



*Prosiding Seminar Nasional Pertanian Pesisir (SENATASI)  
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu  
Bengkulu, 21 Juni 2022*

## **MIKROBA YANG TERLIBAT SELAMA FERMENTASI KAKAO MENGUNAKAN KOTAK FERMENTASI SEDERHANA**

*Microbes Involved During Cocoa Fermentation Using a Simple Fermentation Box*

**Ika Gusriani<sup>1\*)</sup>, Hidayat Koto<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Universitas Bengkulu

*Corresponding author : [ikagusriani@unib.ac.id](mailto:ikagusriani@unib.ac.id)*

### **ABSTRACT**

This study aims to determine the number and types of microbes that exist during the cocoa fermentation process using a fermentation box. The test uses a quantitative and qualitative. Chemical analysis to measure the pH of the pulp and beans, the temperature and the percentage of slaty beans in cocoa that had been fermented using a fermentation box and cocoa that was fermented using plastic. Fermentation was carried out anaerobically using a fermentation box made of wood measuring 32 cm long, 32 cm wide and 42 cm high. The box is given holes as a place for the pulp liquid to come out during fermentation with a diameter of 0.5 cm and a distance of 8 cm between the holes. The results showed that the bacteria was  $1.8 \times 10^6$  cfu/gr, molds and yeasts reached  $2.9 \times 10^6$  cfu/gr. The percentage of gram-positive bacteria was 50%, gram-negative bacilli 14.29%, gram-positive cocci 21.34% while gram-negative cocci reached 14.29%. Chemical analysis includes: the pH of cocoa beans using a fermentation box is 5.1 while using a plastic bag is 4.8. The pH of the fermented cocoa bean pulp using boxes was 4.8 while using plastic sacks was 3.4. The percentage of slaty seed using a fermentation box is 4%, while in plastic sacks 18%.

---

Keywords : Cocoa, Fermentation, Fermentation Box, Microbes

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan jenis mikroba yang ada selama proses fermentasi kakao dengan menggunakan kotak fermentasi. Pengujian menggunakan uji kuantitatif serta uji kualitatif. Selain itu dilakukan analisa kimia untuk mengukur kadar pH pulp dan keping biji, suhu selama fermentasi dan persentase biji slaty pada kakao yang telah difermentasi menggunakan kotak fermentasi dan kakao yang difermentasi menggunakan karung plastik. Fermentasi dilakukan secara anaerob menggunakan kotak fermentasi yang terbuat dari kayu berukuran panjang 32 cm, lebar 32 cm dan tinggi 42 cm, dengan kapasitas 40 kg biji kakao basah pada setiap kotak. Pada kotak diberi lobang-lobang sebagai tempat keluarnya cairan pulp selama fermentasi dengan diameter 0,5 cm dan jarak antar lobang 8 cm. Hasil penelitian diperoleh jumlah bakteri  $1,8 \times 10^6$  cfu/gr, sedangkan kapang dan khamir mencapai  $2,9 \times 10^6$  cfu/gr. Persentase bakteri gram positif 50%, basil gram negatif 14,29%, kokus gram positif 21,34% sedangkan kokus gram negatif mencapai 14,29%. Analisa kimia antara lain : pH biji kakao menggunakan kotak fermentasi 5,1 sedangkan menggunakan karung plastik 4,8. pH pulp biji kakao yang difermentasi menggunakan kotak 4,8 sedangkan menggunakan karung plastik 3,4. Persentase biji slaty pada

kakao hasil fermentasi menggunakan kotak fermentasi yakni 4% sedangkan pada karung plastik mencapai 18%.

---

Kata Kunci : Fermentasi, Kakao, Kotak Fermentasi, Mikroba

## PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu produk unggulan strategis perkebunan yang memegang peranan penting pada perekonomian Indonesia yakni sebagai penghasil devisa negara, sumber pendapatan petani, peningkatan lapangan pekerjaan, mendorong pelaku usaha kecil dan menengah, pelestarian lingkungan, pemenuhan permintaan pasar coklat dalam negeri dan tentunya sebagai pemenuhan potensi ekspor yang semakin tinggi. Kualitas produk kakao Indonesia tidak kalah bila dibandingkan dengan produk kakao dari negara lain. Lemak kakao Indonesia memiliki karakter yang berbeda dengan negara Afrika yaitu rendahnya kandungan *Free Fatty Acid* (FFA) dan titik leleh tinggi (*High Melting Point*) sehingga diperlukan oleh negara lain khususnya untuk industri kosmetik dan farmasi (Dirjen Perkebunan Indonesia, 2019).

Cokelat merupakan produk yang dihasilkan dari biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang dihasilkan melalui serangkaian tahapan proses pengolahan. Adapun rangkaian pengolahan yakni pemeraman buah, pemecahan buah, fermentasi, perendaman, pencucian, pengeringan dan penyortiran. Fermentasi menjadi hal utama dalam pengolahan biji kakao, bertujuan: 1). Memfasilitasi penghilangan pulp kental yang ada di sekitar biji dan pada pengeringan selanjutnya, 2). Berkontribusi pada pengembangan warna dan rasa biji kakao yang tidak berkecambah, karena menghindari pertumbuhan embrio dan mengaktifkan enzim hidrolitik biji, memungkinkan pengembangan potensi rasa biji kakao secara genetik dan enzimatis, 3). Mengurangi rasa pahit pada biji karena terjadi pertukaran senyawa secara difusi antara kotiledon biji dan lingkungan (De Vuyst & Weckx, 2016).

Meskipun telah diketahui sejumlah keunggulan produk kakao yang difermentasi, petani kakao Indonesia masih mengabaikan proses pelaksanaan fermentasi sehingga biji kakao yang dihasilkan memiliki kualitas yang berbeda-beda. Untuk itu perlu dilakukan pelaksanaan fermentasi yang seragam salah satunya dengan penggunaan kotak fermentasi dengan ukuran dan lubang pembuangan *pulp* yang telah diukur dengan baik. Selama proses fermentasi menggunakan kotak fermentasi sederhana melibatkan sejumlah mikroba secara spontan yang memberikan pengaruh pada biji kakao yang dihasilkan. Ragam mikroba yang terlibat pada fermentasi menggunakan kotak fermentasi kayu sederhana ini belum diketahui mendorong penulis untuk melakukan penelitian terkait jumlah dan jenis mikroba yang terlibat, dengan tujuan penelitian yakni mengetahui jumlah dan jenis mikroba selama fermentasi, menentukan suhu dan pH biji kakao selama fermentasi, menentukan persentase biji *slaty* pada biji kakao yang telah difermentasi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahapan yakni : tahap pengamatan selama proses fermentasi, baik menggunakan kotak fermentasi sederhana maupun menggunakan karung plastik yang umum digunakan petani. Adapun pengujian selama proses fermentasi yakni pengukuran suhu, pH *pulp*, biji *slaty*, pH keping biji. Tahap selanjutnya pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali selama fermentasi yakni pada hari pertama jam ke-4, hari ke tiga jam ke-4 dan hari terakhir fermentasi yakni hari kelima jam ke-4. Masing-masing sampel dikelompokkan sesuai dengan media pertumbuhan yang akan digunakan.

### Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan selama fermentasi peralatan gelas untuk mikrobiologi, timbangan analisis, ember plastik, karung goni, karung plastik ukuran 25 kg, *vortex mixer*, *magnetic stirrer*, mikroskop Stereo Binokular, bunsen, *autoclave*, termometer, *cover* dan *object glass*, *aluminium foil*, plastik *wrap*, kotak fermentasi kayu ukuran 32 cm x 32 cm x 42 cm. Adapun bahan yang digunakan antara lain : biji kakao basah 40 kg, alkohol 96%, *Potato Dextrose Agar* (PDA),

*Nutrient Agar (NA)*, *Glucose Yeast Peptone Agar (GYPA)*, aquades, NaCl fisiologis, kristal violet, lugol, safarin.

#### **Pembuatan Peti Fermentasi**

Penelitian ini menggunakan kotak fermentasi dari kayu dengan ukuran p x l x t yakni 32 cm x 32 cm x 42 cm, diberi lubang-lubang tempat keluarnya cairan *pulp* selama fermentasi dengan diameter lubang yakni 0,5 cm dan jarak antar lubang 8 cm, dengan kapasitas biji kakao basah yang dapat difermentasi dalam kotak tersebut sebanyak 40 kg.

#### **Pemeraman Buah Kakao**

Buah kakao setelah dipanen dilakukan sortasi dari buah pecah, retak, busuk, terpotong, terserang hama serta buah dengan ukuran tidak normal. Selanjutnya dilakukan penundaan pemecahan buah selama 5 hari dengan diletakkan di dalam gudang penyimpanan buah yang ditutup terpal. Dilakukan sortasi kembali untuk menghindari kerusakan kakao setelah pemeraman.

#### **Pemecahan buah**

Buah yang telah diperam, selanjutnya dipecah menggunakan pemukul dari kayu dengan cara memukul buah secara melintang tanpa mengenai biji. Biji dikeluarkan dengan tangan tanpa dilepas dari plasentanya, dimasukkan ke dalam kotak fermentasi.

#### **Fermentasi Kakao**

Empat kotak fermentasi sederhana yang digunakan berisi 40 kg biji kakao basah, tiga kotak digunakan sebagai pengambilan sampel sedangkan satu kotak yang lain sebagai kontrol. Masing-masing kotak fermentasi ditutup menggunakan karung goni dan penutup kayu bagian luar kotak. Fermentasi dilakukan selama 5 hari.

Karung plastik ukuran 50 kg diisi sebanyak 40 kg biji kakao basah digunakan juga pada proses fermentasi ini untuk melihat perubahan yang ada selama fermentasi sekaligus sebagai pembanding dengan penggunaan kotak fermentasi sederhana. Selama fermentasi berlangsung, baik menggunakan kotak fermentasi sederhana maupun menggunakan karung plastik, dilakukan satu kali pembalikan dengan menggunakan tangan pada jam ke-48. Setiap hari dilakukan pengukuran suhu, pH lendir *pulp* dengan pengambilan sampel yakni pada hari pertama jam ke-4, hari ketiga jam ke-4 dan hari kelima jam ke-4.

#### **Pengambilan sampel selama fermentasi (Fardiaz, 1993)**

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali, yakni hari pertama jam ke-4, hari ketiga jam ke-4 dan hari kelima jam ke-4. Pengambilan sampel hari pertama dikarenakan banyak terkandung *khamir* pada awal fermentasi, khususnya pada jam ke-4. Pengambilan sampel hari ketiga, dikarenakan telah terjadi proses pembalikan biji kakao (pembalikan biji kakao dilakukan dengan membuka kotak fermentasi dan memasukkan tangan secara langsung untuk membolak-balik biji kakao yang ada di dalam kotak fermentasi) selama fermentasi sehingga proses menjadi fermentasi aerobik, sehingga perlu diketahui mikroba yang terlibat setelah proses pembalikan biji kakao di dalam kotak fermentasi tersebut. Pengambilan sampel pada hari kelima jam ke-4 bertujuan untuk mengetahui mikroba yang terlibat pada akhir proses fermentasi.

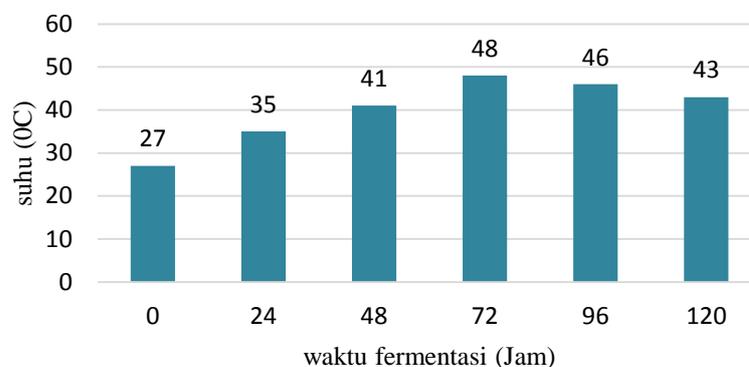
#### **Pengukuran selama proses fermentasi dan setelah akhir fermentasi**

Pengukuran selama proses fermentasi antara lain pengukuran suhu, dan pH, sedangkan pengukuran sampel setelah fermentasi berakhir dapat berupa penentuan biji *slaty* (BSN, 2008) dan penentuan pH keping biji (BSN, 2008), pengukuran ini dilakukan setiap hari.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

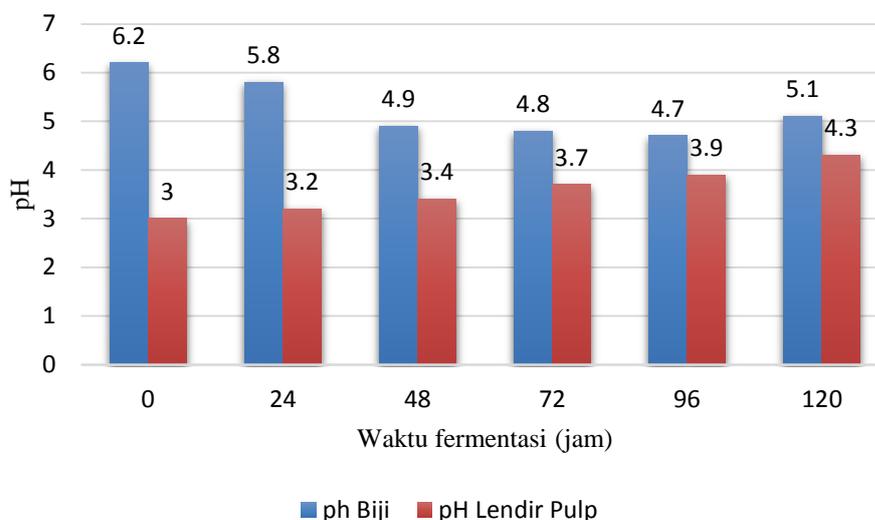
### Pengukuran suhu, pH Keping Biji dan pH pulp selama fermentasi menggunakan kotak fermentasi sederhana

Aktivitas proses fermentasi dapat diketahui melalui perubahan suhu fermentasi mulai dari awal hingga akhir fermentasi. Perubahan suhu selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1 berikut :



Gambar 1. Perubahan suhu selama fermentasi menggunakan kotak fermentasi sederhana

Aktivitas proses fermentasi dapat dilihat dari perubahan pH pulp dan pH keping biji selama proses fermentasi. Perubahan pH tersebut dapat dilihat pada Gambar 2 berikut :



Gambar 2. Perubahan pH *pulp* dan keping biji kakao selama fermentasi menggunakan kotak fermentasi sederhana

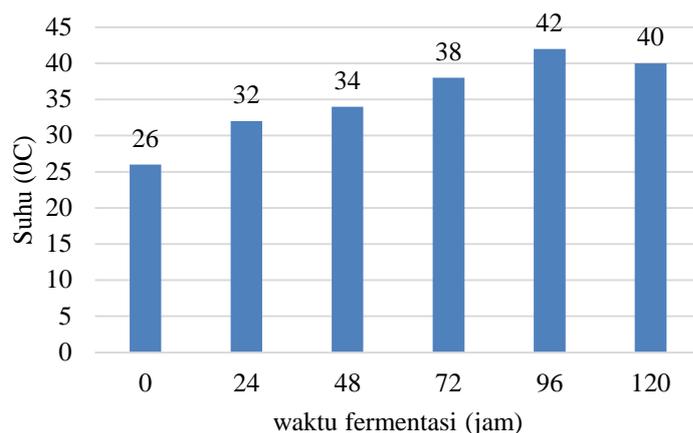
*Pulp* segar memiliki kandungan gula yang tinggi dan pH rendah dikarenakan asam sitrat (Sukendar et al., 2019). Perubahan pH dalam biji kakao selama fermentasi menunjukkan bahwa pH bagian dalam biji mengalami penurunan dari jam pertama fermentasi. Hal ini disebabkan asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan oleh aktivitas mikroorganisme selama fermentasi berpenetrasi ke dalam biji dan menyebabkan nilai pH biji bagian dalam menurun dan menjadi lebih asam. Pada penelitian ini diperoleh pH keping biji pada akhir fermentasi yakni 5,1. Atiqoh (2007) menuliskan bahwa tingkat keasaman biji kakao biasanya berada antara pH 5,0-5,8. pH biji yang lebih besar dari 5,8 berarti proses fermentasi kurang sempurna, sedangkan pH biji kurang dari 5 berarti biji memiliki keasaman yang cukup tinggi.

Perubahan yang terjadi pada *pulp* dimulai pada awal fermentasi dengan nilai pH pulp 3,0. pH yang rendah dikarenakan kandungan asam sitrat yang terdapat di dalam lendir *pulp*. Mikroba yang

terlibat selama fermentasi kakao adalah khamir, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat. Khamir dan bakteri asam laktat memanfaatkan asam sitrat untuk proses pertumbuhan selama fermentasi, hal ini menyebabkan berkurangnya kandungan asam sitrat pada *pulp* (Schwan, 1998). Dengan menurunnya kandungan asam sitrat tersebut, maka keasaman *pulp* akan berkurang sehingga pH *pulp* akan terus meningkat hingga akhir fermentasi.

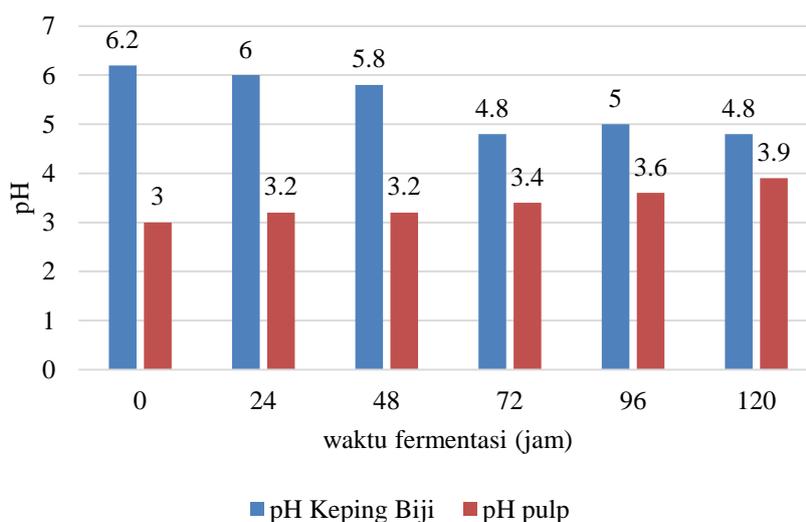
**Pengukuran suhu, pH Keping Biji dan pH pulp selama fermentasi menggunakan karung plastik**

Aktivitas proses fermentasi pada karung plastik dapat dilihat dari perubahan suhu seperti Gambar 3 berikut :



Gambar 3. Perubahan suhu selama fermentasi menggunakan karung plastic

Amin (2005) menyatakan bahwa suhu optimum yang diperlukan pada proses fermentasi kakao adalah 44-48<sup>0</sup>C yang terjadi setelah 48 jam fermentasi, hal ini tentu belum sesuai dengan hasil penelitian menggunakan karung plastik, di mana suhu optimum 42<sup>0</sup>C pada hari ke-4. Adapun pengukuran pH pada keping biji dan pulp kakao selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4 berikut :



Gambar 4. Perubahan pH Keping Biji dan pulp kakao selama fermentasi menggunakan karung plastik

Pada Gambar 4 di atas, terjadi perbedaan pH antara keping biji dan *pulp*. Pada awal fermentasi, pH keping biji lebih tinggi bila dibandingkan dengan pH pulp, hal ini dikarenakan kandungan asam yang ada pada pulp menyebabkan perbedaan pH tersebut. pH pulp sama kondisinya dengan fermentasi menggunakan kotak fermentasi sederhana, di mana pH lendir *pulp* mengalami peningkatan akibat kandungan asam sitrat yang semakin berkurang.

### Pengujian secara Kuantitatif

Pengujian secara kuantitatif ini dilakukan dengan cara penanaman sampel di media PDA dan NA dengan metode tuang duplo menggunakan *Standard Plate Count* (SPC). Adapun perhitungan jumlah bakteri yang tumbuh pada media NA selama fermentasi kakao dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Perhitungan jumlah Koloni Bakteri secara SPC

No	Jumlah Koloni per pengenceran			<i>Standard Plate Count</i>
	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	
1	160	64	14	1,8 x 10 <sup>6</sup> cfu/gr
2	200	32	8	

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh jumlah koloni bakteri 1,8 x 10<sup>6</sup> cfu/gr. Angka ini tidak berbeda jauh dari pernyataan Schwan (1998) yang menuliskan bahwa inokulasi bakteri *Lactobacillus* pada fermentasi alami kakao mencapai 10<sup>7</sup> sel/gr. Adapun perhitungan jumlah kapang dan khamir dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Jumlah Kapang dan khamir pada Media PDA

No	Jumlah Koloni per pengenceran			<i>Standard Plate Count</i>
	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	
1	280	87	3	2,9 x 10 <sup>6</sup> cfu/gr
2	296	79	2	

Pada Tabel 2, diperoleh perhitungan jumlah kapang dan khamir pada kakao selama fermentasi alami menggunakan kotak fermentasi yakni 2,9 x 10<sup>6</sup> cfu/gr. Schwan, (1998) menuliskan bahwa selama fermentasi, awalnya khamir mencapai 10<sup>7</sup> sel/gr selanjutnya mengalami penurunan selama fermentasi. Perbedaan antara hasil penelitian bisa diakibatkan oleh beberapa faktor, antaranya jenis kakao yang digunakan, waktu pengambilan sampel, suhu dan faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan kapang dan khamir selama fermentasi kakao.

### Pengujian Kualitatif

#### Pengamatan Koloni secara Makroskopis dan Mikroskopis

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis, dapat diketahui bahwa bakteri, kapang dan khamir memiliki penampakan yang berbeda-beda. Berikut penjelasan dan gambaran masing-masing penampakan :

#### Bakteri

Inkubasi bakteri dilakukan selama 5-7 hari dengan tujuan untuk mengoptimalkan pertumbuhan bakteri pada media. Bakteri diremajakan dengan memindahkan satu koloni pada media pertumbuhan yang baru, sehingga diperoleh kultur murni yang terdiri dari satu koloni mikroba pada satu cawan petri. Sewaktu peremajaan, koloni bakteri diinkubasi selama 24 jam untuk selanjutnya diamati secara makroskopis. Adapun hasil pengamatan secara makroskopis bakteri dapat dilihat pada Tabel 3 berikut :

Tabel 3. Pengamatan makroskopis pada Bakteri

Sampel hari	Pengamatan				
	Warna	Bentuk	Pinggir	Permukaan	Ukuran
1. a	Putih	Bundar	Licin	Cembung	Kecil
b	Krem	Tidak beraturan	Licin	Datar	Besar
c	Putih	Bundar	Berakar	Cembung	Kecil
3. a	Putih	Bundar	Berakar	Cembung	Kecil
b	Krem	Tidak beraturan	Licin	Datar	Kecil
5. a	Krem	Tidak beraturan	Licin	Datar	Besar
b	Putih	Bundar	Berakar	Cembung	Kecil
c	Putih	Tidak beraturan	Licin	Datar	Besar

Pengamatan makroskopis pada media NA yang merupakan media pertumbuhan bakteri, banyak ditemukan sampel berlendir dengan permukaan licin. Pada dinding sel bakteri banyak terdapat zat dengan kadar air tinggi, berupa lapisan-lapisan dengan berbagai ketebalan merupakan kapsul dan selubung lendir (Schlegel, 1994).

Setelah pengamatan secara makroskopis, bakteri selanjutnya diberi uji pewarnaan gram yang bertujuan untuk membedakan bakteri gram positif atau negatif. Jumlah persentase bakteri gram positif maupun negatif serta berbentuk basil maupun kokus dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Persentase Bakteri Basil dan Kokus Gram Positif atau Negatif

Gram	Bentuk	
	Kokus	Basil
Positif	21,43%	50%
Negatif	14,29%	14,29

### Kokus Gram Negatif

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, kokus gram negatif 14,29% terlibat dalam fermentasi kakao. Bentuk mikroskopis kokus gram negatif ini diambil dari sampel dengan ciri makroskopis berwarna krem, bentuk tidak beraturan, dengan pinggirnya berlekuk, permukaan datar licin dengan ukuran besar dapat dilihat pada Tabel 3 merupakan sampel hari pertama bagian (b). Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5 di bawah ini :



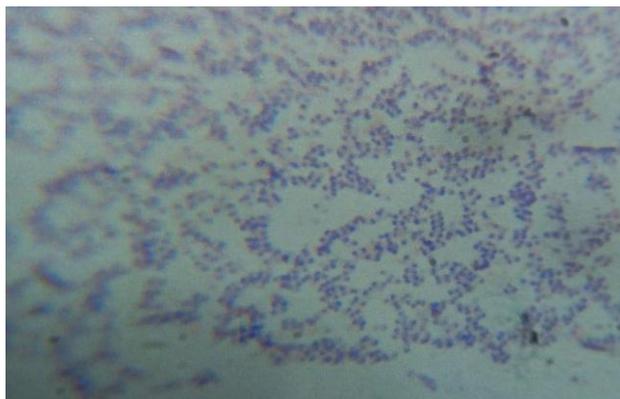
Gambar 5. Penampakan mikroskopis bakteri kokus gram negatif setelah dilakukan pewarnaan gram

Pengambilan sampel dilakukan pada hari pertama bersifat anaerobik, karena belum dilakukan aerasi sehingga fermentasi masih bersifat anaerob. Ditambahkan oleh Sukendar et al. (2019) fase awal pada proses fermentasi kakao yaitu fase anaerobik. Fase anaerobik tepat untuk pertumbuhan khamir. Khamir akan mengubah *pulp* segar menjadi alkohol dan menghasilkan karbon dioksida serta air. Terurainya *pulp* menyebabkan sebagian besar asam sitrat berkurang karena mengalir bersama cairan fermentasi, kondisi ini mengakibatkan peningkatan pH dan perubahan suhu yang mendorong pertumbuhan bakteri asam laktat.

Schlegel (1994) menuliskan bahwa kelompok bakteri anaerob kokus gram negatif antara lain : *Veillonella*, *Acidaminococcus*, *Megasphaera*. Bakteri ini meragikan asam-asam organik menjadi propionat, asetat, CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O.

#### **Kokus Gram Positif**

Penelitian menunjukkan bahwa total bakteri kokus gram positif yakni 21,43%. Bentuk mikroskopis kokus gram positif diambil dari sampel hari ketiga bagian (b) pada Tabel 3. Sampel bakteri ini memiliki penampakan makroskopis berwarna krem, bentuk tidak beraturan, pinggiran berlekuk, permukaan datar licin dengan ukuran koloni kecil. Gambar lebih jelasnya penampakan kokus gram positif dapat dilihat pada Gambar 6 berikut :

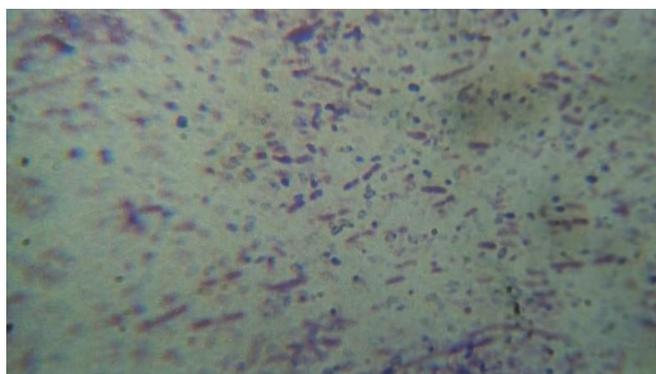


Gambar 6. Penampakan mikroskopis bakteri kokus gram positif setelah dilakukan pewarnaan gram

Sampel diambil pada hari ketiga, merupakan sampel yang bersifat aerob karena telah dilakukan aerasi pada jam ke-48, sehingga mengubah kondisi fermentasi yang sebelumnya anaerob menjadi aerob. Schlegel (1994) menuliskan bahwa bakteri kokus gram negatif aerob diantaranya yakni *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. Bakteri kokus gram negatif yang terlibat secara lebih spesifik dapat dilakukan uji lanjut yang lebih mendalam.

#### **Basil gram Positif**

Pada Gambar 7 di bawah ini, dapat dilihat bahwa basil gram positif membentuk rantai yang terdiri dari 2-6 basil, mempunyai persentase tertinggi pada fermentasi kakao menggunakan kotak fermentasi sederhana yakni 50%. Basil gram positif ini diambil dari sampel hari ketiga bagian (a) pada Tabel 3. Basil gram positif mempunyai penampakan secara makroskopis antara lain : warna putih, bentuk bundar, pinggir berakar, permukaan cembung licin dengan ukuran koloni kecil, lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 7 berikut.



Gambar 7. Penampakan mikroskopis bakteri basil gram positif setelah dilakukan pewarnaan gram

Pengambilan sampel pada hari ketiga, dapat disimpulkan bahwa bakteri ini bersifat aerobik, karena pada hari ketiga telah dilakukan aerasi pada jam ke-48. Hidayat et al. (2006) menuliskan bahwa bakteri basil yang bersifat aerobik diantaranya *Bacillus* sp. Ditambahkan oleh Fardiaz (1992) *Bacillus* sp. bersifat aerobik sampai anaerobik fakultatif, katalase (+), hanya beberapa yang bersifat gram variabel. Bakteri ini berbentuk batang, bergerak dan dapat membentuk spora.

### Basil Gram Negatif

Sampel gram negatif ini mempunyai penampakan makroskopis antara lain : warna putih, bentuk tidak beraturan, pinggir berlekuk, ukuran besar dengan permukaan datar licin atau lebih jelasnya pada Tabel 3 yakni pada hari kelima bagian (c). Secara mikroskopis, bakteri basil gram negatif berbentuk tunggal ataupun rangkaian yang tersusun dari 2-3 basil. Basil gram negatif mempunyai persentase yang sama dengan kokus gram negatif yakni 14,29%. Lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 8 berikut.



Gambar 8. Penampakan mikroskopis bakteri basil gram negatif setelah dilakukan pewarnaan gram

Pada hasil penelitian yang diperoleh, dapat dicocokkan dengan literatur bahwa bakteri yang memiliki ciri dan karakter berbentuk basil gram negatif yaitu *Proteus*, *Eschericia*, *Enterobacter*.

### Persentase Biji Slaty

Tabel 5. Persentase Biji *Slaty* pada kotak fermentasi sederhana dan karung plastik

Kemasan Fermentasi	Persentase
Biji Slaty karung Plastik	18%
Biji Slaty Kotak Fermentasi	4%

Pada data di atas diperoleh hasil bahwa persentase biji *slaty* (biji berwarna hitam keras) masih tinggi pada fermentasi menggunakan karung plastik, hal ini karena belum terlaksananya proses fermentasi dengan optimum. Ditambahkan oleh David & Manurung (2014) bahwa tingginya kadar biji *slaty* (tidak terfermentasi), fermentasi yang dilakukan oleh petani umumnya belum memadai, menyebabkan kadar biji yang tidak terfermentasi cukup tinggi. Kakao dengan kandungan biji *slaty* yang tinggi dikelompokkan pada mutu rendah yaitu mutu tiga.

Bila kita memperhatikan suhu pada proses fermentasi menggunakan karung, suhu yang terbentuk belum optimal untuk menunjang pertumbuhan bakteri asam asetat yang memiliki peranan dalam membentuk rasa dan aroma coklat pada kakao, sehingga menghasilkan biji *slaty* yang tinggi. Selain suhu, pengaruh tumpukan dan aerasi selama fermentasi juga mempengaruhi hasil biji kakao setelah fermentasi. Semakin sering aerasi dilakukan, proses fermentasi tidak berlangsung secara optimal, karena tidak terbentuk suhu dan kondisi yang sesuai selama perombakan zat-zat unsur hara oleh mikroba.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Jumlah mikroba yang ada di dalam cawan petri dengan menggunakan sampel *pulp* biji kakao antara lain : bakteri  $1,8 \times 10^6$  cfu/gr, sedangkan jumlah kapang dan khamir yakni  $2,9 \times 10^6$  cfu/gr. Jenis mikroba yang terlibat selama fermentasi yakni bakteri basil gram positif 50%, basil gram negatif 14,29%, bakteri kokus gram positif 21,43% sedangkan kokus gram negatif 14,29%.
2. Suhu fermentasi menggunakan kotak fermentasi mencapai puncak pada suhu 48<sup>o</sup>C dan pada akhir fermentasi mencapai 43<sup>o</sup>C. Suhu pada karung plastik mencapai puncak pada suhu 42<sup>o</sup>C dan pada akhir fermentasi 40<sup>o</sup>C. pH keping biji menggunakan kotak pada akhir fermentasi mencapai 5,1, sedangkan menggunakan karung plastik mencapai 4,8. pH pulp selama menggunakan kotak fermentasi mencapai 4,3 sedangkan karung plastik mencapai 3,9.
3. Persentase biji *slaty* menggunakan kotak fermentasi yakni 4%, sedangkan fermentasi menggunakan karung plastik mencapai 18%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amin, S. 2005. Teknologi Pasca panen Kakao untuk Masyarakat Perkakaoan. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Atiqoh, I. 2007. Isolasi Bakteri Asam Laktat PEnghasil Senyawa Antikapang pada Fermentasi Kakao, Jember.
- BSN. 2008. SNI 2323-2008 Biji Kakao. Badan Standarisasi Nasional.
- David, J., dan G.O. Manurung. 2014. PERbaikan Mutu Biji Kakao dengan PERlakuan Suhu PEngeringan dan Fermentasi di Kalimantan barat. *Prosiding Seminar Nasional Agroinovasi Spesifik Lokasi untuk Ketahanan Pangan pada Era Masyarakat Ekonomi ASEAN*, 1290–1295.
- De Vuyst, L., and S. Weckx. 2016. The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*. 121(1):5–17. <https://doi.org/10.1111/jam.13045>
- Dirjen Perkebunan Indonesia. 2019. *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Kakao*. Sekretariat Direktorat Jenderal Perkebunan Indonesia.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT. Gramedia.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada.
- Freitas Schwan, R. 1998. Cocoa Fermentations Conducted with a Defined Microbial Cocktail Inoculum. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(4):1477–1483. <http://aem.asm.org/>
- Hidayat, N., Padaga, M. C., dan S. Suhartini. 2006. Mikrobiologi Industri. ANDI.
- Schlegel, H. 1994. Mikrobiologi Umum (keenam). Gadjah Mada University Press.
- Sukendar, N. K., A.B. Tawali, Salengke, A. Syarifuddin, A.H. Mochtar, and A. Fakhrudin. 2019. Changes in Physical-Chemical Properties During The Fresh Cocoa Fermentation Process. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*. 2(2):98–105. <https://doi.org/10.20956/canrea.v2i2.214>