

ANALISIS FERMENTASI KAKAO DENGAN PENAMBAHAN YEAST DAN BAKTERI ASAM LAKTAT

ANALYSIS OF COCOA FERMENTATION WITH THE ADDITION OF YEAST AND LACTIC ACID BACTERIA

Analianasari^{1*}, M. Perdiansyah Mulia Harahap H.¹, Deary AZJ¹

¹ Jurusan Teknologi Pertanian, Prodi Pengembangan Produk Agroindustri, Polinela

* penulis korespondensi: analianasari@polinela.ac.id

Tanggal masuk: 28 Februari 2023

Tanggal diterima: 6 Maret 2023

Abstract

One of the factors that affect the quality of cocoa beans is post-harvest handling such as the fermentation process. Fermentation plays an important role in determining the final quality of dried cocoa beans. Chocolate flavors can be produced from microbial fermentation from high-quality cocoa bean raw materials by utilizing microbes. This study aims to calculate the number of microbes at the beginning and end of the cocoa bean fermentation process, observing the pH value, temperature, and color of cocoa beans. The treatment carried out is a fermentation variation consisting of: (1) natural fermentation or without the addition of microorganisms; (2) controlled fermentation with the addition of microorganisms consisting of *Saccharomyces cerevisiae*, Lactic Acid Bacteria simultaneously added at the beginning of fermentation. The addition of microorganisms is 10⁶ CFU / 1kg of cocoa beans each. Fermentation is carried out in a fermentation box with a capacity of 1 kg of fresh cocoa, at room temperature (33-35°C), for 4 days. The analysis carried out includes calculating the number of microbes at the beginning and end of fermentation, measuring pH, and organoleptic observations of the color of fermented cocoa beans. The results of the experiment can be concluded that there is an increase in the addition of mixed inoculum (*Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus lactis*) affecting the influence of chemical changes of the substrate during fermentation; the temperature value in cocoa fermentation ranges from 30 – 32 oC, the pH value in cocoa fermentation does not have a significant increase; and the color of cocoa beans from mixed inoculum fermentation is close to good with a dominant brown color against purple

Keywords: cocoa beans, fermentation, lactic acid bacteria, yeast

Abstrak

Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas biji kakao adalah penanganan pasca panen seperti proses fermentasi. Fermentasi berperan penting dalam menentukan kualitas akhir biji kakao kering. Citarasa coklat dapat dihasilkan dari Fermentasi mikroba dari bahan baku biji kakao berkualitas tinggi dengan memanfaatkan mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung jumlah mikroba awal dan akhir proses fermentasi biji kakao, mengamati nilai pH, suhu, dan warna biji kakao. Perlakuan yang dilakukan yaitu variasi fermentasi yang terdiri dari: (1) fermentasi alami atau tanpa penambahan mikroorganisme; (2) fermentasi terkontrol dengan penambahan mikroorganisme yang terdiri dari *Saccharomyces cerevisiae*, Bakteri Asam Laktat secara bersamaan yang ditambahkan pada awal fermentasi pada hari ke-0. Penambahan mikroorganisme masing-masing sebanyak 10⁶ CFU/1kg biji kakao. Fermentasi dilakukan dalam kotak fermentasi berkapasitas 1 kg kakao segar, pada suhu ruang (33-35°C), selama 4 hari. Analisis yang dilakukan meliputi penghitungan jumlah mikroba pada awal dan akhir fermentasi, pengukuran pH, dan pengamatan organoleptik warna biji kakao fermentasi. Hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa ada peningkatan penambahan inokulum campuran (*Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus lactis*) mempengaruhi pengaruh perubahan kimiawi substrat selama fermentasi; nilai suhu pada fermentasi kakao berkisar antara 30 – 32 °C, nilai pH pada fermentasi kakao tidak ada peningkatan yang signifikan; dan warna biji kakao hasil fermentasi inokulum campuran mendekati baik dengan warna coklat dominan terhadap ungu.

Kata kunci: bakteri asam laktat, biji kakao, fermentasi, ye

PENDAHULUAN

Cokelat merupakan makanan yang bahan dasar pembuatnya berasal dari tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dan tanaman ini merupakan salah satu komoditas unggulan perkebunan di Indonesia yang bersifat strategis yang mampu meningkatkan pendapatan masyarakat, menghasilkan devisa bagi negara, menyediakan lapangan kerja bagi masyarakat dan membantu melestarikan fungsi lingkungan hidup (Ditjenbun, 2016). Peningkatan permintaan dunia akan makanan berbahan baku kakao semakin meningkat dari tahun ke tahun. Berdasarkan data statistik, Indonesia memiliki peluang untuk menjadi produsen kakao dunia. Terkait dengan kemampuan daya saing kakao Indonesia bahwasanya ditentukan oleh faktor lokal tiap daerah (Marzuki & Ervan, 2012).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas biji kakao adalah penanganan pasca panen seperti proses fermentasi. Fermentasi merupakan tahapan pengolahan yang sangat vital untuk menghasilkan cita rasa cokelat yang baik. Fermentasi juga berperan dalam perkembangan aroma dan rasa serta pengurangan rasa sepat dan pahit. Biji kakao tanpa fermentasi sama sekali tidak menghasilkan aroma khas cokelat dan memiliki rasa sepat dan pahit yang biasanya berlebihan. Fermentasi kakao umumnya berlangsung secara alami oleh mikroba indigenous dalam kakao (Hernani dan Haliza, 2013). Sebagian besar petani kakao di Lampung melakukan proses fermentasi selama 1-3 hari di dalam karung plastik dan pembalikan dilakukan setiap hari. Hal tersebut bukan merupakan fermentasi dalam arti yang sesungguhnya dan tidak memberikan pengaruh dalam perbaikan mutu dan kurang memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) kakao.

Fermentasi berperan penting dalam menentukan kualitas akhir biji kakao kering. Fermentasi yang kompleks melibatkan bakteri asam laktat (BAL) yang mempunyai kemampuan menghasilkan asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan kapang (Yang dan Carol, 2004). Proses fermentasi ini merupakan proses pertama dan utama dalam menentukan tingkat kandungan senyawa-senyawa flavonoida, dan selanjutnya akan menentukan karakteristik citarasa coklat yang dihasilkan (Food Review, 2006). Menurut Sabahannur et al. (2016), petani kakao di Indonesia sebagian besar merupakan petani kakao yang menggunakan alat sederhana, sehingga biji kakao sangat rentan terkontaminasi.

Fermentasi biji kakao salah satu penentu proses peningkatan kualitas biji kakao yang dihasilkan, karena biji kakao tanpa fermentasi umumnya akan memiliki citarasa cokelat yang rendah serta lebih dominan pahit dan sepat, dan tidak begitu disukai oleh konsumen (Misnawi, 2008). Citarasa coklat dapat dihasilkan dari Fermentasi mikroba dari bahan baku biji kakao berkualitas tinggi dengan memanfaatkan mikroba (Ouattara, Hadja D. 2016) adalah proses yang sangat diperlukan untuk cokelat berkualitas tinggi dari bahan baku biji kakao. Salah satu upaya untuk meningkatkan mutu kakao adalah dengan penambahan inokulum mikroba pada fermentasi. Namun, penambahan inokulum mikroba untuk fermentasi kakao dianggap masih kurang praktis karena dibutuhkan lagi .., penyiapan starter serta kondisi yang aseptis. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu teknologi untuk menyediakan inokulum mikroba yang praktis diaplikasikan di lapangan. Inokulum

mikroba dalam bentuk ragi dianggap sebagai metode praktis dalam fermentasi kakao. Yanti, dkk. (2014), dan Jamili, et al. (2014), telah memperoleh mikrobial lokal dari biji kakao yang difermentasi secara alami oleh petani kakao di Sulawesi Tenggara dengan aktivitas yang telah teruji dalam fermentasi kakao. Inokulum mikrobial ini telah dipersiapkan dalam bentuk ragi kakao untuk dimanfaatkan sebagai starter pada fermentasi kakao (Yanti, dkk., 2014). Keragaman ragi dalam fermentasi kakao telah dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Ardhana dan Fleet (2003) menemukan isolat ragi *Apis kloeckera*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida, tropicalis* yang telah berkontribusi dalam fermentasi biji kakao di tiga perkebunan di Jawa Tengah, Indonesia. Alwi (2009) melaporkan beberapa jenis ragi dari genus *Saccharomyces*, *Candida*, *Debaryomyces* dan *Rhodotorula* yang mendominasi fermentasi biji kakao di tiga kabupaten Sulawesi Tengah (Jamili et.al., 2016).

Ragi kakao merupakan salah satu inokulum atau starter yang digunakan dalam fermentasi biji kakao dengan memanfaatkan mikroba lokal yang berupa kultur campuran antara bakteri asam laktat (BAL), bakteri asam asetat (BAA) dan khamir (Yanti, dkk., 2014). Namun, ketahanan dan viabilitas mikroorganisme lokal dalam ragi kakao selama penyimpanan belum diketahui pasti. Viabilitas mikroba dalam ragi kakao menentukan efektivitas kerja mikroba dalam fermentasi kakao. Jumlah dan jenis mikroorganisme yang terdapat dalam ragi akan menentukan hasil akhir fermentasi, seperti rasa, tekstur, flavor dan aroma. Mikroba sebagai inokulum harus dijaga viabilitasnya agar tetap potensial digunakan dalam pengolahan pangan berbasis fermentasi. Partanto dan Dahlan (1991), menyatakan bahwa viabilitas merupakan kemampuan hidup suatu mikroorganisme yang dapat ditunjukkan dengan jumlah koloni mikroba yang tumbuh dalam media pertumbuhan selama periode waktu tertentu. Mikroba ragi umumnya memerlukan sumber karbon, nitrogen, mineral, dan vitamin (Bamforth, 2005). Kombinasi nutrisi ini diformulasikan dalam media fermentasi untuk mendukung pertumbuhan dan viabilitas sel mikroba. Penelitian ini bertujuan menghitung jumlah mikroba awal dan akhir proses fermentasi biji kakao, mengamati nilai pH biji kakao fermentasi, mengamati nilai suhu biji kakao fermentasi, dan mengamati warna biji kakao setelah fermentasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah : timbangan, gelas ukur, Erlenmeyer, tabung glass, wadah fermentasi, incubator, autoclave, pisau, kain saring, dan gelas piala. Bahan yang digunakan adalah biji kakao dari Kabupaten Pesawaran, Inokulum Khamir (*Sacharomycess cereviciae*), Bakteri Asam Laktat, alcohol, Media NA, MRS B dan NB.

Metode Penelitian

Perbanyak Starter Kultur Peranan mikrobial Starter Campuran *Sacharomyces cerevicae* dan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus lactis*) pada media agar PDA, setelah itu

pada agar miring untuk dilakukan pemanenan dengan pengenceran 10⁶ yang akan digunakan sebagai starter fermentasi biji kakao.

Perlakuan yang dilakukan yaitu variasi fermentasi yang terdiri dari: (1) fermentasi alami atau tanpa penambahan mikroorganisme; (2) fermentasi terkontrol dengan penambahan mikroorganisme yang terdiri dari *Saccharomyces cerevisiae*, *Bakteri Asam Laktat* secara bersamaan yang ditambahkan pada awal fermentasi pada hari ke-0. Penambahan mikroorganisme masing-masing sebanyak 10⁶ CFU/1kg biji kakao, berdasarkan pada jumlah total mikrobia tersebut pada saat fase logaritmik selama fermentasi alami. Fermentasi dilakukan dalam kotak fermentasi berkapasitas 1 kg kakao segar, pada suhu ruang (33-35°C), selama 4 hari. Analisis yang dilakukan meliputi penghitungan jumlah mikroba pada awal dan akhir fermentasi, pengukuran pH, dan pengamatan organoleptik warna biji kakao fermentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Yest dan bakteri asam laktat

Hasil pengamatan percobaan fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 1. Pada awal (hari ke-0) fermentasi kakao secara spontan tidak mengalami penambahan mikroba artinya mikroba dibiarkan tumbuh secara alami. Pada Tabel menunjukkan bahwa pada hari ke -4 pertumbuhan yeast dan bakteri asam laktat naik 2 (dua) kali lipat. Kenaikan jumlah total bakteri asam laktat pada mikroba campuran. Pertumbuhan mikroba tersebut disebabkan media pertumbuhannya mendukung karena kondisi substrat fermentasi (pupl) yang mengandung gula dan senyawa pectin. Pertumbuhan yang paling banyak diduga yeast karena yeast merupakan mikroba indegenus. Penelitian ini didukung ardhani dan fleet (2003) bahwa jumlah total yeast pada awal fermentasi sebesar 10⁴-10⁵ dan 10⁷-10⁸ cfu/g pada fermentasi 24-36 jam. Kustyawati dan Setyani (2008) menyatakan bahwa penambahan mikroba campuran antara *Saccharomyces cerevisiae* dan *BAL* dalam fermentasi kakao tidak mempengaruhi pertumbuhan dan populasi ragi dalam pulp kakao, tetapi menyebabkan populasi bakteri asam laktat lebih tinggi.

Tabel 1. Pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae* dan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus lactis*)

Perlakuan	Pengamatan	Hari ke 0	Hari ke 4
Spontan	Pertumbuhan Mo (CFU/g)	0	10,2 x 10 ¹²
Mo	Pertumbuhan Mo (CFU/g)	1 x 10 ⁶	7,5 x 10 ¹³
Spontan	pH	5,09	6
Mo	pH	5,09	5,0
Spontan	Temperatur (°C)	30	32
Mo	Temperatur (°C)	30	31

Spontan	Nilai Warna biji	1 (ungu)
Mo		3 (coklat dominan thd ungu)

Honore (2017) melaporkan bahwa mikroba ini adalah sumber untuk menghasilkan etanol, asam laktat, dan asam asetat yang dianggap sebagai prekursor penting untuk mendorong konversi biji kakao mentah ke keadaan yang diperlukan sebelum biji kakao memanggang (Schwan and Wheals 2004). Kondisi lingkungan yang kaya gula dan asam sangat ideal untuk pertumbuhan ragi. Ragi bertanggung jawab untuk pectinolysis dari pulp kakao dan produksi etanol dari glukosa. Kondisi termodifikasi ini mendukung pengembangan bakteri asam laktat, dan LAB kemudian mengkonsumsi glukosa, fruktosa, dan asam sitrat dan menghasilkan manitol, asam laktat, dan asam asetat. Ketika aerasi massa fermentasi meningkat dan suhu naik di atas 37 ° C, organisme dominan yang hadir termasuk bakteri asam asetat. Bakteri asam asetat mengoksidasi etanol dan asam laktat menjadi asam asetat (Ostovar dan Keeney 1973).

Nilai pH pada fermentasi kakao

Pada pengamatan (Tabel 1) pengukuran pH pada fermentasi spontan dan fermentasi inokulum campuran tidak mempunyai pola kenaikan pada hari ke -4 yaitu berkisar antara 5 – 6 di akhir fermentasi. Tidak adanya peningkatan pH pada percobaan ini kemungkinan disebabkan bahan baku biji kakao yang digunakan masih muda, sehingga mempengaruhi jumlah substrat yang dimetabolisme oleh mikroba. Keadaan ini menyebabkan terjadinya difusi asam dan hidrolisa protein di dalam kotiledon setelah biji mati. Oleh karena itu, bakteri asam asetat mempunyai peran dalam pembentukan flavor biji kakao (Forsyd dan Quesnel, 1963), sehingga penambahan inokulum campuran (*Sacharomyces cereviciciae* dan *BAL*) pada awal fermentasi mempengaruhi proses perubahan pH dan memungkinkan berperan dalam pembentukan flavor biji kakao.

Nilai Suhu pada fermentasi kakao

Pada pengamatan Tabel 1 diperoleh hasil pengukuran suhu dari 2 perlakuan fermentasi spontan dan fermentasi inokulum campuran sebesar 30 – 32 °C. Perubahan suhu pada awal fermentasi sampai akhir fermentasi (hari ke 4) disebabkan karena kandungan komponen dalam substras yang mengalami preses perombakan selama fermentasi. Senanayake et.al (1996) menyatakan bahwa perubahan suhu dipengaruhi oleh volume fermentasi, proses pembalikan, variasi kandungan komponen dalam substrat dan aerasi. Namun, pada percobaan ini tidak dilakukan proses pembalikan, aerasi, karena volume fermentasi hanya sedikit 300 gr.

Proses fermentasi menyebabkan lonjakan suhu akibat rekasi eksotermis yang terjadi pada saat perubahan gula pulp menjadi etanol oleh aktivitas yeast, akibatnya pulp meleleh, tetesan air dan oksigen akan mengalir ke dalam tumpukan biji. Terdapat fase penting selama fermentasi kakao, yaitu: pertama : aktivitas yeast yang mengubah gula pulp menjadi alkohol selama fermentasi anaerobic di awal fermentasi. Tahap kedua, aktivitas bakteri asam asetat dan selanjutnya menjadi CO₂ dan H₂O (Passos et al, 1984).

Nilai warna biji kakao

Uji belah (cut tes) digunakan sebagai standar untuk mengetahui apakah biji kakao sudah cukup terfermentasi dengan sempurna atau disebut sebagai derajat fermentasi. Pengaruh penambahan inokulum campuran terhadap derajat fermentasi pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi makin sempurna warna biji kakao hasil fermentasi. Pada penambahan inokulum diperoleh bahwa nilai warna pada perlakuan penambahan inokulum campuran mendapatkan biji kakao berwarna coklat dominan terhadap ungu. Hal ini disebabkan karena biji kakao yang digunakan masih tergolong masih muda, sehingga mempengaruhi hasil warna biji kakao fermentasi. Muzaifa, dkk (2017), menyatakan bahwa salah satu faktor utama yang mempengaruhi mutu biji kakao adalah keberhasilan proses fermentasi, yang antara lain dipengaruhi oleh wadah dan ketebalan tumpukan biji dalam wadah fermentasi, cara pengadukan dan interval pengadukan, tingkat kematangan buah dan lama pemeraman di dalam buah setelah panen. Warna yang diharapkan dari hasil fermentasi adalah jika biji kakao lebih 50% terfermentasi sempurna yaitu warna coklat dominan coklat penuh (Senanayake, 1991). Pada pengamatan setelah 3 bulan (Mei – Juli) biji kakao yang difermentasi dengan inokulum campuran (*Sacharomyces cereviceae* dan *BAL*) menghasilkan biji kakao yang lebih mengkilat dibandingkan dengan biji kakao dengan fermentasi alami (spontan).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa (1) Ada peningkatan penambahan inokulum campuran (*Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus lactis*) mempengaruhi pengaruh perubahan kimiawi substrat selama fermentasi karena perubahan ekologi mikroflora di dalamnya dan memberikan kualitas biji; (2) Nilai Suhu pada fermentasi kakao berkisar antara 30 – 32 °C, (3) Nilai pH pada fermentasi kakao tidak ada peningkatan yang signifikan; (4) Warna biji kakao hasil fermentasi inokulum campuran mendekati baik dengan warna coklat dominan terhadap ungu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardhana dan Fleet. 2003. The Microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *Inter. J. of Food Microbiol.* 86:87-99.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. Luas Areal dan Produksi Perkebunan Kakao Seluruh Indonesia Menurut Pengusahaan. <http://ditjenbun.deptan.go.id/cigraph/index.php/viewstat/komodititutama/4-Kakao> (Diakses tanggal 27 April 2018).
- Honore, Hadja D Ouattara., Droux, Michel. , Reverchon, Sylvie., Nasser, William, Niamke, 2017. *Lactic acid bacteria involved in cocoa beans fermentation from Ivory Coast: Species diversity and citrate lyase production.* International Journal of Food Microbiology. Volume 256, 1 September 2017, Pages 11-19. (Diakses tanggal 12 April 2018)
- Hernani dan Haliza, Winda. 2013. Optimasi Komposisi Nutrien untuk Pembentukan Komponen Cita Rasa pada Fermentasi Biji Kakao Asalan. *Jurnal Pascapanen Vol 10 Nomor 2* pp 74-82. (diakses pada tanggal 12 April 2018).

- Jamili, Yanti NA, Susilowati PE. 2014. Enhancement of cocoa quality by the indigenous yeast *Candida tropicalis* KLK4 through cocoa bean fermentation. *J Adv Biotechnol* 4 (1): 327-335.
- Jamili, Yanti, Nur Arfa., Susilowati, Prima E., 2016. Diversity And The Role Of Yeast In Spontaneous Cocoa Bean Fermentation From Southeast Sulawesi Indonesia. *BIODIVERSITAS* Vol 17, Number 1. DOI: 10.13057/biodiv/d170113 (diakses 17 April 2018).
- Kustyawaty, Maria, Erna dan Setyani, Sri., 2008. Pengaruh Penambahan Inokulum Campuran Terhadap Perubahan Kimia Dan Mikrobiologi Selama Fermentasi Coklat. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* Volume 13, No. 2, September 2008. (diakses tanggal 20 April 2018).
- Marzuki, E. 2012. Sistem Inovasi Daerah (SIDa) Sumatera Selatan. Badan Litbang dan Inovasi Daerah Provinsi Sumatera Selatan, Pt Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Misnawi. 2008. Physico-Chemical Changes During Cocoa Fermentation and Key Enzymes Involved. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*, 47-64.
- Muzaifa, Murna., Abubakar, Yusya., Haris, Faitzal. 2017. Profil Pertumbuhan Mikroorganisme Pada Fermentasi Biji Kakao Aceh. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. Volume 09, Nomor 02. DOI: <https://doi.org/10.17969/jtipi.v9i2.5975>.
- Sabhannur, N & Subaedah. 2016. Kajian mutu biji Kakao petani di Kabupaten Luwu Timur, Soppeng dan Blukukumba. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan* Vol.11 No. 2, Balai Besar Industri Hasil Perkebunan, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Makasar.
- SchwanRF, WhealsAE. 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44 (4): 205-221.(diakses tanggal 12 April 2018).
- Senanayake, M., E.R Jansz dan K.A Buckle.,1996. Effect of different mixing intervals on the fermentation of cocoa beans. *J. Sci. Food. Agric.* 74: 42-48