

Analisis Perbandingan Kualitas Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Berbagai Wadah Fermentasi Menggunakan Kultur Campur

Cocoa Bean Quality Comparison Analysis (*Theobroma cacao* L.) with Various Containers Fermentation Using Mixed Culture

Christhoperus William Vincent Sucipto, Yoga Aji Handoko*

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana,
Jl. Diponegoro no 66, Salatiga, 50711, Indonesia
*Email: yoga.handoko@staff.uksw.edu

Diterima: 03 November 2022; Disetujui: 02 Februari 2023

ABSTRAK

Sebagian besar kualitas biji kakao di Indonesia pada umumnya memiliki kualitas yang rendah, baik secara fisik ataupun cita rasa. Masih sedikit para petani yang melakukan proses fermentasi biji kakao, padahal biji kakao fermentasi memiliki kualitas yang lebih baik daripada biji kakao non fermentasi. Terbatasnya jumlah panen biji kakao menyebabkan petani enggan melakukan fermentasi. Tujuan penelitian ini yaitu untuk memperoleh potensi wadah fermentasi ukuran kecil dalam fermentasi biji kakao dengan bantuan kultur campur *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter tropicalis*, dan *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 8 perlakuan dan 4 kali ulangan. Masing-masing wadah fermentasi (kotak kayu, besek, bambu, dan paralon) menggunakan biji kakao basah sebanyak 1 kg dengan pemberian perlakuan kultur campur (10%) dan perlakuan tanpa pemberian kultur sebagai kontrol. Parameter pengujian yang dilakukan yaitu pH, suhu, rendemen, kadar air, *cut test*, gula reduksi, total asam, kadar lemak, dan organoleptik yang meliputi: tekstur, warna, aroma, dan rasa. Hasil terbaik diperoleh dari perlakuan kotak kayu dengan perlakuan kultur campur dengan nilai rendemen (36,18%), kadar air (6,67%), *cut test* (93%), gula reduksi (2,74%), asam total (0,35%), lemak (46,75%), organoleptik tekstur (4/S), warna (4,5/SS), aroma (4,15/S) dan rasa (3,85/S).

Kata Kunci: fermentasi, kakao, kultur campur, wadah

ABSTRACT

Most of the quality of cocoa beans in Indonesia generally have low quality, both physically and tastily. There are still few farmers who carry out the process of fermenting cocoa beans, even though fermented cocoa beans have better quality than non-fermented cocoa beans. The limited harvest number of cocoa beans makes farmers reluctant to do the fermentation. The purpose of this study was to get the potential fermentation of small containers in the cocoa fermentation with the help of mixed cultures of *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter tropicalis*, and *Saccharomyces cerevisiae*. This study used a randomized block design with 8 (eight) treatments and 4 (four) replications. Each fermentation container (wooden box, besek, bamboo, and PVC pipe) used 1 kg of wet cocoa beans with mixed culture treatment (10%) without culture treatments as a control. The parameters of the tests carried out were pH, temperature, yield, water content, *cut test*, total sugar content, lactic acid content, total fat content, and organoleptic (texture, color, aroma, and taste). The best results were obtained from the treatment of cultured wood with yield value (36.18%), moisture content (6.67%), *cut test* (93%), reducing sugar (2.74%), total acid (0.35%), fat (46.75%), organoleptic texture (4/S), color (4.5/S), aroma (4.15/S) and taste (3.85/S).

Keywords: cocoa, container, fermentation, mixed culture

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk kedalam tiga negara terbesar penghasil biji kakao setelah Pantai Gading dan Ghana. Luas lahan perkebunan kakao yang ada di Indonesia pada tahun 2019 mencapai 1.592.562 ha dengan total hasil produksi mencapai 774.195 ton dari perkebunan masyarakat, negara, dan swasta. Neraca perdagangan dan ekspor kakao Indonesia akan dapat terus meningkat jika memiliki mutu yang baik. Namun, mayoritas dari kualitas biji kakao yang dimiliki Indonesia masih bermutu rendah, baik secara fisik ataupun cita rasa (Mulyono, 2017).

Di Indonesia masih sedikit biji kakao yang melewati proses fermentasi sebelum dilakukan pengolahan hasil, padahal dengan dilakukannya fermentasi biji kakao dapat menghasilkan kualitas dan mutu yang lebih baik dibandingkan tanpa dilakukannya fermentasi (Ariyanti,

2017). Fermentasi biji kakao merupakan proses pengolahan pascapanen yang dilakukan untuk memunculkan rasa khas dari kakao dan memperbaiki penampilan fisik biji. Aktivitas mikroba yang digunakan pada proses fermentasi akan membantu menghasilkan metabolit yang dapat memulai rangkaian reaksi biokimia di dalam biji sehingga dapat menghasilkan prekursor rasa coklat (Ho et al., 2014). Penambahan 3 jenis kultur mikroba dalam fermentasi biji kakao, yaitu: (1) khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan dalam proses fermentasi dengan cara mengubah gula menjadi alkohol dan CO₂. Disamping itu, khamir ini juga menghasilkan panas yang membuat sebagian *pulp* hancur dan akan menghasilkan suplai oksigen yang lebih baik. (2) Bakteri Asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum* mengubah sisa-sisa gula hasil degradasi menjadi asam sitrat (3) Bakteri *Acetobacter tropicalis* berperan untuk memecah alkohol yang telah dihasilkan oleh khamir menjadi asam

asetat dengan bantuan oksigen yang muncul pada saat pengadukan (Schwan et al., 2004).

Proses fermentasi biji kakao pada umumnya dilakukan dengan jumlah yang besar, dengan menggunakan kotak kayu dengan kapasitas sekurang-kurangnya 40 kg biji kakao basah. Aryani et al., (2018) mengatakan bahwa pada beberapa petani memiliki kebun dengan jumlah lahan yang luas, sehingga proses fermentasi dapat dilakukan dalam skala yang besar. Namun pada kenyataannya, kakao yang dihasilkan oleh petani ini tidak mencapai 40 kg biji kakao basah, sehingga petani enggan untuk melakukan fermentasi kakao karena sulit melakukan fermentasi dengan jumlah yang sedikit.

Beberapa solusi dapat dilakukan bagi petani yang memiliki produktivitas biji kakao yang rendah. Pada percobaan Aryani et al., (2018) fermentasi dapat dilakukan secara efektif pada wadah kayu dengan ukuran dan produksi skala kecil dengan menghasilkan 92% kadar biji kakao terfermentasi sempurna. dengan menggunakan papan kayu sebagai bahan wadahnya. Namun menurut Mulyazmi et al., (2008) fermentasi yang dilakukan dengan wadah dari bambu dapat menghasilkan biji fermentasi yang memiliki kualitas lebih baik dibandingkan dengan wadah fermentasi kayu. Hasil penelitian tersebut dapat mengefisienkan pengeluaran petani karena tidak perlu menggunakan lembaran kayu yang disusun menjadi kotak. Sifat plastik paralon yang fleksibel serta mudah dibawa juga dapat menjadi salah satu opsi yang dapat digunakan sebagai alat bantu fermentasi. Penggunaan paralon juga dapat memenuhi syarat sebagai wadah fermentasi, dimana paralon dapat dibuat berlubang untuk aerasi udara yang berguna pada saat proses fermentasi berlangsung. Besek (bambu yang dianyam) juga dapat menjadi salah satu pilihan wadah yang dapat digunakan sebagai fermentor. Struktur besek yang sedikit berongga dapat menjadi sistem sirkulasi udara yang dibutuhkan oleh beberapa mikroba. Hal ini juga telah dibuktikan oleh Rannes et al., (2021), dimana penggunaan besek bambu dengan tambahan kultur mikroba 10% dapat menghasilkan kualitas uji belah biji kakao yang baik.

Dari permasalahan tersebut muncul pemikiran untuk menggali potensi pengembangan metode fermentasi dengan harapan akan meningkatkan kualitas dan nilai jual biji kakao kering. Sehingga, tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji perbandingan hasil kualitas fermentasi biji kakao dengan bantuan kultur mikroba campur dan menggunakan berbagai perlakuan wadah fermentasi berukuran kecil.

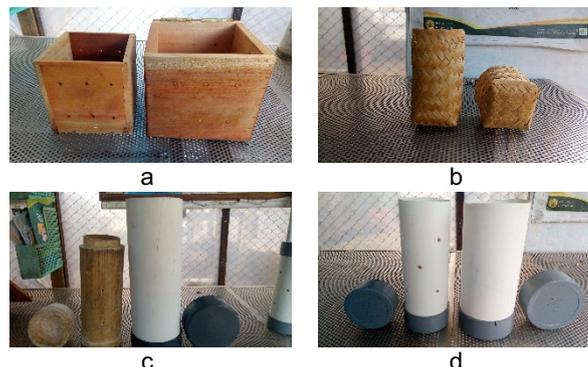
METODOLOGI

Alat dan Bahan

Kakao yang merupakan bahan utama pada pengujian kali ini merupakan buah kakao dari varietas Sulawesi yang diperoleh dari kelompok tani Ngudi Raharjo II Dusun Plosokerep, Desa Bunder, Kecamatan Patuk, Kabupaten Gunung Kidul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Bahan-bahan pendukung lain yang digunakan dalam pembuatan mikroba yaitu media MRSB (deMann rogosa sharpe broth), PDA (*potato dextrose agar*), YPG (*yeast peptone glucose*), dengan mikroba yang digunakan *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter tropicalis*, dan *Lactobacillus plantarum*. Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu reagen nelson, arsenomolibdat, akuades, etanol 96%, larutan indikator PP (phenolphthalein), NaOH 0,1 N, dan N-Heksana.

Alat yang digunakan dalam perbanyak mikroba dan analisis yaitu autoklaf, inkubator, hotplate, enkas/LAF, Hanna meter HI9124, *moisture analyzer* Shimadzu moc63u, spektrofotometer Shimadzu UV- Vis 1280,

rangkainan Soxhlet, wadah fermentasi kotak kayu (lapisan dalam ukuran 20x20x20 cm; lapisan luar berukuran 25x25x25 cm), besek (anyaman bambu berukuran 12x12x20), paralon (lapisan dalam diameter 7,62 cm x panjang 25 cm); lapisan luar berdiameter 10,16 cm x panjang 25 cm; bambu petung berdiameter rata-rata 8 cm x Panjang 25 cm.



Gambar 1. Tipe wadah fermentasi; a) wadah fermentasi kotak kayu, b) wadah fermentasi besek bambu, c) wadah fermentasi bambu, d) Wadah fermentasi paralon

Tahapan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yakni Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 8 perlakuan yakni (1) Kotak kayu dengan penambahan kultur, (2) Besek bambu dengan penambahan kultur (3), Bambu dengan penambahan petung kultur, (4) Paralon dengan penambahan kultur, (5) Kotak kayu non kultur, (6) Besek bambu non kultur, (7) Bambu petung non kultur, (8) Paralon non kultur. Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali, sehingga total ada 32 satuan percobaan. Data kemudian dianalisis dengan menggunakan sidik ragam ANOVA. Jika terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji DMRT selang kepercayaan 95% atau $\alpha = 0.05$.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Media MRSB, PDA, dan YPG

Perbanyak kultur diawali dengan pembuatan media MRSB, PDA, dan YPG. Bahan yang telah ditimbang dilarutkan dalam akuades. Media kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 45 menit. Media cair yang telah dibuat kemudian dimasukan kultur yang telah diperbanyak di agar miring dengan cara menggosokkan kultur pada media miring kemudian dilakukan pemindahan ke media cair.

Fermentasi Biji

Biji kakao yang akan difermentasi ditimbang sebanyak 1000 g dan dimasukkan ke dalam 4 jenis wadah. Sampel kemudian diberikan kultur mikroba dengan konsentrasi 10% (100 ml). Fermentasi dilakukan selama 6 hari di dalam inkubator. Suhu inkubator disetting 38°C pada 2 hari pertama, kemudian pada hari ke 3-4 suhunya dinaikan menjadi 42°C, dan pada hari ke 5-6 suhunya kembali diturunkan menjadi 38°C. Selama fermentasi dilakukan pembalikan masing-masing sampel sebanyak 3 kali setelah 48 jam, 72 jam, dan 96 jam. Pengukuran suhu dan pH dilakukan setiap 24 jam dan berlangsung sampai akhir proses fermentasi. Pengeringan biji kakao dilakukan dengan penyinaran matahari dan inkubator pada suhu 35°C selama 3 hari. Setelah fermentasi selesai dilakukan analisis yang meliputi, analisis fisik, diantaranya: suhu, *cut test*, kadar air, rendemen; analisis kimia terdiri dari: pH, uji total asam, kadar lemak, gula reduksi; serta dan

organoleptik diantaranya: aroma/bau, cita rasa dan tekstur.

Pengukuran Parameter

Pengukuran pH dan suhu dengan Menggunakan perangkat Hanna HI-9124

Pengukuran pH (Aryani et al., 2018b) dilakukan setiap 24 jam. Pengukuran pH dilakukan dengan mengambil 10 g biji kakao fermentasi, kemudian dipindahkan ke dalam gelas beaker dan ditambahkan 10 ml akuades. Sampel diaduk hingga homogen. Kemudian, pH meter dimasukkan ke dalam sampel sampai menunjukkan nilai pH yang tertera pada perangkat Hanna HI9124.

Pengukuran suhu dilakukan selama proses fermentasi berlangsung (Aryani et al., 2018b) setiap 24 jam sekali. Pengukuran suhu dilakukan dengan memasukan termometer perangkat Hanna HI-9124 ke dalam wadah fermentasi hingga diperoleh suhu yang tertera pada perangkat Hanna HI-9124.

Kadar Asam dengan Metode Titrimetri

Pengujian kadar asam (Sukendar et al., 2019) dilakukan dengan menimbang sampel bubuk kakao sebanyak 5 g. Sampel kemudian diencerkan dengan akuades ke dalam labu takar 100 ml sampai dengan batas tera dan dikocok sampai merata. Larutan disaring menggunakan kertas saring untuk selanjutnya diambil sebanyak 10 ml filtrat dan ditambahkan larutan indikator phenolphthalein 1% 2 tetes. Sampel selanjutnya dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1N hingga berwarna merah muda. Banyaknya NaOH 0,1N yang digunakan sebagai titran kemudian dihitung dengan persamaan:

$$\text{Kadar Asam (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times 90}{\text{Berat sampel (g)} \times 1000} \times 100$$

Kadar Lemak dengan Metode Soxhlet

Pengukuran kadar lemak total dalam biji kakao dilakukan menggunakan metode ekstraksi Soxhlet (Pargiyanti, 2019). Labu lemak yang akan digunakan untuk ekstraksi terlebih dahulu dilakukan penimbangan bobot kosongnya. Sebanyak 2 g sampel bubuk kakao dimasukan kertas saring untuk selanjutnya diikat bagian bawah dan atasnya menggunakan benang kasur. Sampel yang telah dibungkus kemudian dimasukan ke dalam rangkaian Soxhlet dengan ditambahkan larutan pengestrak N-Hexana sebanyak 1,5 siklus dan dilakukan ekstraksi selama 6 jam. Sampel ekstraksi yang berada pada labu lemak kemudian dioven pada suhu 105°C selama 1 jam. Labu kemudian dimasukan ke dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Bobot lemak yang didapat kemudian dihitung dengan persamaan:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{\text{Botol isi} - \text{Botol Kosong}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100$$

Kadar Gula Reduksi dengan Metode Nelson-Somogyi

Pengujian gula reduksi (Apriyanto, 2017) dilakukan dengan menghaluskan 1 g sampel ke dalam labu takar 100 dan ditambahkan akuades sampai batas tera.

Kemudian sampel disaring menggunakan kertas saring, dan diambil 1 ml filtrat untuk ditambahkan reagen nelson 1 ml. Sampel dipanaskan dengan *waterbath* selama 20 menit. Setelah dingin, sampel ditambah 1 ml reagen Arsenomolibdat dan 7 ml akuades. Sampel kemudian diukur absorbansi (serapan optisnya) pada panjang gelombang 540 nm.

Pengukuran Kadar Air dengan instrumen Shimadzu moc63u

Pengujian kadar air biji kakao dilakukan secara otomatis menggunakan instrumen *moisture analyzer* Shimadzu moc63u. Sampel biji kakao dihaluskan dan ditimbang sebanyak 5 g, dan instrumen *moisture analyzer* ditera terlebih dahulu. Sampel kemudian dimasukan ke dalam instrumen tersebut. Petunjuk start di-klik untuk memulai pengukuran sampai tertera kadar air biji kakao.

Nilai Rendemen

Persentase rendemen diperoleh dengan cara mengukur berat awal sampel biji kakao basah yang akan dilakukan fermentasi. Sampel selanjutnya dibandingkan dengan bobot biji kakao kering yang diperoleh setelah dilakukan fermentasi dan penjemuran. Bobot biji kakao akhir kemudian dimasukan ke dalam persamaan:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot Akhir (g)}}{\text{Bobot Awal (g)}} \times 100$$

*Keterangan: Bobot Awal = Bobot biji kakao sebelum difermentasi dan dikeringkan; Bobot Akhir = Bobot biji kakao setelah difermentasi dan dikeringkan

Uji Belah (*Cut Test*)

Uji belah atau *cut test* (Aryani et al., 2018b) dilakukan dengan memotong sampel biji kakao fermentasi kering sebanyak 50 biji. Biji kakao dipotong menjadi dua bagian secara membujur untuk menentukan keberhasilan fermentasi yang dilihat dari warna *nibs* biji kakao. Keberhasilan fermentasi dimasukan ke dalam persamaan:

$$\text{Cut Test (\%)} = \frac{\text{Biji Terfermentasi sempurna}}{\text{Jumlah sampel}} \times 100$$

Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan menggunakan skala hedonik dengan melibatkan 20 orang panelis. Parameter-parameter yang digunakan adalah warna, tekstur, aroma dan rasa biji kakao fermentasi yang telah dihaluskan. Panelis selanjutnya memberi nilai kesukaan dari rentang 1 (Sangat Tidak Suka) sampai dengan 5 (Sangat Suka) (Hayati et al, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH Fermentasi Kakao

Selama fermentasi terjadi perubahan-perubahan biji kakao seperti perombakan gula menjadi alkohol, menaiknya suhu, dan fermentasi asam cuka. Aroma akan muncul seiring dengan lama proses fermentasi dilakukan dan pH pada biji akan terjadi perubahan (Lukito, 2004).

Tabel 1. Dinamika pH Fermentasi Biji Kakao

Perlakuan	Hari ke-					
	1	2	3	4	5	6
Kayu NK	3,58 c	3,71 b	3,84 c	4,16 a	4,37 b	4,51 b
Besek NK	3,64 bc	3,81 ab	3,82 c	4,23 a	4,32 b	4,40 b
Bambu NK	3,62 c	3,74 b	3,92 bc	4,20 a	4,28 b	4,38 b
Paralon NK	3,61 c	3,89 a	4,09 abc	4,23 a	4,30 b	4,39 b
Kayu K	3,66 abc	3,90 a	4,21 ab	4,43 a	4,59 a	4,69 a
Besek K	3,71 ab	3,89 a	4,17 ab	4,30 a	4,37 b	4,46 b
Bambu K	3,75 a	3,89 a	4,14 ab	4,32 a	4,36 b	4,42 b
Paralon K	3,75 a	3,90 a	4,24 a	4,33 a	4,32 b	4,41 b

Keterangan: NK= Non Kultur, K= Kultur. Angka-angka yang tertera pada tabel dan diikuti oleh huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata pada taraf pengujian 5% menurut uji DMRT

Pengukuran pH dilakukan guna mengetahui tingkat kemasaman yang terjadi selama proses fermentasi berlangsung (Utami, 2018). Pengukuran pH perlu dilakukan untuk mengetahui proses fermentasi berada pada kondisi ideal bagi mikroorganismenya. Pada Tabel 1. menunjukkan kenaikan pH pada seluruh perlakuan seiring dengan lama fermentasi. Selama dua hari pertama fermentasi, pH tercatat memiliki nilai yang rendah karena *pulp* mengandung sejumlah senyawa asam yang baik untuk khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk merombak gula (Beckett et al., 2017). Kemudian pada fase selanjutnya, *pulp* kakao yang terurai mengakibatkan berkurangnya asam sitrat yang larut bersama cairan fermentasi hingga mendorong bakteri asam laktat untuk tumbuh (Arnawa et al., 2013). Dan pada fase akhir fermentasi bakteri asam asetat akan mengoksidasi etanol yang dihasilkan oleh khamir dan bakteri asam laktat menjadi asetat dan selanjutnya menjadi air dan karbon dioksida (Apriyanto, 2017)

Dari hasil yang didapatkan, menjelaskan terjadinya peningkatan pH dari $\pm 3,58-3,9$ (hari ke-1 dan 2) menjadi $\pm 3,84-4,43$ (hari ke-3 dan 4) dan meningkat kembali

menjadi $\pm 4,28-4,69$ (hari ke-5 dan 6). Penurunan tingkat kemasaman disebabkan pada akhir fermentasi asam asetat akan berpenetrasi kedalam keping biji, yang berarti pH luar biji dapat meningkat dan kemasaman keping dalam biji menurun. Pada akhir fermentasi, perlakuan wadah kayu dengan tambahan kultur mendapatkan nilai pH yang paling tinggi (4,69) dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Namun, baik perlakuan kayu kultur serta seluruh perlakuan lainnya menghasilkan nilai kemasaman dibawah standar. Dimana menurut Indarti et al., (2011) nilai pH biji kakao akan semakin baik jika mendekati kadar yang netral (pH>6).

Suhu Fermentasi Kakao

Fermentasi yang dilakukan secara alami ataupun dengan bantuan tambahan kultur mikroba membutuhkan oksigen meskipun terbatas (mikroaerofilik). Proses fermentasi berjalan dengan baik jika tersedianya oksigen yang cukup serta munculnya peningkatan panas yang merupakan hasil dari perombakan senyawa gula di *pulp* biji kakao (Rohan, 1963). Perubahan suhu pada fermentasi kakao dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti berat biji kakao basah, aerasi, dan pengadukan (Mahardika, 2015).

Tabel 2. Dinamika Suhu Fermentasi Biji Kakao

Perlakuan	Hari ke-					
	1	2	3	4	5	6
Kayu NK	36,90 ab	37,45 a	42,80 a	41,72 a	38,12 a	37,70 a
Besek NK	36,52 abc	37,42 a	41,70 bcd	42,30 abc	37,82 ab	37,52 a
Bambu NK	36,40 bc	36,77 b	41,52 cd	42,22 bc	37,47 bc	37,17 cd
Paralon NK	36,25 c	36,77 b	41,02 d	41,90 cd	36,95 c	36,90 de
Kayu K	37,05 a	37,42 a	42,45 ab	42,60 ab	38,05 a	37,50 ab
Besek K	36,77 abc	37,32 a	42,00 bc	42,22 bc	37,82 ab	37,52 a
Bambu K	36,77 abc	37,40 a	41,80 bc	42,05 cd	37,82 ab	37,22 bc
Paralon K	36,80 abc	37,02 ab	41,45 cd	41,65 d	37,30 bc	36,77 e

Keterangan: NK= Non Kultur, K= Kultur. Angka-angka yang tertera pada tabel dan diikuti oleh huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata pada taraf pengujian 5% menurut uji DMRT.

Pada saat fermentasi terjadi akumulasi panas, sehingga suhu meningkat yang menyebabkan biji kakao mati dan membentuk cita rasa warna dan aroma *flavor* khas kakao. Dinamika perubahan suhu fermentasi seperti terlihat pada Tabel 2. Suhu fase pertama yang terjadi pada hari 1 dan 2 berkisar antara 36,26-37,45°C. Kadar suhu fermentasi dengan tambahan kultur sedikit lebih tinggi fermentasi tanpa tambahan kultur. Hal ini diduga adanya pengaruh dari aktivitas mikroba yang ditambahkan, dimana pada fase pertama aktivitas khamir *S. cerevisiae* mulai beraktivitas untuk mendegradasi *pulp* menjadi etanol.

Pada tahap selanjutnya di hari ke 3-4, terjadi perubahan kondisi dari anaerob menjadi aerob karena dilakukan pengadukan. Seluruh perlakuan fermentasi kakao mengalami kenaikan suhu dari fase sebelumnya menjadi 41,02-42,6°C. Hal ini tidak berbeda jauh dengan

suhu inkubator yang dinaikan menjadi 42°C. Suhu inkubator diharapkan sesuai dengan suhu fermentasi kakao, sehingga bakteri asam laktat dapat memperoleh suhu yang tepat untuk melakukan perannya dalam mengubah gula dan asam sitrat. Perlakuan fermentasi dengan wadah kayu mengalami peningkatan suhu tertinggi dibandingkan perlakuan wadah lainnya, dengan wadah kayu tanpa penambahan kultur mencapai suhu 42,8°C. Sedangkan, perlakuan wadah paralon mendapat nilai suhu yang paling rendah dibandingkan perlakuan wadah lainnya. Hal ini mengindikasikan sifat dari paralon yang bukan penghantar panas yang baik, sehingga suhu yang dihasilkan lebih rendah dari wadah perlakuan lainnya.

Fermentasi pada hari ke 5-6, suhu inkubator kembali diturunkan menjadi 37°C. Suhu pada semua perlakuan di hari ke-5 turun menjadi 36,95-38,12°C dan hari ke-6

menjadi 36,77-37,7°C. Pada suhu ini bakteri asam asetat akan dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Capaian suhu dari masing-masing perlakuan belum mencapai suhu optimum fermentasi. Dimana menurut Aryani et al., (2018) suhu fermentasi yang optimal agar mendapatkan dengan hasil mutu yang baik adalah 44-48°C. Namun, dari percobaan yang didapat perlakuan kayu dengan tambahan kultur memiliki suhu puncak yang paling mendekati suhu optimum dengan 42,6°C. Suhu pada kayu kultur ini lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan Rachmatullah et al., (2021) yang menggunakan kotak fermentasi kecil ukuran (20 x 20 x 30 cm) dengan suhu puncak 39°C

Rendemen

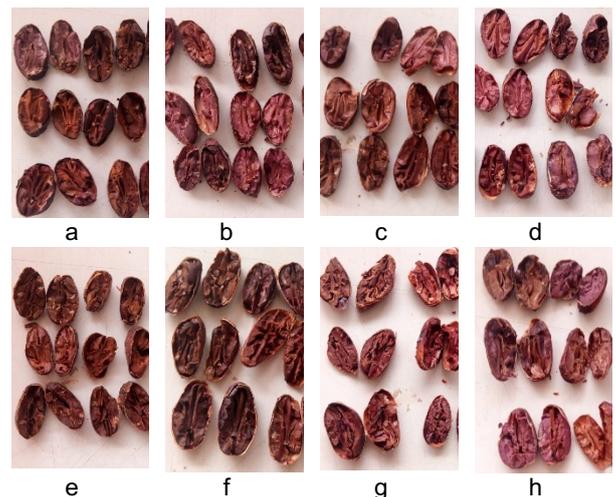
Perhitungan nilai rendemen dilakukan untuk mengetahui efisiensi proses fermentasi yang dilakukan pada masing-masing perlakuan (Arief et al., 2011). Hasil akhir biji fermentasi sangat berpengaruh terhadap nilai rendemen. Jika banyak komponen yang berkurang pada biji kakao, maka nilai rendemen yang dihasilkan semakin kecil, sebaliknya semakin banyak komponen kakao yang tertinggal maka nilai rendemen akan semakin besar. Nilai rendemen yang ditunjukkan pada Tabel 3. dengan perlakuan paralon non kultur menghasilkan nilai rendemen yang paling tinggi 38,78%. Berbeda dengan wadah fermentasi kayu kultur yang memiliki nilai rendemen terendah yakni 36,18%.

Nilai rendemen yang tinggi pada perlakuan paralon non kultur (37,78%) disebabkan adanya lapisan *pulp* atau plasenta yang masih menempel pada biji kakao kering yang tidak dapat diurai oleh mikroba secara sempurna. Proses fermentasi yang tidak sempurna menggunakan wadah paralon kemungkinan lubang aerasinya tergolong cukup rendah, sehingga proses fermentasi dalam kondisi aerobik kurang maksimal yang ditandai dengan *pulp* pada perlakuan belum sepenuhnya terurai.

Kadar Air

Kadar air biji kakao dilakukan untuk memperoleh kualitas mutu hasil yang baik. Kadar air biji kakao kering menurut SNI 2323:2008 yakni tidak lebih dari 7,5%. Rata-rata nilai kadar air pada setiap perlakuan mendapatkan nilai kadar air di bawah 7,5%. Kadar air tertinggi dan terendah masing-masing didapatkan oleh perlakuan kayu non kultur (6,71%) dan besek kultur (6,54%). Kadar air pada semua perlakuan menandakan bahwa nilai kadar air telah sesuai dengan SNI biji kakao. Menurut Rachmatullah et al., (2021), kadar air biji kakao kering dibawah 5% membuat biji kakao rapuh serta mudah pecah, sedangkan biji kakao yang memiliki kadar air diatas 7,5% akan membuat biji kakao mudah terserang jamur dan bakteri yang akan menurunkan kualitas biji.

Marwati et al., (2017) melaporkan bahwa saat proses fermentasi terjadi peningkatan suhu yang mengakibatkan *pulp* biji kakao menjadi cair dan hancur yang mengakibatkan senyawa jadi lebih sederhana. Hancurnya *pulp* menyebabkan terbukanya pori-pori biji kakao yang akan mempermudah proses pengeringan. Pengeringan yang optimal membuat kadar air biji kakao sesuai standar SNI. Semua perlakuan fermentasi dilakukan pengeringan menggunakan sinar matahari dan oven, dengan lama pengeringan 3 hari dan dengan suhu oven 35°C. Kadar air biji kakao pada semua perlakuan diperoleh hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ariyanti et al., (2017) dengan proses pengeringan biji kakao dilakukan dengan cara penjemuran sinar matahari (*sun drying*) dengan kadar air \pm 8%.



Gambar 4. Hasil Fermentasi, a) Kayu Non Kultur, b) Besek Non Kultur, c) Bambu Non Kultur, d) Paralon Non Kultur, e) Kayu Kultur, f) Besek Kultur, g) Bambu Kultur, h) Paralon Kultur

Cut Test

Uji belah (*cut test*) merupakan uji fisik setelah fermentasi untuk mengetahui tingkat keberhasilan fermentasi dari segi warna *nibs* yang dihasilkan. Warna biji kakao digolongkan menjadi tiga kelas warna yakni: warna ungu *slaty* (biji tidak terfermentasi), warna dominan ungu terhadap warna coklat (biji setengah terfermentasi), dan warna coklat (biji terfermentasi sempurna) (Pramana, 2022). Hasil uji belah yang didapatkan dalam penelitian ini diperoleh perlakuan fermentasi menggunakan kayu kultur mendapat tingkat keberhasilan fermentasi yang tinggi yaitu 93% dan perlakuan paralon tanpa kultur mendapat tingkat keberhasilan fermentasi yang paling rendah yaitu 74%. Rendahnya persentase *cut test* pada Tabel 3. untuk perlakuan tanpa tambahan kultur menandakan bahwa masih terdapat banyak sampel yang masih berwarna ungu ataupun setengah ungu. Pengukuran indeks fermentasi didasarkan pada kadar flavonoid yang memberikan warna coklat dengan kandungan antosianin yang memberikan warna ungu. Selama proses fermentasi berlangsung terjadi perubahan senyawa kimia dalam pulp dan kotiledon (Atmana, 2002)

Hasil analisis sidik ragam perlakuan kayu kultur berbeda nyata dengan perlakuan yang lain, sedangkan perlakuan besek kultur tidak berbeda nyata dengan perlakuan kayu non kultur. Data Tabel 3. menunjukkan bahwa penambahan kultur berperan dalam membantu pada proses fermentasi, sehingga dapat menghasilkan uji *cut test* yang baik. Walaupun perlakuan bambu dan paralon ditambahkan mikrob untuk membantu proses fermentasi, namun hasilnya tidak sebaik perlakuan kayu. Hal ini dapat disebabkan wadah bambu dan paralon tidak memiliki aerasi yang baik, sehingga mengakibatkan proses fermentasi dengan bakteri asam laktat dan asetat yang bekerja dalam kondisi anaerob menjadi kurang maksimal. Meskipun perlakuan kayu non kultur tidak diberi mikrob tambahan, akan tetapi dapat memberikan hasil fermentasi yang cukup baik (87%). Hal ini dimungkinkan karena buah kakao memiliki bakteri alami (*indigenous*) yang dapat berperan dalam proses fermentasi (Hartuti et al., 2018)

Tabel 3. Nilai Rendemen, Kadar Air, dan Cut Test Hasil Fermentasi Kakao

Perlakuan	Rendemen (%)	Kadar Air (%)	Cut Test (%)
Kayu NK	36,41 de	6,71 ab	87,0 bc
Besek NK	36,92 bcde	6,75 a	78,0 d
Bambu NK	37,61 ab	6,66 bc	74,5 e
Paralon NK	37,78 a	6,62 bcd	74,0 e
Kayu K	36,18 e	6,67 abc	93,0 a
Besek K	36,50 cde	6,54 d	88,0 b
Bambu K	37,14 abcd	6,59 cd	86,5 bc
Paralon K	37,31 abc	6,67 abc	84,5 c

Keterangan: NK= Non Kultur, K= Kultur. Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.

Gula Reduksi

Pulp biji kakao merupakan bahan baku utama bagi mikroba untuk melakukan perombakan. Biji kakao segar memiliki *pulp* yang mengandung 8-13% glukosa dan 0,4-1% sukrosa (Haryadi et al., 2002). Komposisi *pulp* yang mengandung banyak senyawa gula merupakan media pertumbuhan yang baik bagi khamir *S. cerevisiae* untuk melakukan perombakan gula menjadi etanol. Perombakan senyawa yang terkandung dalam *pulp* oleh mikroba merupakan bagian dari proses pembentukan gula reduksi (Widiyanto et al., 2013).

Tabel 4. menunjukkan bahwa nilai gula reduksi pada setiap perlakuan bervariasi. Nilai gula reduksi paralon kultur memiliki nilai yang tertinggi yaitu 3,22% sedangkan nilai terendah terdapat pada perlakuan wadah kayu non kultur yaitu 2,01%. Setiap perlakuan menunjukkan bahwa pemberian kultur memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap kandungan gula reduksi dan dapat dilihat pada perlakuan paralon kultur memiliki hasil yang tidak berbeda nyata dengan besek kultur. Hal ini juga terjadi pada perlakuan kayu kultur yang tidak berbeda nyata dengan bambu kultur. Nilai kadar gula meningkat dikarenakan adanya kultur mikrob *S. cerevisiae* yang memiliki enzim inverse merombak sukrosa menjadi gula reduksi (Ariefita et al., 2016). Menurut Kusmawati, (2017) nilai gula reduksi yang rendah juga dapat diakibatkan karena fermentasi dilakukan tanpa tambahan kultur mikrob, sehingga penguraian menjadi tidak maksimal dan terbatas.

Tabel 4. Nilai Gula Reduksi, dan Total Asam Hasil Fermentasi Kakao

Perlakuan	Gula Reduksi (%)	Total Asam (%)
Kayu NK	2,01 c	0,21 c
Besek NK	2,25 bc	0,20 c
Bambu NK	2,61 abc	0,21 c
Paralon NK	2,53 abc	0,20 c
Kayu K	2,74 ab	0,35 a
Besek K	3,00 a	0,30 b
Bambu K	2,80 ab	0,30 b
Paralon K	3,22 a	0,28 b

Keterangan: NK= Non Kultur, K= Kultur. Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.

Total Asam

Pada saat fermentasi penggunaan bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat memiliki masing-masing fungsi sebagai perombak senyawa-senyawa seperti: asam organik serta etanol menjadi asam asetat, dan bakteri asam laktat yang berfungsi untuk mengubah sisa-sisa gula menjadi asam sitrat. Hasil analisa total asam pada Tabel

4. menunjukkan bahwa perlakuan kayu dengan penambahan kultur menghasilkan nilai kadar asam yang tinggi (0,35%), sedangkan hasil asam terendah terdapat pada perlakuan paralon dan besek tanpa tambahan kultur (0,2%).

Pemberian kultur diketahui mempengaruhi hasil analisis total asam. Penambahan kultur menghasilkan nilai total asam yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan kultur. Hal ini disebabkan aktivitas *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter tropicalis* dengan bantuan enzim pektinase dapat menghasilkan kadar asam yang tinggi. Hasil sidik ragam perlakuan kayu dengan penambahan kultur berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya, sedangkan pada semua perlakuan non kultur tidak ada perbedaan yang nyata. Menurut Arnawa et al., (2013) bakteri asam asetat yang semula berada di permukaan biji masuk ke dalam dalam kotiledon yang mengakibatkan matinya biji.

Kadar Lemak

Selama proses fermentasi terjadi penguraian senyawa bukan lemak yang dapat larut di dalam air pada keping biji kakao. Senyawa-senyawa tersebut dirombak oleh bantuan mikrob *S. cerevisiae*, bakteri asam laktat, dan bakteri asam asetat menjadi komponen-komponen lain yang lebih kecil dan menyebabkan komponen bukan lemak terdifusi ke luar keping biji, hal ini menyebabkan kadar lemak cenderung lebih meningkat (Yusianto et al., 1995). Hasil penelitian penentuan kadar lemak menunjukkan bahwa penggunaan kultur berpengaruh terhadap kadar lemak biji kakao yang meningkat. Penggunaan kultur juga memiliki nilai rendemen lemak yang lebih tinggi dibandingkan dengan fermentasi tanpa tambahan kultur. Proses fermentasi dapat menghasilkan 25% lemak yang diperoleh dari mikroorganisme. Lemak yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme, yaitu: asam lemak oleat, asam lemak palmitat, asam lemak linoleat, dan asam lemak stearat (Ratledge et al., 1984).

Tabel 5. Nilai Kadar Lemak Hasil Fermentasi Kakao

Perlakuan	Kadar Lemak (%)
Kayu NK	46,50
Besek NK	46,75
Bambu NK	47,50
Paralon NK	42,75
Kayu K	46,75
Besek K	53,00
Bambu K	55,75
Paralon K	49,75

Keterangan: NK= Non Kultur, K= Kultur.

Kadar lemak biji kakao tertinggi pada perlakuan bambu dengan penambahan kultur yaitu 55,75%, sedangkan kandungan lemak terendah pada perlakuan paralon kultur yaitu 42,75%. Menurut Towaha, (2012) menyatakan bahwa fermentasi memberikan perbedaan pada biji kakao. Biji kakao yang terfermentasi dengan sempurna akan memiliki kandungan lemak yang tinggi. Peningkatan kadar lemak juga disebabkan karena kadar air yang cenderung rendah. Sebaliknya kadar lemak yang rendah disebabkan oleh kadar air yang lebih tinggi dan berpengaruh terhadap rendemen lemak yang dihasilkan (Setiawan et al., 2021). Analisis kadar air yang diperoleh juga sejalan dengan hasil analisis rendemen lemak, dimana besek dan bambu kultur memiliki kadar air yang rendah dan menghasilkan nilai kadar lemak yang tinggi.

Organoleptik

Uji organoleptik pada penelitian ini dilakukan pengujian dengan meliputi 4 parameter yaitu: tekstur, warna, aroma,

serta rasa. Pengujian ini dilakukan menggunakan skala hedonik untuk mengetahui bubuk kakao hasil fermentasi yang paling disukai oleh para panelis. Pengujian ini dilakukan oleh panelis dengan cara menentukan nilai skor kesukaan terhadap bubuk kakao dengan kategori: skor 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (agak suka), 4 (suka) dan 5 (sangat suka) (Rachmatullah et al., 2021). Bubuk kakao yang digunakan untuk uji organoleptik diperoleh dari hasil fermentasi biji kakao yang telah kering, kemudian dipisahkan dari kulit biji, dan selanjutnya dilakukan penggilingan sampai menjadi bubuk.

Tabel 6. Data Uji Organoleptik Fermentasi Biji Kakao

Perlakuan	Tekstur	Warna	Aroma	Rasa
Kayu NK	3,60	4,10	3,70	3,75
Besek NK	3,05	3,60	3,20	3,70
Bambu NK	2,65	3,00	2,90	2,75
Paralon NK	2,10	2,30	2,50	2,30
Kayu K	4,00	4,50	4,15	3,85
Besek K	3,60	4,25	3,55	4,00
Bambu K	3,50	3,60	3,25	3,70
Paralon K	3,10	2,95	2,90	2,80

Keterangan: NK= Non Kultur, K= Kultur, TS= Tidak Suka, AS= Agak Suka, S= Suka, SS= Sangat Suka

Tekstur

Pengujian tekstur umumnya dilakukan pengujian dengan menilai tingkat kehalusan bubuk kakao. Pengujian tekstur dapat dilakukan menggunakan indera pengecap ataupun sentuhan tangan. Tekstur pada bubuk kakao dapat dipengaruhi oleh proses fermentasi biji kakao. Pada saat fermentasi terjadi perombakan senyawa-senyawa seperti protein, sukrosa, dan lain-lain, sehingga mengakibatkan tekstur biji menjadi berongga (Rachmatullah et al., 2021). Biji kakao yang terfermentasi sempurna memiliki tekstur yang rapuh dan mudah dipecah, sehingga ketika dilakukan penggilingan dapat mendapatkan tekstur yang halus. Pada uji hedonik tekstur biji kakao perlakuan paralon non kultur mendapatkan tingkat kesukaan tekstur yang rendah (2,1) dengan kategori/nilai indeks TS (Tidak Suka). Hal ini disebabkan proses fermentasi yang kurang sempurna membuat biji kakao menjadi pejal dan membuat tekstur bubuk kakao menjadi tidak halus. Sedangkan perlakuan kotak kayu dengan penambahan kultur mendapat tingkat kesukaan tekstur yang paling tinggi yaitu (4) yang mengindikasikan panelis menyukai tekstur bubuk kakao karena teksturnya yang halus.

Warna

Warna merupakan parameter pertama yang menentukan tingkat penerimaan konsumen secara subjektif dengan indera pengelihatan (Soekarto, 1985). Proses fermentasi dan pengeringan membuat terjadinya perubahan warna pada biji kakao kering. Tabel 6. menunjukan bahwa kayu dengan penambahan kultur memiliki warna bubuk kakao yang paling disukai dengan nilai (4,5) dan kategori/nilai indeks SS (Sangat Suka). Penilaian warna dengan indeks nilai terendah adalah perlakuan paralon non kultur dengan nilai (2,3) dan kategori/indeks nilai TS (Tidak Suka). Perlakuan kayu dengan penambahan kultur memiliki tingkat kesukaan yang tinggi, karena biji kakao terfermentasi dengan baik dan menghasilkan warna cokelat yang menarik panelis. Menurut Marpaung et al., (2019) biji kakao yang terfermentasi dengan baik akan mengakibatkan teroksidasinya polifenol, sehingga muncul warna cokelat.

Aroma

Aroma atau bau dari suatu produk menentukan kenikmatan pangan tersebut, penilaian tingkat kesukaan aroma bubuk kakao tidak lepas dari fungsi indera pembau. Selama proses fermentasi biji kakao terjadi pembentukan aroma cokelat, dan aroma tidak akan terbentuk tanpa dilakukannya proses fermentasi (Misnawi, 2008). Tabel 6. menunjukkan penilaian aroma dengan kesukaan tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan kotak kayu dengan penambahan kultur dengan nilai (4,15) dan kategori/indeks nilai (S) Suka. Sedangkan nilai paling rendah pada pengujian organoleptik ditunjukkan pada perlakuan paralon non kultur dengan nilai (2,5) dan kategori AS (Agak Suka). Aroma khas kakao dihasilkan oleh pembentukan gula pereduksi, asam-asam organik, dan peptida hidrofobik yang terjadi selama proses fermentasi (Hayati et al., 2012).

Rasa

Fermentasi dilakukan untuk memunculkan cita rasa yang khas dari kakao. Cita rasa yang dihasilkan yaitu rasa pahit yang dihasilkan oleh senyawa theobromine serta rasa asam yang masih dominan (Fahrurrozi et al., 2020). Sedangkan rasa asam terbentuk dari asam-asam organik seperti asam asetat dalam *pulp* yang menembus kulit biji dan kemudian masuk ke dalam kotiledon. Pada Tabel 6. hasil kesukaan panelis terhadap rasa yaitu perlakuan besek dengan penambahan kultur dengan nilai (4) dengan kategori/indeks nilai S (Suka) dan nilai terendah yaitu dari perlakuan yaitu paralon non kultur (2,3) dengan kategori TS (Tidak Suka). Rasa khas kakao diperoleh dari proses fermentasi yang baik hingga sempurna. Marpaung et al., (2019) melaporkan bahwa calon citarasa yang terjadi pada saat proses fermentasi didapatkan dari perombakan senyawa, seperti: protein, polifenol, dan gula oleh bantuan enzim.

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fermentasi biji kakao dengan ditambahkan kultur *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter tropicalis*, dan *Saccharomyces cerevisiae* dapat meningkatkan kualitas hasil biji kakao fermentasi. Penggunaan wadah fermentasi kotak kayu dapat meningkatkan proses fermentasi lebih baik dibanding wadah fermentasi dengan bambu, besek, dan paralon. Penggunaan mikrob kultur dengan wadah kotak kayu menghasilkan nilai rendemen (36,18%), kadar air (6,67%), *cut test* (93%), gula reduksi (2,74%), asam total (0,35%), dan lemak (46,75%). Hasil uji organoleptik pada perlakuan dengan kotak kayu juga menunjukkan tingkat kesukaan terhadap tekstur (4/Suka), warna (4,5/Sangat Suka), aroma (4,15/Suka).

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyanto, M. (2017). Perubahan pH, keasaman dan indeks fermentasi biji kakao selama fermentasi hasil biji kakao (*Theobroma cacao*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 6(1), 12–18.
<https://doi.org/10.32520/jtp.v6i1.97>
- Arief, R. W., & Asnawi, R. (2011). Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Beberapa Jenis Biji Kakao Lindak di Lampung. *Buletin RISTR*, 2(3), 325–330.
- Ariefta, G. A., Putra, G. P. G., & Anggreni, A. A. D. (2016). Pengaruh penambahan ragi tape dan waktu fermentasi terhadap karakteritik pulpa biji kakao. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 4(2), 42–52.

- Ariyanti, M. (2017). Karakteristik Mutu Biji Kakao (*Theobroma Cacao L*) dengan Perlakuan Waktu Fermentasi Berdasar SNI 2323-2008. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 12(1), 34–42. <http://dx.doi.org/10.33104/jihp.v12i1.2757>
- Arnawa, G., Suharman, Sianturi, M. J., Lesmana, B., Syahrir, M., Wahyuni, & Sonyville, A. (2013). *Pasca Panen: Kualitas Biji Kakao dan Fermentasi*. Medan: Swisscontact.
- Aryani, N. L. P. N. A., Yulianti, N. L., & Arda, G. (2018a). Karakteristik Biji Kakao Hasil Fermentasi Kapasitas Kecil dengan Jenis Wadah dan Lama Fermentasi yang Berbeda Characteristics of Cocoa Beans on Small Capacity Fermentation Results Based on Different Types of Containers and Different Fermentation Lengths. *Jurnal BETA (Biosistem Dan Teknik Pertanian)*, 6(1), 17–24.
- Atmana, S. A. (2002). Proses enzimatis pada fermentasi untuk perbaikan mutu kakao. *Iptek Pemacu Pembangunan Bangsa*. Serpong: BPP Teknologi.
- Beckett, S. T., Fowler, M. S., & Ziegler, G. R. (2017). *Beckett's Industrial Chocolate Manufacture and Use*. John Wiley & Sons.
- Fahurrozi, P. L., Ratnakomala, S., Fauziyyah, S., & Sari, M. N. (2020). *Teknologi Fermentasi dan Pengolahan Biji Kakao*. Jakarta: LIPI Press.
- Hartuti, S., Bintoro, N., Karyadi, J. K. W., & Pranoto, Y. (2018). Fermentasi Isothermal Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) dengan Sistem Aerasi Terkendali. *Jurnal Agritech*, 38(4), 364-374. <https://doi.org/10.22146/agritech.35412>
- Haryadi, S., & Supriyanto, I. (2002). *Teknologi Cokelat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hayati, R., & Fauzi, H. (2012). Kajian fermentasi dan suhu pengeringan pada mutu kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Keteknik Pertanian*, 26(2), 129-135. <https://doi.org/10.19028/jtep.026.2.%25p>
- Ho, V. T. T., Zhao, J., & Fleet, G. (2014). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 72–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.014>
- Indarti, E., Widayat, H. P., & Zuhri, N. (2011). Effect of fermentation container and thickness of bean mass during fermentation process of cocoa bean (*Theobroma cacao L*). *Proceedings of The Annual International Conference, Syiah Kuala University-Life Sciences & Engineering Chapter*, 1(1), 64-69.
- Kusmawati, W. (2017). Analisis kadar asam asetat dalam media limbah fermentasi biji kakao akibat penambahan konsentrasi *Acetobacter Aceti* dan waktu inkubasi. *Jurnal Filsafat, Sains, Teknologi, Dan Sosial Budaya*, 23(1), 67–72.
- Lukito, A. M. (2004). *Panduan Lengkap Budi Daya Kakao*. Jakarta: AgroMedia.
- Mahardika, E. L. (2015). *Karakteristik Fisiko Kimia Biji Kakao (Theobroma cacao L.) Hasil Variasi Jenis Ukuran dan Wadah Fermentasi di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*. Jember: Universitas Jember.
- Marpaung, R., & Putri, S. N. (2019). Karakteristik Mutu Organoleptik Olahan Coklat dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda Pada Biji Kakao Lindak (*Theobroma Cacao L.*). *Jurnal Media Pertanian*, 4(2), 64-73. <https://doi.org/10.33087/jagro.v4i2.83>
- Marwati, T. (2017). Penghambatan Pertumbuhan Mikotoksin Memproduksi Jamur oleh Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Biji Kakao Fermentasi (*Theobroma cacao L.*) di Indonesia. *Konferensi ASEAN Ke 15 Tentang Ilmu Dan Teknologi Pangan*.
- Misnawi. (2008). Physico-Chemical Changes During Cocoa Fermentation and Key Enzymes Involved. In *Review Penelitian Kopi dan Kakao* (pp. 47–64). <https://doi.org/10.47687/jt.v11i2.111>
- Mulyazmi, M., & Sundari, E. (2008). Mempelajari Pengaruh Jenis Material Fermentor dan Kondisi Fermentasi Terhadap Mutu Biji Kakao. *Jurnal Teknos-2k*, 8(1), 48-54.
- Mulyono, D. (2017). Harmonisasi kebijakan hulu-hilir dalam pengembangan budidaya dan industri pengolahan kakao nasional. *Jurnal Ekonomi & Kebijakan Publik*, 7(2), 185–200.
- Pargiyanti, P. (2019). Optimasi Waktu Ekstraksi Lemak dengan Metode Soxhlet Menggunakan Perangkat Alat Mikro Soxhlet. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 29-35 <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44745>
- Pramana, P. (2022). Perbandingan Penggunaan Kultur Campur dan Kultur Tunggal *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kualitas Fermentasi Biji Kakao. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 8(2), 133-144. <https://doi.org/10.26858/jtp.v8i2.26060>
- Rachmatullah, D., Putri, D. N., Herianto, F., & Harini, N. (2021). Karakteristik Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Hasil Fermentasi dengan Ukuran Wadah Berbeda. *Jurnal Viabel Pertanian*, 15(1), 32–44.
- Rahmat, F., Lubis, A., Putra, B. S., Ratna, S., & Habibi, M. (2015). Kualitas Biji Kakao (*Theobroma Cacao L*) Dengan Variasi Lama Fermentasi Dan Hasil Pengeringan. *Proceedings Seminar Aceh Development International Conference (ADIC). Academy of Islamic Studies University of Malaya Kuala Lumpur*.
- Rannes, Setiawan, A. W., & Handoko, Y. A. (2021). Perbandingan Kualitas Fermentasi Biji Kakao dengan Penambahan Kultur Campur dan Kultur Tunggal *Lactobacillus brevis*. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung (Journal of Agricultural Engineering)*, 10(4), 537-547. <https://doi.org/10.23960/jtep-l.v10i4.537-547>
- Ratledge, C., Dawson, P. S. S., & Rattray, J. (1984). *Biotechnology for the oils and fats industry* (Vol. 11). The American Oil Chemists Society. <https://doi.org/10.1007/BF02582132>
- Rohan, T. A. (1963). Precursors of Chocolate Aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 14(11), 799–805. <https://doi.org/10.1002/jfsa.2740141105>
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Setiawan, A. W., & Handoko, Y. A. (2021). Perbandingan Kualitas Fermentasi Biji Kakao dengan Penambahan Kultur Campur dan Kultur Tunggal *Lactobacillus brevis*. *Jurnal Teknik Pertanian*, 20(4), 537-547.
- Soekarto, S. T. (1985). *Penilaian organoleptik: untuk industri pangan dan hasil pertanian*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara
- Sukendar, N. K., Tawali, A. B., Salengke, S., Syarifuddin, A., Mochtar, A. H., & Fakhrudin, A. (2019). Perubahan Sifat Fisiko-Kimiawi Selama Proses Fermentasi Biji Kakao Segar. *Canrea Journal: Food Technology, Nutrition, and Culinary Journal*, 98–105. <https://doi.org/10.20956/canrea.v2i2.214>
- Towaha, J. (2012). *Diversifikasi Produk Kakao sebagai Bahan Baku Biofarmaka*. Bogor: IAARD Press.

- Utami, R. R. (2018). Antioksidan Biji Kakao: Pengaruh Fermentasi dan Penyangraian Terhadap Perubahannya (Ulasan). *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 13(2), 75-85.
<https://doi.org/10.33104/jihp.v13i2.4062>
- Widiyanto, D., Pramita, A. D., & Wedhastri, S. (2013). Perbaikan proses fermentasi biji kakao kering dengan penambahan tetes tebu, khamir, dan bakteri asam asetat. *Jurnal Teknosains*, 3(1), 38-44.
- Yusianto, Sumartono, B., & Wahyudi, T. (1995). Analisis Mutu Kakao Lindak pada Beberapa Perlakuan Fermentasi. *Warta Pusat Penelitian Kopi Dan Kakao*, 13(3) 5–9.