpnya, perkecambahan biji dapat dicegah, rasa pahit pada biji kakao tidak dijumpai (rasa pahit disebabkan oleh kandungan theobromin dan kafein), serta perubahan lainnya yang bersifat kompleks (Nasution dkk., 1970; Rohan, 1963).

Biji kakao mengandung warna merah, ungu dan coklat yang oleh adanya kegiatan enzim, maka komponen penyusun warna ini akan terdegradasi. Degradasi komponen warna yang juga dikenal dengan degradasi warna dapat digunakan sebagai indikator kematian biji (de Witt dan Cope dalam Rohan, 1963).

Menurut Knapp dalam Rohan (1963), kotiledon pada biji kakao *Forastero*, pada beberapa sel tertentu berisi zat warna violet, tersebar di antara sel yang tidak berwarna. Sel tersebut mengandung zat warna dan mungkin berisi semua senyawa polifenol. Sedangkan menurut Forsyth (1952) dalam Susijahadi dan Jinap (1998), polifenol di dalam fermentasi yang aerob dapat membentuk warna coklat.

Senyawa polifenolik terdiri atas *anthocyanin* dan *leukoanthocyanin* (3 %), *catekol* (3 %) dan *polifenol komplek*. Selama fermentasi dan dilanjutkan dengan tahap pengeringan, polifenol oksidase menyebabkan pencoklatan oksidatif untuk memberikan karakteristik warna coklat yang bagus pada biji kakao *Forastero* yang difermentasi (Minifie, 1980).

Pigmen *anthocyanin* dihancurkan selama proses fermentasi oleh enzim hidrolase. Warna ungu menghilang oleh karena *cyandin* bebas membentuk "*pseudo base*" yang stabil dan tidak berwarna. Proses penghancuran *catekin* dan *leukoanthocyanin* lebih besar pada tumpukan kecil (Nasution dkk., 1976).

Roclofsen (1958) berpendapat bahwa kenaikan warna coklat disebabkan oleh keaktifan enzim dari golongan phenolase yang



mengkatalisa perubahan senyawa polifenol yang berwarna ungu menjadi *quinon* dan *melanin* yang berwarna coklat. Enzim golongan phenolase aktif setelah biji mati. Dengan matinya biji akan terjadi penguraian sel, sehingga tidak terdapat penghalang biologis yang memisahkan enzim dan substratnya. Sedangkan Rohan (1963) berpendapat bahwa reaksi pencoklatan pada biji kakao merupakan oksidasi polifenol oleh enzim polifenol oksidase dengan perantaraan oksigen.

*Polifenol* dalam bentuk *epikatekin* dan *katekin* akan dioksidasi menjadi *quinon*, yang selanjutnya apabila terjadi kondensasi protein dengan *polifenol* akan menghasilkan flavor yang pahit, akan tetapi oksidasi *polifenol* yang paling tepat untuk membentuk flavor belum diketahui (Susijahadi dan Jinap, 1998).

Senyawa hasil fermentasi adalah *tanin-kompleks* berwarna coklat dengan absorbansi maksimal pada panjang gelombang 460 nm, senyawa yang berkurang selama fermentasi adalah *anthocyanin* yang berwarna ungu dengan absorbansi maksimal pada panjang gelombang 530 nm (Gourieva dan Tserevitinov, 1979).

Segera setelah biji mati, seluruh komponen mulai berdifusi keluar dari keping biji, terutama *katekin*. *Cyanin* dihidrolisa oleh enzim hidrolase menjadi gula dan *cyanidin*, komponen ini diubah menjadi *leukoanthocyanidin*. Akibat dari proses hidrolisa ini adalah kenaikan kadar *leukoanthocyanidin* yang kemudian menurun kembali oleh karena proses difusi ataupun berubah menjadi fraksi tanin yang lebih kompleks (Nasution dkk., 1976).

*Anthocyanin* dihidrolisa oleh  $\beta$ -galaktosidase menjadi gula dan *cyanidin* dan terhidrolisis total dalam waktu 6 hari. *Cyanidin* yang terbentuk mengalami reaksi polimerisasi membentuk *leukocyanidin*. Hasil polimerisasi *cyanidin* menjadi *leukocyanidin* pada awalnya meningkat, setelah itu *leukocyanidin* bersama-sama dengan *katekin* menurun dengan cepat karena terdifusi ke dalam pulp yang terfermentasi dan diubah menjadi *tanin kompleks*. Peningkatan *tanin kompleks* mencapai puncaknya pada hari ke-4, kemudian menurun



dikarenakan interaksinya dengan protein (*komplek tanin-protein*) (Kim dan Keeney, 1983).

Selama pengeringan, oksidasi enzimatis polifenol mempengaruhi warna coklat yang merupakan karakteristik dari kakao. Sebagian besar perubahan oksidatif selama pengeringan dikatalisis oleh polifenol oksidase (PPO) (Kim dan Keeney, 1983).

Fermentasi normal, bagaimanapun juga memberikan perbandingan biji yang terdiri atas coklat dominan dan ungu dominan. Hal ini menentukan derajat fermentasi antara tingkat perbandingan biji ungu penuh dan biji coklat penuh yang terfermentasi sempurna. Kualitas yang sebenarnya dari biji kakao ditentukan oleh "*Cut-test*", bersama dengan penentuan flavor coklat yang terbentuk pada biji (Minifie, 1980).

Metode Indeks Fermentasi merupakan metode yang digunakan untuk membedakan biji kakao berdasarkan kategori warna kakao yang berbeda dan dapat digunakan sebagai penentuan kualitas biji kakao secara tidak langsung. Nilai indikator warna seperti nilai L, a dan b diperoleh dari pengukuran yang diberikan oleh alat pengukur indikator warna. Pengukuran warna secara langsung dengan color meter digunakan sebagai metode penentuan untuk memprediksikan kualitas biji kakao. Hal ini karena indikator warna yang diperoleh untuk kelima kategori warna kakao memiliki kecerahan hubungan dengan nilai Indeks Fermentasi (Wahyudi, 1990).

Menurut Gourieva dan Tserevitinov (1979) dalam Effendi (1990), biji kakao yang cukup terfermentasi akan mempunyai Indeks Fermentasi minimal 1 (satu), sedangkan biji kakao yang kurang terfermentasi akan ditandai oleh Indeks Fermentasi yang kurang dari 1 (satu).

#### **2.4 Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi Biji Kakao**

Mikroorganisme adalah kunci keberhasilan atau kegagalan suatu fermentasi. Tanpa memperhatikan keadaan alami produk yang dapat dihasilkan atau rumitnya proses rekayasa yang terjadi, mikroorganisme harus memiliki beberapa keunggulan yang diperlukan untuk keberhasilannya suatu proses fermentasi (Sa'id, 1987).



Di dalam fermentasi biji kakap, terjadinya perubahan kondisi lingkungan akan sangat berpengaruh terhadap aktivitas mikroorganisme yang berperan. Khamir merupakan golongan mikroorganisme yang pertama-tama muncul aktivitasnya, kemudian diikuti oleh bakteri asam laktat, bakteri asam asetat dan yang terakhir adalah bakteri pembentuk spora yang aerob (Schwan *et al.*, 1995).

Selama fermentasi kakao, khamir dan bakteri berperan dalam melakukan perubahan-perubahan pada biji. Pada fase awal fermentasi, khamir dalam kondisi anaerob secara aktif mengkonsumsi gula dan merubahnya menjadi alkohol. Nilai pH sebesar 2,5 – 4,5 dan suhu 25 °C – 40 °C adalah kondisi yang optimal bagi pertumbuhan khamir untuk memacu aktivitasnya. Perubahan pH dan suhu yang terjadi selama fermentasi akan mempengaruhi kehidupan khamir. Pada saat kondisi lingkungan kurang cocok untuk pertumbuhan khamir, maka pada masa fermentasi selanjutnya bakteri asam asetat mulai aktif yang akan mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat (Sa'id, 1987).

#### 2.4.1 Khamir

Menurut Quesnel (1962) di dalam Manurung dan Soenaryo (1973), beberapa khamir yang sudah berhasil diisolasi dari biji kakao hasil fermentasi di Jawa meliputi *Saccharomyces apicularia* dan *S. ellipsoides*. Sedangkan Siregar (1962) di dalam penelitiannya menemukan beberapa khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *S. theobrome*, *S. ellipsoides* dan *S. anomalus*.

Berbagai spesies khamir berbeda-beda dalam sifat fisiologisnya, tetapi khamir yang terpenting di dalam industri pada umumnya mempunyai sifat-sifat fisiologis yang umum. Kebanyakan khamir tumbuh paling baik pada kondisi dengan persediaan air cukup. Tetapi karena khamir dapat tumbuh pada medium dengan konsentrasi solut (gula dan garam) lebih tinggi daripada bakteri, dapat disimpulkan bahwa khamir membutuhkan air untuk pertumbuhan lebih kecil dibandingkan kebanyakan bakteri. Batas aktivitas air terendah untuk khamir berkisar antara 0,88 – 0,94 (Effendi, 1990).



#### 2.4.2 Bakteri

Berbagai bakteri yang diketemukan pada fermentasi kakao menurut Knapp (1937) dalam Rohan (1963), antara lain adalah sebagai berikut: 1. Bakteri asam asetat genus *Bacillus xylinuma*, *B. Xylionides*, *B. Orleanense* dan *B. Ascendense*, 2. Bakteri asam laktat genus *Beta bacterium*, *Coli aerogenes*, *Bacillus undulatus* dan *B. Megatherium*. Di samping itu tumbuh juga beberapa bakteri yang bersifat perusak, yaitu timbul bila fermentasi berlangsung relatif lama, antara lain *Bacillus subtilis*.

Bakteri yang diisolasi pertama kali dari pulp pada fermentasi di Jawa oleh Roelofsen (1958) adalah bakteri dari jenis *Beta bacterium*. Bakteri tersebut bersifat heterofermentatif, yaitu kecuali dapat menghasilkan asam laktat, juga menghasilkan asam asetat.

#### 2.5 Peranan Khamir Selama Fermentasi Biji Kakao

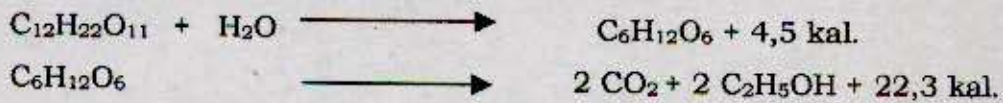
Menurut Waluyo (1984), adanya penambahan starter khamir pada substrat, maka khamir tersebut akan menjadi lebih dominan dibandingkan dengan jenis mikroorganisme lain, sehingga dengan demikian fermentasi dapat berlangsung dengan baik.

Khamir merupakan perintis di dalam fermentasi kakao oleh karena kandungan makanan yang ada pada pulp sesuai dengan yang diperlukan oleh khamir, disamping kondisi pH serta suhu pada masa pulp yang menunjang untuk pertumbuhan khamir. Pulp biji kakao mengandung air 82-87 %, gula 10-15 %, pentosa 2-3 %, asam sitrat 1-3 % dan pektin 1-1,5 % (Roelofsen, 1958; Forsyth dan Quesnel, 1963).

Khamir memiliki sifat-sifat mereduksi yang kuat, jika khamir diinokulasikan dalam media fermentasi yang mengandung gula akan mereduksi gula menjadi senyawa aldehid dan akhirnya menjadi alkohol. Hasil reduksi khamir juga berupa asam, aseton, enzim, koenzim dan vitamin (Prescott dan Dunn dalam Hartanti, 1998).



Aktivitas khamir ialah merubah gula yang ada pada pulp menjadi etanol dan karbon dioksida yang menghasilkan reaksi eksotermis dan dikatalisa oleh enzim hidrolase dan enzim glukosidase.



Perubahan ini menyebabkan terjadinya peningkatan suhu sehingga pulp menjadi cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme lainnya terutama bakteri (Sa'id, 1987).

Protopektin di dalam pulp oleh kegiatan enzim protopektinase akan diubah menjadi pektin yang dapat larut dalam air. Menurut Quesnel (1967) dalam Mansyur dan Soenaryo (1978), khamir dapat menghasilkan beberapa enzim, diantaranya adalah pektase dan pektinase. Pektase dapat menguraikan pektin menjadi alkohol dan asam pektin. Dengan terurainya protopektin yang merupakan bahan perekat dari lamela tengah sel, menyebabkan jaringan pulp hancur hingga lebih mudah dipisahkan dari keping biji. Pektinase dapat menguraikan asam pektin menjadi galaktosa, asam uronat dan arabinosa serta asam asetat. Asam asetat merupakan senyawa yang ikut berpengaruh terhadap kematian biji, yaitu merupakan peristiwa yang diharapkan pada fermentasi.

Enzim pektinolitik tidak ditemukan di dalam pulp sebelum difermentasikan, dan ini membuktikan bahwa enzim ini dihasilkan oleh mikroba. Pada biji kakao yang berasal dari Jawa dilaporkan oleh Roelofsen (1958), bahwa khamir yang bersifat pektinolitik yaitu genus *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* dan *Zygosaccharomyces* (Susijahadi dan Jinap, 1998).

## 2.6 Peranan Bakteri Selama Fermentasi Biji Kakao

Menurut Pederson (1971), golongan bakteri asam laktat berperan penting dalam fermentasi. Golongan bakteri tersebut melanjutkan proses metabolisme biologi yang essensial tanpa oksigen oleh serangkaian reaksi kompleks oksidasi dan reduksi intramolekuler. Pada saat mereka tidak menggunakan oksigen, perubahan yang mereka lakukan tidak



mengakibatkan dekomposisi komponen dasar pada makanan, seperti karbon dioksida, air, nitrat sederhana dan sulfat. Produk akhir metabolisme mereka yang diakui paling umum adalah asam laktat yang dihasilkan dari gula.

Bakteri asam asetat atau bakteri vinegar, berbeda dengan bakteri asam laktat. Bakteri asam asetat merupakan spesies aerobik pengoksidasi dimana aktivitas utamanya adalah oksidasi alkohol dan substansi karbohidrat lain menjadi asam asetat (Pederson, 1971).

Kenaikan pH, suhu dan pembalikan masa fermentasi biji kakao akan mendorong kegiatan bakteri asam asetat untuk mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat. Bakteri asam asetat ini akan mati dan menurun kegiatannya setelah suhu masa pulp mencapai sekitar 50 °C (Lehrian dan Patterson, 1983 dalam Schwan *et al.*, 1995).

## **2.7 Pembentukan Asam Asetat dan Proses Kematian Biji Kakao**

Forsyth dan Quesnel (1963) dalam Schwan *et al.*, (1995) mengemukakan bahwa setelah populasi yeast dan bakteri asam laktat berkurang, aerasi masa yang terfermentasi menjadi lebih baik. Kondisi ini sesuai untuk pertumbuhan bakteri asam asetat. Hal tersebut memungkinkan untuk oksidasi alkohol menjadi asam asetat dan oksidasi selanjutnya menjadi karbon dioksida dan air.

Hasil metabolisme bakteri asam asetat (*Acetobacter aceti*) akan mempengaruhi tingkat keasaman di dalam pulp maupun di dalam biji. Asam asetat yang terbentuk dari hasil oksidasi alkohol oleh *Acetobacter* akan terdifusi ke dalam kotiledon sehingga menjadi salah satu penyebab matinya biji (Susijahadi dan Jinap, 1998).

Biji yang sudah mati akan menyebabkan rusaknya permeabilitas sel pada biji. Kerusakan permeabilitas pada sel biji akan menyebabkan terjadinya difusi senyawa *polifenol* dari senyawa sel ke seluruh bagian kotiledon. Difusi *polifenol* akan menyebabkan terjadinya kontak antara *polifenol* dengan enzim polifenol oksidase sehingga terjadi perubahan senyawa *polifenol* (Susijahadi dan Jinap, 1998).



Pada umumnya, asam asetat merupakan komponen essensial pada proses fermentasi sebagai asam yang mengakibatkan kematian biji dan menghasilkan lingkungan yang dapat digunakan untuk pembentukan prekursor flavor dan aroma dalam kotiledon (Samah, 1992).

Menurut Manurung dkk. (1976), produksi asam asetat sangat berguna di dalam fermentasi kakao oleh karena dapat mematikan biji, mudah masuk ke dalam biji dan menurunkan pH, membantu di dalam distribusi *cocoa purple* dalam biji, pembentukan flavor dan bersama dengan alkohol akan membentuk ester yang beberapa diantaranya juga dapat menimbulkan flavor.

Apabila produksi asam asetat berlebihan dan banyak yang masuk ke dalam biji, maka menurut Said (1993) dalam Susijahadi dan Jinap (1998) pH biji akan menjadi terlalu rendah sehingga menghasilkan flavor yang rendah. Apabila pH biji sangat asam seperti yang terjadi pada penurunan pH biji sampai sekitar 4,5 maka akan terjadi proses pengasaman yang kuat, sehingga enzim eksopeptidase akan melakukan proteolisis dan memberikan flavor yang rendah. Sebaliknya apabila penurunan pH biji mencapai sekitar 5,3 maka enzim eksopeptidase akan melakukan proteolisis yang menghasilkan peptida dengan residu asam amino hidrofobik pada ujung-ujungnya. Selanjutnya enzim eksopeptidase akan menyerang residu asam amino hidrofobik pada ujung-ujungnya dan menghasilkan asam amino yang hidrofilik.

Enzim endogenous berperan di dalam menghasilkan prekursor flavor dan merubah warna selama fermentasi kakao. Prekursor flavor seperti asam amino, peptida dan gula reduksi di dalam reaksi Maillard yang terjadi selama di dalam penyangraian akan membentuk flavor khas kakao. Prekursor flavor sudah banyak dibahas, akan tetapi proses biokimia terjadinya flavor belum diketahui secara pasti. Sejumlah protease, glikosidase dan polifenol oksidase juga sudah diketahui, akan tetapi ternyata hanya ada beberapa saja yang mempunyai kaitan erat dengan enzim endogenous dan berpotensi di dalam pembentukan flavor (Susijahadi dan Jinap, 1998).



Aroma khas kakao akan muncul pada saat biji kakao hasil fermentasi disangrai, hal ini telah dibuktikan oleh Ziegler dan Biehl (1988) yang di dalam penelitiannya menemukan bahwa pada kakao yang tidak difermentasikan tidak dihasilkan aroma. Fermentasi kakao berpotensi untuk menghasilkan flavor spesifik (khas), akan tetapi hal ini sangat tergantung dari fermentasinya. Apabila di dalam fermentasi dihasilkan asam yang terlalu kuat di dalam bijinya (kotiledon), maka aroma (flavor) tidak dapat timbul (Susijahadi dan Jinap, 1998).

## 2.8 Penggolongan Mutu dan Standardisasi Biji Kakao

Yang dimaksud dengan biji kakao dalam standard biji kakao adalah biji buah tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) yang telah difermentasi, dibersihkan dan dikeringkan. Apa yang dapat dijangkau oleh standard ialah penentuan batasan sifat-sifat yang erat berkaitan dengan kehendak atau keinginan konsumen. Standard tersebut mencakup syarat mutu, cara pengujian mutu, cara pengambilan contoh dan cara pengemasan biji (Anonim, 1986).

Berdasarkan Standard Nasional Indonesia, biji kakao Indonesia digolongkan menjadi 4, yaitu:

1. Berdasarkan jenis tanaman, biji kakao digolongkan dalam:
  - a. Jenis mulia (*fine cocoa*)
  - b. Jenis lindak (*bulk cocoa*)
2. Menurut jenis mutunya, biji kakao digolongkan dalam 2 jenis mutu, yaitu:
  - a. Mutu I
  - b. Mutu II
3. Menurut ukuran berat jenisnya, yang dinyatakan dengan jumlah biji/100 gram contoh, biji kakao digolongkan dalam 5 golongan ukuran dengan penandaan:
  - a. AA = maksimal 85 biji per 100 gram
  - b. A = 85 – 100 biji per 100 gram
  - c. B = 101 – 110 biji per 100 gram



d. C = 111 - 120 biji per 100 gram

e. S = > 120 biji per 100 gram

#### 4. Sub standard

Setiap partai biji kakao yang memenuhi spesifikasi persyaratan mutu umum maupun spesifikasi persyaratan mutu khusus, kecuali untuk persyaratan biji tidak terfermentasi maksimal 20 % (biji/biji).

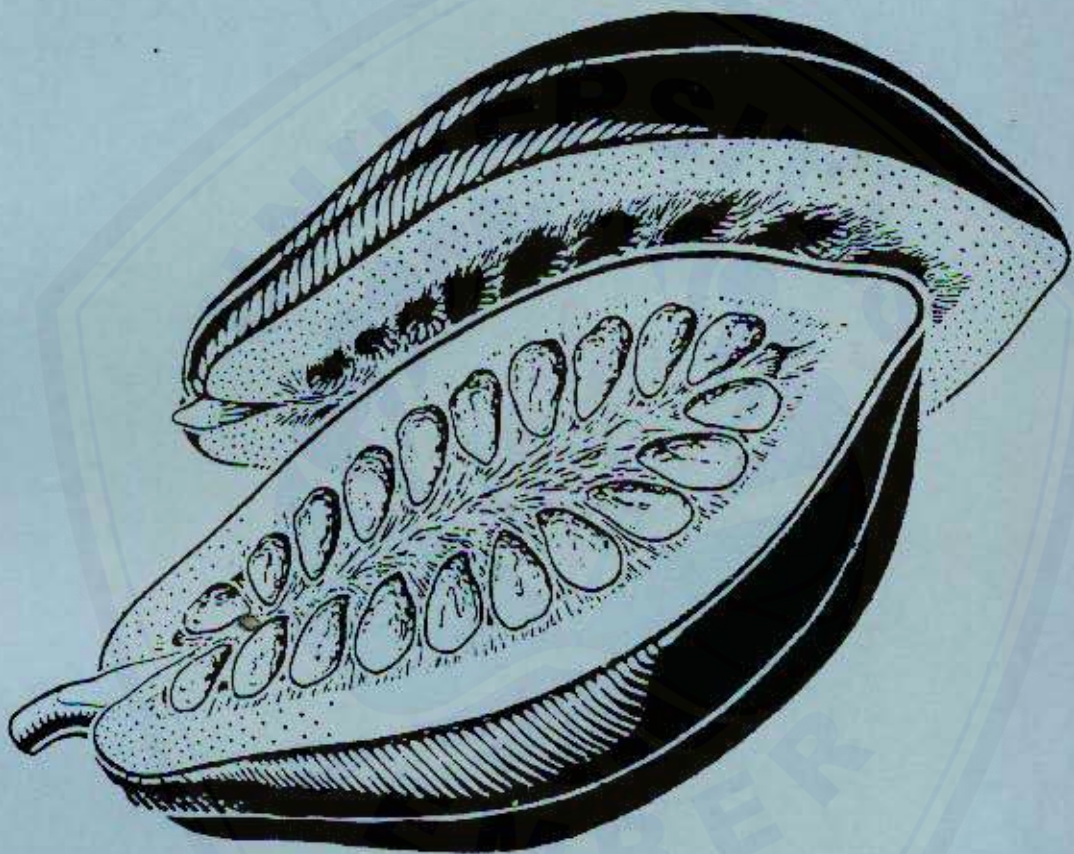
Penetapan standard biji kakao yang diminta oleh konsumen khususnya di Indonesia ditetapkan oleh Dewan Standardisasi Nasional (DSN) dalam Standard Nasional Indonesia Biji Kakao SNI 01-2323-1998 Revisi SNI 01-2323-1995. Standard tersebut meliputi syarat mutu, syarat khusus dan rekomendasi seperti terlihat pada **Lampiran 1-3**.

### 2.9 Hipotesa

1. Penambahan isolat khamir pada fermentasi biji kakao berpengaruh terhadap differensiasi warna pada biji kakao yang dihasilkan.
2. Lama fermentasi berpengaruh terhadap differensiasi warna pada biji kakao yang dihasilkan.
3. Pada penambahan isolat khamir dengan lama fermentasi tertentu akan didapatkan differensiasi warna yang baik pada biji kakao yang dihasilkan.



*Theobroma cacao* L.





### III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Bahan dan Alat Penelitian

##### 3.1.1 Bahan

Di dalam penelitian ini menggunakan bahan biji kakao jenis *Forastero* yang diperoleh dari Kebun Kotta Blater PTP Nusantara XII di Jember. Biakan murni khamir yang dipergunakan yaitu isolat khamir yang memiliki dominansi di dalam daya pektinolitik dan fermentasi alkohol (Susijahadi dan Jinap, 1998) di Laboratorium Pengendalian Mutu bagian Mikrobiologi Pengolahan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Media yang dipergunakan untuk isolasi, pengujian dan pemeliharaan biakan murni meliputi Potatao Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB) dan Plate Count Agar (PCA). Sedangkan bahan kimia yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi oxytetracyclin, cycloheximide, CaCO<sub>3</sub>, aquadest, methanol, HCl pekat, buffer pH 4 dan pH 7, NaOH 0,01 N, indikator phenolphthalein (PP).

##### 3.1.2 Alat

Alat yang dipergunakan di dalam penelitian meliputi kotak fermentasi ukuran mini, neraca analitik, oven, pH meter, spektrometrik UV, buret, kertas saring, erlenmeyer, gelas ukur, alat yang dipergunakan untuk isolasi, pengujian dan pemeliharaan mikroorganisme diantaranya jarum ose, tabung reaksi, petridish, enkas, bunsen, pipet ukur, penangas air, autoklaf, colony counter, alat untuk analisa differensiasi warna, yaitu alat pemotong biji (*Macra*) dan *Colour Reader*.

#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dan analisa dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember dan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember. Sedangkan waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Januari dan Mei 2000.



### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Metode Analisa

Metode analisa yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Metode deskriptif untuk parameter mikroba dan cut-test, dimana data yang diperoleh diinterpretasikan menjadi suatu bentuk grafik kemudian dilakukan pembahasan tentang grafik tersebut.
2. Parameter yang lain, yaitu suhu, pH pulp, pH kotiledon, kadar asam asetat, indeks fermentasi dan nilai L, a dan b colour reader dianalisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan susunan faktorial dimana terdiri dari 2 faktor, yaitu:
  - a. Perlakuan pendahuluan sebelum proses fermentasi (A) yang terdiri dari dua taraf, yaitu:
    - A0 = tanpa penambahan isolat khamir (kontrol)
    - A1 = dengan penambahan isolat khamir
  - b. Lama fermentasi (B) yang terdiri dari tujuh taraf, yaitu:
    - B0 = fermentasi 0 hari
    - B1 = fermentasi 1 hari
    - B2 = fermentasi 2 hari
    - B3 = fermentasi 3 hari
    - B4 = fermentasi 4 hari
    - B5 = fermentasi 5 hari
    - B6 = fermentasi 6 hari

Kombinasi perlakuan:

A0B0	A0B1	A0B2	A0B3	A0B4	A0B5	A0B6
A1B0	A1B1	A1B2	A1B3	A1B4	A1B5	A1B6

Dimana masing-masing perlakuan dianalisa 3 kali.

Adapun model matematis Rancangan Acak Kelompok Faktorial yang digunakan adalah:

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

Keterangan:

$Y_{ijk}$  = nilai-nilai pengamatan hasil percobaan

$\mu$  = nilai tengah umum



- $\alpha_i$  = pengaruh faktor A pada level ke-i  
 $\beta_j$  = pengaruh faktor B pada level j  
 $(\alpha\beta)_{ij}$  = interaksi AB pada level A ke-i, level B ke-j  
 $\epsilon_{ijk}$  = galat percobaan untuk level ke-i (A), level ke-j (B) ulangan ke-k

Data yang diperoleh dianalisa secara sidik ragam (analisa varian).

Beda nyata yang dihasilkan dianalisa menggunakan Uji Tukey (BNJ).

3. Analisa korelasi secara regresi digunakan untuk mengetahui keeratan hubungan antara dua variabel parameter warna melalui persamaan:

$$Y = b X + a$$

### 3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu :

1. Persiapan Inokulum

Biakan khamir murni digoreskan dengan jarum ose pada media PDA kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. Setelah masa inkubasi selesai, selanjutnya biakan khamir dipindahkan ke dalam media PDB dan dinkubasikan pada suhu kamar selama 18-24 jam sebagai bahan inokulan (Susijahadi dan Jinap, 1998).

2. Persiapan Fermentasi Biji Kakao

Disiapkan dua buah kotak fermentasi ukuran mini, masing-masing untuk diisi 40 kg biji kakao segar. Kotak pertama untuk kontrol dan kotak kedua diinokulasi dengan biakan khamir murni. Disiapkan pula 80 ml biakan khamir dalam media PDB berumur 18-24 jam serta biji kakao segar yang akan difermentasi sebanyak 40 kg untuk setiap kotak fermentasi.

3. Fermentasi Biji Kakao

Biji kakao segar pada kotak fermentasi pertama digunakan sebagai kontrol (tanpa penambahan isolat khamir). Sedangkan biji kakao pada kotak fermentasi kedua diinokulasi dengan biakan khamir dalam media PDB sebanyak 80 ml dengan cara menyemprotkan biakan khamir ke dalam kotak fermentasi yang berisi biji kakao segar, selanjutnya dilakukan pengadukan sampai homogen. Kedua kotak



fermentasi ditutup dengan karung goni pada bagian atasnya. Fermentasi dilakukan selama 6 hari dengan pembalikan setiap dua hari setelah fermentasi berlangsung selama 48 jam.

### 3.3.3 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

1. Suhu Fermentasi
2. pH-pulp (Metode AOAC, 1994)
3. pH-kotiledon (Metode AOAC, 1994)
4. Total Khamir (Metode hitungan cawan, Fardiaz, 1989)
5. Total Bakteri (Metode hitungan cawan, Fardiaz, 1989)
6. Kadar Asam Asetat (Metode AOAC, 1994)
7. *Cut-test* (MARS Standard Method)
8. Indeks Fermentasi (Metode Gourieva dan Tserevitinov, 1979)
9. Nilai L, a dan b *Colour Reader* (Metode Fardiaz, 1992)

### 3.3.4 Prosedur Analisa

Pengamatan dilakukan pada saat 0 hari dan selanjutnya dilakukan setiap 24 jam sekali. Adapun prosedur analisa untuk masing-masing parameter pengamatan adalah sebagai berikut:

1. Suhu fermentasi:

Suhu fermentasi masa biji kakao diamati menggunakan termometer pada bagian atas, tengah dan bawah kotak fermentasi, sehingga dapat diketahui perkembangan suhu fermentasi masa biji kakao

2. Nilai pH pulp (Metode AOAC, 1994):

Mula-mula disiapkan 5 gram pulp biji kakao dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml, selanjutnya ditambah aquades 45 ml yang sudah dididihkan. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan homogenizer selama 20 detik. Larutan kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH-meter yang sudah dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7.



3. Nilai pH kotiledon (Metode AOAC, 1994):

Biji kakao sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml dan ditambahkan aquades yang sudah dididihkan sebanyak 45 ml. Larutan dihomogenkan selama 20 detik menggunakan homogenizer. Larutan kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH-meter yang sudah dikalibrasi menggunakan buffer pH 4 dan pH 7.

4. Total khamir (Metode hitungan cawan, Fardiaz, 1989):

- a. Pulp kakao sebanyak 1 gram ditambah dengan 9 ml aquades dan dibuat pengenceran  $10^{-1}$  –  $10^{-7}$
- b. Media PDA diencerkan dalam penangas kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$
- c. Sampel yang telah diencerkan  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  dan  $10^{-7}$  masing-masing diambil 0,1 ml untuk dibuat taburan pada permukaan media PDA dalam petridish dan ditambahkan 1 ml oxytetracyclin 100 ppm
- d. Selanjutnya hasil taburan diinkubasikan pada suhu kamar 24-48 jam
- e. Jumlah koloni dari masing-masing petridish dihitung dengan menggunakan coloni counter
- f. Dipilih petridish yang jumlah koloninya antara 30-300
- g. Koloni per gram pulp = Jumlah koloni per cawan x 1/faktor pengenceran

5. Total Bakteri (Metode hitungan cawan, Fardiaz, 1989):

Penghitungan total bakteri asam asetat dengan menggunakan metode cawan, caranya sama dengan perhitungan total khamir dengan menggunakan media PDA yang ditambah dengan  $\text{CaCO}_3$  dan cyclohexamide 100 ppm untuk menghambat adanya pertumbuhan kapang dan khamir, sehingga diharapkan yang tumbuh hanya bakteri asam asetat. Pertumbuhan bakteri asam asetat ditandai dengan zona jernih disekitar koloni, karena tereduksinya kapur yang ada dalam media tersebut.



## 6. Kadar Asam Asetat (Metode AOAC,\*1994):

Sebanyak 5 gram pulp biji kakao dilarutkan ke dalam 250 ml aquades di dalam erlenmeyer, disaring, dan filtrat diambil 25 ml, kemudian ditambah 2-5 tetes indikator phenolphthalein (PP), selanjutnya dititrasi dengan larutan NaOH 0,01 N sampai mencapai pH 8,0.

Kadar Asam Asetat =

$$\frac{N \text{ NaOH} \times \text{ml NaOH} \times \text{BM Asam Asetat} \times \text{FP} \times 100 \%}{1000 \times \text{berat sampel}}$$

Keterangan: N = Normalitas

FP = Faktor pengenceran

BM = Berat Molekul NaOH

## 7. Cut-test (MARS Standard Method):

Biji kakao yang sudah dikeringkan diambil secara acak sebanyak 100 biji dan diuji menggunakan MARS Standard Method, yaitu dengan memotong menggunakan guillotine merk Macra. Belahan biji diamati cacat-cacat yang ada, antara lain biji tumbuh, biji berjamur dan biji berserangga. Selain itu juga dilakukan penilaian terhadap warna keping biji untuk menentukan derajat fermentasinya. Nilai warna tersebut adalah: Slaty = 0 ; Ungu penuh = 1 ; Ungu dominan = 2 ; Coklat dominan = 3 dan Coklat penuh = 4.

Nilai Uji Belah menurut Yusianto dan Wahyudi (1992) dapat ditentukan sebagai berikut:

$$\text{NUB} = \sum_{i=0}^4 (i \times J_i)$$

Keterangan:

NUB = Nilai uji belah

i = Nilai warna belahan biji

J<sub>i</sub> = Jumlah biji dengan warna belahan bernilai i

Semakin tinggi NUB, maka derajat fermentasinya semakin baik karena biji coklat yang terfermentasi sempurna semakin banyak.



8. Indeks Fermentasi (Metode Gourieva dan Tserevitinov, 1979):

Keping biji kakao yang telah dihaluskan sampai 40 mesh ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diekstrak dengan campuran methanol dan HCl pekat dengan perbandingan 97:3 sebanyak 50 ml. Ekstrak biji kakao dihomogenkan selama 20 detik menggunakan homogenizer, setelah itu disimpan selama 20 jam pada 8 °C. Absorbansi ekstrak diukur dengan menggunakan spektrometri pada panjang gelombang 460 nm dan 530 nm. Nilai Indeks Fermentasi dihitung sebagai berikut:

$$\text{Indeks Fermentasi} = \frac{\text{Absorbansi 460 nm}}{\text{Absorbansi 530 nm}}$$

9. Nilai L, a dan b *Colour Reader* (Metode Fardiaz, 1992):

Biji kakao kering dihaluskan menggunakan blender dan disaring dengan ayakan 40 mesh. Nilai L, a dan b bahan diukur menggunakan *Colour Reader*, dimana:

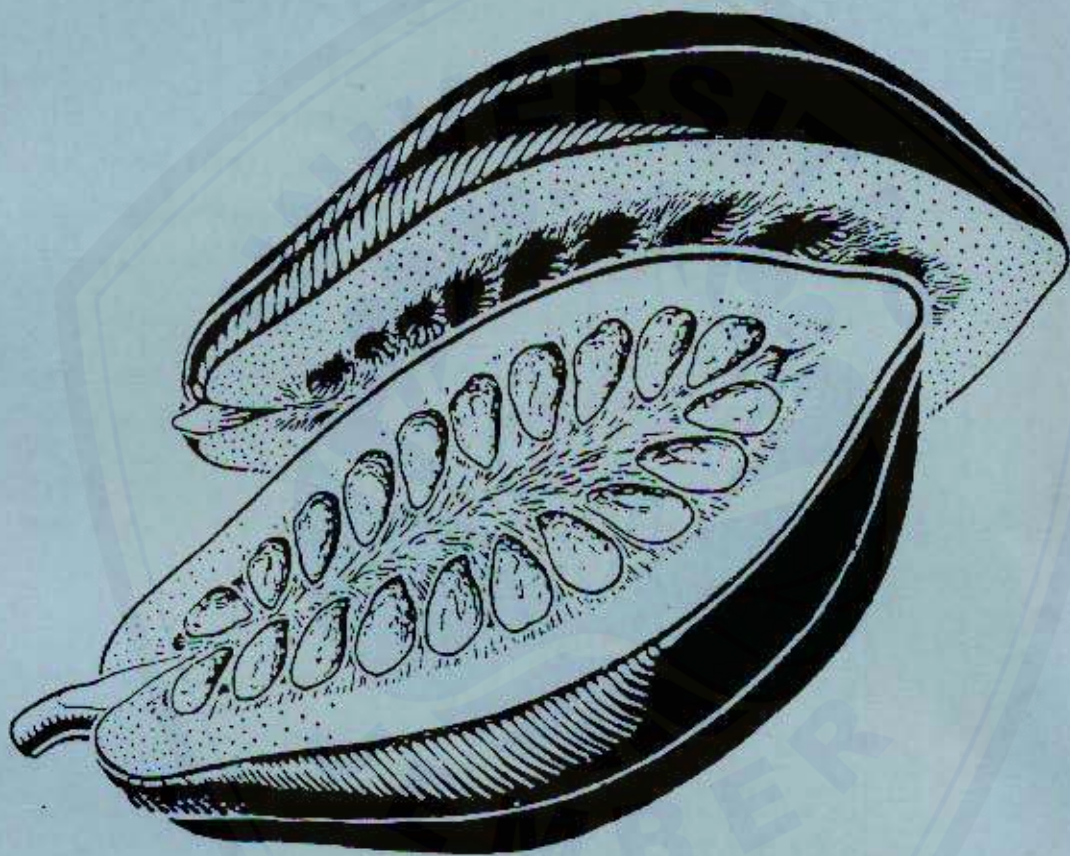
L = tingkat kecerahan. Nilai berkisar antara 0-100 menunjukkan warna hitam hingga putih.

a = nilai berkisar antara (-80)-(100) yang menunjukkan warna hijau hingga merah.

b = nilai berkisar antara (-80)-(70) yang menunjukkan warna biru hingga kuning.



*Theobroma cacao* L.





## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

#### 5.1.1 Kesimpulan Utama

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan utama sebagai berikut:

1. Penambahan isolat khamir dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap Indeks Fermentasi serta nilai L, a dan b *Colour Reader*.
2. Interaksi antara penambahan isolat khamir dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap Indeks Fermentasi serta nilai L, a dan b *Colour Reader*.
3. Dengan penambahan isolat khamir dan semakin lamanya waktu fermentasi, maka warna coklat yang muncul pada biji kakao hasil fermentasi menjadi lebih baik.
4. Indeks Fermentasi pada perlakuan dengan penambahan isolat khamir pada hari ke-5 adalah 18,4 dengan nilai b *Colour Reader* yang dicapai 17,5.

#### 5.1.2 Kesimpulan Penunjang

Kesimpulan penunjang yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penambahan isolat khamir pada fermentasi biji kakao berpengaruh terhadap suhu fermentasi, pH pulp, pH kotiledon, pembentukan asam asetat dan pertumbuhan khamir serta bakteri asam asetat.
2. Pada perlakuan dengan penambahan isolat khamir, log jumlah khamir tertinggi sebesar 8,35 dicapai pada hari ke-5 fermentasi, sedangkan log jumlah bakteri asam asetat tertinggi sebesar 7,91 dicapai pada hari ke-4 fermentasi.
3. Hubungan antara dua variabel warna yang paling dekat untuk kedua perlakuan adalah antara Cut-test dengan Indeks Fermentasi dengan besarnya derajat hubungan untuk perlakuan tanpa penambahan



isolat khamir sebesar 93,19 %, sedangkan untuk perlakuan dengan penambahan isolat khamir sebesar 91,06 %.

## 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian yang lebih teliti lagi tentang pengaruh penambahan isolat khamir terhadap kualitas warna pada biji kakao hasil fermentasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh penambahan isolat khamir terhadap komponen-komponen kimia lain (gula reduksi, asam amino bebas, asam lemak tidak menguap, dll) selama fermentasi.



DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, T.S. 1991. "Peranan Fermentasi Selama Pengolahan Biji Kakao Kering". Dalam *Berita Penelitian Perkebunan*. No. 1. Vol. 2.
- Anonim. 1986. "Mengangkat Coklat Rakyat Menuju Martabat Terhormat Lewat Standart Biji Coklat Indonesia". Dalam *Sasaran*. No. 1 (1):16-17.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15<sup>th</sup> ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- Aziz, M.F. 1996. "Upaya Peningkatan Mutu Biji Kakao Rakyat Melalui Sentralisasi Pengolahan". Dalam *Warta Puslit Kopi dan Kakao*. No. 12 (1): 12-17.
- Badan Pusat Statistik. 1998. *Statistik Perkebunan Indonesia Tahun 1997-1999: Kakao*. Departemen Kehutanan dan Perkebunan. Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Effendi, S. 1990. *Pedoman Pengolahan Biji Kakao*. Bogor: Pusat Penelitian Perkebunan Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Forsyth, W.G.C. and V.C. Quesnel. 1963. "Mechanism of Cocoa Curing". *Advances in Enzimology*. 25. 457-492.
- Gourieva, K.B. dan O.B. Tserevitinov. 1979. *Method of Evaluating The Degree of Fermentation of Cocoa Beans*. USSR: Patent. No. 646254.
- Hardjosuwito, B., Y. Away dan Hermansyah. 1985. "Pengolahan Cokelat Rakyat di Indonesia dan Perkembangannya". Dalam *Menara Perkebunan*. No. 53 (6). 220-224.
- Hartanti, S. 1998. "Yeast Pektinolitik (*Candida sp*, *Saccharomyces sp*) Pada Fermentasi dengan Lendir Kakao sebagai Media". Dalam *Agri Journal*. No. 5 (1-2): 60-73.
- Kim, H and P. Keeney. 1983. *Polyphenols - Tanins in Cocoa Beans*. 37<sup>th</sup>. P.M.C.A. Production Conference. Penn State University.
- Lehrian, D.W. and G.R. Paterson. 1983. "Cocoa Fermentation". In *Biotechnology. A Comprehensive Treatise* ed. Reed, G. Vol 5: 529-575.



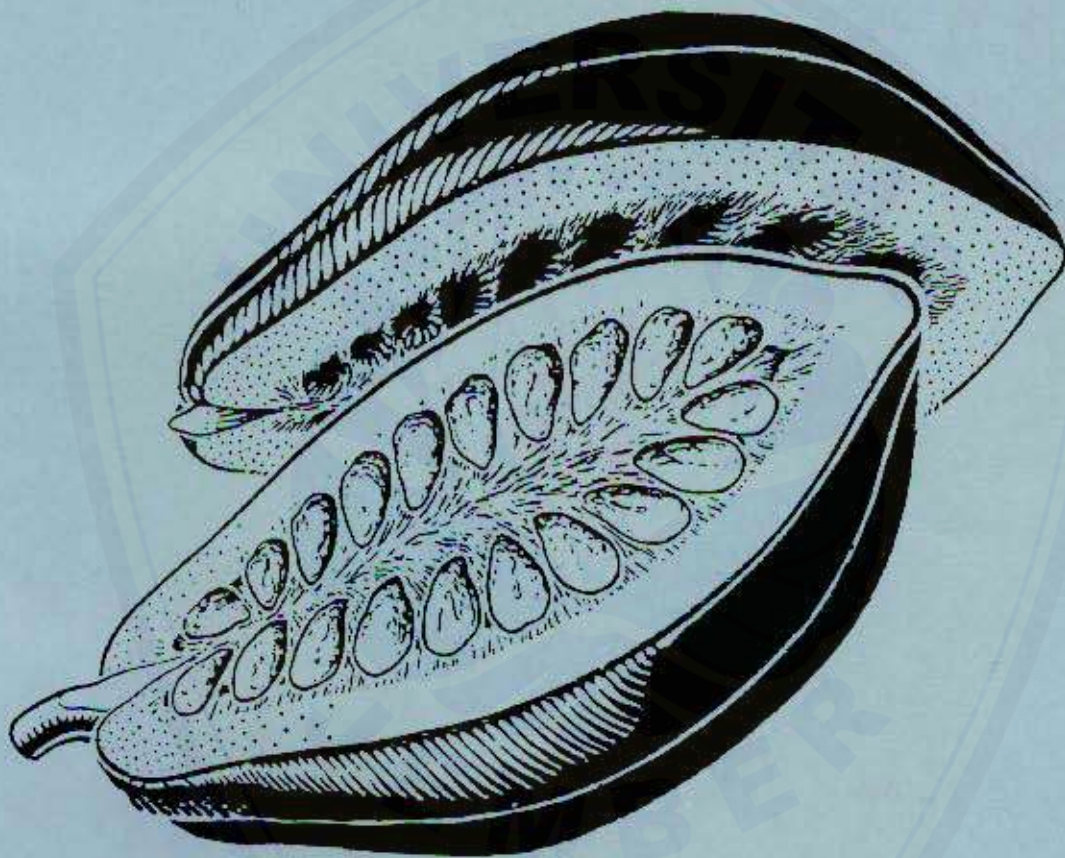
- Mansyur, Z. dan Soenaryo. 1978. *Pengolahan Coklat pada Perkebunan Besar*. Bogor: Balai Penelitian Perkebunan Bogor.
- Manurung, Z.M. dan Soenaryo. 1973. *Teknologi Pengolahan Coklat*. Jember: Balai Penelitian Perkebunan Jember.
- Minifie, B.W. 1980. *Chocolate. Cocoa and Confectionery. Science and Technology*. Second Edition. Westport-Connecticut: The AVI Publishing Company Inc.
- Nasution, Z., W. Ciptadi dan B.S. Laksmi. 1976. *Pengolahan Coklat*. Bogor: Departemen Teknologi Fatemeta-IPB.
- Pederson, C.S. 1971. *Microbiology of Food Fermentations*. Westport-Connecticut: The AVI Publishing Company Inc.
- Quesnel, V.C. 1967. "Agent Inducing The Death of then The Cacao Seed During Fermentation". In *J. Sci. Food Agric*. No. 16. P. 441.
- Roelofsen, P.A. 1958. "Fermentation, Drying and Storage of Cacao Beans". *Advances in Food Research*. New York: Academic Press.
- Rohan, T.A. 1963. *Processing of Raw Cocoa for The Market*. Rome-Italy: FAO Agricultural Studies. No. 60.
- Sa'id, E.G. 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Widiyatama Sarana Perkasa.
- Samah, O.A., M.F. Putih dan J. Selamat. 1992. "Biochemical Changes During Fermentation of Cocoa Beans Inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* (Wild Strain)". In *J. Fd. Sci. Technol*. Vol. 29. No. 6. 341-343.
- Schwan, R.F., A.H. Rne and R.G. Board. 1995. "Microbial Fermentation of Cocoa Beans, with Emphasis on Enzymatic Degradation of The Pulp". In *J. Of Apl. Bacteriology Symp. Supplement*. 79: 968-1078.
- Siregar, I.M. 1962. "Catatan Mengenai Biji Coklat". Dalam *Planters Conference*. PPN. Sumut III (3).
- , 1989. "Catatan Mengenai Biji Coklat". Dalam *Planters Conference*. PPN. Sumut III (3).
- Soenaryo dan S. Situmorang. 1978. *Budidaya dan Pengolahan Cokelat*. Bogor: BPP Bogor.
- Soeriapoetra, D. 1974. "Budidaya Cokelat". Jabar: Dalam *Diktat Penjenjangan Pegawai Perkebunan Swasta Nasional*.



- Sudjana. 1992. *Metoda Statistika*. Edisi 5. Bandung: Penerbit Tarsito.
- Sunanto, H. 1992. *Cokelat: Budidaya, Pengolahan Hasil dan Aspek Ekonomisnya*. Yogyakarta: Percetakan Kanisius.
- Susijahadi dan S. Jinap. 1998. *Effect of Yeast Inoculation on Chemical Component and Flavour Development of Cocoa Beans During Fermentation*. Jember: Laporan Penelitian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Jember.
- Wahyudi, T., Yusianto dan Sulistyowati. 1988. "Masalah Keasaman Biji Kakao dan Beberapa Cara untuk Mengatasinya". Surabaya: Dalam *Prosiding Komunikasi Teknik Kakao 1988*.
- , 1990. *Development and Testing of Instruments and a Process For Color Measurement As Methods to Determine Cocoa Bean Quality*. Thailand: Asian Institute of Technology Bangkok.
- Waluyo, S. 1984. *Beberapa Aspek Pengolahan Vinegar*. Jakarta: Penerbit Dewa Ruci.
- Winarno, F.G. 1983. *Enzim Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Wood, G.A.R. and R.A. Lass. 1985. *Cocoa: Tropical Agriculture*. London and New York: Longman Series.
- Yusianto dan T. Wahyudi. 1992. "Evaluasi Mutu Biji Kakao Lindak Hasil Fermentasi pada Kotak Kecil". Dalam *Pelita Perkebunan*. No. 8 (3). 68-73.



*Theobroma cacao* L.





## Lampiran 1

**Tabel Syarat Umum**  
Spesifikasi Persyaratan Mutu

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Kadar air (b/b)	%	maks. 7,5
2.	Serangga hidup	-	tidak ada
3.	Serangga mati	-	tidak ada
4.	Biji berbau asap dan atau abnormal dan atau berbau asing	-	tidak ada
5.	Kadar biji pecah dan atau pecahan biji dan atau pecahan kulit (b/b)	%	maks. 3
6.	Kadar benda-benda asing	%	maks. 0

**Sumber:** Dewan Standardisasi Nasional, 1998.



## Lampiran 2

**Tabel Syarat Khusus**  
Spesifikasi Persyaratan Mutu

Jenis uji		Jumlah biji/ 100 g		Kadar biji berkapang (biji/biji)		Kadar biji tak terfermentasi (biji/biji)				Kadar biji berserangga (biji/biji)		Kadar biji pipih berserangga (biji/biji)	
						Biji slaty		Biji putih kotor/ ungu muda					
Kakao mulia	Kakao lindak	S	Persyaratan	S	Persyaratan	S	Persyaratan	S	Persyaratan	S	Persyaratan	S	Persyaratan
I-AA-F	I-AA	-	Maks 85	%	Maks 3	%	Maks 3	%	Maks 10	%	Maks 1	%	Maks 2
I-A-F	I-A	-	Maks 100	%	Maks 3	%	Maks 3	%	Maks 10	%	Maks 1	%	Maks 2
I-B-F	I-B	-	Maks 110	%	Maks 3	%	Maks 3	%	Maks 10	%	Maks 1	%	Maks 2
I-C-F	I-C	-	Maks 120	%	Maks 3	%	Maks 3	%	Maks 10	%	Maks 1	%	Maks 2
I-S-F	I-S	-	> 120	%	Maks 3	%	Maks 3	%	Maks 10	%	Maks 1	%	Maks 2
II-AA-F	II-AA	-	Maks 85	%	Maks 4	%	Maks 8	%	Maks 30	%	Maks 2	%	Maks 4
II-A-F	II-A	-	Maks 100	%	Maks 4	%	Maks 8	%	Maks 30	%	Maks 2	%	Maks 4
II-B-F	II-B	-	Maks 110	%	Maks 4	%	Maks 8	%	Maks 30	%	Maks 2	%	Maks 4
II-C-F	II-C	-	Maks 120	%	Maks 4	%	Maks 8	%	Maks 30	%	Maks 2	%	Maks 4
II-S-F	II-S	-	> 120	%	Maks 4	%	Maks 8	%	Maks 30	%	Maks 2	%	Maks 4

**sumber:** Dewan Standardisasi Nasional, 1998.



## Lampiran 3

**Tabel Rekomendasi**  
Spesifikasi Persyaratan Mutu

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Kadar kulit (b/b)	%	dicantumkan hasil analisa sesuai
2.	Kadar keping (b/b)	%	dicantumkan hasil analisa sesuai
3.	Kadar lemak total (b/b) kering	%	dicantumkan hasil analisa sesuai
4.	Kadar asam lemak bebas (terutama asam oleat)	%	dicantumkan hasil analisa sesuai
5.	pH keping biji	-	dicantumkan hasil analisa sesuai
6.	Biji ungu coklat (biji/biji)	%	dicantumkan hasil analisa sesuai
7.	Kadar Cd	mg/kg	dicantumkan hasil analisa sesuai
8.	Residu Pestisida	mg/kg	dicantumkan hasil analisa sesuai
9.	Keseragaman biji	%	dicantumkan hasil analisa sesuai

**Sumber:** Dewan Standardisasi Nasional, 1998.



## Lampiran 4

Tabel Data Pengamatan Suhu Fermentasi

Perlakuan	Suhu (°C)		
	1	2	3
A0B0	28.8	28.83	28.83
A0B1	30.3	30.5	30
A0B2	31.57	31.33	31.5
A0B3	32.5	32.33	31.8
A0B4	34.27	33.83	34.1
A0B5	36.5	37	36
A0B6	37.53	38.33	37.87
A1B0	28.76	28.83	28.93
A1B1	30.27	31.33	31
A1B2	32	31.9	31.7
A1B3	33.83	33.5	34.23
A1B4	39.2	39.5	39.7
A1B5	40	39.7	39.6
A1B6	39.33	39.2	38.83

## Lampiran 5

Tabel Data Pengamatan pH-pulp

Perlakuan	pH-pulp		
	1	2	3
A0B0	4.01	4.02	4.01
A0B1	3.95	3.96	3.95
A0B2	4.12	4.12	4.19
A0B3	4.23	4.2	4.15
A0B4	4.21	4.23	4.23
A0B5	4.48	4.44	4.39
A0B6	4.48	4.49	4.39
A1B0	4.03	4.01	4.02
A1B1	3.8	3.85	3.95
A1B2	4.11	4.08	4.11
A1B3	4.25	4.34	4.31
A1B4	4.67	4.47	4.6
A1B5	4.6	4.63	4.66
A1B6	4.6	4.6	4.59



## Lampiran 6

Tabel Data Pengamatan pH-kotiledon

Perlakuan	pH-kotiledon		
	1	2	3
A0B0	6.4	6.28	6.36
A0B1	6.14	6.2	6.33
A0B2	5.62	5.58	5.6
A0B3	5.32	5.28	5.3
A0B4	4.7	4.74	4.72
A0B5	4.52	4.46	4.5
A0B6	4.43	4.39	4.42
A1B0	6.4	6.28	6.36
A1B1	5.98	6.05	5.96
A1B2	5.44	5.5	5.48
A1B3	5.26	5.15	4.96
A1B4	4.64	4.66	4.64
A1B5	4.25	4.24	4.3
A1B6	4.31	4.27	4.27

## Lampiran 7

Tabel Data Pengamatan Pembentukan Asam Asetat

Perlakuan	Asam Asetat (%)		
	1	2	3
A0B0	0.348	0.3	0.384
A0B1	0.332	0.36	0.52
A0B2	0.454	0.468	0.47
A0B3	1.074	1.064	1.066
A0B4	1.278	1.246	1.24
A0B5	1.42	1.418	1.386
A0B6	1.43	1.42	1.422
A1B0	0.348	0.3	0.384
A1B1	0.35	0.4	0.39
A1B2	0.576	0.564	0.564
A1B3	1.172	1.168	1.176
A1B4	1.36	1.375	1.41
A1B5	1.716	1.656	1.632
A1B6	1.57	1.58	1.54



## Lampiran 8

Tabel Data Pengamatan Pertumbuhan Khamir

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



## Lampiran 9

Tabel Data Pengamatan Pertumbuhan Bakteri Asam Asetat

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



## Lampiran 10

Tabel Data Pengamatan Pengujian Warna dengan Cut-test

Perlakuan	Kategori Warna Kotiledon						Berscrangga	Nilai Uji Belah
	Slaty	Ungu Penuh	Ungu Dominan	Coklat Dominan	Coklat Penuh Berkapang	Berscrangga		
A0B0	0	15	74	9	2	0	0	198
A0B1	0	1	78	17	4	0	0	224
A0B2	0	0	0	6	94	0	0	394
A0B3	0	0	0	11	89	0	0	389
A0B4	0	0	0	10	90	0	0	390
A0B5	0	0	0	4	96	0	0	396
A0B6	0	0	0	6	94	0	0	394
A1B0	0	14	54	26	6	0	0	224
A1B1	0	5	80	15	0	0	0	210
A1B2	0	0	2	9	89	0	0	387
A1B3	0	0	0	6	94	0	0	394
A1B4	0	0	0	7	93	0	0	393
A1B5	0	0	0	2	98	0	0	398
A1B6	0	0	0	2	98	0	0	398



## Lampiran 11

Tabel Data Pengamatan Indeks Fermentasi dan Nilai L, a dan b Colour Reader

Perlakuan	Indeks Fermentasi			Nilai L Colour Reader			Nilai a Colour Reader			Nilai b Colour Reader		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A0B0	0,937	0,939	0,933	49,2	48,5	48,9	8,8	8,9	8,9	11,4	11,6	11,6
A0B1	1,012	1,019	1,009	48,3	48,1	47,5	8,6	8,6	8,8	9,6	9,5	9,5
A0B2	1,602	1,61	1,626	49	48,7	49,6	9,8	9,4	9,6	18,1	17,7	18,2
A0B3	1,731	1,741	1,747	46,2	46,4	46,5	9	9	9,4	15,9	16	16,2
A0B4	1,754	1,778	1,774	47,6	48,2	48,1	9,2	9	9	15,4	15,7	15,7
A0B5	1,859	1,812	1,835	43,9	44,2	44,8	9,7	10	9,9	15,9	16	16,5
A0B6	1,553	1,536	1,579	45,4	45,1	45	9,2	9,2	9	16,1	16,1	15,8
A1B0	0,804	0,802	0,806	45,5	45,7	46	8,4	8,4	8,5	6,9	7	7
A1B1	0,95	0,961	0,956	50,1	49,6	49,1	9	8,5	8,9	10,5	10,2	10,5
A1B2	1,466	1,468	1,468	49,6	49,6	48,9	9	8,8	9	15,3	15,1	15,2
A1B3	1,64	1,63	1,637	48,4	48,8	47,8	9,3	9,2	9,4	15,3	15,2	15,4
A1B4	1,775	1,783	1,784	49,5	50	49,8	8,7	8,5	8,6	16,7	16,8	16,7
A1B5	1,839	1,842	1,847	45,9	46,1	45,5	9,3	9,3	9,5	17,4	17,6	17,5
A1B6	1,788	1,8	1,804	45,3	45,2	44,9	9	8,8	8,8	15,7	15,8	15,6



**Lampiran 12****Contoh Perhitungan Analisis Korelasi Antara Dua Variabel Warna  
Secara Regresi**

Analisis Korelasi Antara Cut-test dan Indeks Fermentasi untuk  
Perlakuan Tanpa Khamir (Kontrol)

Misal :  $X_i$  = Nilai Uji Belah (NUB) Cut-test

$Y_i$  = Indeks Fermentasi (IF)

$n$  = total sampel

**Tabel Perhitungan Nilai-nilai  $X_i$  dan  $Y_i$** 

No.	$X_i$	$Y_i$	$X_i^2$	$Y_i^2$	$X_i Y_i$
1.	198	0,936333	39204	0,8767	185,3939
2.	224	1,013333	50176	1,0268	226,9866
3.	394	1,612667	155236	2,6007	635,3908
4.	389	1,739667	151321	3,0264	676,7305
5.	390	1,768667	152100	3,1282	689,7801
6.	396	1,835333	156816	3,3684	726,7919
7.	394	1,556	155236	2,4211	613,064
Jumlah =	2385	10,462	860089	16,4483	3754,1378
Rata-rata =	340,71	1,4946	122869,86	2,3498	536,3054

$$Y = bX + a$$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{n \cdot \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{n \cdot \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2} \\
 &= \frac{7 \cdot (3754,1378) - (2385) (10,462)}{7 \cdot (860089) - (2385)^2} \\
 &= \frac{26278,9646 - 24951,87}{6020623 - 5688225} \\
 &= \frac{1327,0946}{332398} = 3,992 \cdot 10^{-3} = 0,003992 \cong 0,004
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 a &= \bar{Y}_i - b \bar{X}_i \\
 &= 1,4946 - (3,992 \cdot 10^{-3}) \cdot 340,71 \\
 &= 1,4946 - 1,36028 \\
 &= 0,1343
 \end{aligned}$$

Maka  $Y = 0,004 X + 0,1343$

$$\begin{aligned}
 R &= \frac{n \cdot \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{\sqrt{\{ n \cdot \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2 \} \{ n \cdot \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2 \}}} \\
 &= \frac{7 \cdot 3754,1378 - (2358) (10,462)}{\sqrt{\{ 7 \cdot 860089 - (2385)^2 \} \{ 7 \cdot 16,4483 - (10,462)^2 \}}} \\
 &= \frac{26278,9646 - 24951,87}{\sqrt{(332398) (5,685)}} \\
 &= \frac{1327,0946}{\sqrt{1889568,285}} \\
 &= \frac{1327,0946}{1374,616} \\
 &= 0,965 \\
 R^2 &= (0,965)^2 \\
 &= 0,932
 \end{aligned}$$