



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**POTENSI FERMENTATIF MIKROFLORA PERENCANAAN LUWAK  
(Paradoxurus hermaphroditus ) DALAM FERMENTASI KAKAO  
(Theobroma cacao, L)**

**SKRIPSI**



**NENNY DARMAYANTI  
07133025**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG 2011**

## ABSTRAK

Penelitian mengenai “Potensi Mikroflora Pencernaan Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) dalam Fermentasi Kakao (*Theobroma cacao, L*)” telah dilakukan pada bulan Agustus sampai September 2011 di Laboratorium Mikrobiologi/Mikologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang. Penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode eksperimen dan analisa secara deskriptif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan starter mikroflora pencernaan Luwak sebanyak 10% pada fermentasi kakao memiliki pertumbuhan mikroflora yang baik dibuktikan dari profil pertumbuhannya selama fermentasi. Penurunan total kadar gula terbesar (maksimal) terdapat pada perlakuan penambahan 10% starter yaitu 11.21% selama 8 hari fermentasi dan perlakuan penambahan 10% starter mencapai pengurangan berat tertinggi pada hari ketiga 3.4 gram. Penurunan pH tertinggi terjadi pada perlakuan 15%. Perlakuan dengan penambahan starter 10% memiliki visual biji yang baik dibandingkan yang lain yaitu tekstur halus dan memiliki warna coklat tua.

## ABSTRACT

Research on "Potential Mikroflora Digestive Civet (*Paradoxurus hermaphroditus*) in Fermented Cocoa (*Theobroma cacao*, L.)" was conducted from August to September 2011 at the Laboratory of Microbiology / Mycological Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences University Andalas Padang. This study analyzed using experimental methods and descriptive analysis. The results of this study indicate that the addition of starter mikroflora Civet digestion as much as 10% in the fermentation of cocoa has a good growth evidenced from the mikroflora growth profile during fermentation. Largest decrease in total sugar content (maximum) found in the treatment of starter addition of 10% 11:21% for 8 days of fermentation and the addition of 10% treatment starter achieve the highest weight reduction on the third day of 3.4 grams. The highest decrease in pH occurred in the treatment of 15%. Treatment with the addition of starter seed 10% have a good visual than others ie the texture is smooth and has a dark brown color.

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> , L.) .....	5
2.2 Fermentasi Kakao .....	7
2.3 Luwak ( <i>Paradoxurus hermaphroditus</i> ).....	9
2.4 Flavor Biji Kakao .....	11
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Metode Penelitian .....	13
3.3 Bahan dan Alat.....	13
3.4 Cara Kerja .....	14
3.4.1 Pengambilan Sampel Feses Luwak.....	14

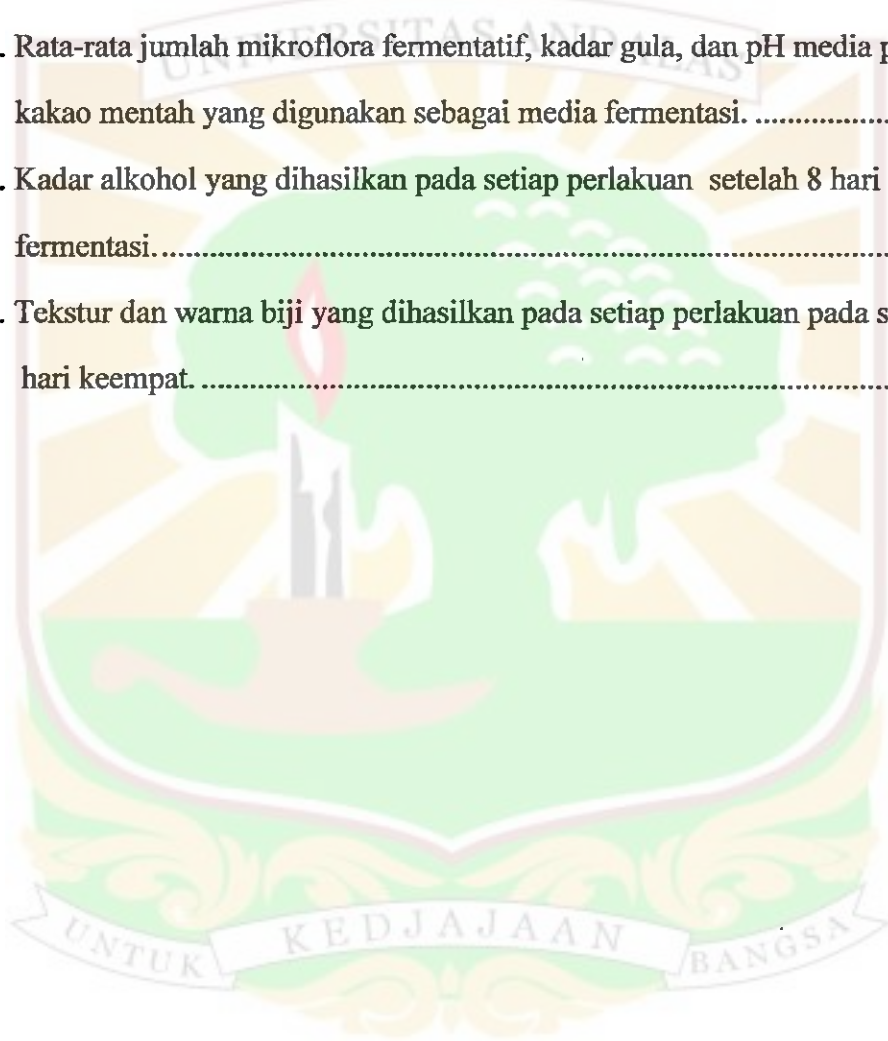
3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	14
3.4.3 Pembuatan Medium .....	14
3.4.4 Pembuatan Starter .....	15
3.4.5 Persiapan Media Fermentasi Kakao .....	15
3.4.6 Pemberian Dosis Starter pada Perlakuan .....	15
3.4.7 Penghitungan Total Mikroflora Pembentuk Asam .....	16
3.4.8 Pengukuran pH .....	16
3.4.9 Pengukuran Kadar Gula .....	16
3.4.10 Pengukuran Intensitas Fermentasi .....	17
3.4.11 Penghitungan Kadar Alkohol Akhir .....	17
3.5 Pengamatan .....	18
3.5.1 Total Mikroflora .....	18
3.5.2 Nilai pH .....	18
3.5.3 Kadar Gula .....	18
3.5.4 Intensitas Fermentasi .....	19
3.5.5 Kadar Alkohol Akhir .....	19
3.6 Analisa Data .....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Kondisi Awal .....	19
4.1.1 Starter .....	20
4.1.2 Media Fermentasi .....	23
4.2 Selama Fermentasi .....	25
4.2.1 Total Mikroflora .....	25
4.2.2 Nilai pH .....	28
4.2.3 Kadar Gula .....	32
4.2.4 Intensitas Fermentasi .....	34

4.2.5 Korelasi antara Total Mikroflora, pH, dan Kadar Gula.....	37
4.2.6 Kadar Alkohol Akhir .....	38
4.3 Produk Fermentasi .....	39
4.3.1 Bentuk Visual Biji .....	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	42
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN .....	46
BIODATA .....	55



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi kimia pulp kakao.....	6
Tabel 2. Rata – rata jumlah mikroflora pada starter, kadar gula, dan pH setelah inkubasi 2 hari.....	22
Tabel 3. Rata-rata jumlah mikroflora fermentatif, kadar gula, dan pH media pulp kakao mentah yang digunakan sebagai media fermentasi. ....	25
Tabel 4. Kadar alkohol yang dihasilkan pada setiap perlakuan setelah 8 hari fermentasi.....	38
Tabel 5. Tekstur dan warna biji yang dihasilkan pada setiap perlakuan pada saat hari keempat.....	39



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Kakao.....	5
Gambar 2. Penampang Isi Buah Kakao .....	5
Gambar 3. Hewan Musang ( <i>Paradoxurus hermaphroditus</i> ).....	10
Gambar 4. Mikroflora starter setelah inkubasi 2 hari.....	21
Gambar 5. Mikroflora pada media fermentasi .....	24
Gambar 6. Profil perkembangan total mikroflora selama fermentasi .....	26
Gambar 7. Total Mikroflora tertinggi pada hari ketiga pada masing-masing perlakuan a) tanpa penambahan starter b)penambahan starter 5%. c) penambahan starter 10%. d) penambahan starter 15%. .....	29
Gambar 8. Perkembangan nilai pH setelah penambahan masing-masing starter yang berasal dari pemberian starter 0%, 5%, 10%, 15% .....	30
Gambar 9. Perkembangan kadar gula sisa setelah penambahan masing-masing starter yang berasal dari pemberian starter 0%, 5%, 10%, 15% .....	33
Gambar 10. Fermentasi anaerob kakao dengan pemberian dosis starter yang berbeda .....	36
Gambar 11. Intensitas fermentasi masing-masing perlakuan selama 8 hari fermentasi .....	37
Gambar 12. Korelasi antara total mikroflora dengan nilai pH dan kadar gula dalam fermentasi kakao .....	38
Gambar 13. Bentuk visual biji pada hari keempat setelah dijemur dan dikeringkan.....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja.....	47
Lampiran 2. Biji-bijian Kakao Hasil Pencernaan Luwak (Feses).....	49
Lampiran 3. Total Mikroflora dalam cfu/ml Selama 8 Hari Fermentasi (log.x) ...	50
Lampiran 4. Rata – rata Nilai pH Selama Fermentasi.....	50
Lampiran 5. Rata-rata Nilai Perkembangan Kadar Gula Selama Fermentasi.....	51
Lampiran 6. Nilai Intensitas Fermentasi. ....	51
Lampiran 7. Nilai Kadar Alkohol Akhir. ....	51
Lampiran 8. Biji Kakao Hasil Fermentasi.....	52
Lampiran 9. Perlakuan Awal Fermentasi. ....	53
Lampiran 10. Kondisi Awal Media Fermentasi. ....	54



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Fermentasi merupakan proses produksi suatu produk dengan mikroba sebagai organisme pemroses. Proses fermentasi merupakan tahap yang paling penting dalam menghasilkan suatu produk olahan yang berkualitas. Karena proses dari fermentasi ini nantinya akan memberikan hasil akhir yang bermutu terhadap uji organoleptik suatu produk olahan tersebut. Dalam dunia industri, proses fermentasi ini sangat memiliki arti penting untuk meningkatkan kualitas dan nilai ekonomis produk, terutama industri-industri makanan yang memerlukan aroma dan citarasa.

Salah satu industri fermentasi yang telah teruji dalam keunggulan aroma, warna, dan citarasanya yaitu kopi Luwak. Bagi pecinta minuman kopi tentu sudah merasa tidak asing mendengar istilah kopi Luwak. Kemasyhuran kopi ini telah terkenal sampai luar negeri. Bahkan di Amerika Serikat terdapat kafe atau kedai yang menjual kopi Luwak (*civet coffee*) dengan harga yang cukup mahal. Kopi yang diperoleh dari kotoran Luwak ini bisa mencapai harga U\$.100 per 450 gram (Djunaidy, 2010 )

Kopi Luwak sendiri merupakan kopi yang diproduksi dari biji kopi yang telah dimakan dan melewati saluran pencernaan binatang Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*). Didalam pencernaan Luwak terdapat bakteri yang dapat menurunkan kadar protein pada kopi sehingga biji kopi terasa tidak pahit (Manurung, 2010). Dalam uji organoleptik, kopi ini memiliki kualitas sangat tinggi dari segi citarasa, warna, dan aroma. Dimana uji organoleptik tersebut berkembang akibat adanya fermentasi yang terjadi di dalam pencernaan Luwak. Sementara Luwak itu sendiri merupakan hewan yang termasuk famili *Viverridae* yaitu hewan pemakan buah dan sedikit tambahan juga memakan binatang kecil. Luwak memilih buah yang

matang untuk dimakannya. Pada saat buah yang dimakan sampai ke saluran pencernaan, daging buahnya akan tercerna sementara bijinya tidak tercerna dan dikeluarkan utuh melalui fesesnya (Setia, 2008).

Selama ini kebanyakan orang menganggap bahwa binatang Luwak hanya memakan biji kopi. Biji kopi hasil pencernaan Luwak ini akhirnya terkenal karena publikasinya yang sampai mendunia dengan diimbangi kualitas tinggi dari uji organoleptiknya yang meliputi aroma, kepahitan, warna serta citarasa. Namun apakah hanya kopi yang dimakan Luwak jawabnya tidak. Hal mengejutkan terbukti dari prapenelitian yang telah ditemukan dilapangan bahwa tidak hanya kopi yang dimakan Luwak tetapi buah kakaopun ternyata menjadi salah satu makanan bagi Luwak dengan bukti ditemukannya kumpulan biji kakao yang berbalut feses Luwak yang ditemukan di Perkebunan Kakao PT. Inang Sari, Padang Mardani, Lubuk Basung.

Dari prapenelitian yang telah dilakukan di laboratorium Mikrobiologi, ternyata mikroflora pemfermentasi dalam pencernaan Luwak tersebut merupakan mikroflora yang sangat asam dengan potensi besarnya yaitu merubah karbohidrat menjadi asam. Potensi fermentatif oleh mikroflora pencernaan Luwak ini telah teraplikasi dan teruji pada kopi Luwak secara alami. Bukti potensifnya dapat terlihat dari daerah bening pada medium GTACaCO<sub>3</sub> yang dibentuk oleh mikroflora pembentuk asam yang diisolasi dari pencernaan Luwak tersebut. Adanya mikroflora pembentuk asam dalam pencernaan Luwak ini sangat memungkinkan terjadinya proses fermentasi terhadap biji kakao yang dimakan oleh Luwak. Biji kakao yang telah dikeluarkan bersamaan dengan feses Luwak ini merupakan bukti adanya fermentasi kakao istimewa yang telah terjadi secara alami di alam.

Kakao merupakan salah satu komoditi perdagangan yang mempunyai peluang untuk dikembangkan dalam rangka usaha memperbesar atau meningkatkan

devisa negara serta penghasilan petani kakao. Produksi biji kakao Indonesia secara signifikan terus meningkat, namun mutu yang dihasilkan sangat rendah. Hal tersebut tercermin dari harga biji kakao Indonesia yang relatif rendah dan dikenakan potongan harga dibandingkan dengan harga produk sama dari negara produsen lain (Situmorang, 2010)

Selama ini fermentasi yang dilakukan terhadap pengolahan biji kakao hanyalah fermentasi alami atau spontan. Bahkan berdasarkan survei di lapangan, sebagian dari petani kakao tidak melakukan fermentasi. Kecenderungan untuk mengolah biji kakao tanpa fermentasi, yaitu dengan cara merendam biji dalam air untuk membuang pulp dan dilanjutkan dengan proses penjemuran dengan alasan kalau difermentasi membutuhkan waktu yang lama untuk dijual. Padahal Amin (2005), mengatakan bahwa dengan fermentasi serta menambahkan mikroba tertentu sebagai starter dapat mendukung percepatan waktu fermentasi dan pembentukan aroma, citarasa, dan warna khas kakao.

Penelitian mengenai kakao yang difermentasi oleh mikroflora pemfermentasi dari pencernaan Luwak ini belum ada. Bukankah ini adalah suatu hal yang sangat mungkin untuk membuat kakao Luwak dengan adanya penemuan dilapangan tersebut. Ini adalah sebuah inovasi dan trendmark tersendiri bagi Indonesia dalam menjawab tantangan global atas pertanyaan rendahnya nilai jual biji kakao Indonesia ditingkat dunia. Penelitian ini sangat diperlukan karena merupakan salah satu solusi dalam mengatasi permasalahan rendahnya mutu biji kakao Indonesia. Dengan ditemukannya mikroflora pemfermentasi oleh Luwak inilah munculnya penelitian mengenai potensi fermentatif mikroflora pencernaan Luwak dalam fermentasi kakao (*Theobroma cacao*, L) demi menciptakan mutu biji kakao berkualitas dan bernilai jual tinggi.

## 1.2 Perumusan Masalah

Adapun permasalahan yang dapat dikemukakan dalam penelitian ini adalah :

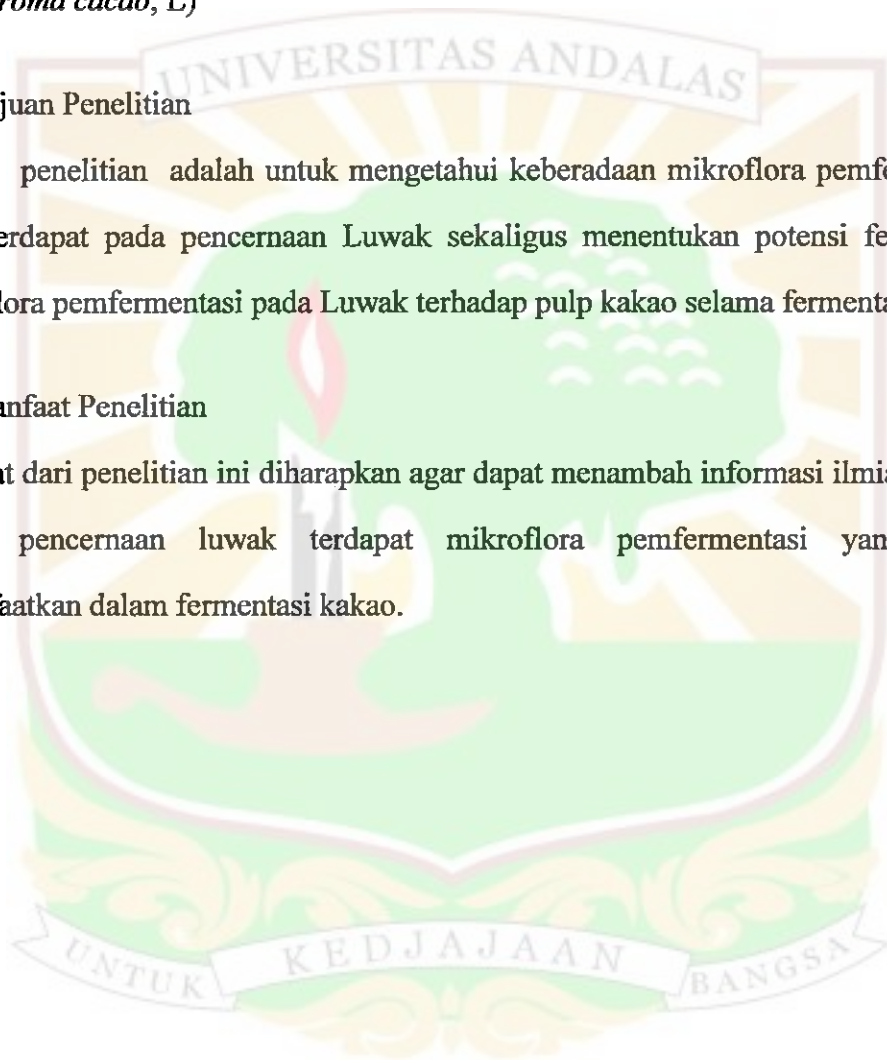
Mengetahui keberadaan mikroflora pemfermentasi hasil pencernaan Luwak serta bagaimana potensi fermentatif oleh mikroflora tersebut selama fermentasi kakao (*Theobroma cacao*, L)

## 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui keberadaan mikroflora pemfermentasi yang terdapat pada pencernaan Luwak sekaligus menentukan potensi fermentatif mikroflora pemfermentasi pada Luwak terhadap pulp kakao selama fermentasi.

## 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan agar dapat menambah informasi ilmiah bahwa dalam pencernaan luwak terdapat mikroflora pemfermentasi yang dapat dimanfaatkan dalam fermentasi kakao.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kakao

Kakao (*Theobroma cacao*, L.) merupakan satu-satunya spesies diantara 22 jenis dalam genus *Theobroma* yang diusahakan secara komersial. Tanaman ini diperkirakan berasal dari lembah Amazone di Benua Amerika yang mempunyai iklim tropis. Colombus dalam pengembaraan dan petualangannya di benua menemukan dan membawanya ke Spanyol (Poedjiwidodo *cit* Anonimous<sup>a</sup> 2010) Sistematika tanaman kakao secara lengkap adalah sebagai berikut.

- Divisi : *Spermatophyta*
- Anak divisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotyledoneae*
- Bangsa : *Malvales*
- Famili : *Sterculiaceae*
- Genus : *Theobroma*
- Spesies : *Theobroma cacao*, L. (Poedjiwidodo *cit* Anonimous<sup>a</sup> 2010).



Gambar 1. Tanaman Kakao



Gambar 2. Penampang Isi Buah Kakao

Buah kakao terdiri dari 4 bagian, yaitu kulit, plasenta, pulp serta biji. Biji terdiri dari 2 bagian, yaitu kulit biji (testa) dan keping biji. Keping biji merupakan bagian terbesar dari biji yaitu 86 - 90%, sisanya merupakan kulit biji mencapai 10 - 14%. Pulp merupakan lapisan lendir dari biji kakao terdiri dari 80-90 % air, dan gula 4-8%. Komposisi pulp yang demikian merupakan media pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme (Ambardini *cit.* Nada1999).

Tabel 1. Komposisi Kimia Pulp Kakao

Komponen	Persen (%)
Air	80 – 90
Albuminoid, bahan-bahan yang pahit	0,5 - 0,7
Glukosa	8 – 13
Sukrosa	0,4 – 1,0
Pektin	1 – 1,5
Asam Tidak Menguap	0,2 – 0,4
Besi Oksida	0,03
Garam-garam	0,4 – 0,45

Sumber : Nasution (1976) *cit.* Anonimous (2010<sup>a</sup>)

Biji kakao sangat diperlukan dalam berbagai macam industri karena sifatnya yang khas, yaitu : (1) biji kakao mengandung lemak yang cukup tinggi (55 %), dimana lemaknya mempunyai sifat yang unik yaitu membeku pada suhu kamar, akan tetapi mencair pada suhu tubuh, (2) bagian padatan biji kakao mengandung komponen flavor dan pewarna yang sangat dibutuhkan dalam industri makanan (Djarmiko dan Wahyudi, 1986 *cit.* Akbar, 2010).

Adapun mutu biji kakao menurut Standar Nasional Indonesia adalah sebagai berikut: (I). Bentuk biji : Bulat, lonjong penuh, tebal 1 cm, panjang 1,5 cm dan lebar 1,5 cm. Warna : Coklat rata dan cerah, Bau : Khas cokelat, % ka (b/b) maksimal : 8 % , kadar lemak (b/b) min : 55%. (II). Bentuk biji : sedikit berlekuk-lekuk, warna : Coklat rata dan cerah atau coklat muda, Bau : Khas cokelat, % ka (b/b) maksimal : 8 % , kadar lemak (b/b) minimal 55%. (III). Bentuk biji : Keriput, warna : Coklat rata

dan cerah, Bau : Khas cokelat, % ka (b/b) maksimal : 8 %, kadar lemak (b/b) minimal 55% (SNI 01 – 2323 – 2000 *cit.* Anonimous, 2010<sup>a</sup>).

## 2.2 Fermentasi Kakao (*Theobroma cacao, L*)

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal (Ivan, 2010).

Fermentasi pada pengolahan kakao selain untuk melepaskan pulp dari biji juga untuk mematikan biji, memperbaiki flavor dan menimbulkan warna coklat (Alamsyah, 1991 *cit.* Putra, *et al.*, 1996). Pada tahap awal fermentasi, yeast dapat merombak gula pulp menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> serta metabolisme asam sitrat karena didukung oleh kondisi pH dan suplai oksigen yang rendah. Selanjutnya desimilasi asam sitrat menyebabkan naiknya pH dan suhu akibat panas yang ditimbulkan dari fermentasi alkohol dan adanya aerasi menyebabkan produksi asam asetat menjadi dominan (Lopez *cit.* Putra *et al.*, 1996).

Pada fermentasi biji kakao, asam asetat dan panas yang dihasilkan akan menyebabkan biji mati, sehingga memungkinkan pada tahap fermentasi berikutnya terjadi perubahan-perubahan yang penting secara enzimatik pada kotiledon biji. Perubahan tersebut diyakini mengarah pada perbaikan mutu hasil biji kakao yang kering (Sulistiyowati, 1988; Alamsyah, 1991 *cit.* Putra *et al.*, 2008)

Pentingnya fermentasi pada biji kakao dikarenakan pada proses ini dihasilkan calon senyawa aroma khas cokelat. Selain itu selama proses ini terjadi penurunan kadar polifenol yang dapat menurunkan rasa kelat, namun proses fermentasi tidak boleh berlebihan (*over fermentation*) karena selain merusak citarasa dan aroma, juga



akan terjadi pembentukan warna yang berlebihan. Perubahan senyawa selama fermentasi ini tidak lepas dari aktivitas enzimatik mikroorganisme, yang berperan untuk memecah gula menjadi alkohol dan selanjutnya terjadi pemecahan alkohol menjadi asam asetat. Pada awal fermentasi kakao, mikroorganisme yang aktif adalah khamir (*yeast*) yang memecah sukrosa, glukosa dan fruktosa menjadi etanol. Bersamaan dengan hal itu, terjadi pula pemecahan pektin dan metabolisme asam organik. Aktivitas selanjutnya dilakukan beberapa genera bakteri asam laktat dan asam asetat yang memecah etanol menjadi asam laktat. Selain itu juga dihasilkan asam asetat, dan asam organik lain seperti asam sitrat dan malat (Atmana, 2000 *cit.* Ambardini, 2005).

Fermentasi merupakan inti dari proses pengolahan biji kakao. Proses ini tidak hanya bertujuan untuk membebaskan biji kakao dari pulp dan mematikan biji, namun terutama juga untuk memperbaiki dan membentuk citarasa coklat yang enak dan menyenangkan serta mengurangi rasa sepat dan pahit pada biji (Widyotomo, *et al.*, 2004).

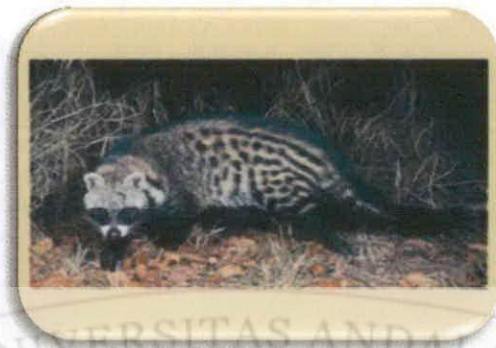
Menurut penelitian Putra *et al.* ( 1996 ) bahwa fermentasi pengolahan kakao skala petani atau fermentasi spontan berada pada kisaran optimum sekurang – kurangnya 5 hari dan tidak lebih dari 7 hari. Hasil penelitian Adi, *et al.* ( 2006 ) menjelaskan bahwa proses fermentasi sangat berpengaruh terhadap mutu kimia dan organoleptik produk olahan yang dihasilkan. Hasil analisis mutu kimia menunjukkan bahwa pasta, lemak, dan bubuk coklat yang dibuat dari biji kakao yang difermentasi sempurna memiliki kadar lemak yang lebih tinggi dibandingkan produk olahan dari biji kakao yang tidak difermentasi dan yang difermentasi kurang sempurna. Secara keseluruhan mutu organoleptik pasta dan bubuk coklat dari biji yang difermentasi sempurna menghasilkan nilai yang sempurna.

### 2.3 Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*, L)

Musang adalah nama umum bagi sekelompok mamalia pemangsa (bangsa karnivora) dari famili *Viverridae*. Sekilas musang mirip seperti kucing dan memiliki ekor yang panjang. Hewan ini kebanyakan merupakan hewan malam (nokturnal) dan pemanjat yang baik. Yang paling dikenal dari berbagai jenisnya adalah Musang Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) (Avidianto, 2009). Adapun klasifikasi dari hewan ini adalah

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Subfilum	: <i>Vertebrata</i>
Kelas	: <i>Mammalia</i>
Ordo	: <i>Carnivora</i>
Famili	: <i>Viverridae</i>
Subfamili	: <i>Paradoxurinae</i>
Genus	: <i>Paradoxurus</i>
Species	: <i>Paradoxurus hermaphroditus</i> (Pallas, 1777 cit Anonimous. 2010).

Musang bertubuh sedang, dengan panjang total sekitar 90 cm (termasuk ekor, sekitar 40 cm atau kurang). Abu-abu kecoklatan dengan ekor hitam-coklat mulus. Sisi atas tubuh abu-abu kecoklatan, dengan variasi dari warna tengguli (coklat merah tua) sampai kehijauan. Jalur di punggung lebih gelap, biasanya berupa tiga atau lima garis gelap yang tidak begitu jelas dan terputus-putus, atau membentuk deretan bintik-bintik besar. Sisi samping dan bagian perut lebih pucat. Terdapat beberapa bintik samar di sebelah menyebelah tubuhnya (Avidianto, 2009).



Gambar 3. Hewan Musang (*Paradoxurus hermaphroditus*)

Musang atau yang lebih dikenal dengan nama Luwak, aktif mencari makan pada malam hari. Walaupun termasuk kedalam hewan Karnivora (yang pada umumnya jenis-jenis yang dimasukkan dalam golongan ini adalah pemakan daging) tapi khusus hewan ini yang masuk famili *Viverridae* adalah pemakan buah dan sedikit tambahan memakan juga binatang kecil (Setia, 2008). Di tempat-tempat yang bisa dilaluinya, di atas batu atau tanah yang keras, seringkali didapati tumpukan kotoran Luwak dengan aneka biji-bijian yang tidak tercerna di dalamnya. Pencernaan Luwak ini begitu singkat dan sederhana, sehingga biji-biji yang dimakan keluar lagi dengan utuh melalui feses setelah mengalami proses fermentasi melalui pencernaannya (Avidianto, 2009).

Didalam pencernaan Luwak, terdapat bakteri asam *Leuconostoc* yang dapat memfermentasi biji-bijian yang dimakan Luwak dan bijian dikeluarkan kembali dalam bentuk utuh (Manurung, 2010). Djunaidy (2010) melaporkan hasil penelitian mahasiswa Jember di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia bahwa adanya peranan bakteri asam laktat (BAL) dalam fermentasi kopi Luwak. Setelah meneliti feses Luwak, ditemukan 32 isolat bakteri di dalamnya. Sebanyak empat isolat yang dominan merupakan BAL dari genus *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*.

Bakteri yang terdapat didalam pencernaan Luwak adalah 7 strain *Leuconostoc paramesen teroides* yang dihasilkan dari kotoran luwak, jika bakteri

dikulturkan maka akan dapat menghasilkan kualitas kopi setara dengan kopi luwak dengan cara menambahkan bakteri tersebut pada saat fermentasi (Wikipedia, 2009).

#### 2.4 Flavor Biji Kakao

Fermentasi biji kakao merupakan suatu proses pengolahan pasca panen yang mempengaruhi mutu biji kakao. Fermentasi biji kakao akan menimbulkan citarasa flavor aroma, dan warna, karena selama fermentasi terjadi perubahan fisik, kimia dan biologi dalam biji kakao. Di dalam biji kakao akan terjadi penguraian senyawa polifenol, protein dan gula oleh enzim. Penguraian senyawa-senyawa tersebut akan menghasilkan aroma, perbaikan rasa dan perubahan warna. Faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan fermentasi adalah wadah fermentasi, waktu, aerasi, pembalikan, aktivitas mikroba dan penguraian kandungan pulp. Penguraian kandungan pulp ditentukan dengan lamanya pemeraman buah kakao setelah dipetik (Pusat Penelitian dan Pengembangan Pertanian 2010)

Flavor kakao terutama terbentuk setelah biji mengalami proses fermentasi dan diikuti dengan proses pengeringan. Dua tipe reaksi biokimia yang bertanggung jawab untuk memproduksi prekursor flavor adalah reaksi hidrolisis saat fermentasi dan reaksi oksidasi selama pengeringan biji kakao. Untuk menghasilkan pengembangan flavor yang baik, kedua reaksi tersebut harus diikuti dalam urutan yang benar dan tepat (Lopez, 1986 *cit.* Anonymous, 2010<sup>a</sup>).

Fermentasi pada pengolahan biji kakao menghendaki terjadinya perubahan kimiawi dalam biji. Perubahan kimia tersebut dikehendaki selain agar dapat terbentuknya komponen prekursor (calon) aroma dan memperbaiki citarasa juga untuk menghasilkan warna coklat yang menarik (Putra, *et al.* 2008).

Senyawa pembentuk citarasa pada biji kakao adalah polifenol, teobromin dan asam-asam organik. Polifenol dan teobromin yang terdegradasi selama fermentasi

memungkinkan terjadinya pengurangan rasa sepat dan pahit yang ditimbulkan oleh masing-masing senyawa tersebut. Sedangkan asam-asam organik seperti asam asetat dan laktat yang terbentuk pada pulp biji kakao selama fermentasi akan terdifusi kedalam biji kakao sehingga dapat mempengaruhi keasaman biji (Lopez, 1986 *cit. Putra, et al* 2008).

Komponen prekursor aroma biji kakao diantaranya asam amino dan gula reduksi terbentuk dari hasil hidrolisis protein dan sukrosa biji kakao (Lopez, 1986 *cit. Putra, et al* 2008). Komponen prekursor aroma yang berkembang menjadi aroma Maillard dapat berlangsung pada saat penyangraian. Beberapa aldehid yang terdapat pada komponen aroma biji kakao dapat terbentuk dari hasil pemanasan asam amino dan gula pereduksi seperti halnya yang terjadi pada proses penyangraian (Beckett, 1988 *cit. Putra et al.*, 2008).

Selama penyangraian senyawa-senyawa calon pembentuk citarasa bereaksi satu sama lain melalui reaksi Maillard, menghasilkan komponen-komponen mudah menguap dan beraroma khas coklat, termasuk di dalamnya golongan alkohol, eter, furan, tiazol, piron, asam, ester, aldehida, imin, amin oksazol, pirazin dan pirol. Keasaman keping biji kakao mempengaruhi terhadap kualitas dan kuantitas komponen aroma yang dihasilkan selama penyangraian. Keasaman juga memberikan pengaruh terhadap cita rasa produk akhir, keasaman yang tinggi meninggalkan rasa asam yang tidak disukai (Misnawi *et al.* 2006 *cit. Suprapti*, 2007).

### III. PELAKSANAAN PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan April 2011 sampai selesai di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang.

#### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu dengan perlakuan penambahan starter mikroflora dari pencernaan Luwak dengan 4 perlakuan

A= tanpa penambahan starter

B= penambahan starter 5%

C= penambahan starter 10%

D= penambahan starter 15%

Sementara untuk melihat perbedaan potensi fermentatif antara perlakuan tanpa starter dan pemberian starter dianalisa secara deskriptif dengan parameter pengamatan yaitu perkembangan mikroflora selama fermentasi, nilai pH, intensitas fermentasi, dan kadar gula.

#### 3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : kompor, beaker glass, gelas ukur, batang pengaduk, gelas kaca, kertas koran, karet gelang, hot plate, kapas, tabung reaksi, rak tabung reaksi, autoklaf, petridish, lampu bunsen, pipet micrometer, vortex, pH meter digital, colony counter, refraktometer, jarum ose, spidol permanen, kertas label, alumunium foil, erlenmeyer, alat destilasi, timbangan digital, pipet tetes, inkubator, panci, baskom, kertas label, tissue steril, spidol permanen dan test tube.

Sedangkan bahan yang digunakan adalah : Feses Luwak, alkohol 70 %, Aquadest, Air steril, Pulp kakao dan medium GTA + CaCO<sub>3</sub>.

### 3.4 Cara Kerja

Secara skematis dapat dilihat pada skema kerja (Lampiran 1)

#### 3.4.1 Pengambilan Sampel Feses Luwak

Feses Luwak yang dimaksud adalah biji kakao yang telah melewati proses pencernaan oleh Luwak (Lampiran 2) didapatkan di areal perkebunan kakao, salah satunya di Perkebunan Kakao PT. Inang Sari, Padang Mardani, Lubuk Basung.

#### 3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan seperti petridish, erlenmeyer, test tube , kertas koran, kain blacu, dan medium disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 15 lbs selama 20 menit dan khusus gelas – gelas fermentasi disterilkan melalui uap panas selama 30 menit, setelah itu langsung ditutup dengan plastik steril dan diikat dengan karet gelang. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi (Hadioetomo, 1990).

#### 3.4.3 Pembuatan Medium

Medium yang digunakan adalah medium GTA + CaCO<sub>3</sub> (Glukosa Tripton Agar + Kalsium Karbonat) dengan komposisi 20 glukosa, 2,5 tripton, 20 gram agar, dengan penambahan CaCO<sub>3</sub> sebanyak 15 gram/L berguna untuk mengetahui keberadaan mikroflora pemfermentasi biji kakao yang diisolasi dari feses Luwak. Kemudian dicukupkan volumenya dengan aquadest menjadi 1000 ml. Setelah itu medium dimasukkan ke dalam Erlenmeyer untuk disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup> C pada tekanan 15 lbs, selama 20 menit (Lichstein, 1944).

#### 3.4.4 Pembuatan Starter

Sekitar 100 g feses Luwak yang telah didapatkan di lapangan direndam dengan alkohol 50% selama 3 menit. Lalu dicuci dengan air steril mengalir. Setelah itu ditempatkan dalam wadah steril dengan ditambahkan air steril 250 ml. Dibiarkan selama 1 jam. Rendaman feses dihomogenkan sehingga air akan menjadi keruh ( starter cair ). Sekitar 20% starter cair ini dimasukkan ke media starter ( pulp kakao steril ) di dalam gelas steril. kemudian ditutup dengan plastik dan diberi label. Starter tersebut dibiarkan selama 2 hari pada suhu ruangan. Setelah 2 hari, dihitung jumlah populasi bakteri pembentuk asamnya secara *pourplate* dengan metoda pengenceran, diukur nilai pH dengan pH meter digital, dan kadar gulanya dengan refraktrometer.. Selanjutnya starter siap digunakan.

#### 3.4.5 Persiapan Media Fermentasi Kakao

Semua isi buah kakao dimasukkan kedalam satu baskom besar yang telah diaseptiskan. Kemudian diaduk hingga homogen. Diukur pH awal dan kadar gula awal. Sementara penghitungan total mikroflora dilakukan secara *pourplate* dengan metoda pengenceran.

#### 3.4.6 Pemberian Dosis Starter pada Perlakuan

Media fermentasi dipersiapkan untuk setiap perlakuan dengan membaginya menjadi 4 bagian. Satu bagian akan dijadikan sebagai kontrol atau tanpa penambahan starter (0%). Sementara tiga bagiannya lagi ditambahkan dengan starter yaitu 5 %, 10%, 15%. Sementara itu disiapkan empat seri gelas untuk pencuplikan selama 8 hari. Diambil satu seri gelas (satu seri gelas berjumlah 8 gelas) kemudian diisikan dengan perlakuan tanpa starter (0%) pada masing2 gelasnya. Begitupun selanjutnya untuk perlakuan 5% starter, 10% starter, dan 15% starter. Lalu masing – masing gelas ditutup dengan plastik steril yang telah disemprot dengan alkohol dan diberi label.



Lalu ditempatkan pada keadaan hangat di atas suhu kamar. Setiap 24 jam dilakukan pencuplikan, lalu dihitung total mikroflora, diukur nilai pH, kadar gula dan intensitas fermentasi sampai hari terakhir pencuplikan. Pada hari akhir pencuplikan diukur kadar alkohol akhir.

#### 3.4.7 Penghitungan Total Mikroflora Pembentuk Asam

Penghitungan jumlah mikroflora pembentuk asam dilakukan secara *pourplate* dengan metoda pengenceran. Di pipet 1 ml hasil pengenceran, kemudian dimasukkan kedalam petridish dan dituang dengan medium GTA+CaCO<sub>3</sub> lalu dihomogenkan dengan cara digoyang hingga rata dan dibiarkan beku. Kemudian diinkubasi pada suhu diatas suhu kamar selama 2-3 hari. Setelah tiga hari tersebut terlihat zona bening (*halozone*), dihitung total daerah halo tersebut dengan colony counter. Jumlah koloni yang akan dihitung dengan kisaran 30 – 300 koloni tiap petridish. Kemudian mengalikan jumlah koloni yang didapat dengan angka pengenceran dengan satuan *colony forming unit* (cfu) (Steinberg *et al.*, 2006).

#### 3.4.8 Pengukuran pH

Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter digital Corning Pinnacle 530 yang sebelumnya sudah distandarkan dengan larutan buffer (pH 4 dan pH 7). Kemudian elektroda dicuci dengan aquadest steril, dicelupkan ke dalam larutan sampel. pH sampel dapat dicatat dan diketahui dari angka yang tertera pada pH meter digital.

#### 3.4.9 Pengukuran Kadar Gula

Pengukuran ini menggunakan Refraktometer. Masing-masing perlakuan yang akan diukur kadar gulanya, diambil cairan (pulp)nya, kemudian dimasukkan kedalam tabung Eppendorf dan disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit

sampai bagian natan dan supernatan terpisah. Cairan sampel hasil sentrifus diteteskan pada permukaan Refraktometer. Bagian batas gelap dan terang diatur sehingga batasnya terlihat jelas. Selanjutnya batas yang terlihat antar gelap dan terang akan dibaca oleh skala batas. Skala inilah yang menunjukkan kadar gula yang terdapat pada sampel (Schmidt dan Hansens, 2006)

#### 3.4.10 Penghitungan Intensitas Fermentasi

Penghitungan ini dilakukan dengan cara menimbang berat sampel di botol fermentasi setiap 24 jam selama 8 hari. Untuk menghitung intensitas fermentasi ini dilakukan secara anaerob dengan menyumbat mulut botol sampel dengan memakai tabung fermentor. Tabung fermentor ini memiliki sistem kerja menghambat  $O_2$  yang masuk namun dapat membebaskan  $CO_2$  sehingga berat sampel yang difermentasi berkurang. Kemudian sampel fermentasi ditimbang dengan menggunakan timbangan digital Kern max 400 gram yang sudah ditera dengan menggunakan pemberat standar 200 gram. Setiap pengurangan berat yang terjadi menunjukkan adanya pembebasan  $CO_2$  selama fermentasi.

#### 3.4.11 Penghitungan Kadar Alkohol Akhir

Kadar Alkohol Akhir dihitung setelah fermentasi terakhir yaitu di hari terakhir pengamatan. Penghitungan ini dilakukan dengan cara penyulingan menggunakan labu destilasi. Sampel yang telah difermentasi selama 8 hari diambil sebanyak 30 ml dengan gelas ukur steril untuk dimasukkan kedalam labu destilasi di atas lampu spiritus. Hasil dari sulingan ditampung sebanyak 27 ml pertama lalu ditambahkan 3 ml air suling sehingga berisi 30 ml. Lalu larutan tersebut dimasukkan ke dalam picnometer dan ditimbang. Pada saat penimbangan dicatat suhu ruangan. Berat jenis alkohol dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$BJ = \frac{B_1 - B_0}{B_2 - B_0}$$

$$B_2 - B_0$$

Keterangan : BJ = Berat Jenis  
B<sub>0</sub> = Berat picnometer kosong  
B<sub>1</sub> = Berat picnometer berisi destilat  
B<sub>2</sub> = Berat picnometer berisi aquadest

Selanjutnya kadar alkohol dapat diketahui dengan mencocokkan dengan daftar bobot jenis kadar alkohol (etanol) dalam air.

### 3.5 Pengamatan

#### 3.5.1 Total Mikroflora

Penghitungan dan pengamatan total Mikroflora ini dilakukan pada sediaan starter. Kemudian total mikroflora pada pencuplikan pulp kakao setelah penambahan starter dan kontrolnya setiap 24 jam selama 8 hari. Dihitung secara *pourplate* dengan metoda pengenceran dan inkubasi selama 48 jam.

#### 3.5.2 Nilai pH

Pengamatan nilai pH pada starter, pulp kakao sebelum penambahan starter, serta pencuplikan pulp kakao setelah penambahan starter dan kontrolnya setiap 24 jam selama 8 hari. Dilakukan dengan menggunakan pH meter digital Corning Pinnacle 530 yang sebelumnya sudah distandarkan dengan larutan buffer (pH 4 dan pH 7).

#### 3.5.3 Kadar Gula

Pengamatan kadar gula dilakukan pada starter, pulp kakao sebelum penambahan starter, serta pencuplikan pulp kakao setelah penambahan starter dan kontrolnya setiap 24 jam selama 8 hari. Dilakukan dengan menggunakan Refraktometer.

#### 3.5.4 Intensitas Fermentasi

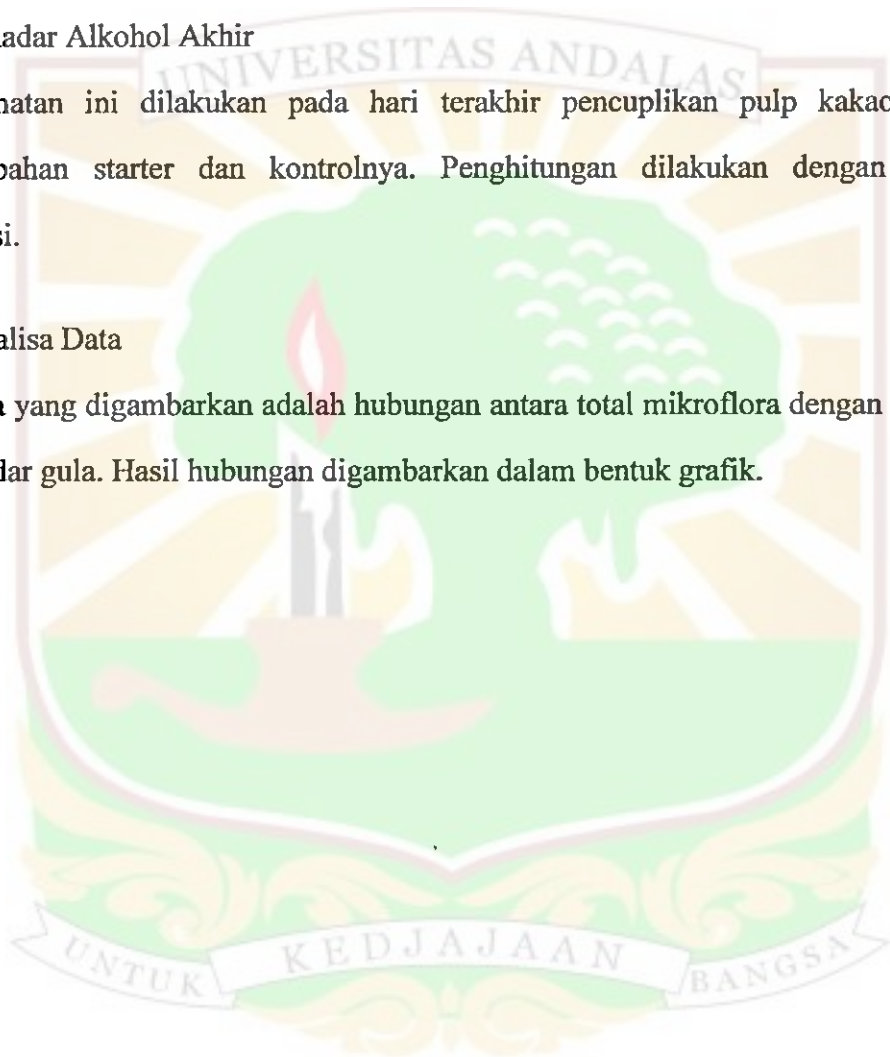
Pengamatan ini dilakukan pada pencuplikan dan penimbangan pulp kakao setelah penambahan starter dan kontrolnya setiap 24 jam selama 8 hari. Dilakukan pada fermentasi anaerob dengan menggunakan tabung fermentor.

#### 3.5.5 Kadar Alkohol Akhir

Pengamatan ini dilakukan pada hari terakhir pencuplikan pulp kakao setelah penambahan starter dan kontrolnya. Penghitungan dilakukan dengan metoda destilasi.

#### 3.6 Analisa Data

Analisa yang digambarkan adalah hubungan antara total mikroflora dengan nilai pH dan kadar gula. Hasil hubungan digambarkan dalam bentuk grafik.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini adalah bentuk pengembangan dari penelitian tentang fermentasi kakao yang sudah ada sebelumnya. Pentingnya suatu proses fermentasi mendorong sebagian orang untuk terus berupaya menemukan cara yang terbaik dalam pengolahan kakao demi menghasilkan biji kakao yang berkualitas. Selama ini proses fermentasi hanya dilakukan secara spontan bahkan terkadang tanpa fermentasi sehingga biji kakao kering yang dihasilkan kurang baik.

Beberapa penelitian telah dicobakan untuk menambahkan starter tertentu untuk dapat mendukung percepatan waktu fermentasi dan pembentukan aroma, cita rasa, dan warna khas kakao. Seperti penelitian pengaruh penambahan ragi roti terhadap lama fermentasi biji kakao yang menghasilkan waktu fermentasi optimum 4 hari oleh Hayati. N (2009). Serta Indrayati (2011) yang menambahkan starter dari mikroflora alami yang diisolasi dari beberapa varietas induk kakao ICS, TSH, dan Scavina.

Sementara penelitian ini memanfaatkan starter mikroflora pada pencernaan Luwak. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ternyata mikroflora pada pencernaan Luwak ini cukup potensial untuk dimanfaatkan dalam fermentasi kakao. Adapun hasil yang didapatkan selama penelitian sebagai berikut :

### 4.1 Kondisi Awal

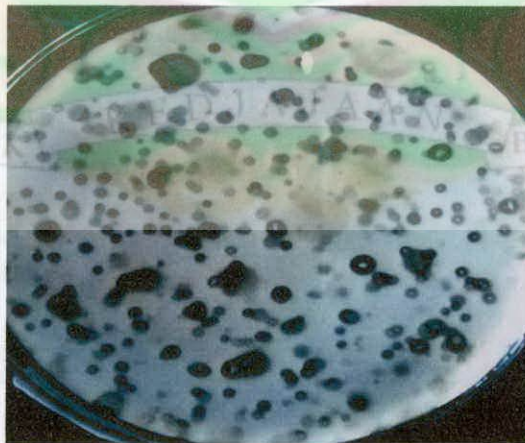
#### 4.1.1 Starter

Starter yang di tambahkan pada masing-masing perlakuan adalah cairan (pulp) kakao yang telah ditumbuhkan didalamnya mikroflora dari pencernaan Luwak yang memiliki sifat fermentatif dan telah mengalami masa inkubasi selama dua hari. Inkubasi ini bertujuan untuk mengaktifkan dan mengembangbiakkan mikroflora dan

memberikan waktu untuk beradaptasi sebelum starter tersebut siap untuk ditambahkan ke media fermentasi.

Selama waktu inkubasi, starter cair tersebut memperlihatkan kerja dari mikroflora yang terkandung pada cairan (pulp) kakao tersebut yaitu terbentuknya gelembung gas yang bergerak ke permukaan cairan. Selain itu juga dihasilkan aroma yang harum. Hal ini mengindikasikan bahwa jumlah inokulum mikroflora yang tinggi pada starter akan menyebabkan semakin banyak mikroba yang akan bekerja dan membentuk komponen-komponen asam organik misalnya asam asetat pada media perlakuan selama proses fermentasi sehingga aroma biji kakao semakin meningkat nantinya.

Untuk melihat keberadaan mikroflora tersebut dalam pulp kakao, maka dilakukan penghitungannya melalui media pembiakan Glukosa Tripton Agar +  $\text{CaCO}_3$  (GTA  $\text{CaCO}_3$ ) secara plate count. Adanya mikroflora pembentuk asam terlihat dari zona bening (halozone) yang terbentuk yang bahkan bisa sangat luas diameternya serta memiliki permukaan timbul dan lebih mengkilat. Berikut adalah gambaran adanya keberadaan mikroflora fermentatif hasil pencernaan Luwak pada starter yang telah diinkubasi selama 2 hari dengan tingkat pengenceran  $10^{-8}$ .



Gambar 4. Mikroflora starter setelah inkubasi 2 hari

Dari Gambar di atas yang paling jelas terlihat adalah mikroflora pembentuk asam karena mikroflora ini membentuk daerah halo yang lebih besar pada medium yang digunakan. Itu artinya bahwa kemampuan mikroflora tersebut cukup besar untuk menghasilkan asam.

Pada starter juga dilakukan pengukuran pH dan kadar gula. Untuk melihat kondisi starter sebelum ditambahkan pada perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rata – rata jumlah mikroflora pada starter, kadar gula, dan pH setelah inkubasi 2 hari.

Bahan	Mikroflora Fermentatif ( $10^8$ cfu/ml)	Kadar gula(%)	pH
Starter	203	8	3.55

Dari Tabel 2 di atas terlihat jumlah mikroflora pemfermentasi pada starter yang akan dicampurkan pada media fermentasi. Jumlah mikroflora fermentatif didalam starter sangat banyak yaitu  $203 \times 10^8$  cfu/ml. Banyaknya mikroflora yang telah berkembang selama 2 hari inkubasi ini nantinya akan menentukan potensi dari starter yang akan digunakan dalam fermentasi. Artinya, jumlah populasi yang besar mengindikasikan kemampuan starter untuk berkembang dan beraktivitas dengan baik didalam media fermentasi.

Dari tabel terlihat bahwa selama inkubasi 2 hari, kadar gulanya masih tersisa sebesar 8% yang pada awal sebelum inkubasi kadar gula sekitar 16%. Artinya bahwa mikroflora fermentatif yang berasal dari hasil pencernaan Luwak ternyata memiliki potensi besar dalam memecah glukosa sebesar 8% hanya dalam selang waktu dua hari inkubasi. Kadar gula 8% ini merupakan kondisi yang masih baik bagi mikroflora untuk terus tumbuh. Masih banyaknya kadar glukosa yang terkandung didalam starter mengindikasikan bahwa fase pertumbuhan mikroflora yang ada didalam starter tersebut masih dalam keadaan potensial dan masih berada pada fase menuju

pertumbuhan optimum. Hal ini sangat memungkinkan sekali starter ini dipakai untuk memfermentasikan biji kakao pada perlakuan.

Sementara nilai pH starter sekitar 3.55 yaitu berada pada keasaman yang cukup tinggi. Dengan tingginya keasaman pada starter akan mendukung perkembangan mikroflora pemfermentasi tersebut

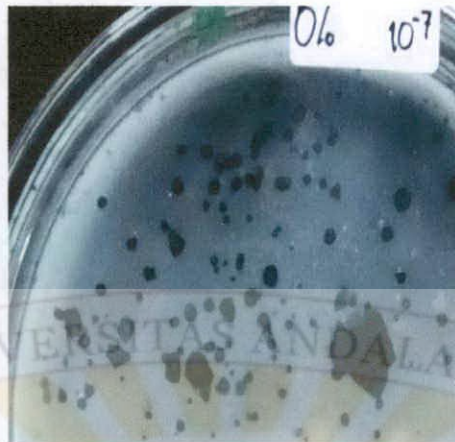
#### 4.1.2 Media Fermentasi

Media fermentasi yang digunakan dalam proses fermentasi biji kakao ini adalah biji kakao yang masih diselaputi pulp. Akan tetapi kakao yang dijadikan sebagai media ini tidak diketahui varietasnya karena sudah dikombinasikan dari berbagai varietas yang ada dan juga merupakan hasil persilangan dari beberapa varietas induk. Kakao sebagai media fermentasi ini merupakan kakao hasil perkebunan rakyat Sumatera Barat.

Sebenarnya pada media fermentasi ini telah terdapat mikroflora indigenous. Penelitian mengenai adanya mikroflora indigenous ini telah dilakukan Indrayati (2011). Dan bersamaan dengan penambahan starter yang mengandung mikroflora pemfermentatif dari hasil pencernaan Luwak ternyata hasil fermentasi semakin baik dan berkualitas karena akibat adanya aktivitas antara mikroflora indigenous dengan mikroflora fermentatif Luwak.

Hasil isolasi mikroflora Media fermentasi pada 0 jam pencuplikan dapat dilihat pada Gambar 5.





Gambar 5. Mikroflora pada media fermentasi

Untuk jumlah mikroflora pada media fermentasi dapat dilihat pada perlakuan 0% pada Gambar 2 di atas. Perlakuan 0% merupakan perlakuan tanpa penambahan starter, pada 0% ini adalah murni media fermentasi saja dan dijadikan kontrol terhadap perlakuan 5%, 10%, dan 15%. Fungsi dari kontrol ini adalah sebagai pembanding antara fermentasi tanpa starter, yang artinya hanya mengandalkan mikroflora indigenous dalam pulp media fermentasi tersebut dengan perlakuan penambahan starter 5%, 10%, dan 15%.

Pada saat 0 jam, daerah halo yang terbentuk pada media fermentasi hanya berukuran kecil. Hal ini mengindikasikan bahwa kemampuan mikroflora dalam menghasilkan asam juga masih sedikit. Dan ternyata adanya penambahan starter sebanyak 5% starter, 10% starter, dan 15% starter membantu mempercepat proses fermentasi dibandingkan perlakuan tanpa starter. Kondisi awal media fermentasi yang digunakan ditampilkan pada Tabel 3. Kondisi awal ini di hitung pada saat perlakuan 0 jam.

Tabel 3. Rata-rata jumlah mikroflora fermentatif, kadar gula, dan pH media pulp kakao mentah yang digunakan sebagai media fermentasi

Kondisi Awal Media Fermentasi	
1. Jumlah mikroflora	$79 \times 10^8$ (cfu/ml)
2. Kadar Gula	17.35%
3. pH	3.49

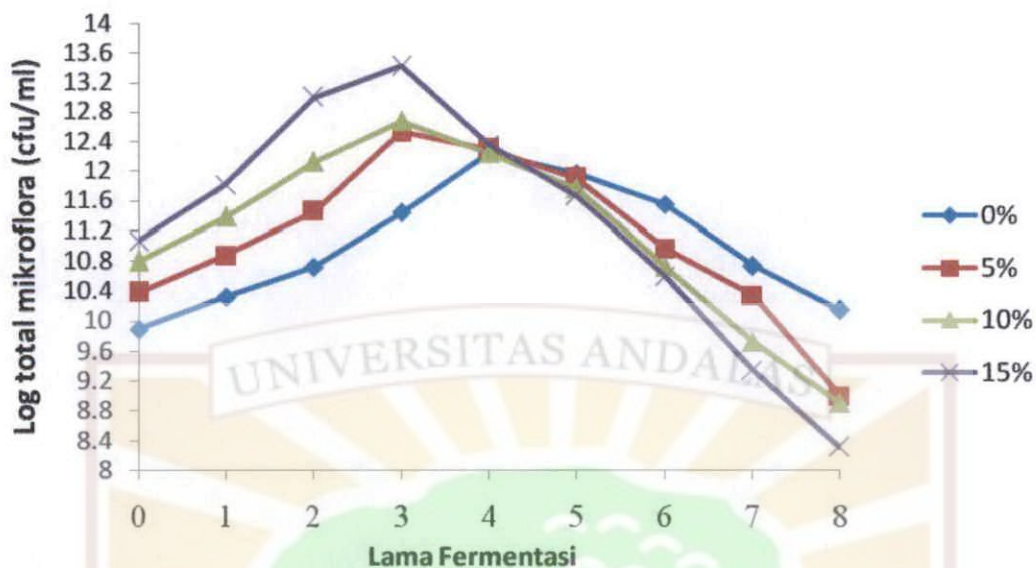
Dari Tabel 3 di atas dapat dilihat kondisi awal media fermentasi pulp kakao memiliki total mikrofloranya  $79 \times 10^8$  (cfu/ml). Media fermentasi ini memiliki kadar gula yang sangat tinggi yaitu 17.35%. Kadar gula yang tinggi merupakan sumber karbohidrat yang sangat penting bagi perkembangan mikroflora. Sementara pH sekitar 3.49 merupakan keadaan asam yang menunjang pertumbuhan mikroflora selama proses fermentasi berlangsung. Kondisi media fermentasi yang seperti ini sangat menunjang perkembangan dan pertumbuhan mikroflora yang tumbuh di dalamnya. Sesuai dengan penjelasan Winarno *et al.*, (1980) *cit.* Hamida (2006) faktor – faktor lingkungan yang sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba diantaranya kelembaban, suhu, pH, oksigen, mineral, dan sumber lainnya.

## 4.2 Selama Fermentasi

### 4.2.1 Total Mikroflora

Pengamatan perkembangan total mikroflora dilakukan setiap 24 jam selama 8 hari fermentasi. Setiap pencuplikan dilakukan pengamatan terhadap perkembangan total mikroflora media fermentasi dan media fermentasi yang telah ditambahkan starter (Lampiran 3).. Starter ditambahkan pada media fermentasi masing-masingnya 5% starter, 10% starter dan 15% starter.

Perkembangan total mikroflora fermentatif selama 8 hari fermentasi dari masing-masing perlakuan yang telah ditransformasikan dalam daftar log.x dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini.



Gambar 6: Profil perkembangan total mikroflora selama fermentasi.

Dari Gambar 6 di atas, terlihat bahwa total mikroflora dari masing-masing perlakuan memperlihatkan jumlah yang berbeda. Pada perlakuan penambahan starter, peningkatan total mikrofloranya lebih cepat meningkat dibandingkan tanpa penambahan starter. Hal ini disebabkan kondisi awal pada saat penambahan dosis starter yang menyebabkan perbedaan jumlah awal mikroba.

Dapat dijelaskan bahwa peningkatan total mikroflora tertinggi diawal fermentasi terdapat pada perlakuan penambahan 15% starter yaitu  $260 \times 10^{11}$  cfu/ml, disusul 10% starter yaitu  $476 \times 10^{10}$  cfu/ml, dan 5% starter yaitu  $335 \times 10^{10}$  cfu/ml masing-masingnya terjadi pada hari ketiga. Sementara pada perlakuan 0% total mikroflora tertinggi baru terjadi pada hari keempat yaitu  $170 \times 10^{10}$  cfu/ml. Sedikitnya peningkatan total mikroflora pada perlakuan 0% ini karena tidak adanya starter yang mampu merangsang pertumbuhan mikroflora pada media fermentasi tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Ansori *et al.*, (1988) *cit.* Hamida (2006) bahwa starter berperan begitu besar terhadap perkembangan mikroba sebagai inokulum aktif sehingga dapat mempersingkat waktu adaptasi dalam memperbanyak jumlah sel mikroba pada waktu fermentasi.

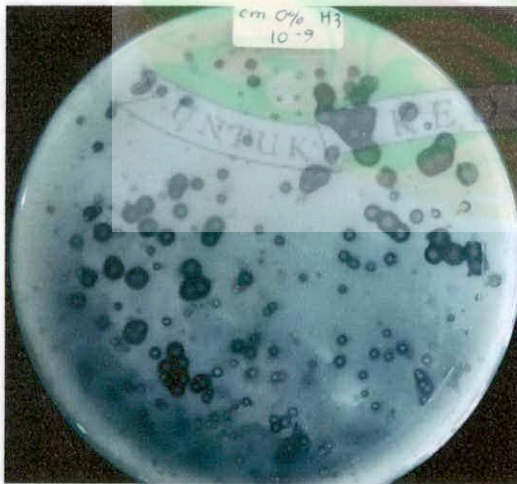
Dari perlakuan penambahan starter, ternyata perlakuan 10% memiliki kurva pertumbuhan yang bagus. Artinya terjadi pertumbuhan yang baik secara berkesinambungan dalam pertumbuhannya, dimana diawali dengan fase lambat bertahap sampai mencapai pertumbuhan optimum, lalu menurun lagi secara bertahap. Dalam hal ini dapat disimpulkan bahwa selama perkembangan total mikrofloranya, nutrisi yang ada dalam media fermentasi mampu dimanfaatkan secara bersama selama fermentasi.

Sementara untuk penambahan starter 5%, dari grafik dapat terlihat total mikrofloranya masih potensial sampai hari ketujuh dengan jumlah total  $22 \times 10^9$  cfu/ml. Dibandingkan dengan perlakuan penambahan starter 10%, perlakuan 5% ini lebih lambat perkembangannya. Sedangkan pada perlakuan 15% pada awal fermentasi saja sudah memperlihatkan kenaikan yang cukup tinggi pada saat hari kedua yaitu  $98 \times 10^{11}$  cfu/ml meski total tertinggi pada saat hari ketiga yaitu  $260 \times 10^{11}$  cfu/ml dan langsung menurun drastis setelahnya. Perlakuan 15% ini merupakan perlakuan yang paling banyak keberadaan mikroflora perfermentasinya. Terlalu banyaknya starter yang dicampurkan tentu tidak sebanding pula dengan nutrisi yang terkandung dalam media fermentasinya. Dalam hal ini total mikrofloranya sudah melebihi batas toleransi.

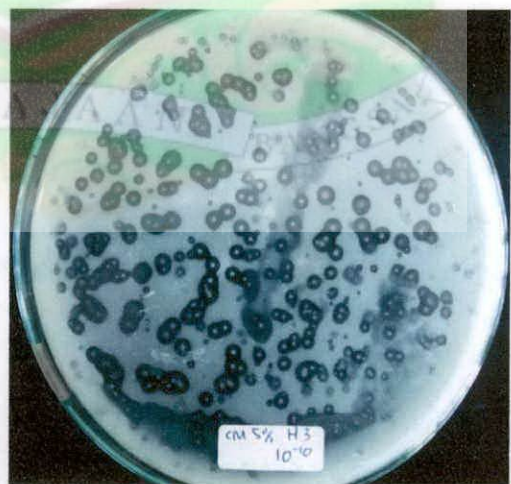
Setelah mencapai titik tertinggi pertumbuhan, total mikrofloranya mengalami penurunan hingga akhir fermentasi. Tepat pada hari kedelapan fermentasi total mikroflora masing-masing perlakuan sangat sedikit, terutama perlakuan dengan pemberian starter. Diakhir fermentasi total mikroflora tertinggi didapatkan pada perlakuan tanpa starter yaitu  $14 \times 10^9$  cfu/ml, diikuti perlakuan penambahan 5% starter yaitu  $10 \times 10^8$  cfu/ml dan perlakuan perlakuan penambahan 10% starter yaitu  $8 \times 10^8$  cfu/ml, dan perlakuan penambahan 15% starter yaitu  $2 \times 10^8$  cfu/ml.

Perubahan jumlah total mikroflora selama fermentasi menggambarkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas yang disebabkan atas perbedaan keaktifan dan kemampuan masing – masing mikroflora tumbuh dan berkembang biak. Selain itu adanya peningkatan dan penurunan jumlah total mikroflora selama fermentasi menunjukkan sejauh mana pertumbuhan mikroflora dalam medium fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah nutrisi dalam medium dan faktor lingkungan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Schlegel dan Schmidt (1994) menyatakan bahwa jika mikroba ditumbuhkan pada suatu media dengan nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan yang cocok, maka mikroba akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhan menjadi terbatas.

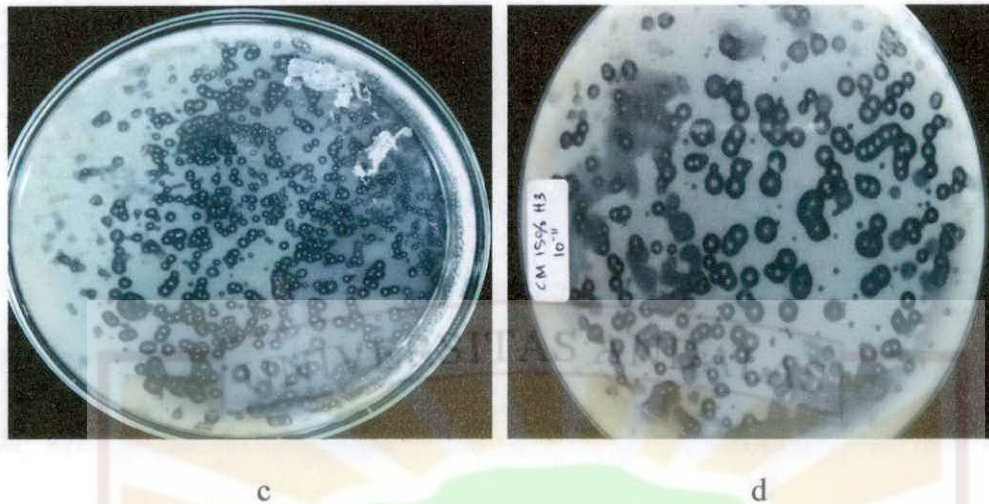
Dari Grafik terlihat jelas fase pertumbuhan mikrofloranya. Hal yang dapat disimpulkan bahwa dari empat perlakuan, perlakuan dengan penambahan starter ternyata lebih cepat pertumbuhan mikrofloranya dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemberian starter. Dapat disimpulkan bahwa pada hari ketiga merupakan fase pertumbuhan tertinggi untuk perlakuan penambahan starter. Jumlah total mikrofloranya sangat banyak. Hal ini dapat terlihat pada hasil isolasi mikrofloranya pada gambar dibawah.



a



b



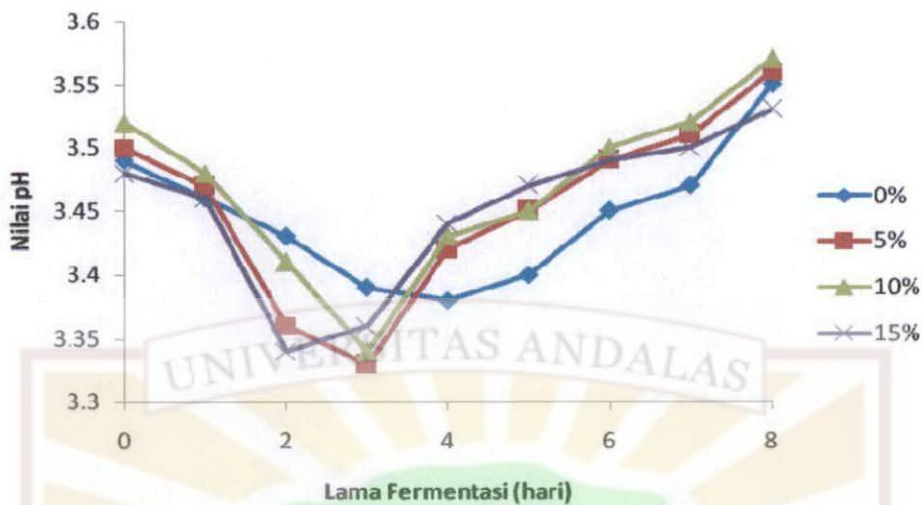
Gambar 7. Total Mikroflora tertinggi pada hari ketiga pada masing-masing perlakuan a) tanpa penambahan starter b) penambahan starter 5%. c) penambahan starter 10%. d) penambahan starter 15%.

Perlakuan dengan penambahan starter 15% dan 10% fermentasinya sudah dapat dihentikan pada hari keempat atau kelima, karena pada hari tersebut total mikroflora mulai menurun drastis. Tujuan untuk dihentikan adalah karena pada hari kelima sampai delapan tersebut aktivitas mikrofloranya sudah mulai menurun disamping untuk mempersingkat waktu untuk fermentasi

#### 4.2.2 Nilai pH

Perkembangan nilai pH selama fermentasi telah dilampirkan pada tabel (Lampiran 4). Dari tabel dapat dilihat bahwa nilai pH pada awalnya rendah. Itu artinya tingkat keasamannya tinggi. Keasaman tertinggi terdapat pada perlakuan 15% yaitu sekitar 3.48, diikuti dengan 3.49 pada 0%, 3.5 pada 5%, dan 3.52 pada 15%.

Perkembangan nilai pH pulp kakao setiap perlakuan selama 8 hari fermentasi dapat dilihat pada gambar ini.



Gambar 8. Perkembangan nilai pH setelah penambahan masing-masing starter yang berasal dari pemberian starter 0%, 5%, 10%, 15% .

Dari Gambar di atas dapat dilihat pada awal fermentasi semua perlakuan menunjukkan nilai pH yang rendah yaitu berkisar antara 3.48-3.55. Pada penambahan starter 15%, penurunan pH terjadi sampai hari kedua dan setelah itu terjadi kenaikan nilai pH. Sementara untuk penambahan starter 5% dan 10% penurunan nilai pH terjadi sampai hari ketiga. Sedangkan pada 0% penurunan nilai pH baru terjadi sampai hari keempat sebelum kenaikan mencapai nilai 3.55. Terjadinya penurunan nilai pH sebelum mencapai titik naik disebabkan adanya aktivitas mikroba yang ada pada pulp dalam pendegradasian glukosa untuk menghasilkan asam. Asam ini tetap terakumulasi didalam pulp selama proses fermentasi sebelum meresap kedalam biji kakao.

Selama proses fermentasi kakao terjadi dua tahapan fermentasi yaitu fermentasi eksternal pada bagian pulp dan fermentasi internal pada bagian keping biji. Akibat penambahan starter dari Mikroflora yang terdapat pada pencernaan Luwak, akan mempercepat berlangsungnya proses fermentasi pada pulp yang merubah gula menjadi alkohol dan selanjutnya menjadi asam asetat. Asam-asam organik yang terbentuk pada fermentasi pulp akan masuk kedalam keping biji yang

menyebabkan enzim-enzim dalam keping biji menjadi aktif sehingga akan berlangsung fermentasi tahap dua pada keping biji. Makanya ketika terjadi peresapan oleh biji, kadar asam mulai berkurang di dalam pulp fermentasi dan berpindah ke dalam biji sehingga keadaan pulp fermentasi semakin bersifat basa atau nilai pHnya mengalami kenaikan. Selain itu menurut Effendi *et al.*, (1988) *cit.* Putra *et al.*, (1996) naiknya pH juga dapat terjadi akibat terbentuknya senyawa bersifat basa ( $\text{NH}_4^+$ ) hasil penguraian protein di dalam biji pada fermentasi yang terlalu lanjut. Dari grafik dapat terlihat jelas perbedaan perlakuan antara penambahan starter dengan tanpa penambahan starter.

Nilai pH pulp kakao yang mengalami penurunan kemudian meningkat pada hari tertentu terkait dengan perkembangan mikroflora serta aktifitas yang dilakukannya dalam merombak glukosa. Pada grafik nilai pH, terlihat bahwa untuk perlakuan 0% starter, penurunan nilai pH terjadi sampai hari ke 4 yaitu 3.38, hal ini sesuai dengan perkembangan mikrofloranya yang baru mencapai masa pertumbuhan optimal pada hari ke 4. Bisa dikatakan bahwa pada perlakuan 0% starter hanya mengandalkan aktivitas mikroflora indigenusnya saja. Sinkronisasi antara keadaan diatas adalah bahwa perkembangan mikroflora optimal pada hari 4 tersebut akan diimbangi dengan aktifitasnya yang meningkat pula dalam menghasilkan asam. Sehingga pada pengukuran pH pada hari ke 4 tersebut jelas nilai pH berada pada keadaan terendah.

Sementara untuk perlakuan dengan penambahan starter 5%, 10%, dan 15% dapat pula dilihat pada grafik, yaitu untuk perlakuan penambahan starter 5% dan 10% penurunan nilai pH terjadi pada hari ke 3. Dibandingkan dengan perlakuan 0% starter, ternyata dengan penambahan starter 5% dan 10% dari mikroflora pencernaan Luwak, proses fermentasi menjadi lebih cepat dan penurunan pH mencapai nilai terendah yaitu sekitar 3.32-3.33 pada hari ke 3 tersebut. Dan sesuai dengan total



mikroflora yang berperan, ternyata pada hari ke 3 tersebut, perkembangan Mikroflora dalam pulp fermentasi yang telah diberi starter 5% dan 10% juga mengalami fase pertumbuhan optimal. Setelah itu perkembangan mikrofloranya menuju fase kematian mulai dari hari ke 3 sampai hari ke 8. Sehingga pada hari tersebut terjadi kenaikan nilai pH sampai 3.56-3.57 seiring dengan penurunan total mikrofloranya sampai akhir fermentasi dihentikan. Hal ini terkait dengan berkurangnya jumlah glukosa yang akan dirombak serta mulai meresapnya asam-asam organik yang terbentuk ke dalam keping biji.

Sangat berbeda pada penambahan starter 15% pada perlakuan, dimana penurunan nilai pH terjadi pada hari ke 2 yaitu sekitar 3.34. Ternyata dengan penambahan sekitar 15% starter mikroflora dari pencernaan Luwak, proses menjadi sangat cepat. Hal ini bisa dikaitkan kembali dengan perkembangan mikroflora pemfermentasi tersebut. Diantara 4 perlakuan, 15% adalah perlakuan dengan pemberian starter yang paling banyak. Aktifitas mikroflora yang banyak ini sangat mempengaruhi kecepatan fermentasi terutama dalam menghasilkan asam-asam organik.

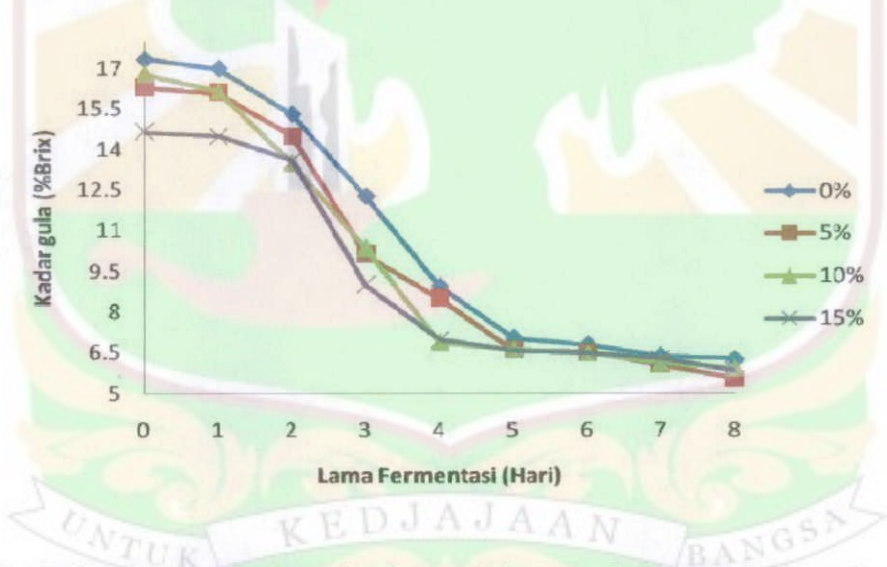
Dari Grafik secara keseluruhan dapat tergambar bahwa kisaran pH pada fermentasi pulp kakao selama 8 hari adalah sekitar 3.32 – 3.57. Kisaran nilai pH yang didapatkan tersebut merupakan kondisi lingkungan yang optimal untuk proses enzimatik. Hal ini sesuai dengan pendapat Putra *et al.*, (2008) keasaman yang tinggi diperlukan untuk memberikan kondisi lingkungan yang optimal bagi kelangsungan proses enzimatik pembentukan komponen prekursor cita rasa.

#### 4.2.3 Kadar Gula

Kadar gula sisa merupakan sisa perombakan oleh mikroflora selama fermentasi hingga selesainya proses fermentasi. Seberapa besar kadar gula sisa selama 8 hari fermentasi telah diukur dengan menggunakan Refraktometer, yang telah disajikan

dalam bentuk tabel (Lampiran 5 ). Dari tabel tersebut dapat dilihat penurunan kadar gula selama proses fermentasi pada asing-asing perlakuan. Kadar gula tertinggi pada awal fermentasi didapat pada perlakuan 0% yaitu 17.35%. Kadar gula pada 0% ini dihitung pada saat 0 jam. Kadar ini juga dapat menggambarkan keadaan awal media fermentasi. Sedangkan pada penambahan starter 5%, 10%, dan 15% nilai kadar gulanya berurut yaitu 16.3%, 16.8%, dan 14.65%. Rendahnya kadar gula pada ketiga perlakuan ini disebabkan pengaruh kadar gula starter yang ditambahkan pada perlakuan ini dimana starter yang telah diinkubasi selama 2 hari tersebut hanya memiliki sisa kadar gula 8% saja.

Perkembangan nilai kadar gula sisa pulp kakao setiap perlakuan selama 8 hari fermentasi dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Perkembangan kadar gula sisa setelah penambahan masing-masing starter yang berasal dari pemberian starter 0%, 5%, 10%, 15%

Dari Gambar di atas dapat dilihat penurunan kadar gula selama proses fermentasi. Hal ini terjadi karena pada saat fermentasi terjadi penguraian gula menjadi alkohol oleh mikroflora fermentatif yang terkandung di dalam media fermentasi. Menurut Winahyu *et al.* (2002) kadar gula total selama fermentasi perlu diketahui untuk

memperkirakan konsentrasi gula pereduksi yang dapat terbentuk. Pengurangan kadar gula terbesar terdapat pada perlakuan penambahan starter 10% yaitu pengurangannya sekitar 11.21% selama 8 hari fermentasi, kemudian diikuti oleh perlakuan 0%, 5%, dan 15% yang masing-masingnya 11.05%, 10.75%, dan 8.8%. Dapat disimpulkan bahwa perlakuan penambahan starter 10% merupakan perlakuan yang seimbang antara total mikroflora dengan nutrisi dan kecocokan lingkungan lainnya.

Jelasnya, pada Tabel penurunan kadar gula (lampiran 6) dapat dijelaskan bahwa lama fermentasi yang dikatakan mampu merombak kadar glukosa pulp terbaik yaitu berkisar pada lama fermentasi 3 – 4 hari. Perlakuan penambahan 15% starter, mikrofloranya mampu merombak glukosa sekitar 4.6% pada hari ketiga, diikuti dengan perlakuan penambahan starter 5% yaitu sebanyak 4.4% glukosa yang dirombak pada hari ketiga dan selanjutnya perlakuan penambahan starter 10% yaitu sebanyak 3.15% - 3.45% perombakan glukosanya yang terjadi pada hari 3 dan 4.

Sementara itu perlakuan tanpa starter atau 0% starter, perombakan glukosa terbesar oleh mikrofloranya terjadi pada hari keempat sebanyak 3.3%. Ternyata fermentasi yang hanya mengandalkan mikroflora alami pulp atau tanpa adanya penambahan starter dari mikroflora pencernaan Luwak, perombakan glukosanya lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan yang diberi starter dari mikroflora pencernaan Luwak tersebut. Dari sini bisa kita ketahui bahwa mikroflora Luwak yang kita tambahkan pada media fermentasi bersifat sangat asam. Hal ini dapat kita ketahui dari kadar glukosa yang dirombaknya. Jika dikaitkan dengan nilai pH, ternyata hal yang ini berbanding sama, dimana nilai pH juga mengalami penurunan. Untuk perlakuan penambahan starter 5% dan 10% pH memiliki tingkat keasaman yang tinggi pada hari ketiga dan perlakuan 15% pH terendahnya pada hari kedua. Sementara pada perlakuan 0% penurunan nilai pH baru terjadi pada hari keempat sama persis dengan hari penurunan kadar gula terbesar.

Untuk hasil akhir kadar gula pulp sisa, perlakuan dengan penambahan starter memiliki kadar gula pulp yang tersisa sekitar 5.55% – 5.95%. Sedangkan pada perlakuan tanpa starter (0%), kadar gula yang asih tersisa masih besar yaitu 6.3%. Hal ini masih dapat mendukung kelanjutan proses fermentasi asalkan factor lingkungan juga ikut mendukung proses tersebut. Sesuai dengan pernyataan Ayres *et al.*, (1980) *cit.* Salvia (2007) bahwa proses fermentasi akan tetap berlangsung selaa unsur-unsur makanan masih ada serta faktor lingkungan yang baik dan fermentasi akan terhenti bila gula sebagai makanan sebagai makanan tidak mencukupi dan faktor lingkungannya tidak cocok lagi.

#### 4.2.4 Intensitas Fermentasi

Selama proses fermentasi, telah dihitung intensitas fermentasi pada sampel yang disimpan didalam tabung fermentasi yang tertutup bagi udara luar, namun terbuka untuk pengeluaran dari dalam tabung ke lingkungan luar. Menurut Pardosi (2009) menjelaskan fermentor dapat berukuran besar atau kecil tergantung kebutuhan. Umumnya fermentor dengan mulut kecil atau dapat ditutup dan ada saluran tepat keluarnya CO<sub>2</sub>. Saluran ini diperlukan karena fermentasi berlangsung secara anaerob dan jika tidak ada saluran pengeluaran gas, maka gas akan terperangkap di dalam fermentor dan dapat meningkatkan tekanan sehingga mematikan mikroba di dalamnya atau jika wadah tidak kuat maka isi akan tumpah karena penutup terbuka dan wadah yang pecah. Fermentor harus mudah dibersihkan dan terhindarkan dari kontaminasi.

Selama proses fermentasi, terlihat adanya gelembung gas CO<sub>2</sub> yang bergerak kepermukaan yang mengindikasikan telah terjadinya proses fermentasi. Disini juga bisa digambarkan suatu keadaan dimana glukosa pulp telah dirombak menjadi alkohol akibat aktivitas mikroorganisme sehingga sel pulp akan terurai atau hancur

akibatnya cairan di dalam tabung bertambah banyak. Cairan tersebut berwarna bening kekuningan serta aroma yang dilepaskan tercium harum. Hasil pengamatan selama fermentasi ini didukung dengan pernyataan Yufnal (1985) *cit.* Anonymous (2001a) yang mengatakan bahwa cairan yang terbentuk selama fermentasi kakao ini dikenal dengan nama *sweating* yang mengalami perubahan setiap harinya. Cairan tersebut berwarna kuning coklat serta mempunyai aroma seperti sari apel.

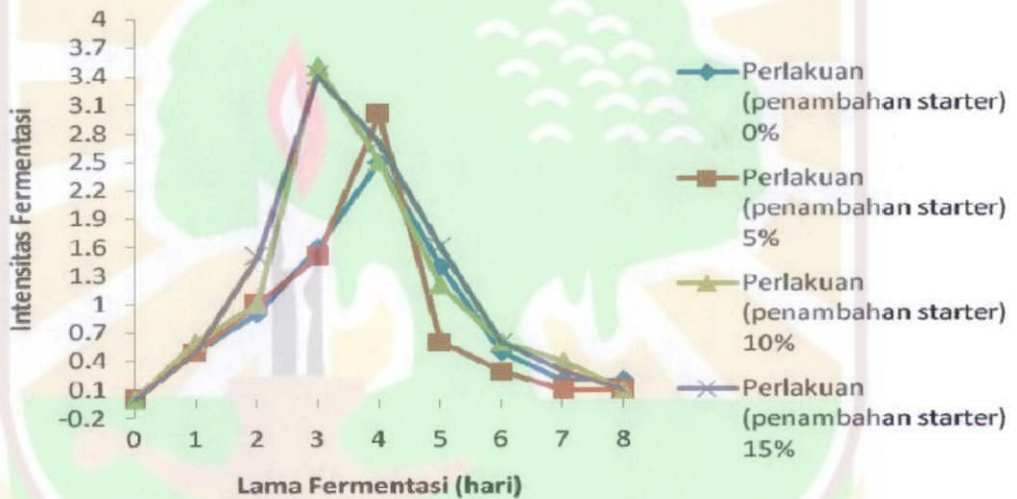
Bentuk visual hasil fermentasi anaerob tersebut dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Fermentasi anaerob kakao dengan pemberian dosis starter yang berbeda. Selama proses anaerob dilakukan penimbangan pengurangan berat kakao yang difermentasikan setiap 1 kali 24 jam selama 8 hari fermentasi. Hasil penimbangan tersebut telah disajikan dalam bentuk tabel (Lampiran 6). Pada Tabel tersebut dapat dilihat bahwa setiap hari semua perlakuan mengalami penurunan berat. Penurunan berat pada fermentasi ini disebabkan karena terjadinya penguraian pulp pada kakao oleh mikroflora pemfermentasi. Hal ini terlihat bahwa semakin hari pulp yang menyelimuti biji semakin menipis pada setiap perlakuan. Karena pengurangan berat tersebut menunjukkan besarnya  $\text{CO}_2$  yang dibebaskan selama fermentasi berlangsung.

Dari Tabel (lampiran 6) dapat dilihat bahwa masing-masing perlakuan mempunyai intensitas fermentasi yang berbeda-beda. Hal ini erat kaitannya dengan jumlah masing-masing mikroflora fermentatif selama proses fermentasi. Semakin tinggi intensitas fermentasi berarti semakin tinggi pula kemampuan dari mikroflora tersebut untuk merombak gula menjadi alkohol dan semakin banyak pula CO<sub>2</sub> yang dibebaskan selama proses fermentasi.

Intensitas fermentasi kakao yang telah disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada Gambar 11.



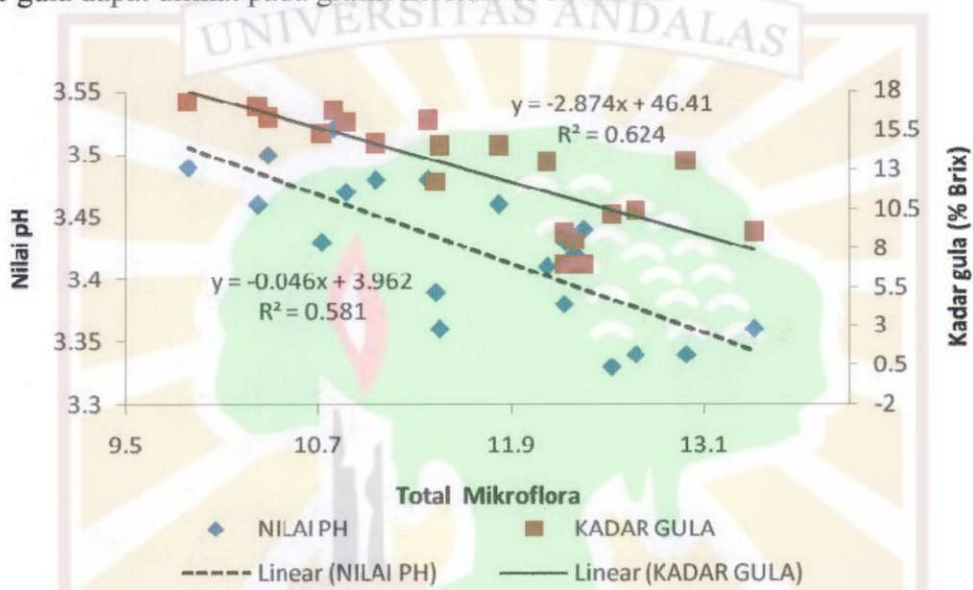
Gambar 10. Intensitas fermentasi masing-masing perlakuan selama 8 hari fermentasi.

Pada Grafik di atas dapat terlihat perlakuan penambahan starter 10% mencapai pengurangan berat tertinggi pada hari ketiga, di mana pengurangannya mencapai 3.4 gram. Selanjutnya diikuti oleh perlakuan 15% pada hari ketiga sebesar 3.3 dan 5% pada hari keempat sebesar 3 gram. Sementara tanpa penambahan starter (0%) pengurangan berat baru terjadi pada hari keempat hanya sekitar 2.5 gram. Hasil analisa di atas menunjukkan bahwa penambahan starter antara 10% dan 15%

kemampuan mikrofloranya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

#### 4.2.5. Korelasi antara Total Mikroflora, pH, dan Kadar Gula

Untuk melihat sejauh mana hubungan antara total mikroflora dengan nilai pH dan kadar gula dapat dilihat pada grafik korelasi di bawah ini



Gambar 11. Korelasi antara total mikroflora dengan nilai pH dan kadar gula dalam fermentasi kakao

Dari Grafik di atas dapat dilihat bahwa total mikroflora berbanding lurus dengan nilai pH. Dimana semakin banyak total mikroflora maka nilai pH semakin tinggi. Selain itu dari grafik di atas juga dinyatakan bahwa total mikroflora berbanding lurus dengan kadar gula. Semakin banyak total mikroflora maka semakin banyak gula yang digunakan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hidayat *et al.*, (2006) *cit.* Anonymous (2010b) bahwa gula yang ada pada media fermentasi akan mengalami perombakan menjadi asam dan senyawa organik lainnya. Proses fermentasi terus berlanjut hingga nutrisi habis pada akhir fermentasi sehingga mengakibatkan kadar gula (sukrosa) menurun.

#### 4.2.6 Kadar Alkohol Akhir

Pada akhir dari fermentasi setelah 8 hari, dilakukan pengukuran kadar alkohol dengan metoda destilasi. Hasil dari destilat tersebut ditimbang beratnya dan diukur kadar etanolnya. Nilai atau kadar etanol merupakan hasil perhitungan bobot jenis dan kadar etanol (Farmakope Indonesia, 1979). Berat jenis alkohol yang dihasilkan setelah destilasi dapat dilihat pada tabel (Lampiran 7). Definisi dari berat jenis itu sendiri adalah suatu perbandingan massa dari suatu zat terhadap massa dari sejumlah volume air yang sama pada suhu 4<sup>0</sup>C atau temperatur lain yang tertentu.

Martin (1983) *cit.* Pardosi (2009) mengatakan bahwa jika berat jenis larutan etanol semakin kecil, itu artinya kadar etanol yang terkandung didalam larutan tersebut semakin besar. Hal ini disebabkan karena etanol mempunyai berat jenis lebih kecil dari pada air sehingga semakin kecil berat jenis larutan berarti jumlah/kadar etanol semakin banyak.

Hasil pengurangan kadar alkohol yang terdapat pada pulp kakao dengan berbagai perlakuan selama 8 hari fermentasi dapat dilihat pada Tabel ini.

Tabel 4. Kadar alkohol yang dihasilkan pada setiap perlakuan setelah 8 hari fermentasi

No	Perlakuan%	Etanol
1	Penambahan starter 0%	1.3%
2	Penambahan starter 5%	3.8%
3	Penambahan starter 10%	3.8%
4	Penambahan starter 15%	6.2%

Dari Tabel di atas kadar etanol tertinggi diperoleh pada media fermentasi dan perlakuan penambahan starter 15% yaitu sebesar 6.2%. sedangkan untuk perlakuan tanpa starter hanya diperoleh 1.3% kadar etanolnya. Tinggi rendahnya presentase alkohol yang dihasilkan pada beberapa perlakuan salah satunya dipengaruhi oleh jumlah gula reduksi yang terurai pada saat fermentasi berlangsung. Selain itu juga dipengaruhi oleh potensi mikroflora yang berperan pada saat fermentasi itu



berlangsung untuk merombak gula menjadi alkohol serta banyaknya CO<sub>2</sub> yang dibebaskan selama proses fermentasi. Hal ini dapat kita lihat pada nilai pengurangan kadar gula pada penambahan starter 15% dimana mikroflora fermentatifnya mampu merombak gula sebesar 4.6%. Selanjutnya diikuti oleh perlakuan 5% dan 10% yaitu sebesar 4.4% dan 3.45% pada hari ketiga.

### 4.3 Produk Fermentasi

#### 4.3.1 Bentuk Visual Biji

Adapun bentuk visual biji yang diamati adalah tekstur dan warna biji setiap perlakuan. Pengamatan ini dilakukan setelah biji dikeringkan. Hasil pengamatan yang telah dilakukan dapat dilihat pada tabel.

Tabel 5. Tekstur dan warna biji yang dihasilkan pada setiap perlakuan pada saat hari keempat

No	Perlakuan	Tekstur	Warna
1	Penambahan starter 0%	Kasar	Coklat kelabu, tidak mengkilat
2	Penambahan starter 5%	Agak halus	Coklat, tidak mengkilat
3	Penambahan starter 10%	Halus Sekali	Coklat tua, mengkilat
4	Penambahan starter 15%	Halus	Coklat hitam, tidak mengkilat

Perbandingan visual biji antara perlakuan-perlakuan di atas dinilai atau diamati pada hari keempat. Alasannya karena pada hari tersebut merupakan hari dimana jumlah mikroflora untuk perlakuan dengan pemberian starter mulai mengalami penurunan. Sebelumnya total mikroflora tertingginya berada pada hari ketiga. Sementara untuk perlakuan 0% atau tanpa penambahan starter pengamatan visual bijinya diamati pada hari kelima. Alasannya karena hari keempat baru terjadi jumlah total mikroflora tertinggi.

Dari Tabel di atas dapat dibandingkan bahwa tekstur dan warna biji yang dihasilkan pada setiap perlakuan berbeda-beda. Tekstur yang paling halus dihasilkan antara perlakuan 10% dan 15%. Dan warna yang dihasilkanpun lebih memiliki warna khas yaitu coklat tua dan hitam. Perbedaan tekstur dan warna pada setiap warna dan perlakuan disebabkan karena perubahan senyawa kimia yang terdapat dalam pulp dan biji kakao selama fermentasi dari masing-masing perlakuan.

Hal ini telah dijelaskan Biehl (1984) *cit.* Atmana (2000) bahwa selama fermentasi berlangsung terjadi perubahan senyawa kimia dalam pulp dan kotiledon. Perubahan yang terjadi merupakan hasil kerja enzimatik dimana enzim tersebut mampu menghidrolisis polifenol menjadi antosianin, hidrolisis protein menjadi asam amino dan polipeptida lain, beserta perubahan gula menjadi alkohol, dan dilanjutkan dengan pembentukan asam- asam organik.

Lebih jelasnya, Gambar 8 akan memperlihatkan visual biji kakao dari masing-masing perlakuan yang sudah difermentasi dan dikeringkan tepat pada hari keempat.



Gambar 12. Bentuk visual biji pada hari keempat setelah dijemur dan dikeringkan

Biji kakao yang diproduksi dengan cara difermentasi ternyata memang jauh lebih unggul dibandingkan nonfermentasi (lampiran 9). Biji kakao yang tidak mengalami fermentasi, keadaan bijinya jauh dari kualitas. Pada biji kakao yang tidak

difermentasi ini hanya dilakukan pencucian biji dan kemudian langsung dikeringkan sehingga tidak dapat menghentikan perkecambahan pada biji. Selain itu visual serta aroma yang dihasilkan sangat buruk. Tujuan dari fermentasi bukan hanya untuk mematikan biji tetapi untuk menghancurkan pulp, pembentukan aroma, dan memperbaiki warna biji kakao.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang potensi fermentatif mikroflora pencernaan Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) dalam fermentasi kakao (*Theobroma cacao*, L) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat mikroflora fermentatif yang potensial dalam fermentasi kakao pada pencernaan Luwak yang bersifat sangat asam. Perlakuan dengan penambahan starter 10% memiliki visual biji yang baik dibandingkan perlakuan yang lain dengan tekstur biji yang halus dengan warna coklat tua dimana hasil perhitungan pertumbuhan total mikroflora tertinggi pada hari ketiga yaitu  $476 \times 10^{10}$  cfu/ml dengan potensi merombak kadar gula terbesar (maksimal) yaitu 11.21% selama 8 hari fermentasi serta penurunan pH tertinggi pada hari ketiga. dan memiliki intensitas fermentasi tertinggi pada hari ketiga, 3.4 gram.

### 5.2 Saran

Dari penelitian ini disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat melanjutkan dengan mengisolasi mikroflora pada pencernaan Luwak serta menentukan karakteristik fermentatif parsial masing-masing isolat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2010a. *Mempelajari Pengaruh Lama Fermentasi dan Penyangraian Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Mutu Bubuk Kakao.* <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/19461/4/Chapter%20II.pdf>. 10 Februari 2011
- Anonymous. 2010<sup>b</sup>. <http://www.scribd.com/doc/22344742/Musang-Enau-Nira-dan-Parfum-Apresiasi-Terhadap-Keanekaragaman-Hayati> , 10 Februari 2011
- Anonymous. 2010b. *Fermentasi*. Diakses 30 Agustus 2011.
- Akbar, F. 2010. *Studi Pengaruh Jumlah Formulasi Ragi Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Mutu Biji Kopi*. Skripsi Sarjana Jurusan Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Ambardini, S. 2005. *Perubahan Kadar Lemak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Melalui Fermentasi Beberapa Isolat Khamir.* <http://anoa.unhalu.ac.id/.../Perubahan%20Kadar%20Lemak%20Biji%20Kakao.doc>. 10 Februari 2011.
- Amin, S. 2005. *Teknologi Pascapanen untuk Masyarakat Perkakaoan Indonesia*. Jakarta. BPPT Press. 223 hal.
- Atmana, S.A. 2000. *Proses Enzimatis pada Fermentasi untuk Perbaikan Mutu Kakao*. BPP Teknologi. [www.iptek/terapan/cacao.co.id](http://www.iptek/terapan/cacao.co.id)
- Avidianto, D. 2009. *Musang Pemakan Kopi*. <http://Devoav1997.Webnode.Com/> diakses 10 maret 2011
- Dian A, A. Elisabeth , Suharyanto, dan Rubiyo. 2006. *Pengaruh fermentasi Biji Kakao Terhadap Mutu Produk Olahan Setengah Jadi Cokelat*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Bali. Bali.
- Djunaidy, M. 2010. *Kopi Luwak Tanpa Dimakan Luwak*. Koran Tempo. [http://mirror.unpad.ac.id/koran/korantempo/2010-07-29/korantempo\\_2010-07-29\\_013.pdf](http://mirror.unpad.ac.id/koran/korantempo/2010-07-29/korantempo_2010-07-29_013.pdf). diakses 25 Februari 2011
- Farmakope Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Paraktek, Teknik, dan Prosedur Dasar Laboratorium*. P.T. Gramedia, Jakarta.
- Hamida, D. 2006. *Penggunaan Mikroba Alami sebagai Starter dalam Fermentasi Dadih*. Unand Press. Padang

- Indrayati, S. 2011. Potensi Fermentatif Mikroflora Indigenous Pulp Tiga Varietas Kakao (*Theobroma cacao*, L) di Sumatera Barat. Skripsi Sarjana Biologi. Universitas Andalas.
- Ivan, L. 2010. *Fermentasi*. <http://id.wikipedia.org>. 10 Februari 2011.
- Lichstein, H. C and Philip P. Cohen. 1944. <http://www.jbc.org/content/157/1/85.full.pdf>. Diakses 24 Maret 2011.
- Manurung, D. 2010. *Pengaruh Jenis dan Jumlah Inokulum Mikroflora Terhadap Mutu Kopi Bubuk*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara
- Hayati, N. 2009. *Pengaruh Lama Fermentasi Biji Kakao dengan Penambahan Ragi Roti terhadap Beberapa Karakteristik Mutu Biji Kakao Kering yang Dihasilkan*. Skripsi Sarjana. Universitas Andalas.
- Pardosi, J.L. 2009. *Perbandingan Metode Kromatografi Gas dan Berat Jenis Pada Penepatan Etanol*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Pertanian 2010. [http://perkebunan.litbang.deptan.go.id/upload.files/File/publikasi/Infotekbun\\_Vol2\\_2010/perkebunan\\_InfoTek\\_Vol2\(3\)2010.pdf](http://perkebunan.litbang.deptan.go.id/upload.files/File/publikasi/Infotekbun_Vol2_2010/perkebunan_InfoTek_Vol2(3)2010.pdf)
- Putra, G.P.G, dan I.M Anom S. Wijaya. 1996. *Evaluasi Suhu, pH dan Indeks Antosianin Pada Fermentasi Kakao Skala Petani*. Teknologi Industri Pertanian, Universitas Udayana.
- Putra, G.P.G, Sutardi and B. Kartika. 2008. *Peranan Perubahan Komponen Prekursor Aroma Dan Cita Rasa Biji Kakao Selama Fermentasi Terhadap Cita Rasa Bubuk Kakao Yang Dihasilkan*. Universitas Gadjah Mada Press : Yogyakarta
- Schmidt and Haensch.2006. *Refractometer*.<http://www.Schmidt-Haensch.com>
- Salvia, E. 2007. *Pemberian Beberapa Sediaan Murni *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E. C Hansen *Saccharomyces bayanus* Sacardo dan Fermipan pada Fermentasi Sari Buah Nenas dalam Menghasilkan Esens Nenas*. Universitas Andalas Press : Padang.
- Setia, T.M. 2008. *Penyebaran Biji Oleh Satwa Liar di Kawasan Pusat Pendidikan Konservasi Alam Bodogol dan Pusat Riset Bodogol*, VIS VITALIS, Vol. 01 No. 1, tahun 2008, ISSN 1978-9513. Taman Nasional Gunung Gede Pangrango, Jawa Barat. Fakultas Biologi Universitas Nasional.
- Situmorang, J.P. 2010. *Mempelajari Pengaruh Lama Fermentasi dan Penyangraian Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Mutu Bubuk Kakao*. Skripsi Jurusan Pertanian. Universitas Sumatera Utara

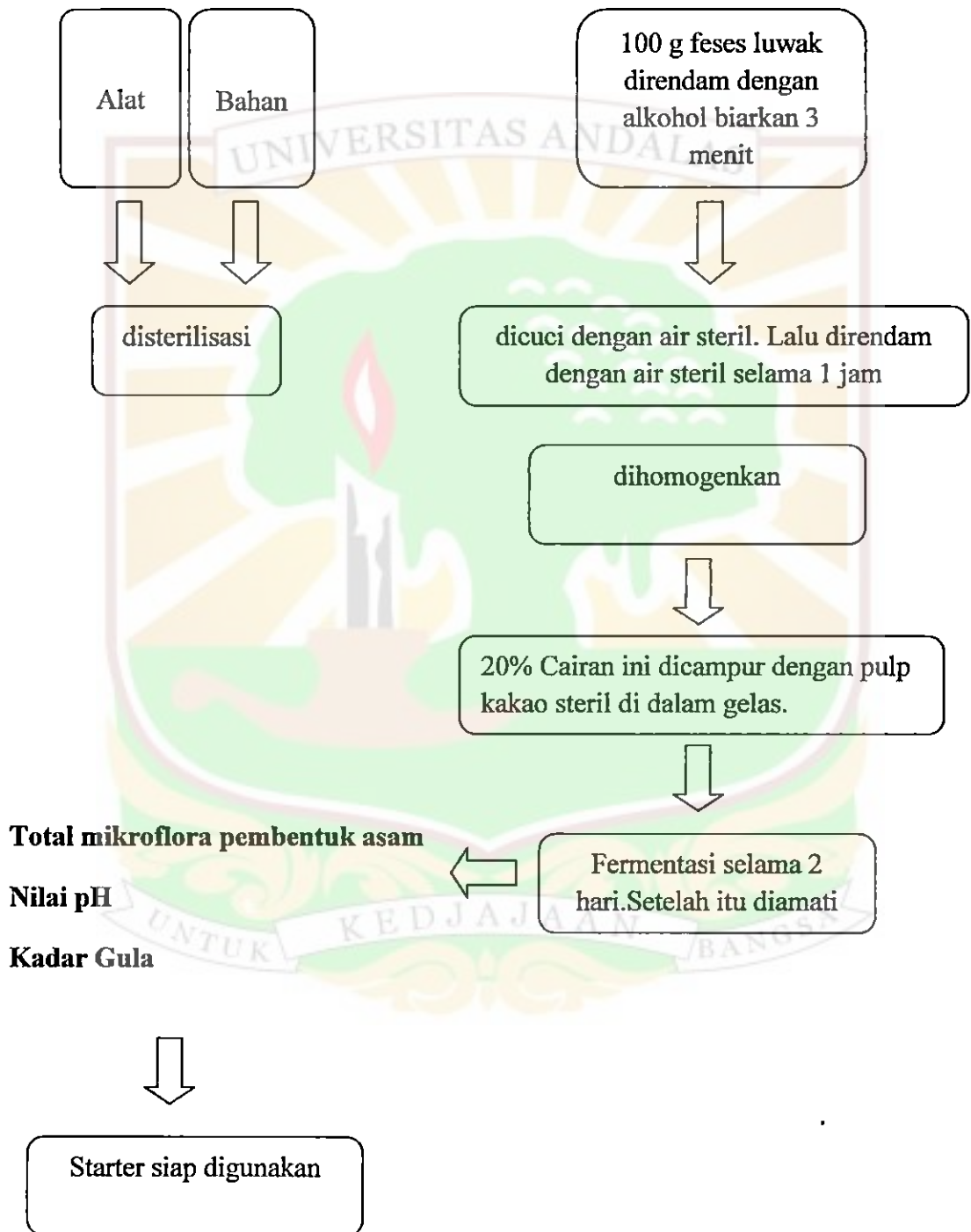
- Steinberg, M. L and Cosloy, S. D. 2006. *The Facts on File Dictionary of Biotechnology and Genetic Engineering*. <http://books.google.co.id/>. Diakses pada 22 Maret 2011.
- Suprpti. 2007. *Pengaruh Penyangraian Biji Kakao Terhadap Mutu dan Cita Rasa Bubuk Coklat*. <http://www.pdf-finder.com/pengaruh-penyangraian-biji-kakao-terhadap-mutu-dan-html>. 18 februari 2011
- Wahyudi, D. 2010. *Fermentasi kakao*. Diakses September 2011.
- Widyotomo, S, S. Mulato, dan Handaka. 2004. *Mengenal Lebih Dalam Teknologi Pengolahan Biji Kakao*. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, Vol. 26 No. 2, 2004.
- Wikipedia, 2009. *Kopi Luwak*. <http://en.wikipedia.org>. [1 Februari 2011]
- Winahyu, W E, Haryadi, Suprianto, S. Mulyadi. 2002. *Produksi Gula Reduksi Selama Fermentasi Biji Kakao dalam Silinder Putar dengan Pengurangan Pulp Pra Fermentasi*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.



## LAMPIRAN

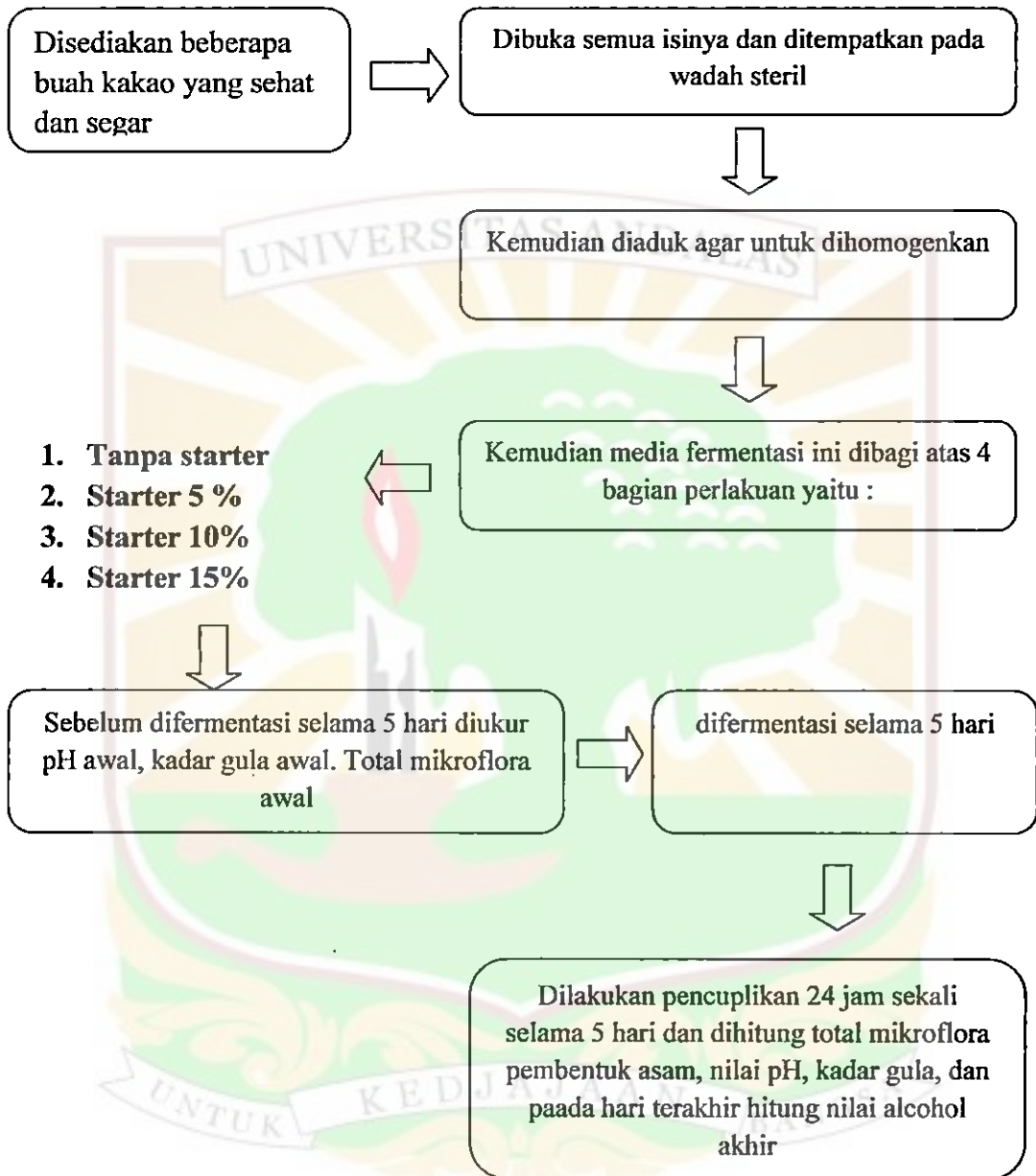
### 1. Skema Kerja

### Pembuatan Starter

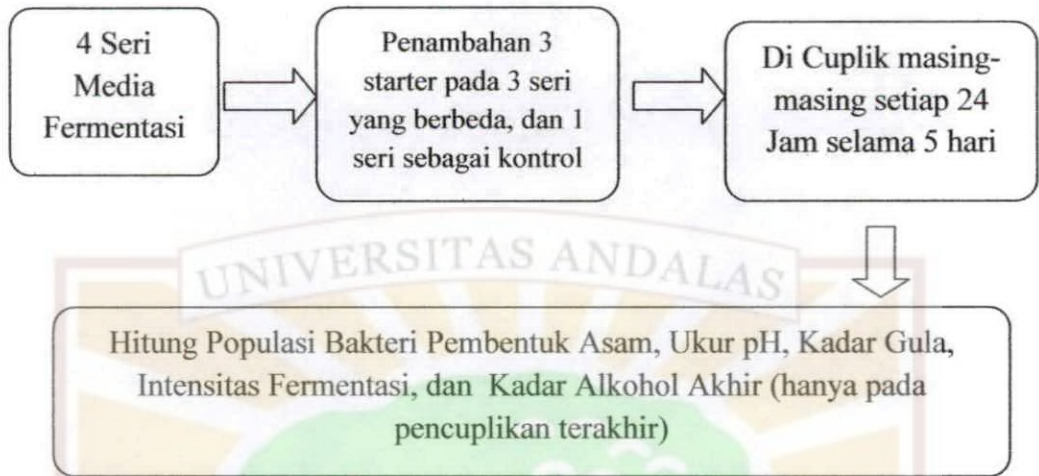




## Pembuatan Media Fermentasi dan Perlakuan



### -Pengujian Potensi Fermentatif Mikroflora dari Luwak.



#### 2. Biji-bijian Kakao Hasil Pencernaan Luwak (Feses)



3. Total mikroflora dalam cfu/ml selama 8 hari fermentasi (log.x)

Hari/Perlakuan	0%	5%	10%	15%
0	9.89	10.38	10.79	11.06
1	10.32	10.87	11.38	11.82
2	10.72	11.45	12.12	12.99
3	11.43	12.52	12.67	13.41
4	12.23	12.29	12.24	12.35
5	11.95	11.89	11.76	11.65
6	11.54	10.96	10.72	10.6
7	10.73	10.34	9.72	9.34
8	10.14	9	8.9	8.3

Total mikroflora dalam cfu/ml selama 8 hari fermentasi

Hari/Perlakuan	0%	5%	10%	15%
0	$79 \times 10^8$	$14 \times 10^9$	$62 \times 10^9$	$115 \times 10^9$
1	$21 \times 10^9$	$83 \times 10^9$	$24 \times 10^{10}$	$67 \times 10^{10}$
2	$53 \times 10^9$	$282 \times 10^9$	$132 \times 10^{10}$	$98 \times 10^{11}$
3	$271 \times 10^9$	$335 \times 10^{10}$	$476 \times 10^{10}$	$260 \times 10^{11}$
4	$170 \times 10^{10}$	$195 \times 10^{10}$	$174 \times 10^{10}$	$226 \times 10^{10}$
5	$90 \times 10^{10}$	$79 \times 10^{10}$	$58 \times 10^{10}$	$45 \times 10^{10}$
6	$35 \times 10^{10}$	$93 \times 10^9$	$53 \times 10^9$	$40 \times 10^9$
7	$54 \times 10^9$	$22 \times 10^9$	$53 \times 10^8$	$22 \times 10^8$
8	$14 \times 10^9$	$10 \times 10^8$	$8 \times 10^8$	$2 \times 10^8$

4. Rata – rata nilai pH selama fermentasi

Hari/Perlakuan	0%	5%	10%	15%
0	3.49	3.5	3.52	3.48
1	3.46	3.47	3.48	3.46
2	3.43	3.36	3.41	3.34
3	3.39	3.33	3.34	3.36
4	3.38	3.42	3.43	3.44
5	3.4	3.45	3.45	3.47
6	3.45	3.49	3.5	3.49
7	3.47	3.51	3.52	3.5
8	3.55	3.56	3.57	3.53

5. Rata-rata nilai perkembangan kadar gula selama fermentasi

Hari/perlakuan	0%	5%	10%	15%
0	17.35	16.3	16.8	14.65
1	17	16.1	16.15	14.5
2	15.3	14.5	13.5	13.6
3	12.25	10.1	10.35	9
4	8.95	8.5	6.9	7
5	7.05	6.6	6.65	6.6
6	6.8	6.55	6.5	6.5
7	6.4	6.07	6.12	6.3
8	6.3	5.55	5.95	5.85

6. Nilai Intensitas Fermentasi

Hari	Perlakuan			
	0%	5%	10%	15%
0	0	0	0	0
1	0.5	0.5	0.6	0.5
2	0.9	1	1	1.5
3	1.6	1.5	3.5	3.4
4	2.5	3	2.5	2.7
5	1.4	0.6	1.2	1.6
6	0.5	0.3	0.6	0.6
7	0.2	0.1	0.4	0.3
8	0.2	0.1	0.1	0.1

7. Nilai Kadar Alkohol Akhir

Kadar Alkohol Akhir

$$\text{Berat Jenis} = \frac{\text{Bobot Picnometer} + \text{destilat} - \text{bobot picnometer kosong}}{\text{Bobot picnometer} + \text{aquadest} - \text{bobot picnometer kosong}}$$

Hasil data

Bobot picnometer kosong = 22.29

Bobot picnometer + destilat (0%) = 47.3229

Bobot picnometer+destilat (5%) = 47.3077

Bobot picnometer+destilat (10%) = 47.3920

Bobot picnometer+destilat (15%)= 47.2429

Bobot picnometer+aquadest=47.4501

Hasil hitungan

0% = 0.9949 kadar etanol = 3.8%

5% = 0.9943 kadar etanol = 3.8%

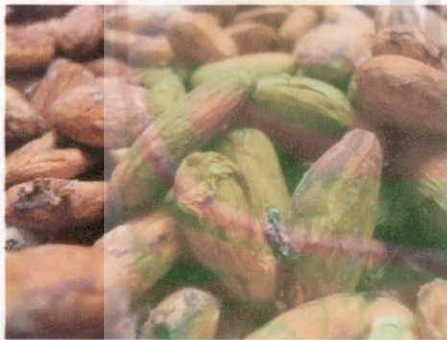
10% = 0.9976 kadar etanol = 1.3%

15% = 0.9917 kadar etanol = 6.2%

### 9. Biji kakao hasil fermentasi



Hari keempat Fermentasi

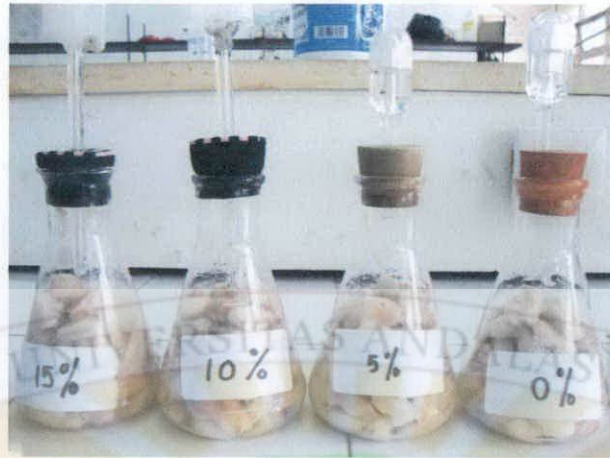


Kondisi Biji Tanpa Fermentasi

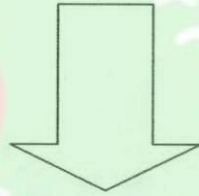


Terlepasnya pulp selama fermentasi  
(sebelum penjemuran)

### 9. Perlakuan awal fermentasi



Pemberian dosis starter pada masing-masing perlakuan



Telah terjadi proses fermentasi

10. Kondisi awal media fermentasi

