

Ditinjau dari lama pemeraman, berat biji kakao tertinggi (72.4 g/100 g biji basah) diperoleh pada hari ke 6 pemeraman dengan tingkat kematangan penuh, berat biji kakao terendah (54.19 g/100 g biji basah) diperoleh pada hari ke 0 pemeraman (buah tanpa pemeraman) dengan tingkat kematangan penuh. Tingkat kematangan dan interaksi kedua perlakuan tidak mempengaruhi berat biji kakao.

Pemeraman selama 6 hari sebelum fermentasi biji kakao dengan tingkat kematangan A2 menurunkan keasaman dan meningkatkan kandungan polifenol dan berat biji kakao. Kenaikan berat biji juga meningkatkan rendemen biji kakao. Oleh karena itu, pemeraman 6 hari dengan tingkat kematangan sedang (A2) dapat diterapkan pada industri pengolahan kakao, khususnya sebelum fermentasi biji kakao dilakukan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O. (2016). *Chocolate Science and Technology* (second). John Weley & Sons.Ltd. <https://zeabooks.com/book/chocolate-science-and-technology-2nd-edition/#download>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M. & Vieira, J. (2008). Modelling tempering behaviour of dark chocolates from varying particle size distribution and fat content using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.02.002>
- Afoakwa, E. O., Quao, J., & Budu, A. S. (2012). Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 19(1), 127–133. <https://docplayer.net/24269032>
- Amoa-Awua, W., Madsen, M. T. J. (2006). *Quality Manual for Production and Primary Processing of Cocoa*. Food Research Institut, CSIR. <https://csirspace.foodresearchgh.site/handle/123456789/1248>
- AOAC. (2005). *Association of Official Analytical Chemist International* (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists (AOAC). [https://www.researchgate.net/publication/292783651\\_AOAC\\_2005](https://www.researchgate.net/publication/292783651_AOAC_2005)
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis* (20th ed.). Association of Official Analytical Chemists (AOAC).

<https://www.yumpu.com/en/document/read/65659513/free-download-pdf-official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-aoac-2016-gigapaper>

Aroyeun, S. O., Ogunbayo, J. O., & Olaiya, A. O. (2006). Effect of modified packaging and storage time of cocoa pods on the commercial quality of cocoa beans. *British Food Journal*, 108(2), 141–151. <https://doi.org/10.1108/00070700610644951>

Biehl, B., Meyer, B., Crone, G., & Pollmann, L (1989). Chemical and physical changes in the pulp during ripening and post- harvest storage of cocoa pods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 48, 189–208. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740480207>

Biehl, B., Meyer, B., & Said, M. Bin. (1990). Bean spreading: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(1), 35–45. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740510105>

Christova-Bagdassrian VL, Chohadjieva D, & Atanassova M. (2014). Total Phenolics and Total Flavonoids, Nitrate Contents and Microbiological Tests in Dry Extract of Bulgarian White Birch Leaves (*Betula pendula*). *International Journal of Advanced Research*, 2(6), 668–674. <http://www.journalijar.com>

Cooper, J. M. (2006). *Sucrose. Optimising Sweet Taste in Foods*. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. <https://doi.org/10.1533/9781845691646.2.135>

Hanif, N., Langkong, J., & Syarifuddin, A. (2020). Characterization of chemical and volatile compounds in cocoa beans (*Theobroma cacao*) from highland and lowland areas of Bantaeng, South Sulawesi. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 3(2), 94–103. <https://doi.org/10.20956/canrea.v3i2.332>

Haryadi dan Supriyanto. (2017). *Teknologi Coklat* (Dewi (ed.); edisi kedu). Gadjah Mada University Press.

Hinne, M., Abotsi, E. E., Van de Walle, D., Tzompa-Sosa, D.A., Winne, A.D., Simonis, J., Messens, K., Durme, J.V., Afoakwa, E.O., Cooman, L.D., & Dewettinck, K. (2020). Pod storage with roasting: A tool to diversifying the flavor profiles of dark chocolates produced from ‘bulk’ cocoa beans? (Part II:

- Quality and sensory profiling of chocolates). *Food Research International*, 132, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109116>
- Hinne, M., Semanhyia, E., Van de Walle, D., Winne, A.D., Tzompa-Sosa, D.A., Scalone, G.L.L., De Meulenaer, B., Messens, K., Durme, J.V., Afoakwa, E.O., Cooman, L.D., & Dewettinck, K., (2018). Assessing the influence of pod storage on sugar and free amino acid profiles and the implications on some Maillard reaction related flavor volatiles in Forastero cocoa beans. *Food Research International*, 111, 607–620. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.064>
- Kou, X., Feng, Y., Yuan, S., Zhao, X., Wu, C., Wang, C., & Xue, Z. (2021). Different regulatory mechanisms of plant hormones in the ripening of climacteric and non-climacteric fruits: a review. In *Plant Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1007/s11103-021-01199-9>
- Marrubini, G., Papetti, A., Genorini, E., & Ulrici, A., (2017). Determination of the Sugar Content in Commercial Plant Milks by Near Infrared Spectroscopy and Luff-Schoorl Total Glucose Titration. *Food Analytical Methods*, 10, 1556–1567. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0713-1>
- Meersman, E., Struyf, N., Kyomugasho, C., Kermani, Z.J., Santiago, J.S., Baert, E., Hemdane, S., Vrancken, G., Verstrepen, K.J., Courtin, C.M., Hendrickx, M., & Steensels, J., (2017). Characterization and Degradation of Pectic Polysaccharides in Cocoa Pulp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(44), 9726–9734. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03854>
- Meyer, B., Biehl, B., Said, M., & Samarakoddy, R. J. (1989). Post-harvest pod storage: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 48, 285–304. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740480305>
- Nunes, C. S. O., Da Silva, M. L. C., Camilloto, G. P., Machado, B. A. S., Hodel, K. V. S., Koblitz, M. G. B., Carvalho, G. B. M., & Uetanabaro, A. P. T. (2020). Potential Applicability of Cocoa Pulp (*Theobroma cacao* L) as an Adjunct for Beer Production. *Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/2020/3192585>
- Petre, A. (2019). *What are Polyphenols? Types, Benefits, and Food Sources*.

<https://www.healthline.com/nutrition/polyphenols#benefit>

Pettipher, G. L. (1986). Analysis of cocoa pulp and the formulation of a standardised artificial cocoa pulp medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 297–309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740370315>

Sakiroh, Taryono, & Setyastuti, P. (2018). Dynamics of Storage Materials in Cotyledon during Cocoa Seed Germination. *Agricultural Science*, 3, 12–20. <https://doi.org/10.22146/ipas.34594>

Starch Institut International. (2002). *Denmark International Standard: ISO 5377/ISI 28-le Determination of Reducing Sugar, DE by Luff Schoorl's Method*. Science Park Aarhus. <http://www.starch.dk/isi/methods/28luff.htm>

Sukendar, N. K., Tawali, A. B., Salengke, Syarifuddin, A., Mochtar, A. H., & Fakhrudin, A. (2019). Changes in Physical-Chemical Properties During The Fresh Cocoa Fermentation Process. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*. <https://doi.org/10.20956/canrea.v2i2.214>

Tresliyana, A., Suryana, & Fariyanti. (2014). Daya Saing Kakao Indonesia di Pasar Internasional. *Jurnal Manajemen Dan Agribisnis*, 12(2), 150–162. <https://doi.org/https://doi.org/10.17358/jma.12.2.150>

Wijaya, I. (2020). Indonesia Cocoa Bean in International Trade. *International Journal of Business, Economics and ...*, 1, 226–233. <https://doi.org/10.31295/ijbem.v3n1.250>

Zikria, V., Takahashi, K., & Maeda, K. (2019). International Competitiveness of Indonesia's Cocoa Sector: From the Viewpoint of Product Differentiation. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 64(2), 407–413. <https://doi.org/10.5109/2339037>

## BAB III

### PENGARUH TINGKAT KEMATANGAN DAN LAMA PEMERAMAN BUAH SERTA FERMENTASI BIJI TERHADAP PREKURSOR AROMA BIJI KAKAO

#### ABSTRAK

Sulitnya standarisasi karakteristik bahan baku disebabkan oleh klon, tingkat kematangan, kondisi edaphoclimatic, dan pretreatment buah. Oleh karena itu, memahami pengaruh faktor-faktor ini pada karakteristik biji kakao yang dipilih untuk difermentasi dan dikeringkan sangat penting untuk mendapatkan biji kakao yang lebih homogen dan berkualitas tinggi, sehingga mengarah pada homogenitas yang lebih besar dalam menghasilkan prekursor aroma dan rasa selama pemrosesan kakao. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tingkat kematangan buah, lama pemeraman buah dan fermentasi terhadap pembentukan prekursor aroma biji kakao. Buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kakao varietas Trinitario klon S2 (Sulawesi 2) yang berasal dari Sulawesi Indonesia. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan untuk biji kakao kering yaitu tingkat kematangan buah (fruit maturity level) (A), lama pemeraman (pod conditioning) (B), dan fermentasi (C). Penelitian ini juga menggunakan 2 perlakuan untuk biji kakao basah fermentasi yaitu tingkat kematangan buah (A) dan lama pemeraman (B). Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa tingkat kematangan buah berpengaruh terhadap pH dan polyphenol biji kakao basah fermentasi dan biji kakao kering fermentasi. Perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap persentase biji unfermented, gula reduksi tetapi tidak berpengaruh terhadap persentase biji underfermented dan biji fermented. Lama pemeraman terbaik adalah lama pemeraman 6 hari karena menghasilkan biji unfermented dan underfermented terendah yaitu masing-masing 0.25 % dan 1.25 %, serta menghasilkan persentase biji fermented tertinggi yaitu 98.5 %. Pemeraman 6 hari menghasilkan pH yang memberi intensitas aroma tertinggi dan polyphenol terendah. Tingkat kematangan buah yang tepat untuk dipanen agar mempunyai asam amino tetap tinggi, biji unfermented rendah, biji fermented tinggi dan pH yang menghasilkan intensitas aroma yang kuat adalah A2 (masak sedang).

Kata kunci: prekursor, aroma, biji kakao, fermentasi, lama pemeraman, tingkat kematangan.

#### I. PENDAHULUAN

Biji kakao merupakan bahan baku utama dalam pembuatan produk coklat dan turunannya (Dand, 2011). Aroma sebagai parameter penting dalam menentukan kualitas biji kakao, sangat dipengaruhi oleh perlakuan pasca panen dan pengolahan. Perlakuan pasca panen seperti tingkat kematangan buah, dan pemeraman buah (Afoakwa, 2016) sedangkan perlakuan pengolahan yang mempengaruhi kualitas biji kakao seperti fermentasi, pengeringan dan penyangraian (Marseglia *et al.*, 2020).

Pengelompokan buah kakao ke dalam karakteristik yang homogen (tingkat kematangan, klon) sebelum fermentasi sangat penting dilakukan. Menurut Rojas *et al.*, (2020) setiap klon kakao memiliki seperangkat parameter kematangan yang unik, Penetapan indikator kematangan yang andal, praktis, dan objektif untuk setiap klon kakao akan memungkinkan lebih banyak buah kakao yang homogen dipilih untuk fermentasi, yang pada akhirnya akan berkontribusi pada peningkatan kualitas dan homogenitas kakao dan produk turunannya.

Cardona *et al.*, (2016) juga mengungkapkan bahwa kualitas produk kakao dapat dipengaruhi oleh jenis klon, kematangannya, dan kondisi fermentasi dan pengeringan, antara lain menghasilkan produk akhir dengan kualitas yang bervariasi dan karakteristik yang heterogen. Hal ini biasanya karena penggunaan proses non-standar untuk mengakomodasi beragamnya bahan baku yang digunakan (termasuk jenis klon dan tingkat kematangan) dan prevalensi praktik budaya tradisional dalam proses pengondisian, fermentasi, dan pengeringan, hingga kualitas produk yang tidak konsisten (Sánchez *et al.*, 2008).

Sulitnya standarisasi karakteristik bahan baku disebabkan oleh klon, tingkat kematangan (Gutiérrez, 2017), kondisi edaphoclimatic (Caligiani *et al.*, 2015), dan pretreatment buah (Afoakwa *et al.*, 2013a). Oleh karena itu, memahami pengaruh faktor-faktor ini pada karakteristik biji kakao yang dipilih untuk difermentasi dan dikeringkan sangat penting untuk mendapatkan biji kakao yang lebih homogen dan berkualitas tinggi, sehingga mengarah pada homogenitas yang lebih besar dalam menghasilkan prekursor aroma dan rasa selama pemrosesan kakao, inilah karakteristik yang sangat dicari oleh industri coklat.

Kemungkinan terjadinya berbagai perubahan biokimia di dalam buah, dari saat panen hingga pembukaannya sebelum fermentasi, tidak dapat diabaikan. Diduga, lama penyimpanan, suhu, kelembaban relatif, varietas kakao, status pematangan, antara lain, mungkin memainkan peran kunci dalam menentukan sejauh mana perubahan biokimia ini terjadi di dalam buah (Meyer *et al.*, 1989; Afoakwa, 2014). Praktek menyimpan buah kakao yang dipanen untuk jangka waktu tertentu di bawah kondisi tertentu sebelum pembukaannya disebut sebagai pemeraman buah (pod storage ).

Dampak potensial pemeraman buah pada prekursor aroma masih belum banyak terungkap, terlepas dari studi mendasar sebelumnya oleh Afoakwa dan rekan-rekannya (Afoakwa *et al.*, 2011, 2013a, 2013b) . Melalui analisis proksimat,

mereka menunjukkan bahwa baik fermentasi dan peningkatan lama pemeraman menghasilkan penurunan yang signifikan dalam kandungan abu, protein kasar, lemak dan total polifenol biji sementara kandungan karbohidrat meningkat dengan kedua perlakuan. Hinneh *et al.*, (2018) melakukan studi pemeraman buah kakao pada varietas *Forastero* di Ghana, hasil yang diperoleh adalah konsentrasi asam amino bebas berbanding lurus dengan lama pemeraman. Perbedaan signifikan ( $p < 0.05$ ) teramati pada lama pemeraman 7 hari, yang telah memberikan lebih banyak senyawa volatil kemudian diikuti durasi pemeraman 0 hari dan 3 hari.

Langkah penting dalam proses pengolahan kakao adalah fermentasi, yang merupakan proses spontan yang melibatkan suksesi flora mikroba yang bertanggung jawab untuk memproduksi prekursor aroma di dalam biji melalui reaksi biokimia. Fermentasi berlangsung biasanya antara 5 dan 7 hari. Ragi adalah jenis mikroorganisme pertama yang terlibat diikuti oleh Bakteri Asam Laktat (BAL), dan kemudian Bakteri Asam Asetat (AAB) (Schwan & Wheals, 2004). Beberapa penelitian tentang pengaruh perlakuan pascapanen terhadap komposisi biji kakao menunjukkan bahwa jenis fermentasi (Visintin *et al.*, 2016) dan waktu (Hamdouche *et al.*, 2014) secara signifikan mempengaruhi mikrobiota yang terkait dengan biji kakao, sementara pemeraman (pulp preconditioning) mempengaruhi komposisi kimia dan penampakan fisik kakao (Guehi *et al.*, 2010; Nazaruddin *et al.*, 2006).

Mengingat pentingnya homogenitas kematangan bahan baku sebelum dilakukan fermentasi biji kakao untuk menghasilkan kualitas biji kakao yang tinggi dan konsisten maka dalam penelitian ini digunakan perlakuan tingkat kematangan buah untuk mengetahui tingkat kematangan yang tepat dan homogeny yang dapat menghasilkan prekursor aroma terbanyak, mengingat petani kakao di lokasi penelitian dalam memanen kakao tidak berdasar pada tingkat kematangan yang sama, tetapi mencampur antara buah dengan tingkat kematangan penuh, buah dengan tingkat kematangan sedang dan kadang ada sedikit buah dengan tingkat kematangan awal. Mengidentifikasi pembentukan prekursor aroma biji kakao berdasarkan perbedaan lama pemeraman buah sebelum fermentasi juga belum banyak diteliti.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tingkat kematangan buah, lama pemeraman buah dan fermentasi terhadap pembentukan prekursor aroma biji kakao.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Bahan

Buah kakao yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Kabupaten Pinrang Sulawesi Selatan, varietas *Trinitario* clon S2 (Sulawesi 2). Buah kakao clon S2 adalah buah kakao lokal Sulawesi hasil persilangan varietas *Forastero* dan varietas *Criollo*. Penelitian ini dilaksanakan di tiga lokasi yang berbeda yaitu di lokasi Kelompok Tani Bukit Tinggi Desa Tapporang, Kecamatan Batullapa, Kabupaten Pinrang, Provinsi Sulawesi Selatan Indonesia untuk persiapan sampel. Lokasi kedua di Laboratorium Biokimia Jurusan TPHP Politeknik Pertanian Negeri Pangkep untuk analisa kimia (kadar air, pH). Lokasi ketiga di Laboratorium Biosain Politeknik Negeri Jember untuk analisa polyphenol, asam amino dan gula reduksi.

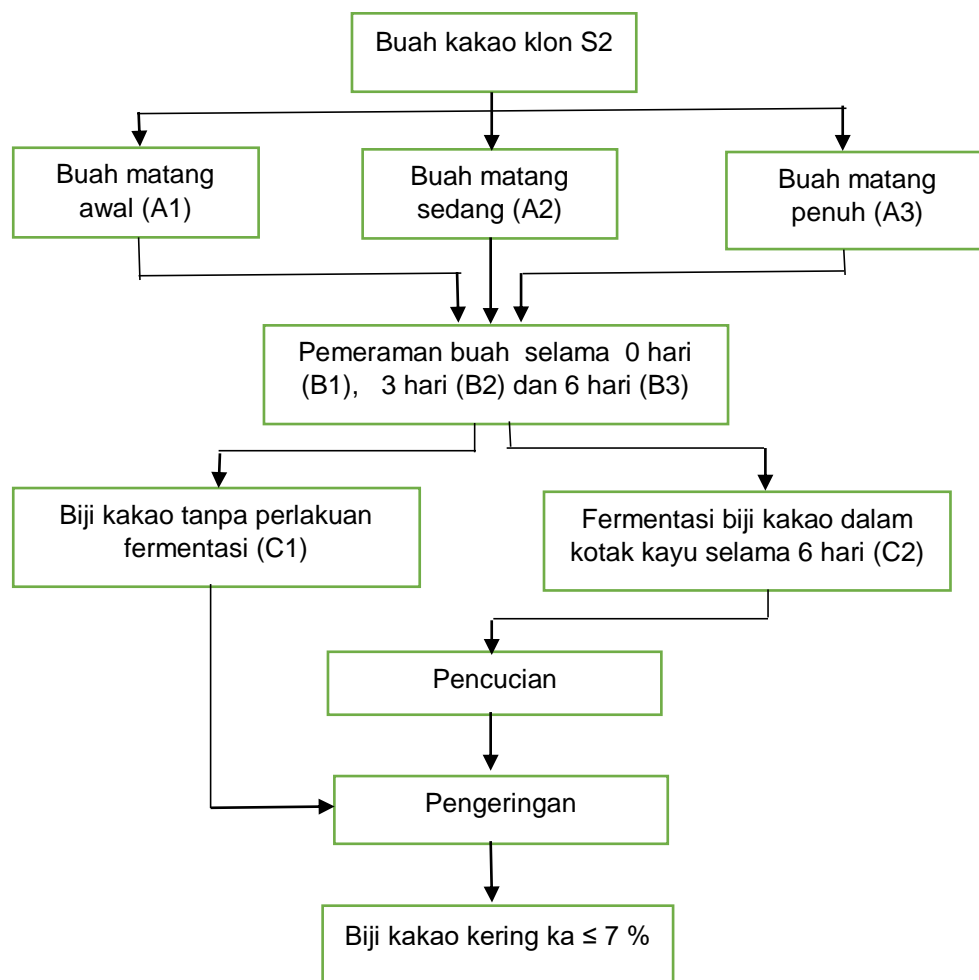
### 2.2 Metode

Buah kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah klon S2 (Sulawesi 2) varietas *Trinitario*. Buah kakao berasal dari kebun Kelompok Tani Bukit Tinggi, Desa Tapporang, Kecamatan Batullapa, Kabupaten Pinrang, Provinsi Sulawesi Selatan. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan untuk biji kakao yang telah dikeringkan yaitu tingkat kematangan buah (A) sebagai perlakuan pertama, lama pemeraman buah (B) sebagai perlakuan kedua dan fermentasi (C) sebagai perlakuan ketiga. Buah dipanen pada tiga tingkat kematangan buah yaitu A1 (buah masak awal), warna buah merah-ungu, ada perubahan warna pada alur buah, A2 (buah masak sedang), warna buah merah sampai orange dan A3 (buah masak penuh) warna buah adalah kuning sedikit orange. Masing-masing tingkat kematangan buah dilakukan perlakuan pemeraman B1 (tanpa pemeraman), B2 (pemeraman 3 hari) dan B3 (pemeraman 6 hari). Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 6 hari dengan taraf perlakuan C1 (tanpa fermentasi) dan C2 (fermentasi). Parameter yang dianalisa pada biji kakao kering adalah kadar air, pH, polifenol, uji belah (*cut tes*), asam amino dan gula reduksi.

Pemeraman dilakukan dengan menumpuk buah kakao di atas permukaan tanah yang terlindung dari cahaya matahari. Penumpukan dibedakan berdasarkan tingkat kematangan. Setelah pemeraman selesai, buah dibuka untuk diambil bijinya kemudian difermentasi. Kotak fermentasi dibuat dari kayu dengan ukuran P x L x T adalah 75 cm x 40 cm x 32 cm. Pada bagian dinding dan dasar kotak dibuat lubang dengan diameter 1 cm dan jarak antara lubang dengan lubang



lainnya 10 cm. Fungsi lubang-lubang pada kotak fermentasi adalah sebagai tempat keluarnya air dari pulp kakao saat berlangsungnya fermentasi dan untuk aerasi saat fermentasi berlangsung. Tiap kotak fermentasi diisi biji kakao basah (baru dibuka dari buahnya) sebanyak 40 kg biji basah. Fermentasi dilakukan selama 6 hari dan pembalikan biji dilakukan tiap 2 hari sekali. Setelah fermentasi selesai, biji dikeluarkan dari kotak kayu kemudian dicuci dengan air bersih untuk menghentikan fermentasi kemudian langsung dijemur di bawah sinar matahari langsung sampai kadar air  $\leq 7\%$ . Penjemuran dilakukan mulai jam 8 pagi sampai jam 4 sore hari. Sebelum pengeringan, dilakukan pengamatan pada biji kakao basah fermentasi dengan parameter kadar air, pH dan polyphenol.



Gambar 3.1 Diagram alir pasca panen biji kakao yang difermentasi berdasarkan tingkat kematangan dan lama pemeraman yang berbeda.

Data dianalisa secara statistik menggunakan two-way ANOVA untuk biji kakao basah fermentasi dan Three-way ANOVA untuk biji kakao kering fermentasi dan non fermentasi. Aplikasi statistic yang digunakan adalah SPSS 22.00 software (SPSS,Inc., Chicago, IL,USA).

### 2.2.1 Kadar Air

Kadar air biji kakao dianalisa menggunakan metode Gravimetri (AOAC, 2005). Biji kakao kering dipotong kecil-kecil, kemudian sekitar 2 gram dari sampel dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung sebagai berat yang hilang dari berat sampel awal. Kadar air dihitung dengan persamaan (1).

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat air dalam sampel}}{\text{Berat total sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

### 2.2.2 pH Biji Kakao

Pengukuran pH biji kakao dilakukan mengikuti metode yang digambarkan dalam AOAC (AOAC, 2016). Pengukuran pH dilakukan pada biji kakao basah setelah fermentasi dan pada biji kakao kering yang sudah difermentasi. 10 gram biji kakao yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam gelas piala kemudian ditambahkan 90 ml air suling panas dengan suhu 70 - 80°C. Campuran diaduk perlahan-lahan sampai terbentuk suspensi yang homogen kemudian disaring dan filtratnya didinginkan sampai suhu kamar 27 ± 2°C. pH filtrat ditentukan secepat mungkin pada suhu tersebut.

### 2.2.3 Polifenol

Kandungan polifenol total ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Calcioteau yang dijelaskan oleh (Christova-Bagdassrian VL *et al.*, 2014) dengan sedikit modifikasi. Satu gram biji kakao giling dibebaskan lemaknya dengan ekstraksi 25 mL heksana pada suhu kamar selama 24 jam. Ekstrak kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Prosedur ini diulang dua kali. Kandungan fenolik sampel bebas lemak kemudian diekstraksi dua kali menggunakan 25 mL larutan metanol 70% dengan sonikasi selama 25 menit. Setelah setiap peristiwa sonikasi, campuran disentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit, dan fase cair dipisahkan. Semua fase cair yang diperoleh digabungkan dan ditempatkan 0,25 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Ekstrak dicampur dengan 0,5 mL larutan Folin Ciocalteau (0,2 N) dan 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%; campuran itu di

atasnya dengan air suling sampai tanda untuk mendapatkan volume akhir 10 mL. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dengan didiamkan selama 30 menit. Spektrofotometer UV-Visible, Orion AquaMate 8000 (Orion, Nagano Japan) digunakan untuk mengukur penyerapan sampel pada panjang gelombang 720–740 nm. Untuk menentukan kandungan polifenol total, kurva standar untuk larutan asam galat (2-20 mg/L) dibuat terlebih dahulu menggunakan instrumen yang sama. Hasil pembacaan penyerapan masing-masing sampel diplot terhadap kurva standar, dan konsentrasi polifenol dalam sampel dinyatakan setara asam galat.

#### 2.2.4 Uji Belah (*Cut Tes*)

Pengujian ini dilakukan dengan cara mengamati perubahan warna nib biji kakao. Sebanyak 200 biji kakao dibelah membujur tepat di bagian tengahnya menjadi dua dengan ukuran yang sama besar. Dari 400 belahan biji tersebut diamati satu per satu warna keping biji kakao berdasarkan klasifikasinya. Pada penelitian ini dilakukan klasifikasi menjadi 3 kelas sesuai pengklasifikasian Castro-Alayo (Castro-Alayo *et al.*, 2019) dimana warna slaty (berwarna ungu keabu-abuan dan bertekstur pejal) dimasukkan ke dalam kelas biji unfermented, warna ungu dominan terhadap coklat dimasukkan ke dalam kelas biji underfermented, dan coklat dominan masuk ke dalam kelas biji fermented. Persentase dari ketiga klasifikasi tersebut dihitung persentasenya dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ biji unfermented} = \sum \frac{\text{belahan biji berwarna slaty}}{\text{belahan total biji kakao}} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

$$\% \text{ biji underfermented} = \sum \frac{\text{belahan biji berwarna ungu}}{\text{belahan total biji kakao}} \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

$$\% \text{ biji fermented} = \sum \frac{\text{belahan biji berwarna coklat}}{\text{belahan total biji kakao}} \times 100\% \dots \dots \dots (4)$$

#### 2.2.5 Asam Amino

Metode analisa asam amino pada biji coklat menggunakan LCMS (Apriyanto *et al.*, 2017) dengan beberapa modifikasi. Untuk menyiapkan sampel bubuk biji kakao untuk analisa asam amino, langkah-langkahnya adalah:

1. Biji kakao digerus sampai halus lalu ditimbang 1 gr kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100mL
2. Setelah itu ditambahkan 25 HCl 6N ke dalam erlenmeyer tersebut, kemudian Erlenmeyer ditutup dengan alumunium foil

3. Erlenmeyer dimasukkan ke dalam waterbath selama 8 jam dengan menggunakan suhu  $110^{\circ}\text{C}$
4. Setelah selesai, larutan didinginkan kemudian larutan sampel disaring menggunakan kertas saring dan diambil filtratnya
5. Filtrat yang sudah terpisah tersebut diambil menggunakan syringe dan difilter kembali dengan menggunakan filter membran  $0,45\ \mu\text{m}$ .
6. Setelah difilter, filtrat sampel diencerkan dengan aquades 1:10 v/v dan kemudian filtrat yang telah diencerkan ditaruh ke dalam vial dan siap untuk dinalisa menggunakan LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)

#### 2.2.6 Prosedur Analisa Gula Reduksi

##### a. Preparasi sampel

1. Biji kakao digerus hingga halus, lalu ditimbang sebanyak 2 gram
2. Sampel yang telah ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml
3. Setelah itu ditambahkan aquades sedikit, lalu dikocok.
4. Kemudian ditambahkan dengan larutan Pb asetat sebanyak 5 ml.
5. Setelah itu diteteskan setetes  $(\text{NH}_4)_4\text{HPO}_4$  10 % ( bila terbentuk endapan putih maka penambahan larutan Pb Asetat sudah cukup dilakukan)
6. Setelah itu ditambahkan lagi  $(\text{NH}_4)_4\text{HPO}_4$  10 % sebanyak 15 ml
7. Selanjutnya diteteskan lagi satu atau dua tetes  $(\text{NH}_4)_4\text{HPO}_4$  10 % untuk melihat apakah terbentuk endapan Pb
8. Setelah itu ditambahkan air hingga tanda tera, lalu labu ukur digoyang sebanyak 12 kali.
9. Larutan sampel disaring untuk mendapatkan filtratnya

##### b. Metode Pengukuran Somogyi – Nelson (Kaczmarek, 1952)

1. Masing-masing larutan standar (pembuatan standar di Lampiran 3.21) dan larutan sampel diambil sebanyak 1 ml
2. Masing-masing ditambahkan 1 ml reagen nelson.
3. Setelah itu dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit.
4. Setelah dipanaskan, larutan ditambahkan 1 ml larutan arsenomolybdat dan 7 ml aquades.
5. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm

6. Untuk larutan standar, dibuat kurva standar untuk menentukan konsentrasi sampel.

### 2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 faktor perlakuan dan 2 kali ulangan, masing-masing faktor terdiri atas 3 taraf untuk faktor A, 3 taraf untuk faktor B dan 2 taraf (level) untuk faktor C.

Faktor perlakuan pertama adalah tingkat kematangan buah ( $A_i$ ) yang terdiri dari masak awal ( $A_1$ ), masak sedang ( $A_2$ ) dan masak penuh ( $A_3$ ). Faktor perlakuan kedua adalah lama pemeraman ( $B_j$ ) yang terdiri dari tanpa pemeraman ( $B_1$ ), peram 3 hari ( $B_2$ ) dan peram 6 hari ( $B_3$ ). Faktor perlakuan ketiga adalah fermentasi ( $C_k$ ) yang terdiri dari non fermentasi ( $C_1$ ) dan fermentasi ( $C_2$ ).

Model umum dari rancangan tersebut adalah:

$$Y_{ijkn} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + C_k + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \epsilon_{(ijk)n}$$

Keterangan:

$Y_{ijkn}$  = variabel respon hasil observasi ke-n yang terjadi karena pengaruh bersama taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C.

$\mu$  = pengaruh rata-rata

$A_i$  = efek taraf ke-i faktor A

$B_j$  = efek taraf ke-j faktor B

$C_k$  = efek taraf ke-k faktor C

$AB_{ij}$  = efek interaksi antara taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B

$AC_{ik}$  = efek interaksi antara taraf ke-i faktor A dan taraf ke-k faktor C

$BC_{jk}$  = efek interaksi antara taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C

$ABC_{ijk}$  = efek terhadap variabel respon yang disebabkan oleh interaksi antara taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C.

$\epsilon_{(ijk)n}$  = efek unit eksperimen ke-n dikarenakan oleh kombinasi perlakuan ( $ijk$ ).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian tahap kedua dilakukan proses fermentasi biji kakao. Tujuan Penelitian tahap II ini adalah untuk mengetahui pengaruh tingkat kematangan, lama pemeraman baik yang difermentasi maupun tidak difermentasi terhadap pembentukan prekursor aromatik biji kakao. Parameter yang dianalisa pada tahap kedua ini adalah kadar air, pH, polyphenol pada biji kakao basah

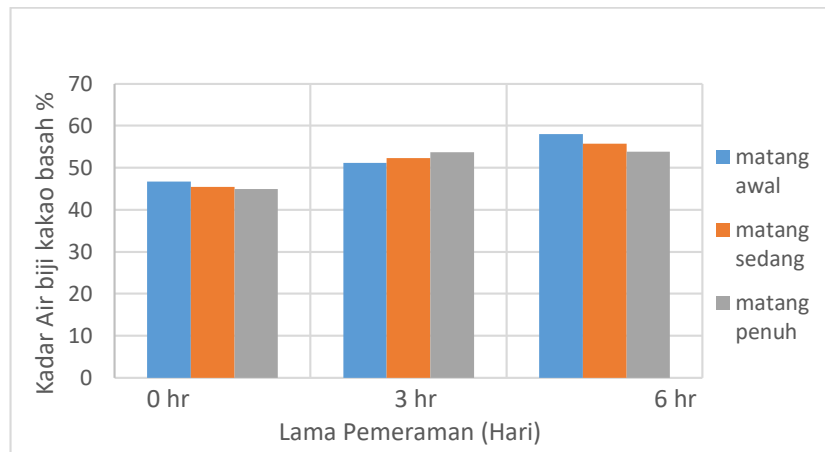
setelah fermentasi dan pada biji kakao kering serta parameter uji belah (*cut test*), gula reduksi, asam amino pada biji kakao kering.

## 1. Kadar Air

### a. Kadar air biji kakao basah setelah fermentasi

Peranan air dalam bahan pangan adalah salah satu faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas metabolisme misalnya aktifitas enzim dan aktifitas kimia dimana air berfungsi sebagai medium untuk reaksi kimia dan enzimatik. Air berperan dalam reaksi metabolik dalam sel dan merupakan alat pengangkut zat-zat gizi atau bahan limbah ke dalam dan keluar sel.

Pengamatan kadar air dilakukan pada biji kakao sesaat setelah fermentasi sebelum pengeringan dan pada biji kakao kering yang telah mengalami fermentasi dan pengeringan. Pengamatan kadar air pada biji kakao sesaat setelah fermentasi dimaksudkan untuk mengetahui berapa persentase kadar air yang hilang setelah pengeringan biji kakao sampai pada kadar air biji kakao mencapai kurang dari atau sama dengan 7 % ( $\leq 7\%$ ). Kadar air biji kakao basah setelah fermentasi yang terlihat pada Gambar 3.2 menunjukkan bahwa kadar air biji dengan tingkat kematangan awal (A1) semakin meningkat dengan semakin lamanya pemeraman. Begitu pula dengan tingkat kematangan sedang (A2) dan matang penuh (A3), kadar airnya semakin meningkat dengan semakin lamanya pemeraman. Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) pada Lampiran 3.1c diperoleh bahwa tingkat kematangan tidak berpengaruh terhadap kadar air biji kakao setelah fermentasi, dimana  $p = 0.557$ ,  $p > 0.05$ . Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap kadar air biji kakao, dapat dilihat dari nilai  $p = 0.000$ , dimana  $p < 0.05$ . Pada analisis uji lanjut Tukey (Lampiran 3.1d) terlihat bahwa terdapat perbedaan signifikan antara taraf perlakuan tanpa pemeraman (B1), pemeraman 3 hari (B2) dan pemeraman 6 hari (B3) (ketiganya berada di subset yang berbeda) semakin lama pemeraman maka kadar air semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena selama pemeraman telah terjadi respirasi pada buah kakao, dimana terjadi degradasi senyawa kompleks secara oksidatif dalam sel, misalnya terjadi pemecahan pati dan gula menjadi senyawa sederhana, sehingga terbentuk  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energy (Sudjatha & Wisaniyasa, 2017).



Gambar 3.2. Hubungan perlakuan tingkat kematangan dan lama pemeraman buah kakao terhadap kadar air biji kakao basah setelah fermentasi

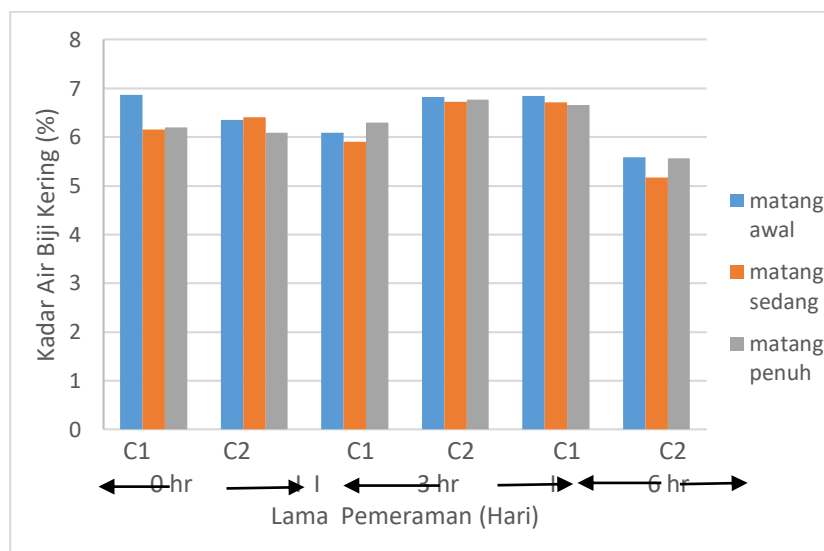
Pada semua tingkat kematangan awal (A1) sampai penuh (A3), pemeraman 6 hari memberikan hasil kadar air tertinggi. Grafik kadar air biji kakao basah setelah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.2

#### b. Kadar air biji kakao kering

Pengeringan biji kakao pada penelitian ini menggunakan sinar matahari langsung. Lama penjemuran 5 - 8 jam per hari dengan intensitas cahaya matahari sedang sampai penuh. Pengeringan menggunakan alas terpal di atas lantai beton. Pembalikan dilakukan tiap 2 jam sekali agar biji kakao kering merata.

Pengamatan kadar air biji kakao pada tahap ini dilakukan baik pada biji kakao yang sudah difermentasi maupun pada biji kakao tanpa fermentasi dengan perlakuan tingkat kematangan buah dan lama pemeraman. Berdasarkan analisis sidik ragam pada Lampiran 3.2c diperoleh bahwa tingkat kematangan buah tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air biji kakao dengan nilai  $p = 0.217$  dimana  $p > 0.05$  demikian pula perlakuan lama pemeraman juga tidak berpengaruh terhadap kadar air biji kakao kering dengan nilai  $p = 0.063$  dimana  $p > 0.05$ . Sedangkan perlakuan fermentasi atau non fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar air biji kakao kering dengan nilai  $p = 0.042$  dimana  $p < 0.05$ . Kadar air pada biji kakao fermentasi rata-rata (6.16 %) lebih rendah dari pada kadar air biji tanpa fermentasi dengan rata-rata (6.41 %) (Lampiran 3.2b). Kadar air pada biji kakao fermentasi (C2) dengan pemeraman 6 hari adalah paling rendah nilainya dengan kisaran 5.1-5.59 %. Selama pengeringan biji kakao ini paling cepat kering, hanya membutuhkan waktu 4 hari sedangkan taraf non fermentasi (C1) dan perlakuan

lainnya membutuhkan waktu 1 minggu untuk mencapai kadar air yang dipersyaratkan yaitu ( $\leq 7\%$ ). Hal ini disebabkan karena selama pemeraman terjadi penurunan berat pulp dimana glukosa di dalam pulp akan dioksidasi menjadi  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energy. Selain itu dilakukan pencucian pada biji kakao sesaat setelah dikeluarkan dari kotak fermentasi, sehingga pulp akan mudah terlepas dari biji kakao. Oleh karena itu kadar air biji kakao yang difermentasi dengan pemeraman 6 hari lebih rendah dari biji kakao non fermentasi dan perlakuan lainnya (peram 0 hari dan 3 hari yang difermentasi). Bila kadar air lebih besar dari 8 % jamur bisa berkembang dalam biji kakao, sedangkan bila kadar air  $< 5\%$  maka biji akan rapuh (Lagunes Gálvez *et al.*, 2007).



Gambar 3.3 Hubungan perlakuan tingkat kematangan dan lama pemeraman buah kakao terhadap kadar air biji kakao kering

Keterangan : C1 = biji kakao yang tidak difermentasi

C2 = biji kakao yang difermentasi

Interaksi perlakuan lama pemeraman buah (B) dan fermentasi (C) berpengaruh terhadap kadar air yang dihasilkan. Interaksi ketiga perlakuan tingkat kematangan buah (A), lama pemeraman (B) dan fermentasi/non fermentasi (C) tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air yang dihasilkan. Sementara interaksi perlakuan tingkat kematangan (A) dengan perlakuan lama pemeraman (B) serta perlakuan tingkat kematangan buah (A) dengan perlakuan fermentasi (C) juga tidak berpengaruh terhadap kadar air yang dihasilkan (Lampiran 3.2c).



Tabel 3.1 Hasil analisa tukey interaksi antara lama pemeraman dan fermentasi terhadap kadar air (%) biji kakao kering.

Lama pemeraman	Tanpa fermentasi (C1)	Fermentasi (C2)
Tanpa peram (B1)	6.4067 b	6.2850 b
Peram 3 hr (B2)	6.0950 b	6.7700 a
Peram 6 hr (B3)	6.7417 a	5.4417 c

Catatan: nilai yang ditulis dengan huruf yang berbeda menunjukkan potensi hasil yang berbeda secara signifikan pada level kepercayaan 5 %.

Pada Tabel 3.1 terlihat bahwa kadar air biji kakao kering pada hasil interaksi B1C1 (biji kakao dari buah tidak diperam dan biji tidak difermentasi), B1C2 (biji kakao dari buah tidak diperam dan biji difermentasi), dan B2C1 (biji kakao dari buah yang diperam 3 hari dan biji tidak difermentasi) tidak berbeda nyata. Demikian pula kadar air biji kakao kering pada interaksi B2C2 (biji kakao dari buah peram 3 hari yang difermentasi dan B3C1 (biji kakao dari buah yang diperam 6 hari tanpa fermentasi) tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan interaksi lainnya. Interaksi B3C2 atau buah yang diperam 6 hari dan difermentasi, mempunyai kadar air terendah dan berbeda nyata dengan interaksi lainnya. Hal ini disebabkan karena selama pemeraman terjadi penurunan berat pulp dimana glukosa di dalam pulp akan dioksidasi menjadi CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan energy. Selain itu dilakukan pencucian pada biji kakao sesaat setelah dikeluarkan dari kotak fermentasi, sehingga pulp akan mudah terlepas dari biji kakao.

## 2. pH biji kakao

### a. pH biji kakao basah fermentasi

Nilai pH merupakan parameter untuk menentukan tingkat keasaman biji kakao hasil fermentasi. Asam yang diukur adalah asam organik yang terbentuk akibat reaksi metabolisme pada proses fermentasi. Kualitas biji kakao hasil fermentasi ditentukan oleh pH atau keasaman biji. Jika pH menunjukkan nilai yang rendah berarti keasaman biji meningkat.

pH biji kakao selama fermentasi sangat penting karena menentukan tingkat aktivitas enzim yang bertanggung jawab untuk produksi prekursor aroma serta pengembangan karakteristik warna coklat biji kakao (Hansen *et al.*, 1998; Sakharov dan Ardila, 1999). Enzim dilaporkan memiliki pH optimal 4,5-5,5 (Biehl *et al.*, 1989). Voigt *et al.*, (1994) melaporkan bahwa, biji kakao fermentasi dengan pH antara 5,0–5,5 menghasilkan lebih tinggi potensi rasa sedangkan biji fermentasi dengan pH 4.0–4.5 memberikan potensi rasa yang rendah.

Berdasarkan hasil pengukuran pH pada biji kakao basah setelah fermentasi, diperoleh bahwa pada pemeraman hari ke 0, pH biji kakao berkisar 4.05 – 4.5 kemudian pada pemeraman 3 hari diperoleh pH biji kakao berkisar 4.8 – 5.1 dan pada pemeraman 6 hari pH biji kakao basah fermentasi meningkat dengan kisaran 4.85 – 6.35 (Gambar 3.4). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemeraman 6 hari dapat memberikan potensi rasa yang lebih tinggi (pH 4.85-6.35) dari pada pemeraman 3 hr dan 0 hr (tanpa pemeraman) untuk biji kakao basah yang sudah difermentasi. Berdasarkan uji statistik (Lampiran 3.3c) diperoleh bahwa tingkat kematangan berpengaruh nyata terhadap pH biji kakao basah fermentasi dengan nilai sig = 0.001 dimana  $p < 0.05$ . pH biji kakao dengan tingkat kematangan masak awal mempunyai pH yang paling rendah dibanding tingkat kematangan yang lainnya. Berdasarkan uji Tukey pH biji kakao dari buah masak awal berbeda nyata dengan pH biji kakao dari buah masak sedang dan buah masak penuh. Hal ini disebabkan pada buah dengan tingkat kematangan awal masih banyak mengandung asam-asam organik yang menyebabkan pH rendah, yang diperkuat oleh kondisi fermentasi dimana selama fermentasi asam asetat terbentuk sebagai hasil penguraian gula akan berdifusi masuk ke dalam biji kakao (Afoakwa, 2016).

Demikian pula lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap pH biji kakao basah fermentasi dengan sig = 0.000, dimana  $p < 0.05$  berdasarkan uji tukey semakin lama pemeraman pH semakin tinggi. Selama pemeraman terjadi respirasi dimana glukosa dirombak menjadi senyawa-senyawa sederhana sehingga terbentuk  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energy. Semakin lama pemeraman glukosa semakin menurun, sehingga asam asetat yang dihasilkan selama fermentasi juga menurun. Penurunan jumlah asam asetat akan menyebabkan pH biji meningkat. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa semakin lama pemeraman maka pH biji kakao akan meningkat.

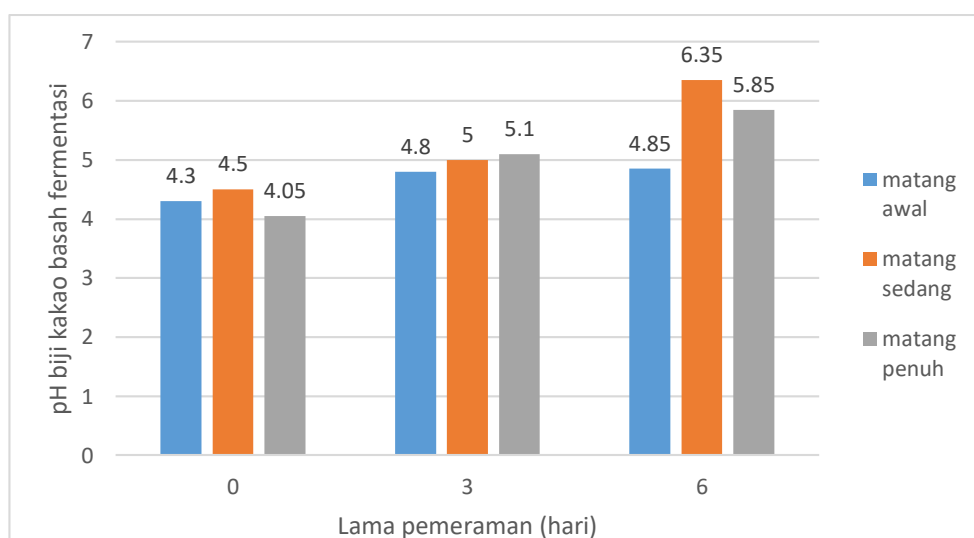
Interaksi antara tingkat kematangan dengan lama pemeraman juga berpengaruh nyata dengan nilai  $p = 0.002$ , dimana  $p < 0.05$ . Interaksi terbaik adalah interaksi tingkat kematangan penuh dengan lama pemeraman 6 hari dengan nilai pH 5.8, tapi ini belum bisa dijadikan dasar karena biji kakao ini adalah biji kakao basah fermentasi. Setelah biji kakao dikeringkan umumnya pH akan berubah.

Tabel 3.2 Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap pH biji kakao basah fermentasi

Tingkat kematangan	Lama pemeraman		
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)
Matang awal (A1)	4.30 cd	4.80 bc	4.85 bc
Matang sedang (A2)	4.50 bcd	5.00 bc	6.35 a
Matang penuh (A3)	4.05 d	5.10 b	5.85 a

Catatan: nilai yang ditulis dengan huruf yang berbeda menunjukkan potensi hasil yang berbeda secara signifikan pada level kepercayaan 5 %.

Dari Tabel 3.2 terlihat bahwa interaksi A1B1 (biji kakao dari buah matang awal tanpa pemeraman), A2B1 (biji kakao dari buah matang sedang tanpa pemeraman) dan A3B1 (biji kakao dari buah matang penuh tanpa pemeraman) tidak berbeda nyata, artinya pH biji kakao pada tiga interaksi di atas tidak berbeda nyata. Demikian pula pH biji kakao pada interaksi A1B2 (biji kakao dari buah matang awal peram 3 hari), A1B3 (biji kakao dari buah matang awal peram 6 hari), A2B2 (biji kakao dari buah matang sedang peram 3 hari), A3B2 (biji kakao dari buah matang penuh peram 3 hari) tidak berbeda nyata, namun berbeda sangat nyata pada interaksi A2B3 (biji kakao dari buah matang sedang peram 6 hari) dan A3B3 (biji kakao dari buah matang penuh peram 6 hari).



Gambar 3.4 Pengaruh lama pemeraman terhadap pH biji kakao basah setelah fermentasi

Semakin lama pemeraman dan semakin matang buah kakao telah terjadi peningkatan pH, hal ini disebabkan semakin matang buah maka pati akan dirombak menjadi gula sederhana yaitu glukosa, fruktosa dan sukrosa, selanjutnya

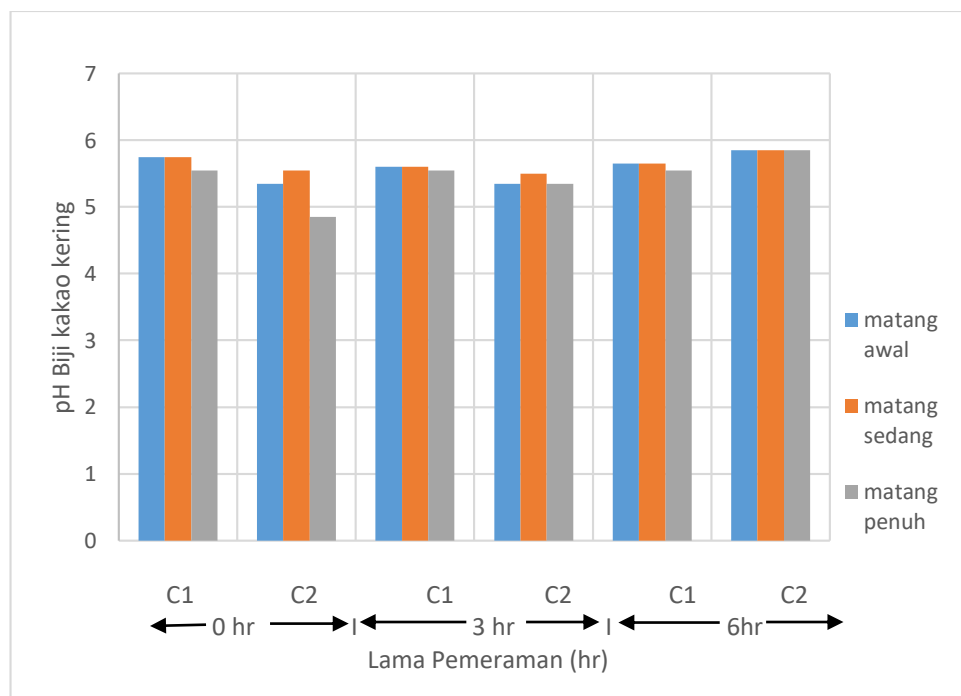
semakin lama pemeraman glukosa yang terbentuk akan dioksidasi menjadi CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan energy. Karena glukosa semakin menurun dengan semakin lamanya pemeraman, maka asam asetat yang dihasilkan selama fermentasi juga menurun dan akhirnya pH biji akan naik.

b. pH biji kakao kering

Berdasarkan analisa sidik ragam (Lampiran 3.4c) diperoleh bahwa tingkat kematangan buah kakao berpengaruh nyata terhadap pH biji kakao kering dimana  $p = 0.001$  dan  $p < 0.05$ . Pada Lampiran 3.4d terlihat bahwa tingkat kematangan A2 (masak sedang) memiliki pH tertinggi (5.65). pH terendah diperoleh pada tingkat kematangan A3 (masak penuh) (5.45). Semakin matang buah maka pati akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa. Jika glukosa tinggi maka asam asetat yang dihasilkan saat fermentasi juga akan tinggi, sehingga keasamannya tinggi atau pH akan rendah. Pada Lampiran 3.4e terlihat perlakuan lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap pH biji kakao kering, dimana  $p = 0.000$ , dan  $p < 0.05$ . pH tertinggi diperoleh pada pemeraman 6 hari rata-rata (5.73) kemudian berturut-turut pemeraman 3 hari (5.49) dan tanpa pemeraman (5.46). Perlakuan fermentasi/non fermentasi juga berpengaruh nyata terhadap pH biji kakao kering dimana  $p = 0.002$  jadi  $p < 0.05$ . Pada Lampiran 3.4b terlihat pH tertinggi ditemukan pada biji kakao non fermentasi dengan nilai 5.63 sedangkan rata-rata pH biji fermentasi adalah 5.50. Pada biji kakao kering fermentasi semakin lama pemeraman pH semakin naik. Selama pemeraman terjadi respirasi pada buah dimana gula digunakan sebagai substrat dalam reaksi metabolik dimana gula didegradasi sehingga terbentuk CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan energy (Aroyeun et al.,2006). Selama pemeraman terjadi penurunan glukosa sehingga pada saat fermentasi asam asetat yang dihasilkan juga menurun yang menyebabkan keasaman biji menurun atau pH biji kakao meningkat.

pH biji kakao yang dikeringkan dengan sinar matahari dilaporkan oleh (Apriyanto *et al.*, 2016) berkisar antara 5 – 5.7. Pada biji kakao kering yang diperoleh dalam penelitian ini kisarannya lebih lebar yaitu antara 4.8 – 5.8 untuk biji kakao yang difermentasi sedangkan yang non fermentasi berkisar antara 5.5 – 5.7. Jinap, S.,(1994) melaporkan bahwa pH biji kakao kering fermentasi dari Malaysia dan Brazil adalah 4.75 dan 5.19. Nilai pH ini lebih rendah dibandingkan dengan nilai pH biji kakao kering fermentasi yang dihasilkan dari penelitian ini.

Dengan membandingkan antara pH biji kakao basah fermentasi dengan pH biji kakao kering fermentasi maka dengan pengeringan dapat meningkatkan pH biji kakao. Berdasarkan Gambar 3.4 terlihat bahwa pH biji kakao basah fermentasi pada perlakuan tanpa pemeraman berkisar antara 4.05 – 4.5 sedangkan pada Gambar 3.5 pada biji kakao kering fermentasi, terlihat bahwa pH biji kakao kering dengan perlakuan tanpa pemeraman berkisar antara 4.85 -5.55. Demikian juga pada perlakuan pemeraman 3 hari, pH biji kakao basah fermentasi berkisar antara 4.8 – 5.1 sedangkan pada biji kakao kering fermentasi (Gambar 3.5) terlihat lebih tinggi yaitu berkisar 5.35 – 5.50. Nilai pH ini lebih rendah dari hasil penelitian (Hinneh *et al.*, 2018) yang melaporkan pH biji kakao kering fermentasi dengan pemeraman 3 hari adalah 5.61 dan pemeraman 7 hari adalah 5.45. Pada perlakuan pemeraman 6 hari pada penelitian ini, nilai pH taraf A1 naik menjadi 5.85 sedangkan taraf yang lainnya konstan pada pH 5.85 setelah pengeringan. Pengolahan kakao menghendaki pH biji antara 5.2 – 5.8 untuk menghasilkan cocoa butter yang berkualitas (Wood & Lass, 2001).



Keterangan : C1 = biji kakao tidak difermentasi ; C2 = biji kakao difermentasi

Gambar 3.5. Hubungan perlakuan tingkat kematangan, lama pemeraman buah dan fermentasi terhadap pH biji kakao kering

Kenaikan pH biji kakao dari biji basah fermentasi menjadi biji kering, dapat disebabkan karena asam asetat mudah sekali menguap dalam kondisi aerob (Apriyanto *et al.*, 2016) apalagi setelah biji kakao basah kontak dengan suhu tinggi

saat dijemur. Menurut Afoakwa, *et al.*, (2016) pengeringan mengurangi tingkat keasaman dan rasa sepat dalam kakao. Rodriguez-compos *et al.*, (2011) melaporkan bahwa selama proses pengeringan terdapat air dan asam volatil yang hilang jika proses pengeringan berjalan lambat dan akan terjadi peningkatan nilai pH biji kakao.

Interaksi antara tingkat kematangan dan lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap pH biji kakao kering demikian pula interaksi antara lama pemeraman dengan perlakuan fermentasi/non fermentasi juga berpengaruh terhadap pH biji kakao kering, sedangkan interaksi yang lainnya tidak berpengaruh terhadap pH biji kakao kering.

Tabel 3.3 Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap pH biji kakao kering

Tingkat kematangan	Lama pemeraman		
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)
Matang awal (A1)	5.55 ab	5.47 ab	5.75 a
Matang sedang (A2)	5.65 ab	5.55 ab	5.75 a
Matang penuh (A3)	5.20 b	5.45 ab	5.70 a

Tabel 3.4 Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap pH biji kakao kering

Lama pemeraman	Tanpa fermentasi (C1)	Fermentasi (C2)
0 hari (B1)	5.68 ab	5.25 c
3 hari (B2)	5.58 ab	5.4 bc
6 hari (B3)	5.61 ab	5.85 a

Catatan: nilai yang ditulis dengan huruf yang berbeda menunjukkan potensi hasil yang berbeda secara signifikan pada level kepercayaan 5 %.

Berdasarkan Tabel 3.3 terlihat bahwa interaksi A1B1 (biji kakao dari buah matang awal tanpa pemeraman), A1B2 (biji kakao dari buah matang awal peram 3 hari), A2B1 (biji kakao dari buah matang sedang tanpa pemeraman), A2B2 (biji kakao dari buah matang sedang peram 3 hari), A3B2 (biji kakao dari buah matang penuh peram 3 hari) dan A3B1 (biji kakao dari buah matang penuh tanpa pemeraman) tidak berbeda nyata terhadap pH biji kakao kering, namun interaksi A3B1 (biji kakao dari buah matang penuh tanpa pemeraman) berbeda sangat nyata dengan A1B3 (biji kakao dari buah matang awal peram 6 hari), A2B3 (biji

kakao dari buah matang sedang peram 6 hari) dan A3B3 (biji kakao dari buah matang penuh peram 6 hari). Hal ini disebabkan sampel A3B1 (biji kakao dari buah matang penuh tanpa peram) mengandung glukosa yang tinggi sehingga pH rendah yaitu 5,2. Namun semakin lama pemeraman glukosa semakin menurun sehingga pH akan naik yaitu 5,45 pada hari ke 3 pemeraman dan 5,7 pada hari ke 6 pemeraman.

Berdasarkan Tabel 3.4 terlihat bahwa interaksi B1C1 (biji kakao dari buah yang tidak diperam dan tidak difermentasi), B2C1 (biji kakao dari buah yang diperam 3 hari tanpa fermentasi) dan B3C1 (biji kakao dari buah yang diperam 6 hari tanpa fermentasi) tidak berbeda nyata terhadap pH biji kakao kering, demikian pula interaksi B1C2 (biji kakao dari buah yang tidak diperam tapi difermentasi) dan B2C2 (biji kakao dari buah yang diperam 3 hari dan difermentasi) tidak berbeda nyata terhadap pH biji kakao kering, namun kedua interaksi yang terakhir ini sangat berbeda nyata dengan B3C2 (biji kakao dari buah yang diperam 6 hari dan difermentasi). Hal ini disebabkan semakin lama pemeraman glukosa semakin berkurang sehingga pada saat fermentasi, asam asetat yang dihasilkan juga semakin menurun yang menyebabkan pH biji kakao meningkat.

### **3. Polyphenol Biji Kakao**

#### **a. Polyphenol pada biji kakao basah fermentasi**

Pengukuran polyphenol pada penelitian ini dilakukan pada biji kakao basah setelah fermentasi dan pada biji kakao kering yang telah difermentasi dan dikeringkan. Polyphenol yang diukur pada biji kakao basah fermentasi (Lampiran 3.5c) menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kadar polyphenol  $p < 0.05$ , dimana  $p = 0.000$ . Berdasarkan uji Tukey pada (Lampiran 3.5d) diperoleh bahwa semakin matang buah semakin rendah kandungan poliphenolnya. Tingginya kandungan polyphenol ditandai dengan rasa yang sangat sepat dan pahit. Buah yang sudah matang mempunyai rasa sepat dan pahit yang sudah berkurang dibanding dengan buah masak awal. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Thi Kim Yen, D., *et al.*, (2018) bahwa fermentasi biji kakao yang dipanen pada tingkat kematangan awal (buah ungu kemerahan) diperoleh total polyphenol yang tertinggi. Polyphenol tertinggi dalam penelitian ini diperoleh pada tingkat kematangan awal (A1) kemudian berturut-turut A2 dan A3.

Berdasarkan analisis sidik ragam, (Lampiran 3.5c) perlakuan lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap kandungan polyphenol biji kakao basah

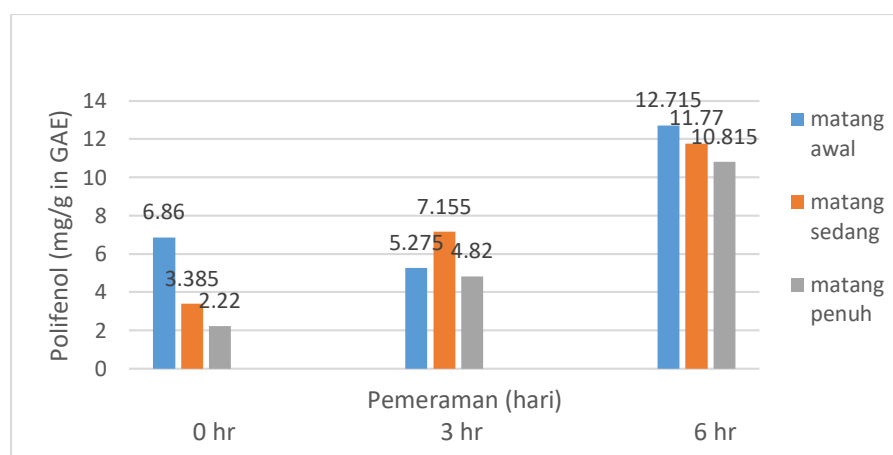
fermentasi  $p < 0.05$  dimana  $p = 0.000$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.5e) semakin lama pemeraman kandungan polyphenol semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena pada pemeraman terjadi peningkatan suhu dalam biji kakao ditambah pada saat fermentasi juga terjadi peningkatan suhu, peningkatan suhu ini menyebabkan sel-sel yang mengandung polyphenol mudah lisis saat fermentasi sudah berakhir, oleh karena itu polyphenol akan terekstrak secara optimal keluar dari kantong-kantong sel.

Kadar polyphenol tertinggi ditemukan pada pemeraman 6 hari (B3) kemudian berturut-turut pemeraman 3 hari (B2) dan tanpa pemeraman (B1) (Lampiran 3.5b). Interaksi antara tingkat kematangan buah dengan lama pemeraman berpengaruh nyata. Interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terlihat pada Tabel 3.5.

Tabel 3.5 Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap polyphenol (mg/g) biji kakao basah fermentasi

Tingkat kematangan	Lama pemeraman		
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)
Matang awal (A1)	6.86 cd	5.27 de	12.71 a
Matang sedang (A2)	3.38 fg	7.15 c	11.77 ab
Matang penuh (A3)	2.22 g	4.82 ef	10.81 b

Catatan: nilai yang ditulis dengan huruf yang berbeda menunjukkan potensi hasil yang berbeda secara signifikan pada level kepercayaan 5 %.



Gambar 3.6 Pengaruh lama pemeraman terhadap polyphenol biji kakao basah setelah fermentasi



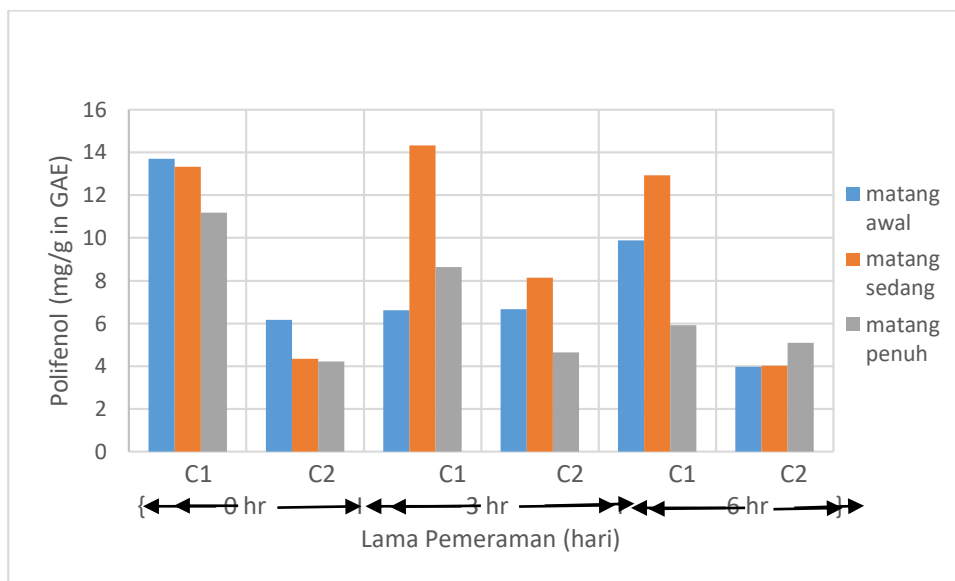
Tabel 3.5 menunjukkan bahwa interaksi A2B1 (biji kakao dari buah matang sedang tanpa pemeraman), A2B2 (biji kakao dari buah matang sedang peram 3 hari) dan A2B3 (biji kakao dari buah matang sedang peram 6 hari) sangat berbeda nyata, demikian pula interaksi A3B1 (biji kakao dari buah matang penuh tanpa pemeraman), A3B2 (biji kakao dari buah matang penuh peram 3 hari) dan A3B3 (biji kakao dari buah matang penuh peram 6 hari) sangat berbeda nyata. Semakin lama pemeraman kandungan polyphenol semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena pada pemeraman terjadi peningkatan suhu dalam biji kakao ditambah pada saat fermentasi juga terjadi peningkatan suhu, peningkatan suhu ini menyebabkan sel-sel yang mengandung polyphenol mudah lisis saat fermentasi sudah berakhir, oleh karena itu polyphenol akan terekstrak secara optimal keluar dari kantong-kantong sel. Semakin matang buah maka kandungan polyphenol semakin berkurang, buah yang sudah matang setelah pemetikan maka pati akan dirombak menjadi gula yaitu glukosa, fruktosa dan sukrosa. Sehingga buah akan berubah dari rasa sepat menjadi rasa manis.

Fermentasi biji kakao diakhiri setelah biji “mati”, sejak itu polyphenol mendifusi dari sel yang berisi polyphenol menuju ke seluruh jaringan biji, kemudian mengalami oksidasi yang dikatalisis oleh enzim polyphenol oksidase. Pada proses pengeringan terjadi oksidasi enzimatik membentuk senyawa melanin dan melanoprotein, substansi ini menyebabkan terbentuknya warna coklat khas biji kakao kering yang dihasilkan (Jinap, 1994).

#### b. Polyphenol biji kakao kering fermentasi

Pengukuran polyphenol dilakukan baik pada biji kakao kering fermentasi maupun pada biji kakao kering non fermentasi. Berdasarkan dari analisis sidik ragam (Lampiran 3.6c) terlihat bahwa tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kandungan polyphenol biji kakao kering  $p < 0.05$  dimana  $p = 0.000$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.6d) terlihat bahwa polyphenol tertinggi ditemukan pada biji kakao kering dari buah dengan tingkat kematangan sedang (A2) kemudian berturut-turut tingkat kematangan awal (A1) dan matang penuh (A3). Pada perlakuan lama pemeraman juga berpengaruh nyata terhadap kadar polyphenol  $p = 0.000$  dimana  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.6e), polyphenol tertinggi berada pada biji kakao kering (B1) tanpa pemeraman, kemudian berturut-turut biji kakao kering dengan pemeraman 3 hari (B2) dan pemeraman 6 hari (B3). Berdasarkan analisis sidik ragam perlakuan fermentasi

berpengaruh nyata terhadap kandungan polyphenol. Biji kakao kering non fermentasi mempunyai kandungan polyphenol yang lebih tinggi (10.725 mg/g in GAE) dibandingkan biji kakao kering fermentasi (5.25 mg/g in GAE).



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

Gambar 3.7 Hubungan perlakuan tingkat kematangan, lama pemeraman buah dan fermentasi biji terhadap kadar polyphenol biji kakao kering

Biji kakao basah fermentasi setelah dikeringkan dengan kadar air < 7 % maka kandungan senyawa polyphenol baik A1, A2 maupun A3 menurun dari 12.715 ,11.77 dan 10.815 mg/g in GAE menjadi 3.978 , 4.017 dan 5.089 mg/g in GAE (pemeraman 6 hari) sedangkan pada pemeraman 3 hari, kandungan polyphenol A1 dan A2 naik dari 5.275 dan 7.155 mg/g in GAE menjadi 6.628 dan 8.142 mg/g in GAE sedangkan A3 turun dari 4.82 menjadi 4.634 mg/g in GAE. Pada pemeraman 0 hari A2 dan A3 naik dari 3.385 dan 2.22 mg/g in GAE menjadi 4.343 dan 4.211 mg/g in GAE, sedangkan A1 menurun dari 6.86 menjadi 6.176 mg/g in GAE. Secara umum polyphenol menurun setelah pengeringan. Hal ini disebabkan karena pada saat pengeringan polyphenol teroksidasi dan dengan bantuan enzim polyphenol oksidasi, polyphenol diubah menjadi quinon yang berwarna coklat.

Penurunan polyphenol yang cukup tajam pada pemeraman 6 hari setelah pengeringan sesuai yang dilaporkan oleh (Bonvehi & Coll, 1997) bahwa pada pengolahan biji kakao sejak dari biji kakao segar sampai menjadi produk kakao, terjadi pengurangan polyphenol yang cukup besar ditandai oleh berkurangnya

rasa pahit dan sepat. Biji kakao segar mengandung polyphenol sekitar 140 mg/g, dipengaruhi oleh varietas dan daerah asal. Setelah mengalami fermentasi dan pengeringan kandungan polyphenol turun menjadi 43 mg/g dan setelah mengalami penyangraian kandungan polyphenol tinggal 6.46 mg/g. Nazaruddin *et al.*,(2006) melaporkan bahwa penurunan polyphenol selama pengolahan tidak hanya karena proses oksidasi tetapi juga disebabkan oleh difusi polyphenol ke dalam cairan fermentasi.

Data di atas menunjukkan bahwa sekitar 95 % polyphenol hilang selama pengolahan. Namun demikian polyphenol yang tersisa tersebut masih berpotensi sebagai antioksidan, tidak hanya terhadap produknya sendiri tetapi juga bagi kesehatan konsumen. Terdapat penemuan baru dalam penelitian ini , bila kita ingin meningkatkan jumlah polyphenol dua kali lipat dalam biji kakao maka sebaiknya buah kakao diperam terlebih dahulu selama 6 hari baru kemudian difermentasi (Gambar 3.6).

Pada Lampiran 3.6f menunjukkan uji Tukey interaksi antara tingkat kematangan dan fermentasi terhadap polyphenol biji kakao kering. Pada uji Tukey tersebut ditunjukkan bahwa interaksi A3C2 (biji kakao dari buah matang penuh dengan biji yang difermentasi), A2C2 (biji kakao dari buah matang sedang yang biji difermentasi) dan A1C2 (biji kakao dari buah matang awal, biji difermentasi) tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan A1C1 (biji kakao dari buah matang awal, biji tidak difermentasi) dan A2C1 (biji kakao dari buah matang sedang, biji tidak difermentasi). Interaksi yang mempunyai rata-rata polyphenol tertinggi (13.52 mg/g in GAE) adalah A2C1, yaitu biji dari tingkat kematangan buah sedang tanpa fermentasi. Semakin matang buah baik difermentasi maupun non fermentasi maka polyphenol semakin menurun. Hal ini ditandai dengan makin hilangnya rasa sepat diganti dengan rasa manis karena pati dirombak menjadi gula sederhana glukosa, fruktosa dan sukrosa pada buah matang penuh (A3). Polyphenol pada biji fermentasi lebih rendah dari pada biji non fermentasi karena polyphenol mengalami oksidasi pada saat fermentasi dan pengeringan, selain itu polyphenol juga berdifusi ke dalam cairan fermentasi saat berlangsungnya fermentasi.

Uji Tukey interaksi antara lama pemeraman dan fermentasi terhadap polyphenol biji kakao kering ditunjukkan pada (Lampiran 3.6g). Pada uji Tukey ini menunjukkan bahwa interaksi B3C2 (biji dari buah peram 6 hari dengan biji

difermentasi), B1C2 (biji dari buah tidak diperam dengan biji difermentasi), dan B2C2 (biji dari buah yang diperam 3 hari dengan biji yang difermentasi) tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan B2C1 (biji dari buah yang diperam 3 hari tanpa fermentasi biji) dan B1C1 (biji dari buah yang tidak diperam dan biji tidak difermentasi). Interaksi B1C1 atau biji dari buah tidak diperam dan tanpa fermentasi mengandung polyphenol tertinggi yaitu rata-rata sebesar 12.73 mg/g in GAE.

Uji Tukey interaksi antara tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi ditunjukkan pada (Lampiran 3.6h). Pada uji tersebut menunjukkan bahwa interaksi A2B2C1 (biji dari buah matang sedang dengan pemeraman 3 hari tanpa fermentasi) sangat berbeda dengan interaksi lainnya kecuali A1B1C1 (biji dari buah matang awal, tanpa pemeraman dan tidak difermentasi). Interaksi dari ketiga perlakuan yang mengandung polyphenol tertinggi (14.33 mg/g in GAE) adalah A2B2C1 atau dengan kata lain biji dari buah matang sedang dengan pemeraman 3 hari tanpa fermentasi. Semakin lama pemeraman dan semakin matang buah kakao baik difermentasi maupun tanpa fermentasi maka polyphenol semakin menurun, hal ini disebabkan terjadinya oksidasi polyphenol pada saat pengeringan maupun saat fermentasi. Polyphenol biji kakao pada buah yang difermentasi lebih rendah dari buah non fermentasi karena pada saat fermentasi juga terjadi oksidasi polyphenol dan sebagian polyphenol berdifusi ke dalam cairan fermentasi.

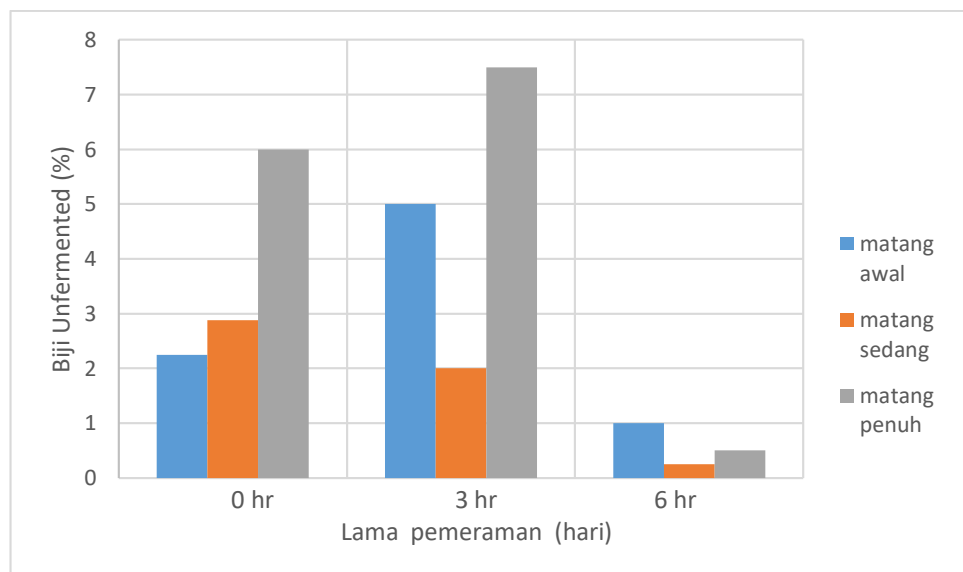
#### **4. Uji Belah (*Cut Tes*)**

##### **a. Persentase biji *unfermented* (Slaty)**

Biji slaty atau biji *unfermented* merupakan biji yang tidak terfermentasi, berwarna ungu agak keabu-abuan bertekstur pejal. Berdasarkan analisis sidik ragam (Lampiran 3.7c) menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap persentase biji *unfermented*  $p < 0.05$  dimana  $p = 0.001$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.7d) taraf perlakuan yang mempunyai biji *unfermented* yang paling tinggi adalah biji dari buah matang penuh (A3) yaitu 4.67 % kemudian berturut-turut biji dari buah matang awal (A1) sebesar 2.75 % kemudian biji dari buah matang sedang (A2) yaitu 1.71 %. Biji kakao yang mengandung biji *unfermented* tinggi, berarti terfermentasi secara tidak sempurna. Hal ini bisa disebabkan tingginya kandungan gula pada buah matang penuh (A3)

sehingga asam asetat yang terbentuk tinggi yang menyebabkan pH rendah atau biji yang terlalu asam.

Lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap persentase biji *unfermented*  $p = 0.000$  dimana  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.7e) taraf perlakuan yang mempunyai persentase biji *unfermented* tertinggi berturut-turut adalah buah yang diperam 3 hari, peram 0 hari dan peram 6 hari masing-masing sebesar 4.83 %, 3.7 % dan 0.58 %. Persentase biji *unfermented* dari buah yang diperam 3 hari dan 0 hari tidak berbeda nyata, namun sangat berbeda nyata dengan buah yang diperam selama 6 hari. Lama pemeraman 6 hari ini yang menghasilkan biji *unfermented* terendah yaitu 0.58 %. Interaksi perlakuan tingkat kematangan dan lama pemeraman juga berpengaruh terhadap persentase biji *unfermented*. Berdasarkan uji Tukey pada (Lampiran 3.7f) interaksi biji kakao dari buah matang sedang, peram 6 hari (A2B3), biji kakao dari buah matang penuh peram 6 hari (A3B3), biji kakao dari buah matang awal peram 6 hari (A1B3), biji kakao dari buah matang sedang peram 3 hari (A2B2), tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan biji kakao dari buah matang penuh peram 3 hari (A3B2). Interaksi A2B3 (kematangan sedang dengan lama pemeraman 6 hari) adalah kombinasi perlakuan yang memiliki % biji *unfermented* terendah yaitu 0.25 %. Hal ini berarti bahwa pemeraman 6 hari (B3) adalah lama pemeraman terbaik karena mempunyai persentase biji *unfermented* terendah, begitu juga tingkat kematangan A2 yang terbaik karena memiliki persentase biji *unfermented* terkecil.



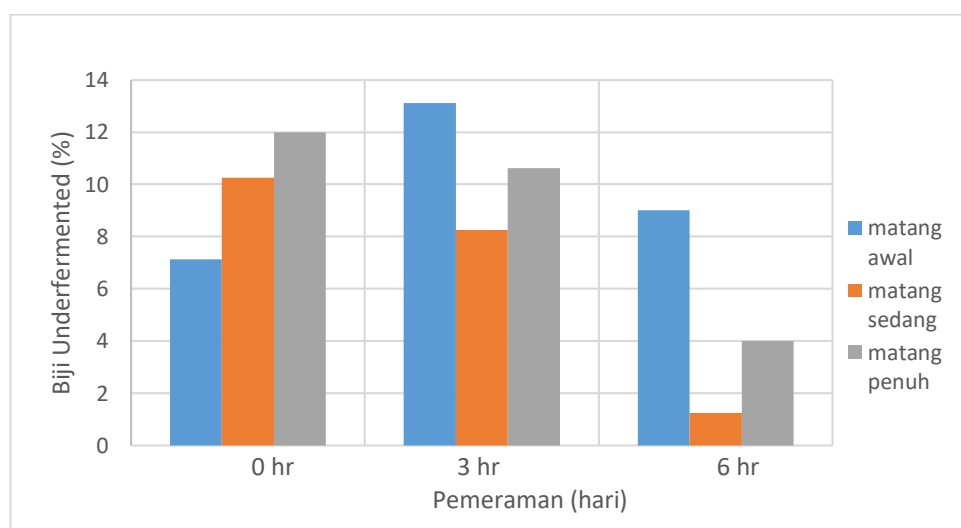
Gambar 3.8 Persentase biji kakao *unfermented*

Kulit buah kakao yang mengalami pemeraman 6 hari terlihat noda-noda warna hitam, apabila buah dibelah tercium bau seperti alkohol, ini menunjukkan telah terjadi fermentasi awal di dalam buah kakao sebelum buah dibelah dan sebelum biji difermentasi di dalam kotak kayu. Oleh karena itu buah yang diperam selama 6 hari yang menghasilkan biji slaty terendah. Menurut Jati, (2008) biji slaty akan mempengaruhi mutu biji kakao yaitu memberikan rasa *astringent* (sepat) dan *bitter* (rasa pahit) berlebihan dan aroma kakao yang rendah.

#### b. Persentase biji *underfermented*

Biji *underfermented* merupakan biji yang ketika dibelah, warnanya didominasi oleh warna ungu dan sedikit warna coklat. Biji *underfermented* dapat dikatakan sebagai biji transisi dari biji slaty menuju biji yang terfermentasi sempurna. Berdasarkan analisis sidik ragam (Lampiran 3.8c) terlihat bahwa tingkat kematangan buah kakao tidak berpengaruh terhadap persentase biji *underfermented* dimana  $p = 0.403$ , dan  $p > 0.05$ . Demikian pula lama pemeraman tidak berpengaruh nyata terhadap persentase biji *underfermented* dimana  $p = 0.062$  dan  $p > 0.05$ . Interaksi 2 perlakuan juga tidak berpengaruh terhadap persentase biji *underfermented* dimana  $p = 0.367$  dan  $p > 0.05$ .

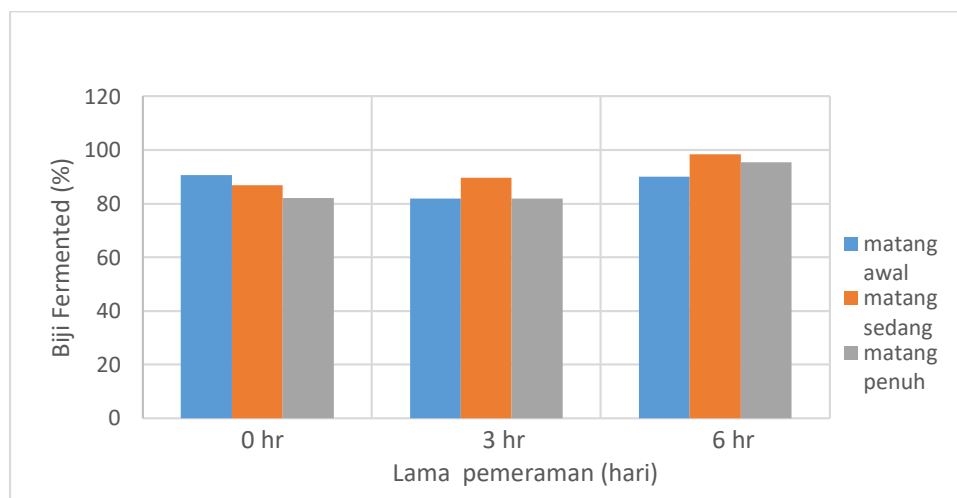
Biji yang tergolong biji *underfermented* atau terfermentasi sebagian tidak dianggap merusak cita rasa apabila jumlahnya tidak lebih dari 20 %, dan masih dapat diterima apabila jumlahnya antara 30 – 40 %, namun jika jumlahnya melebihi 50 % akan menghasilkan rasa pahit (Jati, 2008).



Gambar 3.9 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase biji *Underfermented*

### c. Persentase biji *fermented*

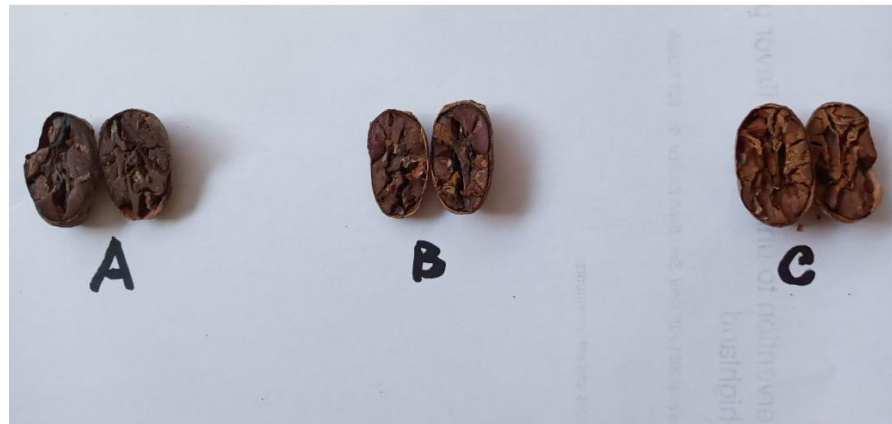
Biji kakao *fermented* adalah biji yang memperlihatkan  $\frac{3}{4}$  atau lebih permukaan irisan keping biji berwarna coklat, berongga dan beraroma khas kakao. Berdasarkan analisis sidik ragam (Lampiran 3.9c) menunjukkan bahwa tingkat kematangan tidak berpengaruh terhadap persentase biji *fermented*,  $p = 0.182$  dan  $p > 0.05$ . Perlakuan lama pemeraman berpengaruh terhadap persentase biji *fermented*  $p < 0.05$  dimana  $p = 0.011$ , berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.9d) lama pemeraman yang memiliki persentase biji fermentasi tertinggi adalah pemeraman 6 hari sebesar 94.67 % kemudian berturut-turut B1 (tanpa pemeraman) 86.5 % dan B2 (pemeraman 3 hari) yaitu 84.5 %. Sedangkan interaksi perlakuan tingkat kematangan dengan lama pemeraman tidak berpengaruh nyata terhadap persentase biji *fermented*  $p > 0.05$  dimana  $p = 0.267$ .



Gambar 3.10 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentasi biji *fermented*

Berdasarkan data dari analisa uji belah yang meliputi identifikasi persentase biji *unfermented*, biji *underfermented* dan biji *fermented* maka dapat dikatakan bahwa diantara taraf perlakuan yang digunakan maka yang terbaik adalah taraf perlakuan pemeraman 6 hari (B3) pada tingkat kematangan sedang (A2), atau dengan kata lain sampel A2B3 yang mendekati fermentasi sempurna. Alasannya adalah biji kakao dari buah matang sedang peram 6 hari (A2B3) yang memiliki persentase biji *unfermented* terkecil yaitu 0.25 % (Lampiran 3.7b) dan mempunyai persentase biji *fermented* terbesar yaitu 98.5 % (Lampiran 3.9b). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Emmanuel Ohene Afoakwa *et al.*, (2012) bahwa

fermentasi buah kakao dari buah yang diperam waktu fermentasinya lebih cepat dan menghasilkan jumlah biji *fermented* yang lebih tinggi.



Gambar 3.11 Biji slaty (A), *Underfermented* (B) dan *Fermented* (C)



Gambar 3.12 Biji Fermentasi dan Non Fermentasi

## 5. Gula Reduksi

Kandungan total gula di dalam biji kakao setelah pengeringan adalah sangat penting karena berkontribusi dalam pembentukan sejumlah senyawa aroma selama penyangraian. Gula reduksi yang merupakan precursor pembentuk aroma, khususnya senyawa glukosa dirubah selama reaksi maillard (reaksi karamelisasi) menjadi senyawa-senyawa Amadori yang mengalami perubahan lebih lanjut dalam reaksi selanjutnya dalam pengembangan warna dan flavour atau cita rasa (Emmanuel Ohene Afoakwa, 2014).

Pada Lampiran 3.10c terlihat bahwa perlakuan tingkat kematangan buah (A) berpengaruh terhadap kandungan gula reduksi biji kakao dimana  $p = 0.004$



dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.10d) diperoleh bahwa semakin matang buah kandungan gula reduksi semakin tinggi, dalam penelitian ini biji kakao dari buah matang penuh (A3) mempunyai kandungan gula reduksi tertinggi (1.8 %), kemudian berturut-turut buah matang sedang (1.59 %) dan buah matang awal (1.52 %). Hal ini sesuai pernyataan (Sudjatha & Wisaniyasa, 2017) bahwa semakin matang buah maka tingkat keasaman menurun dan kandungan gula semakin meningkat, karena pati pada buah matang akan dirombak menjadi senyawa sukrosa, glukosa dan fruktosa. Pengaruh lama pemeraman terhadap kandungan gula reduksi berpengaruh nyata (Lampiran 3.10c) dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Taraf lama pemeraman yang mempunyai gula reduksi tertinggi adalah lama pemeraman 3 hari (1.88 %) kemudian berturut-turut lama pemeraman 6 hari (1.56 %) dan tanpa pemeraman (1.48 %). Meningkatnya gula reduksi pada hari ke 3 pemeraman disebabkan buah kakao setelah dipetik lalu disimpan 1 atau 2 hari maka akan terjadi respirasi yang akan menghasilkan panas,  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ . Adanya peningkatan suhu dapat menyebabkan enzim amilase akan merombak pati menjadi glukosa, fruktosa dan sukrosa. Pada pemeraman selanjutnya sampai hari ke 6, gula reduksi menurun karena glukosa yang dihasilkan dari perombakan pati, dioksidasi terus selama proses respirasi.

Perlakuan fermentasi berpengaruh nyata terhadap gula reduksi biji kakao  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Biji non fermentasi mempunyai kandungan gula reduksi yang lebih tinggi (rata-rata 1.82 %) dari pada biji fermentasi (rata-rata 1.45 %) (Lampiran 3.10b). Hal ini disebabkan karena menurut (Hinne et al., 2018) pada biji fermentasi selama terjadi proses fermentasi, gula akan diubah menjadi alkohol oleh ragi kemudian alkohol akan dioksidasi menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Asam asetat dioksidasi menjadi karbondioksida dan air serta melepaskan panas. Sementara pada biji non fermentasi, penguraian gula menjadi alkohol lalu menjadi asam asetat itu tidak terjadi.

Interaksi antara perlakuan tingkat kematangan buah dan lama pemeraman berpengaruh terhadap kandungan gula reduksi biji kakao dimana  $p = 0.042$  dan  $p < 0.05$ . Pada Lampiran 3.10f menunjukkan kandungan gula reduksi biji kakao dari buah matang awal tanpa pemeraman (A1B1) dan gula reduksi biji kakao dari buah matang penuh yang diperam 3 hari (A3B2) sangat berbeda nyata, sedangkan interaksi lainnya tidak berbeda nyata. Hal ini disebabkan karena biji kakao dari buah matang awal mempunyai gula reduksi yang paling rendah karena pati belum

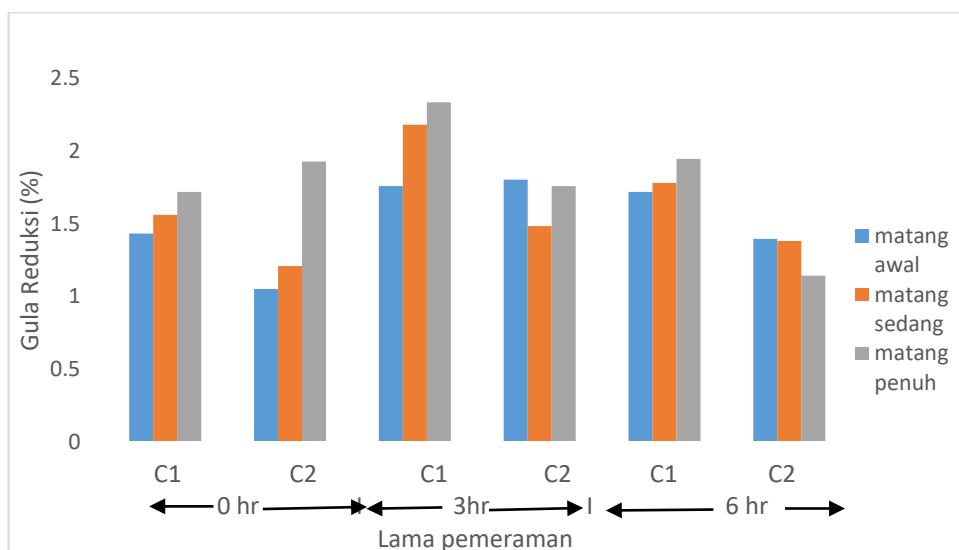
banyak dirombak menjadi glukosa dan fruktosa. Biji kakao dari buah matang awal tanpa pemeraman (A1B1) banyak mengandung sukrosa. Pada biji kakao dari buah matang penuh yang diperam 3 hari mempunyai gula reduksi tertinggi karena semakin matang buah kakao maka kandungan gula reduksi makin tinggi dan gula reduksi tertinggi pada hari ke 3 pemeraman karena selama pemeraman akan terjadi respirasi yang menghasilkan panas. Peningkatan suhu menyebabkan enzim amilase merombak pati menjadi glukosa, fruktosa dan sukrosa, sehingga gula reduksi meningkat pada hari ke 3 pemeraman. Pada pemeraman hari berikutnya sampai hari ke 6, gula reduksi menurun karena glukosa dioksidasi selama proses respirasi menghasilkan  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energi.

Pada Lampiran 3.10g menunjukkan interaksi 3 faktor perlakuan yaitu tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap gula reduksi. Interaksi A1B1C2 (biji dari buah matang awal, tanpa diperam dan biji difermentasi) berbeda sangat nyata dengan A2B3C1 (biji dari buah matang sedang peram 6 hari tanpa fermentasi), dan A1B2C2 (biji dari buah matang awal peram 3 hari dengan biji difermentasi). Interaksi A3B2C1 (biji dari buah matang penuh peram 3 hari tanpa fermentasi) memiliki kadar gula reduksi tertinggi (2.33 %), sedangkan A1B1C2 (biji dari buah matang awal tanpa pemeraman dan difermentasi) memiliki kadar gula reduksi terendah yaitu 1.05 %. Secara umum dapat dikatakan bahwa semakin matang buah kakao baik difermentasi atau tidak maka gula reduksi akan meningkat pada pemeraman hari ke 3. Peningkatan gula reduksi pada hari ke 3 karena adanya perombakan pati menjadi gula sederhana. Perombakan pati ini dikatalisis oleh enzim amilase yang aktif karena adanya panas hasil respirasi selama pemeraman. Setelah melewati hari ke 3 pemeraman gula reduksi menurun karena glukosa dioksidasi menjadi senyawa sederhana  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energy.

Gula reduksi pada biji kakao fermentasi (C2) yang tidak diperam (B1) dengan taraf perlakuan buah matang awal (A1) adalah 1.05 % dan buah matang sedang (A2) sebanyak 1.205 %, terjadi peningkatan gula reduksi pada pemeraman 3 hari yaitu menjadi (A1 = 1.8 % dan A2 = 1.48 %) dan sedikit menurun pada hari ke 6 yaitu (A1 = 1.39 % dan A2 = 1.38 %). Sedangkan pada taraf perlakuan buah masak penuh (A3) terjadi penurunan kandungan gula reduksi bila dilakukan pemeraman 3 hari dan 6 hari yaitu dari 1.93 % tanpa pemeraman menjadi 1.76 % (peram 3 hari) dan 1.14 % (peram 6 hari). Pada biji kakao non fermentasi (C1) baik

buah matang awal, sedang maupun penuh mengalami peningkatan kandungan gula reduksi setelah dilakukan pemeraman 3 hari dan 6 hari (Gambar 3.13).

Hasil penelitian ini agak berbeda dengan hasil penelitian Hinneh *et al.*, (2018) yang tidak menggunakan perlakuan tingkat kematangan buah. Jumlah gula reduksi yang ditemukan Hinneh setelah melakukan fermentasi biji kakao adalah (0 PS atau tanpa pemeraman =  $0,935\% \pm 0,005$ ; 3PS atau peram 3 hari =  $0,971\% \pm 0,007$  dan 7 PS atau peram 7 hari =  $0,980\% \pm 0,003$ ). Dengan kata lain semakin lama pemeraman gula reduksi semakin tinggi. Sedangkan pada penelitian ini pada tingkat kematangan penuh (A3) semakin lama pemeraman gula reduksi semakin menurun. Pemeraman pada tingkat kematangan penuh (A3) perombakan pati menjadi senyawa sederhana sukrosa, glukosa dan fruktosa sudah berakhir, yang ada adalah glukosa yang didegradasi menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  dan energy karena terjadi respirasi dalam proses pemeraman. Sedangkan buah masak awal dan buah masak sedang mengalami kenaikan gula reduksi dari (B1) tanpa pemeraman naik ke pemeraman hari ke 3 (B2) kemudian sedikit turun pada pemeraman hari ke 6 (B3), namun gula reduksi pada pemeraman hari ke 6 (B3) masih lebih tinggi dari pada kandungan gula reduksi dari perlakuan tanpa pemeraman. Pada buah masak awal dan masak sedang masih terjadi perombakan pati menjadi gula sederhana, sehingga selama proses pemeraman masih terjadi peningkatan gula reduksi. (Gambar 3.13).



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

Gambar 3.13 Hubungan perlakuan tingkat kematangan, lama pemeraman buah dan fermentasi terhadap gula reduksi biji kakao

Temuan yang dihasilkan oleh Hinneh sesuai dengan yang dilaporkan oleh Afoakwa, (2014), mungkin ini bisa terjadi karena asal kakao yang mereka gunakan berasal dari daerah yang sama yaitu Ghana dan varietasnya sama-sama *Forastero*. Sedangkan dalam penelitian ini digunakan biji kakao yang berasal dari Sulawesi Selatan Indonesia dengan varietas *Trinitario*.

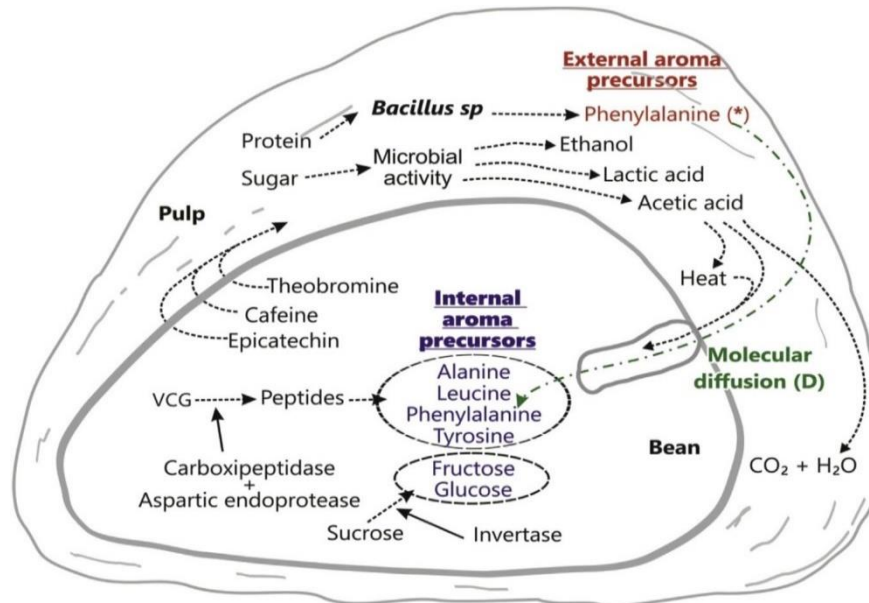
## 6. Asam Amino

Sebagaimana telah disebutkan di awal bahwa tujuan ke 2 disertasi adalah untuk mengetahui pengaruh tingkat kematangan dan lama pemeraman baik yang difermentasi atau pun tanpa fermentasi terhadap pembentukan prekursor aroma biji kakao. Prekursor merupakan istilah umum yang digunakan untuk menunjuk suatu senyawa atau bahan yang berkontribusi dalam suatu reaksi kimia tertentu yang nantinya menghasilkan suatu komponen baru. Prekursor hanya akan terbentuk selama proses pasca panen misalnya fermentasi. Pulp buah kakao didegradasi oleh ragi, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat yang menghasilkan asam laktat dan asam asetat yang diiringi oleh peningkatan suhu menyebabkan degradasi protein dan karbohidrat yang menghasilkan peptida, asam amino dan gula reduksi. Komponen-komponen inilah yang merupakan prekursor flavor coklat (Kadow *et al.*, 2015).

Aroma coklat terbaik biasanya dihasilkan dari biji berkadar asam amino bebas tertinggi, sehingga waktu fermentasi yang menghasilkan asam amino bebas maksimum dapat dianggap merupakan waktu fermentasi optimum (Rohan & Stewart, 1967).

Peptida dan asam amino hidrofobik bebas, seperti leusin, alanin, fenilalanin dan tirosin, merupakan prekursor yang berkontribusi terhadap pembentukan aroma kakao (Voigt, 2009 ; Sukha *et al.*, 2017) dan berkembang selama fermentasi (Hashim *et al.*, 1998) melalui proteolisis vicilin-class globulin (VCG) (Janek *et al.*, 2016), yang diinduksi oleh asam asetat dan laktat (Voigt *et al.*, 2016) dan kerjasama aksi aktif dari endoprotease aspartat dan karboksipeptidase yang ada di biji kakao matang dan yang tidak berkecambah. Peptida hidrofilik dan asam amino hidrofobik bebas berkontribusi terhadap aroma melalui reaksinya dengan fruktosa dan glukosa (Afoakwa, 2010) selama pemanggangan. Dalam pulp, sukrosa dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa oleh aktivitas invertase ragi, serta dalam biji dengan difusi asam asetat, asam laktat dan etanol, bersama-sama dengan produksi panas (de Melo Pereira *et al.*,

2013) (Gambar. 3.14). Sekitar 25% asam amino bebas dan 70% glukosa dan fruktosa digunakan (Beckett, 2009). Leusin dan glukosa menghasilkan aroma yang digambarkan sebagai “cokelat manis” (Afoakwa, 2010).



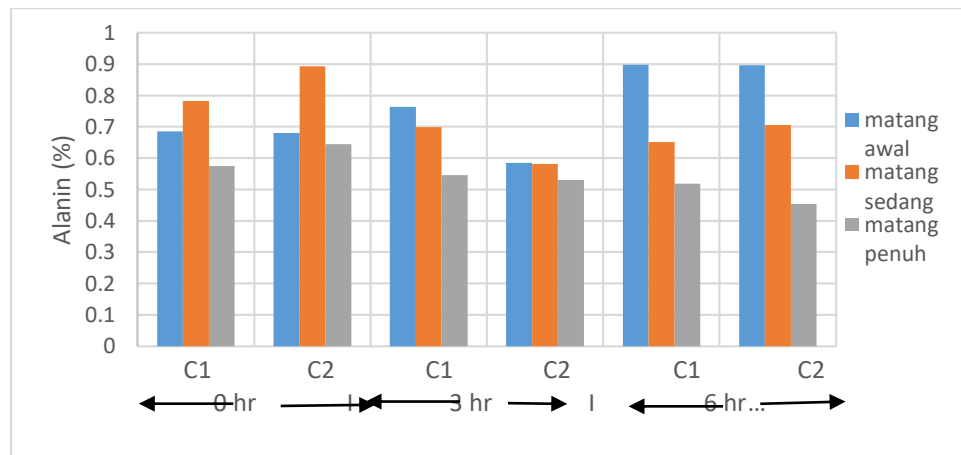
Gambar 3.14. Prekursor aroma yang dihasilkan selama fermentasi biji kakao oleh aksi mikroba dan difusi molekulnya (diadaptasi dari Beckett, (2009)). (\*) Selain produksi internal fenilalanin dari VCG, asam amino ini juga dapat diproduksi oleh *Bacillus* di pulp biji kakao, kemudian disebut prekursor eksternal, dan kemudian masuk ke bagian dalam biji dengan difusi molekuler menjadi bagian dari prekursor internal.

Pada analisa asam amino dalam penelitian ini dideteksi 10 jenis asam amino yang dominan dalam biji kakao varietas *Trinitario* asal Kabupaten Pinrang, Sulawesi selatan yaitu alanine, arginine, glutamic acid, histidine, leucine- isoleucine, lysine, methionine, prolin, threonine dan valin. Adapun data kuantitatif kesepuluh asam amino tersebut adalah sebagai berikut:

#### a) Alanin

Alanin bila bereaksi dengan gula reduksi akan menghasilkan aroma kakao seperti aroma buah, sedap/manis dan aroma bunga (Wong et al., 2008). Berdasarkan analisa sidik ragam pada Lampiran 3.11c menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kandungan alanine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.11d) menunjukkan bahwa semakin matang buah kakao kandungan alanine semakin menurun. Kandungan alanin tertinggi ditemukan pada tingkat kematangan A1 (masak awal). Perlakuan lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap kandungan alanin biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey (Lampiran 3.11e), taraf perlakuan tanpa pemeraman (B1) yang

menunjukkan jumlah alanine tertinggi kemudian berturut-turut pemeraman 6 hari (B3) dan pemeraman 3 hari (B2). Sedangkan perlakuan fermentasi tidak berpengaruh terhadap kandungan alanin biji kakao dimana  $p = 0.217$  dan  $p > 0.05$ . Pada tingkat kematangan awal (A1), semakin lama pemeraman jumlah alanin semakin tinggi, sedangkan pada tingkat kematangan sedang (A2) dan penuh (A3) semakin lama pemeraman, jumlah alanin semakin berkurang (Gambar 3.15).



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

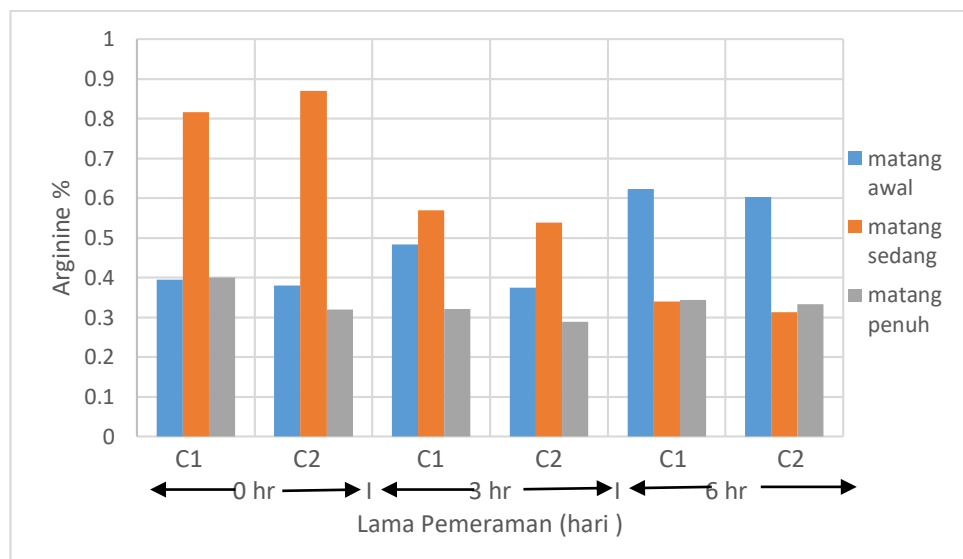
Gambar 3.15 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino alanin pada biji kakao kering

Kandungan alanin dalam penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian (Apriyanto *et al.*, 2017) yang menemukan jumlah alanin sebesar 1.59  $\mu\text{g/g}$  pada biji kakao tanpa fermentasi dan alanine sebesar 1.60  $\mu\text{g/g}$  pada biji kakao fermentasi tanpa pemeraman. Pada penelitian Apriyanto (Apriyanto *et al.*, 2017) terlihat bahwa dengan fermentasi akan menaikkan sedikit jumlah asam amino alanine. Demikian halnya dengan hasil asam amino alanine pada penelitian ini dengan fermentasi pada pemeraman 0 hari akan meningkatkan jumlah alanin dari 0.78 % menjadi 0.89 % pada A2 (masak sedang) dan meningkatkan jumlah alanine dari 0.57 % menjadi 0.64 % pada tingkat kematangan A3 (masak penuh). Sedangkan pada A1 (masak awal) kandungan alanine menurun setelah fermentasi yaitu dari 0.68 % menurun menjadi 0.67 % setelah fermentasi. Berdasarkan data penelitian ini, terlihat bahwa kandungan alanine biji kakao dari buah masak sedang (A2) lebih tinggi dari pada biji kakao dari buah matang awal (A1) dan matang penuh (A3) pada pemeraman hari ke 0 dengan taraf perlakuan fermentasi sedangkan pada pemeraman 3 hari dan 6 hari kandungan alanine biji kakao dari buah matang sedang (A2) dan A3 semakin menurun kecuali biji kakao dari buah matang awal (A1) yang semakin naik. Semakin tinggi kandungan asam amino alanin maka

aroma kakao semakin baik karena menurut Wong (Wong et al.,2008) alanine bila bereaksi dengan gula reduksi akan menghasilkan aroma buah, sedap/manis dan aroma bunga.

#### b) Arginin

Asam amino arginin bila bereaksi dengan gula reduksi tidak akan menghasilkan aroma dan rasanya pahit (Wong et al.,2008). Berdasarkan analisa sidik ragam (ANOVA) pada Lampiran 3.12 menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh signifikan terhadap kandungan arginin dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, taraf perlakuan yang mempunyai kandungan arginin tertinggi adalah A2 (buah masak sedang) kemudian berturut-turut A1 (buah masak awal) dan A3 (buah masak penuh). Berdasarkan analisa sidik ragam, perlakuan lama pemeraman menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kandungan arginine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, B1 (tanpa pemeraman) adalah taraf perlakuan yang mempunyai kandungan arginin tertinggi kemudian berturut-turut adalah B2 buah yang diperam selama 3 hari) dan B3 (peram 6 hari). Jadi dapat dikatakan bahwa semakin lama pemeraman maka kandungan asam amino arginin semakin menurun. Perlakuan fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan arginin biji kakao,  $p = 0.069$  dimana  $p > 0.05$ .



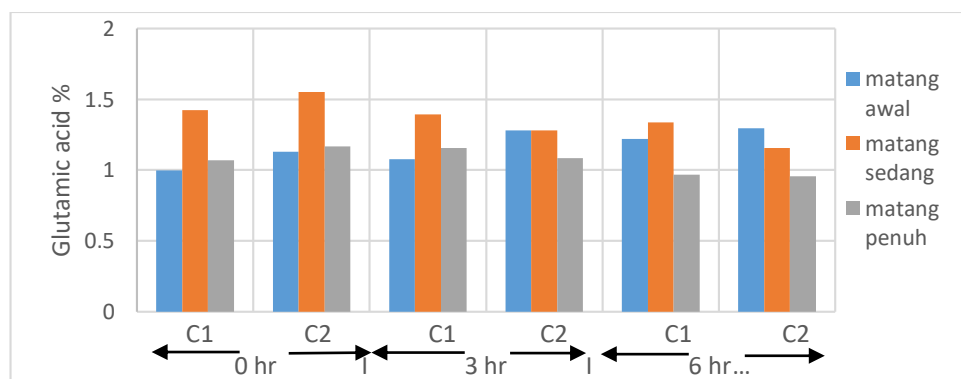
Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

Gambar 3.16 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino arginin pada biji kakao kering

Bila semakin lama pemeraman kandungan asam amino arginin semakin menurun, berarti selama proses pemeraman telah terjadi proteolysis yaitu hidrolisis protein menjadi asam amino. Sebagian hasil degradasi protein hilang karena terdifusi melalui kulit biji. Dalam penelitian ini arginine tertinggi ditemukan pada biji kakao dengan tingkat kematangan sedang (A2) pada buah yang tidak diperam (B1) dan difermentasi (C2) atau A2B1C2 yaitu sebesar 0.87%. Menurut Wong (Wong et al., 2008) arginin bila bereaksi dengan gula reduksi tidak akan menghasilkan aroma dan rasanya pahit. Oleh karena hal inilah sampel A2B1C2 tereduksi pada analisa PCA (Bab IV), dianggap bahwa zat volatile yang dihasilkan tidak berasosiasi kuat dengan perlakuan yang diberikan.

### c. Asam Glutamat

Asam glutamat adalah salah satu dari 10 asam amino dominan yang terdapat pada biji kakao. Bila asam glutamat bereaksi dengan glukosa tidak menghasilkan aroma (tidak beraroma) (Wong et al., 2008). Berdasarkan analisis sidik ragam pada Lampiran 3.13 terlihat bahwa tingkat kematangan buah berpengaruh signifikan terhadap kandungan asam glutamat biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, tingkat kematangan buah yang memiliki kandungan asam glutamat tertinggi adalah biji kakao dari buah masak sedang (A2) kemudian berturut-turut biji kakao dari buah matang awal (A1) kemudian biji kakao dari buah matang penuh (A3). Perlakuan lama pemeraman juga berpengaruh signifikan terhadap kandungan asam glutamat biji kakao dimana  $p = 0.008$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, lama pemeraman yang menghasilkan asam glutamat tertinggi adalah B1 (tanpa pemeraman) kemudian berturut-turut B2 (peram 3 hari) dan B3 (peram 6 hari). Perlakuan fermentasi atau non fermentasi tidak mempengaruhi kandungan asam glutamat biji kakao dimana  $p = 0.104$  dan  $p > 0.05$ .



Gambar 3.17 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase kandungan asam glutamat pada biji kakao kering



Interaksi antara perlakuan tingkat kematangan dan perlakuan lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap kandungan asam glutamat biji kakao kering dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Demikian pula interaksi antara perlakuan tingkat kematangan buah dengan perlakuan fermentasi atau non fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kandungan asam glutamat biji kakao dimana  $p = 0.001$  dan  $p < 0.05$ . Interaksi perlakuan lama pemeraman dengan perlakuan fermentasi atau non fermentasi juga berpengaruh nyata. Demikian pula interaksi ketiga perlakuan juga berpengaruh nyata dimana  $p = 0.027$  dan  $p < 0.05$ .

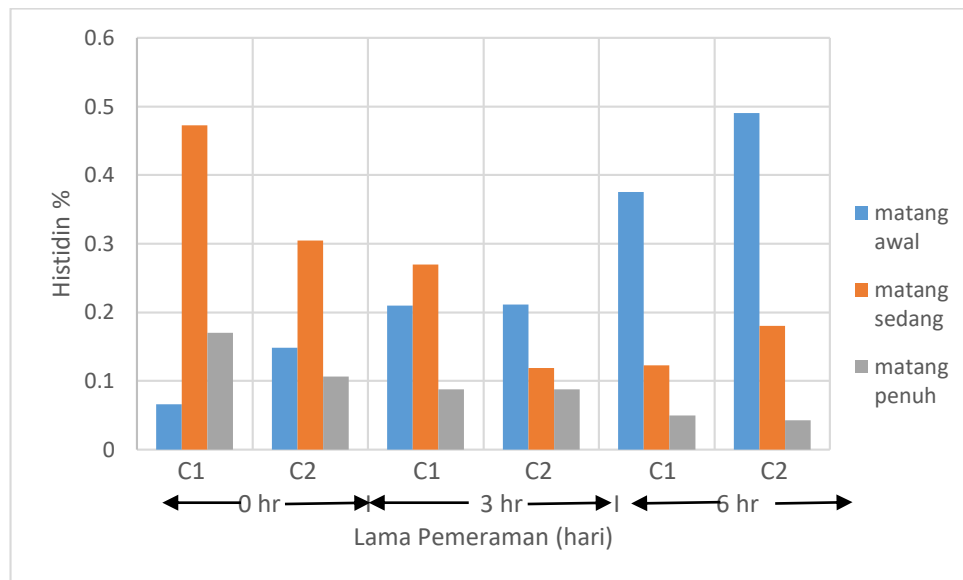
Grafik persentase asam glutamat dapat dilihat pada Gambar 3.17. Kandungan asam glutamat tertinggi ditemukan pada biji kakao dengan tingkat kematangan masak sedang (A2), tanpa pemeraman (B1) yang difermentasi (C2) atau A2B1C2 yaitu 1.55 %. Nilai Asam glutamat ini jauh lebih tinggi dari asam glutamat yang diperoleh Hinneh (Hinneh *et al.*, 2018) yaitu hanya 0.114%. Nilai ini diperoleh Hinneh dari biji kakao Ghana dengan fermentasi 6 hari tanpa melalui proses pemeraman. Sedangkan biji kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kakao varietas *Trinitario* dari Sulawesi Selatan.

#### d. Histidin

Asam amino histidine bila bereaksi dengan gula reduksi akan menghasilkan rasa masam, agak manis dan tidak beraroma (Wong *et al.*, 2008). Berdasarkan analisa sidik ragam (ANOVA) pada Lampiran 3.14 terlihat bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kandungan asam amino histidine dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0,05$ . Berdasarkan uji Tukey, biji kakao dari buah matang awal (A1) yang mempunyai kandungan asam amino histidin tertinggi kemudian berturut-turut biji kakao dari buah matang sedang (A2) dan buah matang penuh. Sedangkan perlakuan lama pemeraman berpengaruh sangat nyata terhadap kandungan histidin biji kakao dimana  $p = 0.004$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, taraf perlakuan tanpa pemeraman (B1) yang memiliki kandungan histidin tertinggi kemudian berturut-turut buah diperam 6 hari (B3) dan buah diperam 3 hari (B2). Perlakuan fermentasi atau tanpa fermentasi tidak berpengaruh terhadap kandungan histidin biji kakao,  $p > 0.05$  dimana  $p = 0.210$ .

Interaksi antara perlakuan tingkat kematangan buah dengan perlakuan lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap kandungan asam amino histidine, dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Demikian pula interaksi antara tingkat kematangan buah dengan perlakuan fermentasi berpengaruh nyata. Interaksi ketiga perlakuan

juga berpengaruh signifikan terhadap kandungan histidin biji kakao kering dimana  $p = 0.015$  dan  $p < 0.05$ . Kandungan asam amino histidine yang tertinggi ditemukan pada buah matang awal (A1) pada pemeraman 6 hari (B3) yang difermentasi (C2) atau sampel A1B3C2 yaitu sebesar 0.4905 %. Nilai histidin yang diperoleh dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Hinneh (Hinneh *et al.*, 2018) yaitu sebesar 0.025 % yang diperoleh dari biji kakao Ghana.



Keterangan; C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

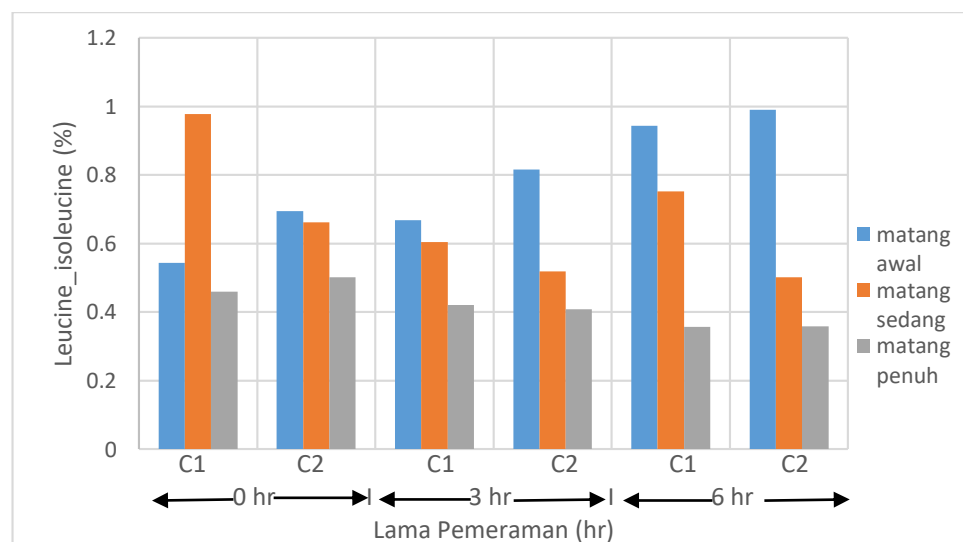
Gambar 3.18 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino histidin pada biji kakao kering.

Biji kakao dengan tingkat kematangan A1 (masak awal), mempunyai kandungan histidine yang semakin tinggi dengan semakin lamanya waktu pemeraman (Gambar 3.18). Sedangkan biji kakao dengan tingkat kematangan (A2) (masak sedang) dan A3 (masak penuh) mempunyai kandungan asam amino histidine yang semakin menurun dengan semakin lamanya waktu pemeraman. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pada buah masak sedang (A2) dan buah masak penuh (A3), pemeraman dapat menurunkan kandungan asam amino histidine sedangkan pada buah masak awal (A1) pemeraman dapat meningkatkan kandungan asam amino histidin. Berdasarkan grafik pada Gambar 3.18 dapat dinyatakan bahwa biji kakao dengan tingkat kematangan penuh (A3) tidak diperlukan pemeraman, karena buah masak penuh (A3) memiliki kandungan histidine yang sangat rendah sekali yaitu  $< 0.1$  % bila diperam. Hanya tingkat kematangan buah masak awal (A1) dan masak sedang (A2) yang membutuhkan pemeraman sampai 6 hari agar menghasilkan aroma atau senyawa volatil seperti

yang digambarkan pada Bab IV. Menurut Wong (Wong *et al.*,2008) asam amino histidine bila bereaksi dengan gula reduksi tidak akan beraroma, menghasilkan rasa masam dan agak manis.

#### e. Leucine-Isoleucine

Leucin-isoleucin adalah salah satu asam amino dominan dari 10 asam amino dominan yang terdapat dalam biji kakao *Trinitario* asal Kabupaten Pinrang Sulawesi Selatan. Leucin-isoleucin bila bereaksi dengan gula reduksi akan menghasilkan aroma karamel (Wong *et al.*,2008). Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) pada Lampiran 3.15 menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh signifikan terhadap kandungan leucine-isoleucine dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, taraf perlakuan yang mengandung asam amino leucine-isoleucine tertinggi adalah buah masak awal (A1) kemudian berturut-turut buah masak sedang (A2) dan buah masak penuh (A3). Perlakuan lama pemeraman berpengaruh signifikan terhadap leucine-isoleucine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey taraf perlakuan yang memiliki kandungan leucine-isoleucine tertinggi adalah pemeraman 6 hari (B3), kemudian B1 (tanpa pemeraman) lalu pemeraman 3 hari (B2). Perlakuan fermentasi berpengaruh nyata terhadap kandungan leucine-isoleucine biji kakao. Untuk tingkat kematangan awal buah (A1) dan buah matang penuh (A3), biji kakao fermentasi (C2) yang memiliki kandungan leucine-isoleucine yang tinggi. Sedangkan untuk buah matang sedang (A2), taraf perlakuan tanpa fermentasi (C1) yang memiliki kandungan leucine-isoleucine yang tinggi.



Gambar 3.19 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino leucine-isoleucine pada biji kakao kering

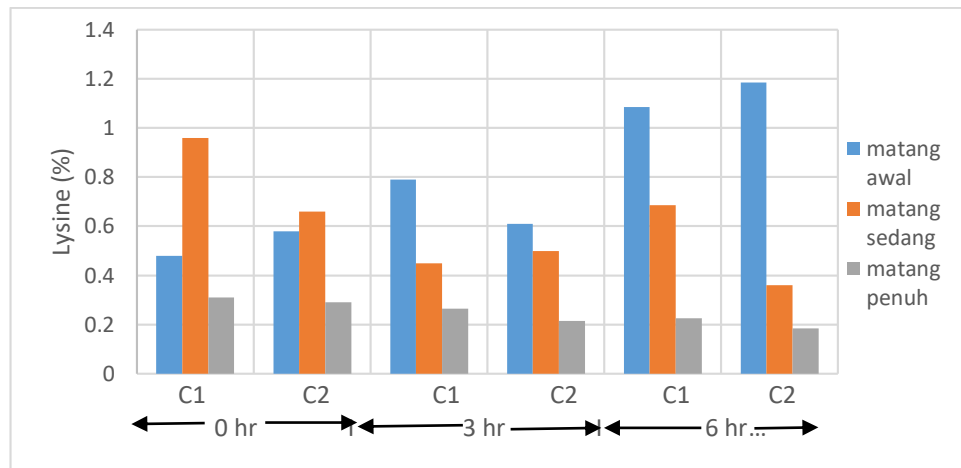
Pada penelitian ini ditemukan bahwa sampel yang memiliki leucine-isoleucine tertinggi terdapat pada taraf perlakuan buah masak awal (A1) pada pemeraman 6 hari (B3) yang difermentasi (C2) atau A1B3C2 yaitu sebesar 0.99 %. Angka ini lebih tinggi dari pada hasil penelitian Hinneh (Hinneh *et al.*, 2018) yaitu 0.279 % (peram 3 hari) dan 0.412 % (peram 7 hari). Semakin tinggi leucine-isoleucine semakin baik aroma kakao. Tingginya asam amino leucine-isoleucine pada A1B3C2 dengan ciri aroma karamel yang tinggi, dibuktikan oleh hasil analisa GCMS (Bab IV), dimana terdeteksi 1,3 butanadiol dan phenethyl alkohol yang memberikan aroma karamel.

#### f. Lysin

Asam amino lysin bila bereaksi dengan gula reduksi akan memberikan aroma yang berasosiasi dengan sedap/manis, seperti caramel sedikit pahit (Wong *et al.*, 2008). Berdasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) pada Lampiran 3.16 menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kandungan lysine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, tingkat kematangan buah yang memiliki kandungan asam amino lysine tertinggi berturut-turut adalah buah matang awal (A1), buah matang sedang (A2) lalu buah matang penuh (A3). Perlakuan lama pemeraman berpengaruh signifikan terhadap kandungan lysine biji kakao  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, lama waktu pemeraman yang memiliki kandungan lysine tertinggi adalah B3 (peram 6 hari) lalu B1 (tanpa pemeraman) kemudian B2 (peram 3 hari). Perlakuan fermentasi berpengaruh nyata terhadap kandungan lysine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ .

Pada taraf perlakuan buah matang awal (A1), fermentasi lebih baik dibanding tanpa fermentasi karena dengan fermentasi menghasilkan lysine lebih tinggi (1.185 %) dari pada tanpa fermentasi (1.085 %). Sedangkan untuk taraf perlakuan buah matang sedang (A2) dan buah matang penuh (A3) dengan taraf perlakuan tanpa fermentasi (C1) dapat menghasilkan lysine yang lebih tinggi (A2 = 0.96 % dan A3 = 0.31 %) dibandingkan dengan taraf perlakuan fermentasi (C2) (A2 = 0.66 % dan A3 = 0.29 %). Persentase lysine tertinggi ditemukan pada sampel A1B3C2 yaitu sebesar 1.185 %. Tingginya persentase asam amino lysin pada sampel A1B3C2 dengan aroma sedap manis seperti karamel dibuktikan oleh hasil GCMS (Bab IV) dimana terdeteksi senyawa 1,3 butanadiol dan phenethyl alkohol yang berasosiasi dengan aroma sedap/manis, sedikit pahit seperti karamel. Angka

lysine pada penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian Rizzi dan Bunke (Rizzi & Bunke, 1998) yaitu 0.37 % dan juga lebih tinggi dari hasil penelitian Hinneh (Hinneh *et al.*, 2018) yaitu 0.115 %, dimana kedua penelitian mereka menggunakan kakao Ghana dengan varietas *Forastero*. Sedangkan penelitian ini menggunakan kakao varietas *Trinitario*.



Keterangan; C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

Gambar 3.20 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino lysine pada biji kakao kering

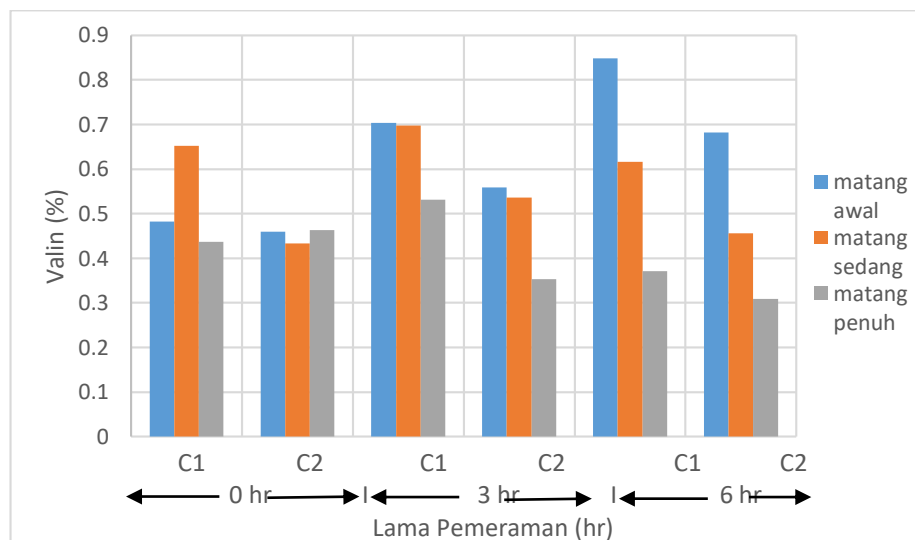
Pola grafik asam amino lysine tidak berbeda jauh dari asam amino sebelumnya dimana tingkat kematangan awal buah (A1) mempunyai kandungan asam amino lysine yang semakin meningkat dengan semakin lamanya waktu pemeraman. Sebaliknya tingkat kematangan sedang (A2) dan penuh (A3) mempunyai kandungan lysine yang semakin menurun dengan semakin lamanya waktu pemeraman.

#### g. Valin

Asam amino valin bila bereaksi dengan gula reduksi akan memberikan aroma seperti karamel sedikit pahit (Wong *et al.*, 2008). Berdasarkan analisa sidik ragam pada Lampiran 3.17 terlihat bahwa tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kadar asam amino valin dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, tingkat kematangan yang memiliki kadar valin terbesar adalah buah matang awal (A1) kemudian berturut-turut buah matang sedang (A2) dan buah matang penuh (A3). Perlakuan lama pemeraman berpengaruh signifikan terhadap kadar valin biji kakao  $p = 0.001$  dimana  $p < 0.05$ . Dari uji Tukey terlihat bahwa lama pemeraman yang memiliki kadar valin tertinggi adalah pemeraman 3 hari (B2) kemudian pemeraman 6 hari (B3) dan tanpa pemeraman (B1). Perlakuan

fermentasi juga berpengaruh signifikan terhadap kandungan asam amino valin biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Biji kakao tanpa fermentasi (C1) mempunyai kandungan valin lebih tinggi dari pada biji kakao fermentasi (C2) (Gambar 3.21).

Kandungan valin tertinggi ditemukan pada sampel A1B3C1 yaitu sebesar 0.848 %. Aroma A1B3C1 dengan valin tertinggi adalah seperti karamel pada roasted pop corn dan nutty (hasil GCMS Bab IV). Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil yang dilaporkan Rizzi dan Bunke (Rizzi & Bunke, 1998) yaitu 0.03 %. Kadar valin dalam penelitian ini juga lebih tinggi dari hasil penelitian Hinneh (Hinneh *et al.*, 2018) yaitu sebesar 0.095 %. Perbedaan hasil asam amino valin bukan hanya karena kondisi fermentasi yang bisa dikontrol tapi juga karena perbedaan komposisi kimia protein sebelum fermentasi yang diakibatkan oleh perbedaan varietas dan kondisi lingkungan tempat tumbuh. Biji kakao yang digunakan dalam penelitian Hinneh maupun Rizzi & Bunke berasal dari Ghana varietas *Forastero*, sedangkan penelitian ini menggunakan varietas *Trinitario* dari Sulawesi Indonesia.



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = Biji kakao difermentasi

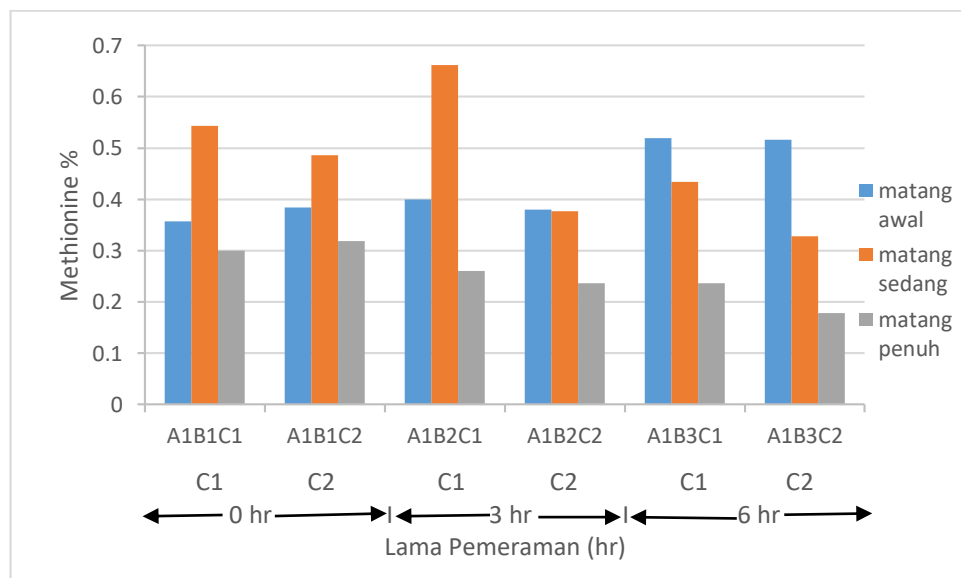
Gambar 3.21 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino valin pada biji kakao kering

#### h. Methionine

Methionine adalah salah satu dari 10 asam amino yang dominan pada biji kakao. Bila methionine bereaksi dengan glukosa akan memberikan aroma kentang goreng dan kripik udang (Wong *et al.*, 2008). Berdasarkan Lampiran 3.18 terlihat bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata pada kandungan methionine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey,

tingkat kematangan yang mengandung methionine paling tinggi berturut-turut adalah buah matang sedang (A2) lalu buah matang awal (A1) kemudian buah matang penuh (A3). Perlakuan lama pemeraman tidak berpengaruh signifikan terhadap kandungan methionine biji kakao dimana  $p = 0.137$  dan  $p > 0.05$ . Sedangkan perlakuan fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kadar methionine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ , dimana perlakuan tanpa fermentasi memiliki kadar methionine yang lebih tinggi dari pada taraf perlakuan fermentasi (Gambar 3.22).

Semakin tinggi kandungan methionine, aroma coklat semakin baik. Kadar methionine tertinggi ditemukan pada sampel A2B2C1 yaitu sebesar 0.6615 %. Angka ini lebih tinggi dari hasil yang dilaporkan Rizzi dan Bunke (Rizzi & Bunke, 1998) yaitu 0.08 % dari biji kakao Ghana.



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

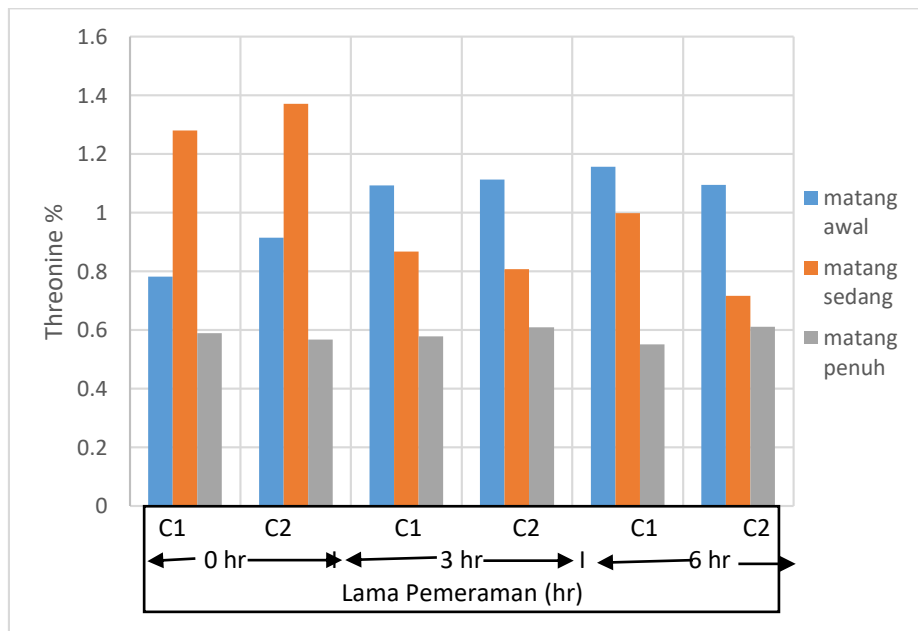
Gambar 3.22 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino methionine pada biji kakao kering

#### i. Threonin

Threonin bila bereaksi dengan glukosa akan memberikan aroma sedap/manis, rasa manis sepat (Wong et al.,2008). Berdasarkan analisis sidik ragam Lampiran 3.19 menunjukkan bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh signifikan terhadap kadar threonine biji kakao dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ , berdasarkan uji Tukey maka taraf perlakuan tingkat kematangan yang mengandung kadar threonine tertinggi berturut-turut adalah buah matang awal (A1), buah matang sedang (A2) dan buah matang penuh (A3). Perlakuan lama

pemeraman berpengaruh signifikan terhadap kandungan threonine biji kakao dengan  $p = 0.000$  dimana  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey diperoleh bahwa lama waktu pemeraman yang menghasilkan asam amino threonine tertinggi berturut-turut adalah tanpa pemeraman (B1), perem 6 hari (B3) dan perem 3 hari (B2). Perlakuan fermentasi tidak berpengaruh terhadap kadar threonine biji kakao dimana  $p = 0.423$ , dan  $p > 0.05$ .

Sampel yang memiliki kadar threonine tertinggi adalah A2B1C2 yaitu sebesar 1.371 %. Walaupun sampel ini memiliki rasa sedap/manis bila bereaksi dengan gula reduksi namun jumlah yang tinggi kurang begitu diharapkan karena adanya rasa sepat yang tinggi. Angka threonine ini lebih tinggi dari hasil penelitian Rizzi dan Bunke (Rizzi & Bunke, 1998) yaitu 0.526 % dari kakao lindak, dan juga lebih tinggi dari hasil penelitian Hinneh (Hinneh *et al.*, 2018) yaitu 0.052 % dari kakao Ghana.



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

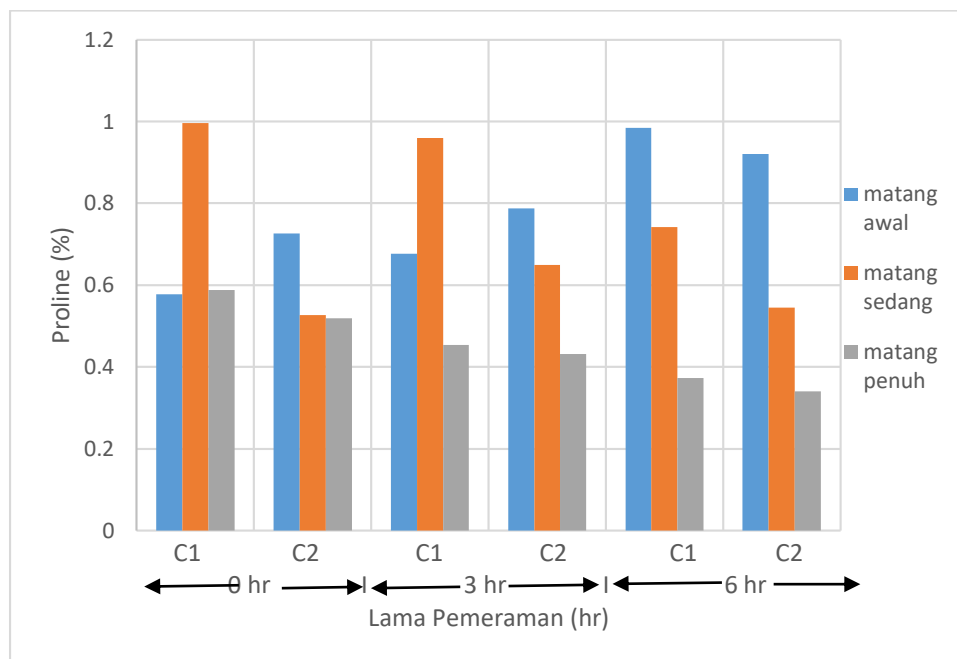
Gambar 3.23 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino threonine pada biji kakao kering

#### j. Prolin

Prolin adalah asam amino yang ditemukan dalam penelitian ini tetapi tidak ditemukan dalam penelitian Rizzi dan Bunke dan tidak pula ditemukan dalam penelitian Hinneh sebagai referensi asam amino yang digunakan sebagai perbandingan. Prolin bila bereaksi dengan glukosa akan menghasilkan aroma bunga, sedap/manis, pandan (Wong *et al.*, 2008). Semakin tinggi asam amino



prolin maka aroma coklat semakin baik. Berdasarkan analisis sidik ragam pada Lampiran 3.20 terlihat bahwa perlakuan tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kadar asam amino prolin biji kakao, dimana  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ . Berdasarkan uji Tukey, tingkat kematangan yang mengandung kadar prolin tertinggi berturut-turut adalah buah matang awal (A1), buah matang sedang (A2) kemudian buah matang penuh (A3) (Gambar 3.24). Perlakuan lama pemeraman tidak berpengaruh nyata terhadap kadar prolin biji kakao dimana  $p = 0.825$  dan  $p > 0.05$ . Berdasarkan Lampiran 3.20, perlakuan fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kadar prolin biji kakao  $p = 0.000$  dan  $p < 0.05$ ,



Keterangan: C1 = biji kakao tidak difermentasi; C2 = biji kakao difermentasi

Gambar 3.24 Pengaruh lama pemeraman terhadap persentase asam amino prolin pada biji kakao kering

Pada Gambar 3.24 terlihat bahwa semua sampel yang berasal dari tingkat kematangan buah sedang (A2) dan buah matang penuh (A3) tanpa fermentasi mempunyai kadar prolin yang lebih tinggi dibandingkan biji kakao dari buah dengan tingkat kematangan buah sedang (A2) dan buah matang penuh (A3) fermentasi. Sedangkan sampel yang berasal dari buah matang awal (A1) yang difermentasi pada pemeraman 0 hari dan 3 hari mempunyai kadar prolin yang lebih tinggi dari pada buah matang awal (A1) tanpa fermentasi. Sedangkan pada pemeraman 6 hari, buah matang awal (A1) tanpa fermentasi mempunyai kadar prolin lebih tinggi dibandingkan buah matang awal (A1) fermentasi.

#### 4. KESIMPULAN

Ditinjau dari tingkat kematangan pH biji kakao kering tertinggi adalah 5.65 diperoleh pada buah kakao matang sedang. Sedangkan pH biji kakao kering terendah adalah 5.45 diperoleh pada buah matang penuh. Ditinjau dari lama pemeraman pH biji kakao kering tertinggi adalah 5.75, ini diperoleh pada lama pemeraman 6 hari, sedangkan pH biji kakao kering terendah adalah 5.47 yang diperoleh pada buah tanpa pemeraman. Ditinjau dari perlakuan fermentasi pH biji kakao kering tanpa fermentasi (5.63) lebih tinggi dari pada pH biji kakao kering fermentasi (5.50).

Ditinjau dari tingkat kematangan, polyphenol biji kakao kering tertinggi adalah 9.51 mg/g yang diperoleh pada buah matang sedang, sedangkan polyphenol biji kakao kering terendah adalah 6.61 mg/g yang diperoleh pada buah matang penuh. Ditinjau dari lama pemeraman, polyphenol biji kakao tertinggi adalah 8.82 mg/g yang diperoleh dari buah tanpa pemeraman. Sedangkan polyphenol biji kakao kering terendah adalah 6.96 mg/g, ini diperoleh dari buah yang diperam selama 6 hari. Polyphenol biji kakao tanpa fermentasi (10.73 mg/g) lebih tinggi dari biji kakao fermentasi (5.25mg/g).

Ditinjau dari lama pemeraman, biji unfermented terendah diperoleh pada lama pemeraman 6 hari yaitu 0.58 %. Bila ditinjau dari tingkat kematangan, biji unfermented terendah diperoleh dari tingkat kematangan sedang (A2) yaitu sebesar 1.7 %. Ditinjau dari lama pemeraman, biji underfermented terendah diperoleh pada lama pemeraman 6 hari yaitu 4.75 %. Bila ditinjau dari tingkat kematangan, biji underfermented terendah diperoleh dari tingkat kematangan sedang (A2) yaitu 1.25%. Biji fermented (terfermentasi sempurna), jika ditinjau dari tingkat kematangan, biji fermented tertinggi diperoleh dari tingkat kematangan sedang (A2) yaitu 98.5 %. Ditinjau dari lama pemeraman, biji fermented tertinggi diperoleh dari lama pemeraman 6 hari (94.7%).

Gula reduksi ditinjau dari tingkat kematangan, maka biji kakao yang memiliki gula reduksi tertinggi diperoleh dari buah dengan tingkat kematangan penuh (1.8 %). Ditinjau dari lama pemeraman, biji kakao yang memiliki gula reduksi tertinggi diperoleh dari buah dengan lama pemeraman 3 hari (1.88%). Gula reduksi dari biji kakao non fermentasi (1.82%) lebih tinggi dari biji kakao fermentasi (1.45%).

Dalam penelitian ini dideteksi 10 jenis asam amino yang dominan dalam biji kakao varietas *Trinitario* asal Kabupaten Pinrang, Sulawesi Selatan yaitu

alanine, arginine, glutamic acid, histidine, leucine-isoleucine, lysine, methionine, prolin, threonine dan valin. Kesepuluh jenis asam amino ini mempunyai pola grafik yang hampir sama yaitu semakin lama pemeraman maka kandungan asam amino pada tingkat kematangan buah sedang (A2) dan buah matang penuh (A3) semakin menurun. Sebaliknya buah matang awal (A1) mempunyai asam amino yang semakin meningkat dengan semakin lamanya pemeraman. Buah matang penuh (A3) mempunyai asam amino yang paling rendah pada 10 jenis asam amino di atas.

Semakin tinggi asam amino seperti alanin, leucine-isoleucin, valin, lysin, methionine dan prolin maka aroma kakao akan semakin baik. Sedangkan asam amino seperti arginine, glutamic acid, histidine, dan threonine tetap dibutuhkan walaupun dalam jumlah sedikit karena merupakan bagian dari aroma coklat.

Tingkat kematangan buah yang tepat untuk dipanen agar mempunyai asam amino tetap tinggi, biji unfermented rendah, biji fermented tinggi dan pH yang menghasilkan intensitas aroma yang kuat adalah buah matang sedang (A2). Jadi teori yang menyebutkan bahwa pemanenan kakao harus pada buah dengan tingkat kematangan yang penuh diragukan karena buah yang matang penuh (A3) pada penelitian ini mempunyai asam amino paling rendah dibanding tingkat kematangan yang lain.

## REFERENSI

- Afoakwa, E.O., Kongor, J. E., Takrama, J., & Budu, A. S. (2013a). Change in nib acidification and biochemical composition during fermentation of pulp preconditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 20, 1843–1853. <http://www.ifrj.upm.edu.my>
- Afoakwa, E.O., Takrama, J., Kongor, J. E., & Budu, A. (2013b). Effect of pulp preconditioning on total polyphenols, O-diphenols and anthocyanin concentration during fermentation and drying cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *Journal of Food Science and Engineering*, 3, 235–245. <https://www.researchgate.net/publication/270272425>
- Afoakwa, Emmanuel Ohene. (2010). Chocolate Science and Technology. In *Chocolate Science and Technology*. <https://doi.org/10.1002/9781444319880>
- Afoakwa, Emmanuel Ohene. (2014). Cocoa Production and Processing

- Technology. In *Cocoa Production and Processing Technology* (First). Boca Raton, FL: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b16546>
- Afoakwa, Emmanuel Ohene. (2016). *Chocolate Science and Technology* (second). John Wiley & Sons.Ltd. <https://zeabooks.com/book/chocolate-science-and-technology-2nd-edition/#download>
- Afoakwa, Emmanuel Ohene, Quao, J., & Budu, A. S.. (2012). Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*, 19(1), 127–133. <https://docplayer.net/24269032>
- Afoakwa, Emmanuel Ohene, Quao, J., Takrama, J., Budu, A. S., & Saalia, F. K. (2011). Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 3–11. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0446-5>
- AOAC. (2005). *Association of Official Analytical Chemist International* (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists (AOAC). [https://www.researchgate.net/publication/292783651\\_AOAC\\_2005](https://www.researchgate.net/publication/292783651_AOAC_2005)
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis* (20th ed.). Association of Official Analytical Chemists (AOAC). <https://www.yumpu.com/en/document/read/65659513/free-download-pdf-official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-aoac-2016-gigapaper>
- Apriyanto, M., Sutardi, S., Supriyanto, S., & Harmayani, E. (2017). Amino acid analysis of cocoa fermented by high performance liquid chromatography (HPLC). *Asian Journal of Dairy and Food Research*. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v36i02.7962>
- Apriyanto, M., Sutardi, Supriyanto, & Harmayani, E. (2016). Study on effect of fermentation to the quality parameter of cocoa bean in Indonesia. *Asian Journal of Dairy and Food Research*. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v35i2.10724>
- Beckett, S. T. (2009). *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition*. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition*. <https://doi.org/10.1002/9781444301588>

- Bonvehi, J. S., & Coll, F. V. (1997). Evaluation of bitterness and astringency of polyphenolic compounds in cocoa powder. *Food Chemistry*, *60*(3), 365–370. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00353-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00353-6)
- Caligiani, A., Marseglia, A., & Palla, G. (2015). Cocoa: Production, Chemistry, and Use. In *Encyclopedia of Food and Health*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00177-X>
- Cardona, L., Rodriguez-Sandoval, E., & Cadena, E. (2016). Diagnosis of cocoa benefit practices in the department of Arauca. *Revista Lasallista Investigacion*, *13*, 94–104.
- Castro-Alayo, E. M., Idrogo-Vásquez, G., Siche, R., & Cardenas-Toro, F. P. (2019). Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa. In *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01157>
- Christova-Bagdassrian VL, Chohadjieva D, & Atanassova M. (2014). Total Phenolics and Total Flavonoids, Nitrate Contents and Microbiological Tests in Dry Extract of Bulgarian White Birch Leaves (*Betula pendula*). *International Journal of Advanced Research*, *2*(6), 668–674. <http://www.journalijar.com>
- Dand, R. (2011). Cocoa bean processing and the manufacture of chocolate. In *The International Cocoa Trade* (pp. 268–289). <https://doi.org/10.1016/b978-0-85709-125-3.50009-4>
- de Melo Pereira, G. V., Magalhães, K. T., de Almeida, E. G., da Silva Coelho, I., & Schwan, R. F. (2013). Spontaneous cocoa bean fermentation carried out in a novel-design stainless steel tank: Influence on the dynamics of microbial populations and physical-chemical properties. *International Journal of Food Microbiology*, *161*, 121–133. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.018>
- Guehi, S. T., Dabonne, S., Ban-Koffi, L., & Kra Kedjebo, D. (2010). Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of row cocoa beans. *Advance Journal of Food Science and Technology*, *2*(3), 163–171.
- Gutiérrez, T. J. (2017). State-of-the-Art Chocolate Manufacture: A Review. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (pp. 1313–1314).

<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12301>

- Hamdouche, Y., Tagro, G., Durand, N., & Didier Kedjebok, B. (2014). Dynamic of microbial ecology during cocoa fermentation and drying: toward the identification of molecular marker. *Food Control*, *48*, 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.031>
- Hashim, P., Selamat, J., Muhammad, S. K. S., & Ali, A. (1998). Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *78*, 535–542. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199812\)78:4<535::AID-JSFA151>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199812)78:4<535::AID-JSFA151>3.0.CO;2-6)
- Hinne, M., Semanhyia, E., & Van de Walle, D., Winne, A.D., Tzompa-Sosa, D.A., Scalone, G.L.L., De Meulenaer, B., Messens, K., Durme, J.V., Afoakwa, E.O., Cooman, L.D., Dewettinck, K., (2018). Assessing the influence of pod storage on sugar and free amino acid profiles and the implications on some Maillard reaction related flavor volatiles in Forastero cocoa beans. *Food Research International*, *111*, 607–620. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.064>
- Janek, K., Niewianda, A., Wöstemeyer, J., & Voigt, J. (2016). The cleavage specificity of the aspartic protease of cocoa beans involved in the generation of the cocoa-specific aroma precursors. *Food Chemistry*, *211*, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.033>
- Jati, M. (2008). PHY S ICO-CHEMICAL CHANGES DURING COCOA FERMENTATION AND KEY ENZY MES INVOLVED Perubahan Fisiko-Kimia Selama Fermentasi Biji Kakao Cocoa beans are obtained from. *Review Penelitian Kopi Dan Kakao*, *24*, 47–64. <https://www.researchgate.net/publication/292019683>
- Jinap, S. (1994). Organic acids in cocoa beans - a review. *ASEAN Food Journal*.
- Kaczmarek, M. (1952). Determination of reducing sugars by Nelson–Somogyi method. *Journal of Biological Chemistry*.
- Kadow, D., Niemenak, N., Rohn, S., & Lieberei, R. (2015). Fermentation-like incubation of cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) - Reconstruction and guidance of the fermentation process. *LWT*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.015>

- Lagunes Gálvez, S., Loiseau, G., Paredes, J. L., Barel, M., & Guiraud, J. P. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.041>
- Marseglia, A., Musci, M., Rinaldi, M., Palla, G., & Caligiani, A. (2020). Volatile fingerprint of unroasted and roasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from different geographical origins. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109101>
- Meyer, B., Biehl, B., & Said, M. et al. (1989). Post-harvest pod storage: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *48*, 285–304. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740480305>
- Nazaruddin, R., Seng, L. K., Hassan, O., & Said, M. (2006). Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma Cacao*) during fermentation. *Industrial Crops and Products*, *24*(1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.03.013>
- Rizzi, G. P., & Bunke, P. R. (1998). The use of roasting kinetics data to characterize natural and artificial chocolate aroma precursors. *Developments in Food Science*, 535–546. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(98\)80075-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(98)80075-7)
- Rodriquez-compos, J., Escalona-Buendia, H. B., Orozco, I., & Lugo, E. (2011). Dynamics of volatile and non volatile compounds in cocoa during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International*, *44*, 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.028>
- Rohan, T. A., & Stewart, T. (1967). The Precursors of Chocolate Aroma: Production of Reducing Sugars during Fermentation of Cocoa Beans. *Journal of Food Science*, *32*, 399–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1967.tb09694.x>
- Rojas, K. E., García, M. C., Cerón, I. X., Ortiz, R. E., & Tarazona, M. P. (2020). Identification of potential maturity indicators for harvesting cacao. *Heliyon*, *6*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03416>
- Sánchez, A., Castellanos, O., & Domínguez, K. (2008). Roadmapping for improving cocoa postharvest management. *Ingeniería e Investigación*, *28*,

150–158.

- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *44*, 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Sudjatha, W., & Wisaniyasa, N. W. (2017). Fisiologi dan Teknologi Pascapanen (Buah dan Sayuran). In *Udayana University Press*.
- Sukha, D. A., Umaharan, P., & Butler, D. R. (2017). The impact of pollen donor on flavor in cocoa. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *142*, 13–19. <https://doi.org/10.21273/JASHS03817-16>
- Visintin, S., Alessandria, V., Valente, A., Dolci, P., & Cocolin, L. (2016). Molecular identification and physiological characterization of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria isolated from heap and box cocoa bean fermentations in West Africa. *International Journal of Food Microbiology*, *216*, 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.004>
- Voigt, J. (2009). Origin of the chocolate-specific flavour notes Essential precursors are generated by proteolysis of a cocoa storage protein. *Agro Food Industry Hi-Tech*, *20*, 26–28. [https://www.researchgate.net/publication/286122942\\_Origin\\_of\\_the\\_chocolate\\_specific\\_flavour\\_notes\\_Essential\\_precursors\\_are\\_generated\\_by\\_proteolysis\\_of\\_a\\_cocoa\\_storage\\_protein](https://www.researchgate.net/publication/286122942_Origin_of_the_chocolate_specific_flavour_notes_Essential_precursors_are_generated_by_proteolysis_of_a_cocoa_storage_protein)
- Voigt, Jürgen, Janek, K., Textoris-Taube, K., Niewienda, A., & Wöstemeyer, J. (2016). Partial purification and characterisation of the peptide precursors of the cocoa-specific aroma components. *Food Chemistry*, *192*, 706–713. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.068>
- Wood, G. A. R., & Lass, R. A. (2001). *Cocoa 4th ed. longman* (4th ed.). <https://www.pdfroom.com/books/cocoa/9qlgyRnl2MG>



## **BAB IV**

### **KARAKTERISASI PROFIL SENYAWA VOLATIL BIJI KAKAO SANGRAI BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGAN, LAMA PEMERAMAN BUAH DAN FERMENTASI BIJI**

#### **ABSTRAK**

Aroma biji kakao yang terbentuk berasal dari senyawa prekursor aroma kakao yang dihasilkan selama fermentasi dan pengeringan yaitu asam amino bebas, peptida dan gula reduksi yang bereaksi membentuk warna coklat secara nonenzimatis. Salah satu faktor yang diduga mempengaruhi pembentukan komponen aroma senyawa volatil selama fermentasi adalah tingkat kematangan dan lama pemeraman. Oleh karena itu tujuan penelitian ini mengidentifikasi karakteristik komponen senyawa volatil berdasarkan tingkat kematangan dan lama pemeraman buah serta fermentasi pada biji kakao sangrai. Biji kakao kering sangrai diperoleh dari buah kakao dengan tingkat kematangan awal, sedang dan penuh yang masing-masing mengalami pemeraman 0 hari, 3 hari dan 6 hari juga masing-masing mengalami perlakuan fermentasi dan non fermentasi. Penentuan profil senyawa volatil dikerjakan menggunakan headspace microekstraksi fase padat (HS-SPME) diikuti kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS). Tiap sampel yang diobservasi baik pada buah kakao masak awal, sedang dan penuh, masing-masing memberikan senyawa volatil penciri yang khas. Sampel biji kakao sangrai yang memiliki aroma yang paling kaya adalah biji kakao yang berasal dari pemeraman 6 hari yang difermentasi, karena perlakuan ini menyebabkan munculnya kelompok senyawa alkohol dan ester yang merupakan komponen aroma penting kakao yang memberikan aroma bunga, buah, honey, sweet chocolate dan karamel. Hal ini ditemukan pada pada taraf perlakuan A1 (buah masak awal) dan A2 (buah masak sedang). Sedangkan pada A3 (buah masak penuh) walaupun tanpa pemeraman, yang penting difermentasi sudah bisa menghasilkan senyawa volatil yang kaya aroma yaitu dari kelas alkohol yang memberikan aroma sweet chocolate, bunga, cream. Phenethyl alkohol dengan aroma caramel, sweet dan bunga. Acetylpyrrole memberi aroma nutty dan roasty pop corn.

Kata kunci: senyawa volatile, aroma, biji kakao, tingkat kematangan, lama pemeraman, fermentasi.

#### **A. PENDAHULUAN**

Penyangraian biji kakao merupakan tahap penting dalam proses produksi coklat yang diharapkan memiliki sebagian besar komponen pembentuk aroma. Sebelum disangrai biji kakao memiliki cita rasa sepat, pahit, asam dan hambar. Setelah biji kakao disangrai umumnya dihasilkan aroma khas kakao lebih kuat dan keasamannya berkurang (Ziegleder, 2009). Dalam penyangraian, sejumlah perubahan terjadi pada biji kakao seperti kehilangan air bersama dengan terlepasnya beberapa asam volatil, menggelapkan warna biji dan, terlepasnya kulit dari nib (Dand, 2011).

Penyangraian bertujuan untuk membentuk aroma dan cita rasa khas kakao serta untuk memudahkan lemak keluar dari dalam biji. (Granvogl et al., 2006) menjelaskan bahwa aroma biji kakao yang terbentuk berasal dari senyawa prekursor aroma kakao yang dihasilkan selama fermentasi dan pengeringan yaitu asam amino bebas, peptida dan gula reduksi yang bereaksi membentuk warna coklat secara nonenzimatis dan melalui degradasi reaksi Strecker oleh panas. Aroma kakao merupakan hasil reaksi kompleks antara asam amino, gula reduksi dan peptide saat dilakukan penyangraian biji kakao yang dipengaruhi oleh suhu, waktu dan kadar air biji kakao (Rizzi & Bunke, 1998) dalam (Haryadi dan Supriyanto, 2017).

Pada penyangraian biji kakao maka terjadi reaksi antara asam amino dengan gula reduksi membentuk senyawa Maillard. Senyawa gula mengalami hidrolisis oleh air dan membentuk senyawa gula reduksi yang kemudian mengalami reaksi Maillard. (Ziegleder, 2009) menyatakan bahwa tahap akhir reaksi Maillard menghasilkan pigmen melanoidin berwarna coklat yaitu reaksi antara gugus karbonil dari gula reduksi dengan asam amino bebas yang mengandung nitrogen. Reaksi Maillard merupakan reaksi kimia yang melibatkan asam amino dan glukosa yang menghasilkan pigmen coklat dan reaksi Maillard tersebut dapat berlangsung hanya pada kondisi suhu yang tinggi dan pH diatas 3 (Afoakwa *et al.*, 2008).

Menurut (Jinap, 1994), bahwa penyangraian pada suhu 150°C selama 30 menit dapat menyebabkan kehilangan asam asetat sebesar 10 – 15 %, dan asam propionat sebesar 10 %. Biji kakao atau kakao nib yang sudah disangrai memiliki lebih dari 400 komponen aroma yang diidentifikasi oleh (Misnawi, 2008). Lebih lanjut (Misnawi, 2008) menyatakan bahwa biji kakao yang sudah disangrai dapat menghasilkan senyawa pirazin, ester, alkohol, keton, hidrokarbon, furan, aldehid dan asam.

Penelitian (I Kusumaningrum *et al.*, 2014) berhasil mengidentifikasi komponen aroma aktif yang terdapat pada biji fermentasi dari Jawa Timur , Bali , Sulawesi Selatan dan Ghana menggunakan GCMS. Komponen aroma aktif adalah komponen volatil yang berkontribusi pada sensori dan dapat memberikan flavor pada produk tersebut. Beberapa komponen yang teridentifikasi merupakan komponen pirazin. Pada penelitian (Wong *et al.*, 2008) ditemukan hasil reaksi

antara gula pereduksi dan berbagai asam amino yang berupa bermacam-macam aroma seperti pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Warna dan aroma produk maillard oleh asam amino dan glukosa setelah pemanasan**

<b>Asam amino</b>	<b>Warna</b>	<b>Aroma</b>
Alanin	Coklat	seperti buah, sedap/manis, bunga
Arginine	Kuning carah	Tidak beraroma, pahit
Asam aspartat	Coklat sangat cerah	buah (sawo, kurma segar) sedap
Cystein	kuning cerah	seperti belerang
Glutamic acid	tidak berubah	tidak beraroma
Glycine	Coklat	seperti caramel, sedap/manis
Histidine	kuning cerah	tidak beraroma, masam, agak manis
Isoleusine	Coklat	gosong seperti caramel
Leusine	Coklat	gosong seperti caramel
Lysine	Coklat	sedap/manis, seperti caramel, pahit
Methionine	Coklat	kentang goreng, kripik udang
Threonine	coklat cerah	sedap/manis, rasa manis sepat
Serine	Coklat	buah (sawo muda, kurma segar)
Proline	coklat cerah	bunga, sedap/manis, pandan
Phenylalanine	Coklat	bunga (mawar kering) almond, pahit
Tyrosine	Coklat	bunga (agak mawar kering) rasa manis
Valine	Coklat	seperti caramel, rasa pahit

Sumber : (Wong *et al.*, 2008)

Menurut (Afoakwa, 2016) kotiledon kakao mengandung protein yang tersimpan sebagai albumin dan globulin. Globulin didegradasi selama fermentasi sedangkan albumin tidak. Prekursor aroma spesifik kakao dihasilkan dari globulin di dalam bagian biji yang dimurnikan oleh enzim aspartic endoprotease dan aktifitas enzim carboxypeptidase. Aroma spesifik kakao diperoleh secara *in vitro* ketika vacilin globulin ini terdegradasi secara berturut turut oleh aspartic endoprotease dan carboxypeptidase dan produk disangrai dengan keberadaan gula pereduksi. Proteolysis dari globulin adalah pusat pembentukan flavor kakao.

Beberapa senyawa yang berperan dalam pembentukan aroma kakao antara lain senyawa-senyawa hidrokarbon, alkohol, aldehida, keton, asam karboksilat, ester, furan, fenol dan eter, pirol, *oxazoles*, *thiazoles*, piridin dan

quinolines, pirazin, amina, komponen bersenyawa nitrogen dan belerang (Pratiwi, 2016).

**Tabel 4.2 Komponen Aroma (kelas senyawa volatil), Kopi, Kakao dan Teh**

Gugus Fungsi	Jumlah yang ditemukan		
	Kopi	Kakao	Teh
Hidrokarbon	50	39	37
Alkohol	20	25	46
Aldehida	28	22	55
Keton	70	24	57
Asam karboksilat	20	51	71
Ester	29	58	55
Furan	8	7	16
Fenol	42	6	19
Thiopene	26	-	1
Pyrroles	67	18	10
Oxazoles	27	15	2
Thiazoles	28	9	7
Piridin	13	12	23
Pirazin	79	94	22
Amina/komponen bersenyawa N	24	45	18
Sulfida/produk bersenyawa-S	16	10	5
Komponen lain	9	8	14

Sumber : (Maarse, 1991)

Flavor kakao terbentuk dari dua kelompok besar berdasarkan komponen penyusunnya yaitu yang mudah menguap dan tidak mudah menguap. Kelompok mudah menguap terdiri atas 400 senyawa kimia. Kelompok yang tidak mudah menguap diantaranya theobromin dan kafein yang menjadi penyebab rasa pahit dan tannin menyebabkan rasa sepat (Pratiwi, 2016).

Hampir pada semua bahan pangan yang disangrai, ditemukan aldehida dan keton. Keduanya memberikan kontribusi yang signifikan pada bahan pangan seperti kopi dan coklat. Ester juga komponen penyusun aroma buah yang memiliki peran penting dalam penyusunan aroma pada kopi, kakao dan teh. Sedikitnya terdapat 58 senyawa ester teridentifikasi pada kakao (Maarse, 1991).

Hasil penelitian (I Kusumaningrum *et al.*, 2014) terhadap komponen aroma pasta kakao yang berasal dari Jawa Timur, Bali, Sulawesi Selatan dan Ghana ditemukan sejumlah 28 komponen aroma yang terdeteksi dengan analisis menggunakan GCMS. Keempat pasta kakao memiliki profil aroma yang berbeda. Jumlah komponen volatile pada masing-masing pasta kakao dari Jawa Timur, Bali

, Sulawesi Selatan dan Ghana secara berturut-turut adalah 21, 19, 22, 18 komponen volatile. Secara umum jumlah kandungan komponen-komponen aroma yang terkandung pada pasta kakao Ghana lebih besar (779.52 ppm) dibandingkan ketiga jenis pasta kakao Indonesia (Tabel 4.3). Hal inilah yang mungkin menyebabkan pasta kakao Ghana sering dianggap sebagai pasta kakao terbaik. Namun bila dicermati lebih jauh jumlah komponen volatile bukanlah penentu mutu flavor mengingat tidak semua komponen volatil memiliki sensori aroma dan berperan sebagai komponen aroma aktif pada pasta kakao. Selain itu terdapat beberapa komponen yang terdeteksi lebih banyak pada pasta kakao Indonesia dan bahkan ada komponen yang tidak ditemui dalam kakao Ghana misalnya 3-hidroksi-2-butanon yang memiliki aroma *caramel* dan Linalool yang memiliki aroma daun hijau manis (*sweet green*).

Menurut (I Kusumaningrum *et al.*, 2014) komponen aroma aktif adalah komponen volatile yang berkontribusi pada sensori dan memberikan karakteristik *flavor* pada produk tersebut. Pasta kakao Ghana memiliki aroma coklat (*chocolate*), kakao (*cocoa*), kacang (*nutty*), krim (*creamy*), tanah (*earthy*), tengik (*rancid*), panggang (*roasted*), pahit (*bitter*), segar (*fresh*), manis (*sweet*) bunga (*floral*), asam (*sour*) dan asam fermentasi (*acid fermented*). Aroma *nutty* dan *chocolate* diduga merupakan kontribusi dari komponen 2.3.5-trimetilpirazin, 3-etil-2.5-dimetilpirazin, 2-etil-3.5-dimetilpirazin, 2.3.5.6-tetrametilpirazin dan 2.3-dietil-5- metilpirazin.

Dibandingkan dengan pasta kakao Ghana pasta kakao dari Jawa Timur memiliki komponen aroma *creamy*, *caramel* dan *coffee bean* yang tidak dimiliki pasta kakao Ghana. Komponen *nutty* di pasta kakao Jawa timur diduga diperoleh dari komponen volatile 2.6-dimetilpirazin, 2-etil-3-metilpirazin, 3.5-dietil-2-metilpirazin, 3-isobutil-2-metoksipirazin yang tidak terdapat pada pasta kakao Ghana dan pasta kakao lainnya. Pada pasta kakao Bali aroma *sweet* merupakan komponen aroma kunci. Aroma *sweet* berasal dari komponen etil fenilasetat dan 2-fenil asetat.

Pada pasta kakao Sulawesi Selatan memiliki komponen yang memberikan aroma *creamy*, *caramel*, *chocolate*, *cocoa*, *nutty*, *earthy*, *coffee bean*, *bitter*, *sweet*, *sweet green*, *rancid*, *roasted*, *fresh*, *floral* dan *acid fermented*. Pasta kakao Sulawesi Selatan memiliki aroma *sweet green* yang merupakan kontribusi dari komponen volatil Linalool. Aroma *sweet green* ini selain tidak dimiliki oleh pasta

kakao Ghana, juga tidak dimiliki oleh pasta kakao lainnya (I Kusumaningrum *et al.*, 2014)

**Tabel 4.3 Komponen aroma pasta kakao dari Jawa Timur, Bali, Sulawesi Selatan dan Ghana**

Komponen	RT	Konsentrasi (ppm)			
		Jawa Timur	Bali	Sul-Sel	Ghana
3-Hidroksi-2-butanon	27.51	8.23	0.86	1.37	-
1-Metilpiperidin	29.67	4.09	-	-	-
2.6-Dimetilpirazin	29.3	2.46	-	0.4	-
2.3-Dimetilpirazin	30.48	-	-	0.6	-
2-isopropil-5-metil-2heksanal	30.75	21.34	1.31	4.73	37.21
2.3.5-Trimetilpirazin	33.05	25.99	0.63	3.90	26.29
3-etil-2.5-dimetilpirazin	34.83	-	0.25	1.27	18.62
2-Etil-3-metilpirazin	34.51	6.91	-	-	-
Asam asetat	35.03	191.51	8.46	51.5	338.17
2-Etil-3.5-dimetilpirazin	35.49	8.00	0.31	1.87	98.58
3.5-Dietil-2-metilpirazin	36.39	2.05	-	-	-
Tetrametilpirazin	36.04	69.98	2.21	12.28	3.59
2.3-Dietil-5-metilpirazin	37.61	7.26	0.29	1.34	4.17
Benzaldehid	38.19	3.58	-	0.75	-
Linalool	38.85	-	0.32	0.60	-
2.3-Butanediol	39.98	29.95	1.47	9.48	5.58
1.3-Metoksipropil asetat	39.51	-	-	2.28	-
3-isobutil-2-metoksipirazin	39.53	24.70	-	-	-
2-asam metilpropanoat	39.67	-	0.85	2.28	28.58
Dehidro-2(3H)-furanon	42.2	2.71	0.16	0.54	2.75
3-metil-asam butanoat	43.41	54.68	1.67	3.51	99.44
Etil fenil asetat	47.61	5.04	0.17	0.28	10.01
2-Fenil asetat	48.61	7.13	0.32	1.39	27.66
1-Asam heksanoat	49.43	-	-	-	7.74
2-Feniletanol	51.69	7.54	0.57	2.13	47.33
(2Z)-2-fenil-2-butenal	52.24	2.76	0.12	0.37	7.12
5-metil-2-fenil-2-heksenal	56.53	4.40	0.29	0.84	12.92
3.5-Dihidroksi-6-metil-2.3-dihidro-4H-piran-4-on	62.35	-	0.12	-	3.76
Persen teridentifikasi (%)		55.26%	50%	56.4%	50%
Total (ppm)		490.31	20.4	103.71	779.52

Sumber:(I Kusumaningrum *et al.*, 2014) .

Menurut (Nuwiah, 2010) senyawa pirazin merupakan senyawa utama aroma khas coklat. Pembentukan senyawa pirazin pada saat roasting terjadi interaksi antara senyawa dikarbonil dan asam amino yang disebut dengan degradasi Strecker. Hasil dari degradasi Strecker adalah terbentuknya senyawa-

senyawa volatile seperti aldehid, keton, pirazin dan furan yang berpengaruh terhadap pembentukan cita rasa.

Analisis kuantitatif dan kualitatif senyawa aroma dalam biji kakao sangat sulit dilakukan, terutama pada senyawa yang mudah menguap. Tetapi dengan adanya kromatografi gas dan spektrometri massa maka secara umum metode analisis ini dapat digunakan untuk analisis aroma kakao. GC dan MS merupakan suatu perangkat yang saling melengkapi satu sama lain yang sebelumnya dikenal sebagai alat yang baik untuk pemisahan komponen yang berbeda dalam berbagai tipe sampel dan mampu mengidentifikasi senyawa yang tidak diketahui (Bicchi *et al*, 2002). Metode ini adalah merupakan metode yang paling sesuai untuk mempelajari senyawa volatile pada kakao sangrai.

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa volatil kakao sangrai yang terbentuk dari proses fermentasi dan tanpa fermentasi dan berasal dari 3 tingkat kematangan buah kakao dengan lama pemeraman buah yang berbeda. Identifikasi senyawa volatil dilakukan dengan menggunakan metode SPME (Solid Phase Microextraction) GCMS.

## B. BAHAN DAN METODE

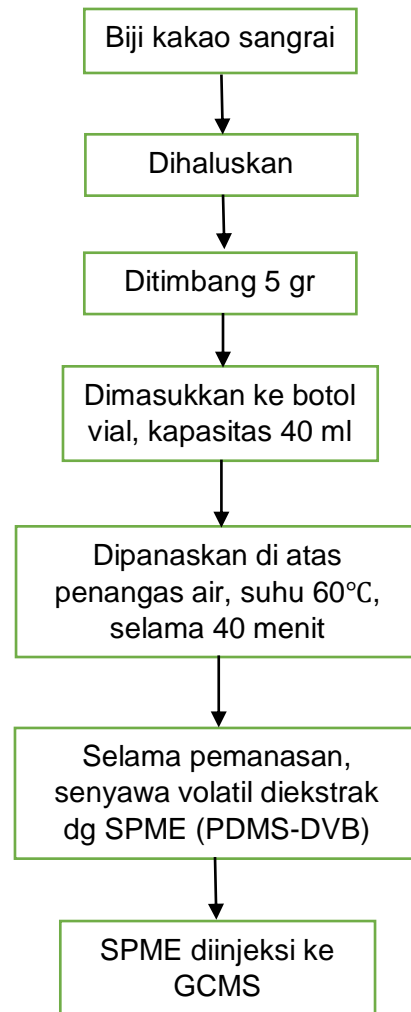
### **Bahan**

Buah kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kakao yang berasal dari kebun Kelompok Tani Bukit Tinggi, Desa Tapporang, Kecamatan Batullapa, Kabupaten Pinrang, Provinsi Sulawesi Selatan. Buah kakao yang dipanen terdiri dari 3 tingkat kematangan, masing-masing tingkat kematangan diberi perlakuan pemeraman dan perlakuan fermentasi terhadap biji kakao yang dihasilkan. Biji kakao yang sudah difermentasi dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari, kemudian disangrai.

### **Metode**

Pada penelitian ini digunakan 3 perlakuan yaitu perbedaan tingkat kematangan buah (A), lama pemeraman buah (B) dan fermentasi (C). Perlakuan A atau tingkat kematangan buah terdiri dari A1 (masak awal), A2 (masak sedang) dan A3 (masak penuh). Perlakuan B atau lama pemeraman buah terdiri dari B1 (tanpa pemeraman), B2 (pemeraman 3 hari) dan B3 (pemeraman 6 hari). Perlakuan C atau fermentasi terdiri dari C1 (tanpa fermentasi) dan C2 (fermentasi).

Terhadap semua kombinasi perlakuan dilakukan analisis senyawa volatil dengan GCMS. Analisis senyawa volatil dilakukan di Laboratorium Biosain Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur.



Gambar 4.1 Diagram alir identifikasi senyawa volatil pada biji kakao dengan metode SPME-GCMS

Ekstraksi senyawa volatile kakao dengan SPME GCMS (Misnawi & Ariza, 2011a) terdiri dari beberapa tahap yaitu :

1. Biji kakao yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 g ditempatkan pada botol vial berkapasitas 40 ml.
2. Selanjutnya botol vial dipanaskan dengan penangas air pada suhu 60°C selama 40 menit. Selama proses pemanasan pada penangas air komponen senyawa volatil dari kakao di ekstrak dengan SPME serat penjerap (absorber) yang digunakan adalah Polydimethylsyloxane-divinilbenzena (PDMS-DVB)



polimer (Supelco, USA). Fiber SPME yang telah dikeluarkan dari botol vial segera diinjeksi ke GCMS.

### 3. Analisis komposisi komponen volatil dengan GC-MS

Instrumen GC-MS yang digunakan adalah GCMS-QP2010 Plus Shimadzu yang dilengkapi dengan splitless injektor yang diatur pada suhu 260°C. Suhu detektor MS 220°C. Kolom Rtx-50 (dengan diameter dalam 0.25 mm, panjang 30 m dan ketebalan 0.25 µm). Suhu kolom oven diprogram pada suhu awal 60 °C selama 3 menit kemudian dinaikkan sampai 220°C selama 15 menit dengan kecepatan 5°C/menit. Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan kecepatan 3 mL/menit. Sampel 1 µL disuntikkan dengan metode splitless.

Senyawa volatile hasil analisis GCMS dari semua kombinasi perlakuan dianalisis secara deskriptif sesuai karakteristik komponen senyawa volatil kakao. Untuk mempertegas keterkaitan antara perlakuan atau untuk menunjukkan penciri dari setiap perlakuan maka data dianalisis dengan menggunakan PCA (Principal Component Analysis) dengan menggunakan XLSTAT 2017.02.44125. PCA atau Principal Component Analisis atau analisis komponen utama merupakan metode statistik deskriptif untuk memudahkan atau menginterpretasikan dalam bentuk grafik serta informasi maksimum yang terdapat dalam suatu matriks data. Tujuannya adalah untuk mempelajari keterkaitan antar perlakuan terhadap karakteristik komponen senyawa volatile biji kakao dengan variable yang diukur.

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Aroma adalah salah satu sifat yang penting pada produk kakao. Aroma kakao dapat dilihat pada profil senyawa volatil biji kakao sangrai. Profil aroma yang menentukan karakteristik flavor kakao dapat diketahui dengan melakukan analisis komponen aroma aktif (senyawa volatile) pada biji kakao sangrai dengan Gas Chromatografi (GC) Mass Spectrometri (MS) yang telah digunakan untuk meningkatkan konsistensi dari kepekaan analisis aroma dan mendapatkan komponen senyawa volatile tertentu yang berkontribusi terhadap karakter dari aroma kakao.

### 1. Buah kakao matang awal

Optimalisasi identifikasi senyawa volatil pada biji kakao kering yang berasal dari buah kakao masak awal dengan perlakuan lama pemeraman dan fermentasi,

dilakukan dengan metode ekstraksi microekstraksi fase padat (SPME) untuk memisahkan senyawa volatil dalam sampel biji kakao. Lapisan serat SPME digunakan sebagai serat penjerap (absorber). Profil senyawa volatil yang diekstraksi dengan SPME selanjutnya diidentifikasi menggunakan GCMS. Hasil identifikasi senyawa volatile dengan menggunakan GCMS kemudian dikelompokkan berdasarkan kelas senyawa volatile yang terdiri dari asam karboksilat, piridin, ester, alkohol, amina/komponen bersenyawa N, aldehyd, pirol, furan, keton, firazin, eter, hidrokarbon, komponen bersenyawa S, turunan benzene dan others. Adapun hasil identifikasi kelas senyawa volatile biji kakao dari buah masak awal adalah seperti pada Tabel 4.4.

Pada Tabel 4.4 terlihat bahwa biji kakao dari buah masak awal tanpa pemeraman tanpa fermentasi (A1B1C1) terdeteksi senyawa volatile sebanyak 35 senyawa volatile sedangkan pada biji kakao dari buah masak awal tanpa pemeraman yang difermentasi (A1B1C2) terdapat 45 senyawa volatile. Pada Tabel 4.4. Secara umum terlihat bahwa perlakuan yang difermentasi teridentifikasi senyawa volatile yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan tanpa fermentasi. Hal ini disebabkan karena perlakuan yang mengalami fermentasi terjadi pembentukan precursor aroma dan pada tahap fermentasi inilah precursor aroma terbentuk. Prekursor adalah senyawa-senyawa yang nantinya akan membentuk flavor setelah proses penyangraian biji kakao. Senyawa precursor ini yang akan diubah menjadi senyawa-senyawa aromatik melalui reaksi maillard, amadori dan stecker (Purwo, 2012).

Tabel 4.4. Hasil identifikasi kelas senyawa volatil biji kakao sangrai buah matang awal

Observasi	asam karboksilat	Piridin	Ester	Alkohol	Amina/bersenyawa N	Aldehyd	Pirol	Furan	Keton	Firazin	Eter	Hidrocarbon	Bersenyawa S	Turunan Benzene	Others
A1B1C1	3	1	2	6	1	2	0	2	3	0	4	9	1	0	1
A1B1C2	4	1	6	7	4	0	0	2	7	1	2	3	2	1	5
A1B2C1	2	1	2	7	3	1	1	4	4	0	3	7	1	1	4
A1B2C2	3	2	5	3	4	1	2	2	3	0	1	10	0	0	2
A1B3C1	5	1	3	9	7	1	3	1	4	0	1	2	1	1	1
A1B3C2	6	1	2	10	4	3	0	1	6	0	2	5	0	3	4

Sumber : data primer hasil GCMS

Keterangan :

A1B1C1 = Buah kakao matang awal tanpa pemeraman tanpa fermentasi

A1B1C2 = Buah kakao matang awal tanpa pemeraman difermentasi

A1B2C1 = Buah kakao matang awal peram 3 hari tanpa fermentasi

A1B2C2 = Buah kakao matang awal peram 3 hari difermentasi

A1B3C1 = Buah kakao matang awal peram 6 hari tanpa fermentasi

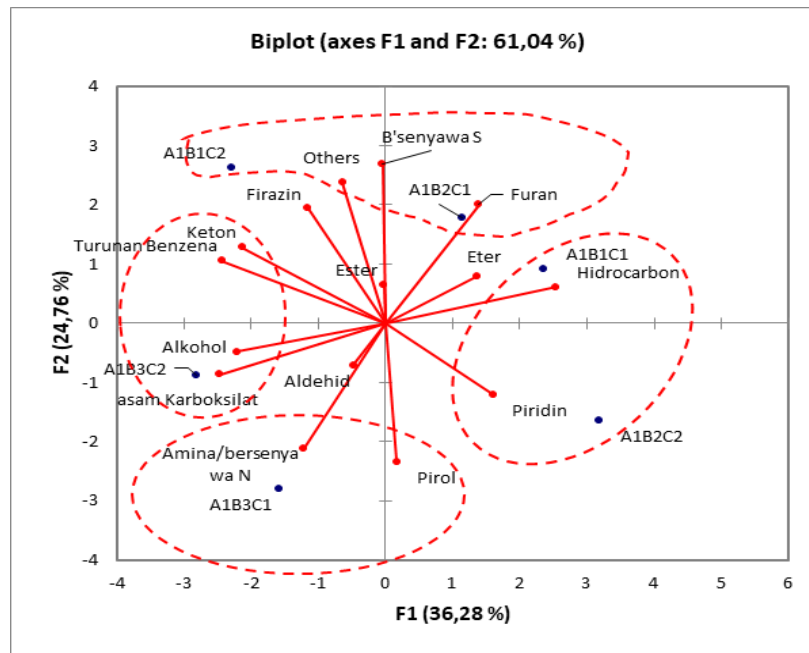
A1B3C2 = Buah kakao matang awal peram 6 hari difermentasi

Total senyawa volatile yang diperoleh pada buah masak awal yang tercantum pada Tabel 4.4 adalah sebanyak 242 senyawa volatil yang terdiri dari asam karboksilat 23, piridin 7, ester 19, alkohol 42, amina/komponen bersenyawa N 23, aldehid 8, pirol 6, furan 12, keton 27, firazin 1, eter 13, hidrokarbon 36, komponen bersenyawa S 5, turunan benzene 3 dan other 17.

Analisis data menggunakan PCA (principal component analisis) dapat membedakan sampel dalam kelompok tertentu dan mengidentifikasi senyawa penanda (penciri) yang berkontribusi dalam penilaian kualitas maupun aroma dari suatu produk (Lytou *et al.* 2019). Gambar 4.2 menunjukkan hasil analisis PCA keseluruhan posisi sampel biji kakao kering sangrai dari buah masak awal yang dikelompokkan berdasarkan kelas senyawa volatile penciri setiap sampel.

Hasil analisis PCA buah masak awal menunjukkan bahwa besarnya keragaman yang terjelaskan pada 3 komponen utama (F1 dan F2 dan F3) mencapai 83,55 % dengan nilai akar ciri secara berurut sebesar 5,4418 (F1), 3,7136 (F2) dan 3,3764 (F3) (Lampiran 4.1) Beberapa parameter volatil yang berkontribusi cukup besar dalam pembentukan komponen utama pertama diantaranya : asam karboksilat, piridin, alkohol, keton, dan hidrocarbon, turunan benzene sedangkan amina/bersenyawa N, pirol, furan, komponen bersenyawa S, dan others berkontribusi besar membentuk komponen utama kedua. Ester, aldehid, firazin, dan eter berkontribusi terhadap komponen utama ketiga. Perlakuan A1B1C1 (buah matang awal, tanpa pemeraman dan tanpa fermentasi), A1B2C2 (biji dari buah matang awal, pemeraman 3 hari yang difermentasi) dan A1B3C2 (biji dari buah matang awal, peram 6 hari yang difermentasi) berkontribusi besar dalam pembentukan komponen utama pertama sedangkan perlakuan A1B1C2 (biji dari buah matang awal, tanpa pemeraman yang difermentasi) A1B2C1 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari tanpa fermentasi) dan A1B3C1

(biji dari buah matang awal, peram 6 hari tanpa fermentasi) berkontribusi besar dalam pembentukan komponen utama kedua.



Gambar 4.2 Hasil analisis PCA senyawa volatile biji kakao sangrai dari buah matang awal

Berdasarkan plot observasi pada sumbu utama pertama dan kedua (Gambar 4.2) maka terlihat bahwa perlakuan A1B1C1 (biji dari buah matang awal, tanpa pemeraman yang tidak difermentasi) dan A1B2C2 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari yang difermentasi) yang beragregat pada ujung sebelah kanan sumbu (komponen utama) satu memiliki ciri khas yang membedakan dengan kelompok observasi lainnya. Kelompok perlakuan ini dicirikan oleh hidrokarbon dan piridin yang tinggi, sedangkan kelompok perlakuan A1B3C2 (biji dari buah matang awal, peram 6 hari yang difermentasi) dicirikan oleh alkohol, keton, dan turunan benzena. Perlakuan A1B1C2 (biji dari buah matang awal, tanpa pemeraman yang difermentasi) dan A1B2C1 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari tanpa fermentasi) dicirikan oleh furan, komponen bersenyawa S, dan others, sedang perlakuan A1B3C1 (biji dari buah matang awal, peram 6 hari tanpa fermentasi) dicirikan oleh pirol dan amina atau komponen bersenyawa N. Deskripsi aroma dari senyawa volatil yang merupakan penciri dari setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Pada sampel A1B1C1 (biji dari buah matang awal, tanpa pemeraman tanpa fermentasi) teridentifikasi adanya senyawa volatil 2-pyridinepropanoic acid, senyawa ini memberikan aroma nutty, seperti aroma kacang dan karamel. Sedangkan pada sampel A1B1C2 (biji dari buah matang awal tanpa pemeraman yang difermentasi) selain memiliki aroma nutty dan karamel juga memiliki aroma sweet dan honey karena adanya senyawa volatil ethanone, 1,2-di-2-furanyl-2-hydroxy (Misnawi & Ariza, 2011b). Hal ini membuktikan dengan perlakuan fermentasi akan lebih banyak senyawa volatil yang dihasilkan yang merupakan komponen aroma aktif yang menentukan flavor suatu produk.

Pada sampel A1B2C2 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari dan difermentasi), diidentifikasi adanya senyawa 2-pyridinepropanoic acid, dimana senyawa volatil ini memberikan aroma nutty dan karamel. Setelah dibandingkan dengan sampel A1B3C2 (buah matang awal, peram 6 hari yang difermentasi) ternyata menghasilkan berbagai macam aroma. Biji kakao ini selain memiliki aroma karamel juga memiliki aroma sweet chocolate dan bunga karena adanya senyawa 2,3 butanediol (Aprotosoai *et al.*, 2016) juga aroma sweet, flowery dan karamel karena adanya senyawa volatile 1,3 butanediol (Castro-Alayo *et al.*, 2019).

Tabel 4.5 Komponen senyawa volatil sebagai karakteristik penciri buah kakao masak awal

<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A1B1C1 (biji dari buah matang awal tanpa peram tanpa fermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Hidrokarbon	Ethylene Heptane-1,2,4,6 tetraene 2-pentene,2,4,4-trimethyl 3-dodecylcyclohexan-1-one 2,3,3,4-tetramethylpentane 4,4-dimethyl-1-heptene 3,4-nonadiene	
Piridin	2-pyridinepropanoic acid	Nutty seperti aroma kacang/caramel (Misnawi & Ariza, 2011b)
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A1B2C2 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari,difermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Hidrokarbon	Trans-4-methyl-3-cyclopropyl Cyclobutane-1,1 2-isobutyl-4,4-dimethyl-1,3-dioxane 1,1-bicyclohexyl 1-ethoxy-2-ethyl-1-(trimethylsiloxy)-1butena	

Piridin	2-pyridinepropanoic acid	Nutty seperti aroma kacang/caramel (Misnawi & Ariza, 2011b)
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A1B1C2 (biji dari buah matang awal, tanpa peram,difermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Furan	2(3H)-furanone,dihydro	Karamel (Arihara <i>et al.</i> , 2019) (Effenberger <i>et al.</i> , 2019)
Komponen bersenyawa S	Ethanone, 1,2-di-2-furanyl-2-hydroxy 1,2-ethanediyl bis (pentafluorosulfanyl)	Sweet, karamel, honey like, nutty (Misnawi & Ariza, 2011b)
Other	Pentaconsane Dotriacontane	
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A1B2C1 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari tanpa fermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Furan	2 (3H)-furanone dihydro	Caramel (Arihara <i>et al.</i> , 2019) (Effenberger <i>et al.</i> , 2019)
Komponen bersenyawa S	3-furanacetaldehyde, tetrahydro Tert-butyl-o-methyl-sulfinat	aroma kloroform (Effenberger <i>et al.</i> , 2019)
Other	Tetracontane,3,5,24-trimethyl Silane, trimethyl-2-propyne 2-ethoxy-4-methyl-pent-2-enoic	
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatile penciri A1B3C2 (biji dari buah matang awal, peram 6 hari, difermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Keton	Cyclohexanone 3-(3,3-dimethylbutyl) 2-dodecanone 3-butylcyclohexanone 4-tertiobutyl cyclohexanone	
Alkohol	2,3 butanediol	Sweet chocolate, bunga (Aprotosoie <i>et al.</i> , 2016),sweet, creamy (Misnawi & Ariza, 2011b)
	1,3 butanediol	manis,bunga dan caramel (Castro-Alayo <i>et al.</i> , 2019)
	1 hexanol, 2-ethyl Phenethyl alcohol	karamel, alcohol, sweet, flowery (Misnawi & Ariza, 2011b)
	7-octen-3-ol,2,3,6-trimethyl	Bean like (Misnawi & Ariza, 2011b)
Turunan Benzena	2-benzyloxy-(2-chloro-phenyl)	

Kelas	Senyawa volatile penciri A1B3C1 (biji dari buah matang awal, peram 6 hari, difermentasi)	Deskripsi aroma
Pirol	Acetylpyrrole	Roasty pop corn, nutty, karamel (Parker, 2015)
	Pyrrrole-2-carboxaldehyde 2-pyrrolidinone	Roasty pop corn, nutty karamel (Parker, 2015)
Amina/kelompok senyawa N	2-amino-4-methyloxazole Caffeine (1,3,7-trimethyl xanthine) Tritetracontane Propane, 2-methyl-2-nitro	

Pada sampel biji kakao A1B3C2 (biji dari buah matang awal, pemeraman 6 hari yang difermentasi) mempunyai senyawa volatile penciri yang lebih banyak daripada A1B2C2 (biji dari buah matang awal, peram 3 hari yang difermentasi) dan A1B1C2 (biji dari buah matang awal, tanpa pemeraman yang difermentasi). Pada sampel biji kakao A1B3C2 mempunyai kelas senyawa alkohol sebagai penciri sedangkan sampel lainnya tidak ditemukan alkohol sebagai penciri. Hal ini dapat dilihat pada kulit buah kakao peram 6 hari terdapat beberapa noda warna hitam di permukaan kulitnya dan setelah buah kakao tersebut dibelah tercium bau alkohol. Pada pemeraman 6 hari seperti sudah terjadi fermentasi sebelum buah kakao dibuka sedangkan sampel lama pemeraman 0 dan 3 hari tidak tercium bau alkohol. Hal ini diperkuat oleh hasil analisis PCA bahwa salah satu penciri sampel A1B3C2 (biji dari buah matang awal, peram 6 hari yang difermentasi) adalah adanya kelas senyawa alkohol yang terdiri dari 2,3 butanediol yang memberi aroma sweet chocolate, flowery (Aprotosoae *et al.*, 2016), sweet, dan creamy (Misnawi & Ariza, 2011b). Senyawa volatil lain yang tergolong kelas senyawa alkohol adalah 1,3 butanediol yang memberi aroma sweet, flowery dan caramel (Castro-Alayo *et al.*, 2019).

## 2. Buah kakao matang sedang

Optimalisasi identifikasi senyawa volatil pada biji kakao kering yang berasal dari buah kakao masak sedang dengan perlakuan lama pemeraman dan fermentasi, dilakukan dengan metode ekstraksi microekstraksi fase padat (SPME) untuk memisahkan senyawa volatil dalam sampel biji kakao. Lapisan serat SPME digunakan sebagai serat penjerap (absorber). Profil senyawa volatil yang diekstraksi dengan SPME selanjutnya diidentifikasi menggunakan GCMS. Hasil identifikasi senyawa volatile dengan menggunakan GCMS kemudian dikelompokkan berdasarkan kelas senyawa volatile yang terdiri dari asam

karboksilat, piridin, ester, alkohol, amina/komponen bersenyawa N, aldehid, pirol, furan, keton, firazin, eter, hidrokarbon, komponen bersenyawa S, turunan benzene dan others. Adapun hasil identifikasi kelas senyawa volatile dari buah kakao masak sedang adalah seperti pada Tabel 4.6.

Pada Tabel 4.6 sampel A2B1C1 (biji dari buah matang sedang, tanpa peram, tanpa fermentasi) mengandung jumlah senyawa volatil sebanyak 37 senyawa, sedangkan sampel A2B1C2 (biji dari buah matang sedang, tanpa pemeraman yang difermentasi), mengandung senyawa volatile sebanyak 42 komponen senyawa. Secara umum terlihat pada biji kakao sangrai yang berasal dari buah masak sedang dengan perlakuan fermentasi mempunyai senyawa volatile lebih banyak yaitu 121 senyawa dibanding dengan biji kakao yang tidak difermentasi yaitu 118. Hal ini disebabkan karena pada proses fermentasi terjadi pembentukan precursor flavor. Prekursor adalah senyawa-senyawa yang nantinya akan membentuk flavor setelah proses penyangraian biji kakao. Senyawa precursor ini yang akan diubah menjadi senyawa-senyawa aromatik melalui reaksi maillard, amadori dan stecker (Purwo, 2012).

Tabel 4.6 Hasil identifikasi kelas senyawa volatil biji kakao sangrai dari buah matang sedang

Observasi	asam karboksilat	Piridin	Ester	Alkohol	Amina/bersenyawa N	Aldehid	Pirol	Furan	Keton	Firazin	Eter	Hidrocarbon	Bersenyawa S	Turunan Benzena	Others
A2B1C1	1	1	4	5	2	0	0	2	5	0	6	5	2	3	1
A2B1C2	2	1	1	8	6	0	1	1	3	2	2	12	1	0	2
A2B2C1	4	0	3	9	3	1	3	1	1	0	1	14	0	2	1
A2B2C2	6	1	5	3	5	0	1	1	1	0	2	6	1	0	4
A2B3C1	5	1	1	5	4	0	0	1	7	0	2	11	1	0	0
A2B3C2	3	1	7	5	2	3	0	1	9	0	1	7	0	2	2

Sumber : data primer

Keterangan :

A2B1C1 = Buah kakao matang sedang tanpa pemeraman tanpa fermentasi

A2B1C2 = Buah kakao matang sedang tanpa pemeraman fermentasi

A2B2C1 = Buah kakao matang sedang peram 3 hari tanpa fermentasi

A2B2C2 = Buah kakao matang sedang peram 3 hari difermentasi

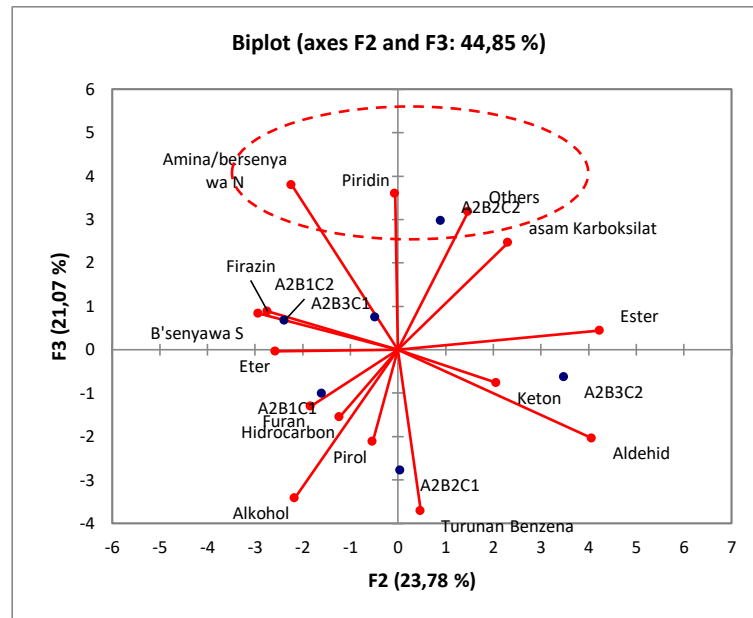
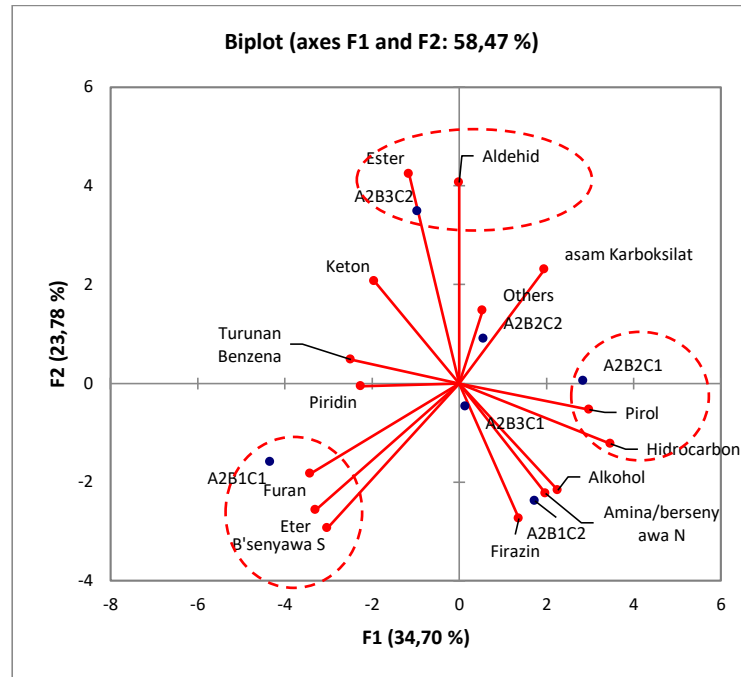
A2B3C1 = Buah kakao matang sedang peram 6 hari tanpa fermentasi

A2B3C2 = Buah kakao matang sedang peram 6 hari difermentasi



Total senyawa volatile yang ditemukan pada biji kakao sangrai dari buah kakao masak sedang adalah 239 senyawa volatil yang terdiri dari asam karbohidrat 21, piridin 5, ester 21, alkohol 35, amina/komponen bersenyawa N 22, aldehid 4, pirol 5, furan 7, keton 26, firazin 2, eter 14, hidrokarbon 55, komponen bersenyawa S 5, turunan benzen 7, dan other 10. Hasil analisis PCA biji kakao sangrai dari buah masak sedang menunjukkan bahwa besarnya keragaman yang terjelaskan pada 3 komponen utama (F1 dan F2 dan F3) mencapai 79,42 % dengan nilai akar ciri secara berurut sebesar 5,2043 (F1), 3,5669 (F2) dan 3,1602 (F3) (Lampiran 4.2). Beberapa parameter volatil yang berkontribusi cukup besar dalam pembentukan komponen utama pertama diantaranya pirol, furan, eter, hidrocarbon, dan komponen bersenyawa S sedangkan ester dan aldehid berkontribusi besar membentuk komponen utama kedua, dan. piridin, alkohol, amina/bersenyawa n, turunan benzena, dan others berkontribusi terhadap komponen utama ketiga. Perlakuan A2B1C1 (biji dari buah matang sedang, tanpa pemeraman dan tanpa fermentasi) dan A2B2C1 (biji dari buah matang sedang, peram 3 hari tanpa fermentasi) berkontribusi besar dalam pembentukan sumbu (komponen) utama pertama, sedangkan perlakuan A2B1C2 (biji dari buah matang sedang, tanpa pemeraman yang difermentasi) dan A2B3C2 (biji dari buah matang sedang, peram 6 hari yang difermentasi) berkontribusi besar dalam pembentukan sumbu utama kedua, dan A2B2C2 (biji dari buah matang sedang, peram 3 hari yang difermentasi) berkontribusi dalam pembentukan sumbu ketiga.

Berdasarkan plot observasi pada sumbu (komponen) utama pertama dan kedua (Gambar 4.3) maka terlihat bahwa perlakuan A2B1C1 (biji dari buah matang sedang, tanpa pemeraman tanpa fermentasi) yang beragregat pada ujung sebelah kiri sumbu satu memiliki ciri khas yang membedakan dengan kelompok observasi lainnya, kelompok perlakuan ini dicirikan oleh furan, eter, dan komponen bersenyawa S yang tinggi, sedangkan perlakuan A2B2C1 (biji dari buah matang sedang, peram 3 hari tanpa fermentasi) yang beragregat pada sebelah kanan sumbu pertama dicirikan oleh pirol dan hidrokarbon, dan perlakuan A2B3C2 (biji dari buah matang sedang, peram 6 hari difermentasi) yang beragregat di kuadran kiri atas dicirikan oleh ester dan aldehid. Berdasarkan plot sumbu utama kedua dan ketiga, perlakuan A2B2C2 (biji dari buah matang sedang, peram 3 hari yang difermentasi) dicirikan oleh piridin, amina/bersenyawa N, dan others yang tinggi, serta alkohol dan turunan benzena yang rendah.



Gambar 4.3 Hasil analisis PCA senyawa volatile biji kakao sangrai dari buah masak sedang

Tabel 4.7 Komponen senyawa volatil sebagai karakteristik penciri buah kakao masak sedang.

<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A2B1C1 (biji dari buah matang sedang tanpa peram tanpa fermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Furan	2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	Karamel, almond (Effenberger et al., 2019)
	2(3H)-Furanone, dihydro (Butyrolactone)	karamel (Arihara et al., 2019)
Eter	1-vinyl-1-cyclopropyl methyl ether 1,3-Dioxolane, 2-(6-heptynyl) Prop-2-ynyl Methylallyl ether dioxolano[b]tricyclo[4.1.0.0(1,3)]heptan-2-thione	
Komponen bersenyawa S	(2S)-2-Allyloxy-1,4-bis[(methanesulfonyl)oxy]butane Silane, trimethyl[4-[(4-methylphenyl)sulfonyl]methyl]-3-dodecen-1-ynyl]	
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A2B2C1 (biji dari buah matang sedang, peram 3 hr tanpa fermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Hidrokarbon	Hexadecane 5-Octadecene 7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 3-methyl Cyclohexane, 1-bromo-3-methyl Decane, 2,3,5-trimethyl 1-Propene, 2-methyl-, trimer (CAS) Triisobutylene	
Pirol	METHYL 3,5-DIMETHYLPYRROLECARBOXYLATE 2-Pyrrolidinone (CAS) Pyrrolidone 1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde (CAS) 2-Formylpyrrole	Nutty, aroma kacang dan caramel (Parker, 2015)
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatil penciri A2B3C2 (biji dari buah matang sedang, peram 6 hari, dan difermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Ester	2-Phenylethyl butanoate	Rose, honey, tobacco, flowery (Frauendorfer & Schieberle, 2006)
	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-phenylethyl ester (CAS) Phenethyl isobutyrate	Aroma bunga (Krings et al., 2006)
	Eicosanoic acid, methyl ester (CAS) Arachidic acid methyl ester Benzoic acid, 2-methylpropyl ester (CAS) Isobutyl benzoate	Aroma buah pisang (Sánchez-Castañeda et al., 2018)
Aldehid	Palmitaldehyde, dibutyl acetal (CAS) 1,1-DIBUTOXY HEXADECANE	Floral, rose (TGSC, 2023)

Kelas	Senyawa volatil penciri A2B2C2 (biji dari buah matang sedang, peram 3 hari dan difermentasi)	Deskripsi aroma
	Tetradecanal (CAS) Myristaldehyde 2-Nonenal, 2-pentyl-(CAS) 6-tridecen-6-AL	waxy,creamy,dairy nuansa buah pear (TGSC, 2023)
Amina/ bersenyawa N	Hydrazine (CAS) Levoxine Hydrazine, ethyl- (CAS) Ethylhydrazine 4-PYRIDAZINAMINE Hydrazoic acid (CAS) Azoimide 2-Isopropylamino-4-isopropylimino-9,10- dihydroxy-1,4-anthraquinone	Ammonia, amis
Piridin	2-Pyridinepropanoic acid, .alpha.-methyl- .beta.-oxo-, ethyl ester	Nutty seperti aroma kacang/caramel (Parker, 2015)
Others	Furfuryl-.beta.,.beta.'-dimethylacrylate 11-Docosyne 1,3-bis( Trimethylsiloxy)-2,4-bis(t- butyldimethylsilyl)-1,3-dioxo- 1.lambda(6),.3.lambda(6).-dithiete	

Pada Tabel 4.7 sampel biji kakao A2B1C1 (buah matang sedang, tanpa pemeraman tanpa fermentasi) memberikan aroma seperti almond, karamel karena adanya senyawa 2-furancarboxaldehyde (furfural) dari kelas senyawa furan (Effenberger *et al.*, 2019). Selain itu sampel A2B1C1 (buah matang sedang, tanpa pemeraman tanpa fermentasi) juga memberikan aroma karamel dengan adanya 2(3H)-Furanon,dihydro (Arihara *et al.*, 2019). Dengan memberi perlakuan 3 hari pemeraman yaitu sampel A2B2C1 (buah matang sedang, peram 3 hari tanpa fermentasi) akan muncul aroma nutty dan karamel, hal ini karena adanya senyawa volatil pyrrolidone dari kelas senyawa pyrole (Parker, 2015).

Pada sampel biji kakao A2B3C2 (buah matang sedang, peram 6 hari , difermentasi) mempunyai senyawa penciri dari kelas ester dan aldehyd. Kedua kelas senyawa volatile ini merupakan komponen penting penyusun aroma kakao. Senyawa volatil dari kelas ester yang terdeteksi pada A2B3C2 adalah 2-phenylethyl butanoat memberi aroma rose, honey, tobacco, flowery (Frauendorfer & Schieberle, 2006) dan senyawa propanoic acid, 2-methyl-, 2-phenylethyl ester yang memberi aroma bunga (Krings *et al.*, 2006). Sedangkan pada sampel A2B2C2 dicirikan dengan senyawa volatile hydrazoic acid yang termasuk kelas amina dengan aroma ammonia dan amis yang kurang menyenangkan.

Diantara 6 sampel biji kakao sangrai dari buah masak sedang yang dianalisa dengan GCMS, sampel A2B3C2 (biji kakao masak sedang, peram 6 hari

yang difermentasi) yang paling kaya akan berbagai macam aroma yang menyenangkan seperti aroma bunga, buah, honey, tobacco, fatty dan creamy. Aroma ini disebabkan adanya kelas senyawa volatil ester dan aldehid yang merupakan kelas senyawa volatil penting penyusun aroma kakao. Senyawa volatil ester adalah senyawa volatil komponen penyusun ke-2 terbesar aroma kakao. Makin banyak senyawa volatil ester yang terdapat dalam biji kakao maka aroma kakao akan semakin baik.

### 3. Buah kakao matang penuh

Hasil identifikasi senyawa volatile dengan menggunakan GCMS kemudian dikelompokkan berdasarkan kelas senyawa volatile yang terdiri dari asam karboksilat, piridin, ester, alkohol, amina/komponen bersenyawa N, aldehid, pirol, furan, keton, firazin, eter, hidrokarbon, komponen bersenyawa S, turunan benzene dan others. Adapun hasil identifikasi kelas senyawa volatile dari buah kakao masak penuh adalah seperti pada Tabel 4.8.

Total senyawa volatil yang teridentifikasi pada buah matang penuh seperti yang tercantum pada Tabel 4.8 adalah sebanyak 241 senyawa volatil yang terdiri dari asam karboksilat 20, piridin 5, ester 17, alkohol 29, 30 amina/komponen bersenyawa N, aldehid 8, pirol 5, furan 7, keton 19, firazin 1, eter 21, hidrokarbon 46, turunan benzene 14, other 17 dan 2 komponen bersenyawa S.

Tabel 4.8 Hasil identifikasi kelas senyawa volatil biji kakao sangrai dari buah matang penuh

Observasi	asam karboksilat	Piridin	Ester	Alkohol	Amina/bersenyawa N	Aldehid	Pirol	Furan	Keton	Firazin	Eter	Hidrocarbon	Bersenyawa S	Turunan Benzene	Others
A3B1C1	5	1	0	2	5	3	0	2	4	0	5	4	1	5	3
A3B1C2	3	1	2	6	5	0	2	1	3	1	3	14	0	2	1
A3B2C1	3	1	7	4	4	0	0	0	4	0	2	4	0	4	6
A3B2C2	4	0	2	6	8	1	0	1	2	0	7	7	0	1	2
A3B3C1	1	1	3	3	4	1	1	2	3	0	3	8	1	0	4
A3B3C2	4	1	3	8	4	3	2	1	3	0	1	9	0	2	1

Sumber: data primer hasil GCMS

Keterangan :

A3B1C1 = Buah kakao matang penuh tanpa pemeraman tanpa fermentasi

A3B1C2 = Buah kakao matang penuh tanpa pemeraman difermentasi

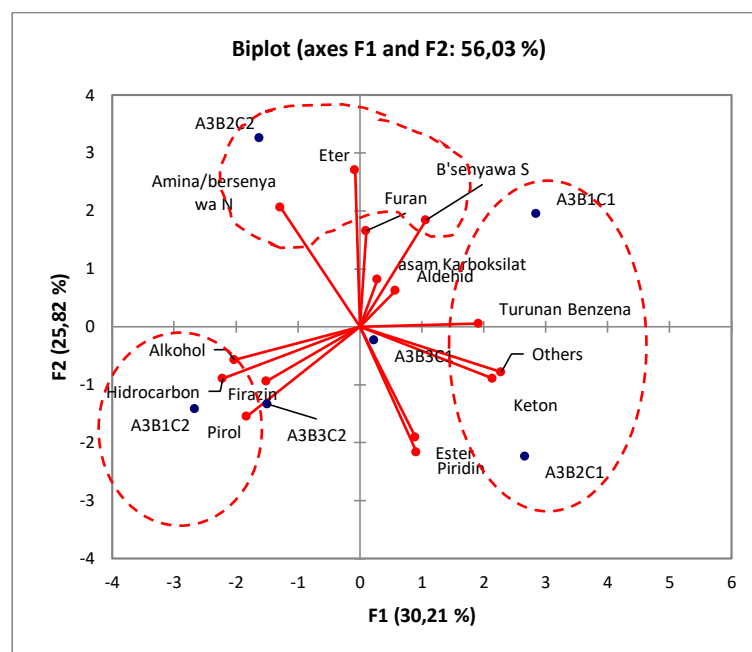
A3B2C1 = Buah kakao matang penuh peram 3 hari tanpa fermentasi

A3B2C2 = Buah kakao matang penuh peram 3 hari difermentasi

A3B3C1 = Buah kakao matang penuh peram 6 hari tanpa fermentasi

A3B3C2 = Buah kakao matang penuh peram 6 hari difermentasi

Hasil analisis PCA buah kakao masak penuh menunjukkan bahwa besarnya keragaman yang terjelaskan pada 3 sumbu utama pertama (F1 dan F2 dan F3) mencapai 75,88 % dengan nilai akar ciri secara berurut sebesar 4,5313 (F1), 3,8734 (F2) dan 2,9769 (F3). Beberapa kelas senyawa volatil yang berkontribusi cukup besar dalam pembentukan sumbu komponen utama pertama diantaranya alkohol, pirol, keton, hidrocarbon, turunan benzena dan others sedangkan piridin, ester, amina/bersenyawa N, eter, komponen bersenyawa S berkontribusi besar membentuk sumbu komponen utama kedua. Aldehid dan furan berkontribusi terhadap sumbu komponen utama ketiga (Lampiran 4.3).



Gambar 4.4 Hasil analisis PCA senyawa volatile biji kakao sangrai dari buah masak penuh

Perlakuan A3B1C1 (biji dari buah matang penuh, tanpa pemeraman tanpa fermentasi), A3B1C2 (biji dari buah matang penuh, tanpa pemeraman yang difermentasi) dan A3B2C1 (biji dari buah matang penuh, peram 3 hari tanpa fermentasi) berkontribusi besar dalam pembentukan sumbu utama pertama, sedangkan perlakuan A3B2C2 (biji dari buah matang penuh peram 3 hari yang difermentasi) berkontribusi besar dalam pembentukan sumbu utama kedua. Berdasarkan plot observasi pada sumbu utama pertama dan kedua (Gambar 4.4) menunjukkan bahwa perlakuan A3B1C2 (biji dari buah matang penuh, tanpa pemeraman difermentasi) yang beragregat pada ujung sebelah kiri sumbu komponen utama satu memiliki ciri khas yang membedakan dengan kelompok

observasi lainnya. Kelompok perlakuan ini dicirikan oleh alkohol, hidrokarbon, dan pirol yang tinggi, sedangkan perlakuan A3B1C1 (biji dari buah matang penuh tanpa pemeraman tanpa fermentasi) dan A3B2C1 (biji dari buah matang penuh peram 3 hari tanpa fermentasi) yang beragregat di kuadran sebelah kanan sumbu satu dicirikan oleh keton, turunan benzena dan others yang tinggi, dan perlakuan A3B2C2 (biji dari buah matang penuh, peram 3 hari difermentasi) dicirikan oleh eter, amina/besenyawa N, dan komponen bersenyawa S yang tinggi serta ester dan piridin yang rendah.

Tabel 4.9 Komponen senyawa volatil sebagai karakteristik penciri buah kakao masak penuh

<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatile penciri A3B1C1 (biji dari buah matang penuh, tanpa peram, tanpa fermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Keton	2-Propanone (CAS) Acetone	Butter, cream (Afoakwa et al., 2008)
	1-PHENYLPENTAN-2-ONE Bicyclo(10.3.0)pentadec-1(12)-en-13-one tosylhydrazone	Fruit (Rodriguez-Campos et al., 2011)
Turunan Benzena	1,8-diisopropyl-2,9-dimethoxy-6H,13H-5,12-dioxadibenzo[b,i]pyrene-3,10-diol	
	(2S,3S)-1-Benzoyloxy-3,4-epoxy-2-(1'-methoxy-1'-methylethoxy)-butane	
Others	Photonerol B 11-Docosyne	
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatile penciri A3B2C1 (biji dari buah matang penuh, peram 3 hr tanpa fermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Keton	3-butylcyclohexanone	Woody (Burdock, 2016)
	3-DEUTERIO-4-T-BUTYLCYCLOHEXANONE	
Turunan benzene	Benzene, (2-decyldodecyl)	
	Benzene, (3-nitropropyl) (CAS) 3-Phenylnitropropane	
Others	EICOSAMETHYLCYCLODECASILOXANE CYCLOTTRISILOXANE, 1,3,5-TRIMETHYL-1,3,5-TRIPHENYL SILANE, TRIMETHYL-2-PROPYNE	
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatile penciri A3B1C2 (biji dari buah matang penuh, tanpa peram dan difermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Alkohol	2,3-Butanediol (CAS) Butane-2,3-diol	Sweet chocolate, bunga (Aprotosoai et al.,
	3,3-Diethoxypropanol	

		2016), sweet, creamy (Misnawi & Ariza, 2011b)
	Phenethyl alcohol 6-Dodecenol 1-Undecanol	karamel, alcohol like Sweet, flowery (Misnawi & Ariza, 2011b)
Pirol	ACETYLPIRROLE 2-Pyrrolidinone (CAS) Pyrrolidone	Roasty pop corn, nutty (Parker, 2015)
Hidrokarbon	Pentadecane 5-Hepten-1-yne, 6-methyl DIMETHYL-2,3 HEXENE-1 1-Pentene, 2,4,4-trimethyl- (CAS) Diisobutylene Cyclohexane, 1-bromo-3-methyl Dotriacontane Cyclododecene 1-Iodo-2-methylundecane	Waxy (TGSC, 2023)
<b>Kelas</b>	<b>Senyawa volatile penciri A3B2C2 (biji dari buah matang penuh, peram 3 hr yang difermentasi)</b>	<b>Deskripsi aroma</b>
Eter	Ethane, 1,1'-oxybis[2-ethoxy- (CAS) Bis(2-ethoxyethyl) ether  1,3-Dioxolane, 2-pentadecyl 1-propylmethyl ether 2-Pentyne, 5-methoxy 3-Hexene, 1-(1-ethoxyethoxy) Prop-2-ynyl Methylallyl Ether	Green,woody pleasant, nutty (Burdock, 2016)
Amina /komponen bersenyawa N	4-METHYLPENTANENITRILE-3,3-D2 Carbonic dihydrazide 1-Butanamine (CAS) Butylamine Glycine, N-(carboxymethyl)	amis ,amoniak (TGSC, 2023)
Komponen bersenyawa S	(2S)-2-Hydroxy-1,4-bis[(methanesulfonyl)oxy]butane	

Pada Gambar 4.4 terlihat bahwa sampel biji kakao sangrai A3B1C1 (biji dari buah matang penuh, tanpa pemeraman tanpa fermentasi) mempunyai kelas senyawa volatil penciri yang sama dengan sampel biji kakao A3B2C1 (biji dari buah matang penuh, peram 3 hari tanpa fermentasi) yaitu kelas senyawa volatil keton, turunan benzene dan other. Yang membedakan keduanya adalah senyawa volatil dari kelas keton pada A3B1C1 adalah 2-Propanone yang memberi aroma butter dan cream (Afoakwa *et al.*, 2008) serta senyawa 1-phenylpentan-2-one yang memberi aroma buah (Rodriguez-Campos *et al.*, 2011). Sedangkan pada sampel A3B2C1 (buah matang penuh, diperam 3 hari tanpa fermentasi) senyawa volatile yang tergolong kelas keton adalah 3-butylicyclohexanone, senyawa volatile



ini memberi aroma woody (Burdock, 2016). Aroma woody diasosiasikan dengan aroma kayu cendana dan akar-akaran.

Sampel biji kakao sangrai A3B1C2 (biji dari buah matang penuh, tanpa pemeraman, difermentasi) yang terlihat pada Gambar 4.4 dicirikan oleh adanya kelas senyawa volatil alkohol, pirol dan hidrokarbon. Senyawa volatil yang termasuk kelompok alkohol adalah 2,3-Butanediol. Senyawa ini diasosiasikan dengan aroma sweet chocolate, bunga (Aprotosoaie *et al.*, 2016), sweet, dan creamy (Misnawi & Ariza, 2011b). Selain itu terdapat pula phenethyl alkohol yang memberi kesan flowery, alkohol-like dan karamel (Misnawi & Ariza, 2011b). Pada sampel ini diidentifikasi adanya aroma nutty dan roasty pop corn karena terdapat senyawa acetylpyrrole (Parker, 2015). Untuk buah masak penuh biji kakao ini paling kaya aromanya dibanding sampel biji kakao yang lain, sehingga metode ini bisa direkomendasikan untuk pascapanen buah kakao masak penuh.

Pada sampel A3B2C2 (buah matang penuh, peram 3 hari yang difermentasi), walaupun memiliki aroma green, woody dan nutty karena adanya ethane, 1,1'-oxybis 2-ethoxy (Burdock, 2016), terdapat juga senyawa volatile yang aromanya tidak menyenangkan yaitu 1-butanamin yang berbau ammonia. Sehingga sampel A3B2C2 tidak direkomendasikan dalam pasca panen dan pengolahan kakao.

#### **D. KESIMPULAN**

Tiap sampel yang diobservasi baik pada buah kakao masak awal, masak sedang dan masak penuh, masing-masing memberikan senyawa volatil penciri yang khas. Sampel biji kakao sangrai yang memiliki aroma yang paling kaya adalah biji kakao yang berasal dari pemeraman 6 hari yang difermentasi, karena perlakuan ini menyebabkan munculnya kelompok senyawa alkohol dan ester yang merupakan komponen aroma penting kakao yang memberikan aroma bunga, buah, honey, sweet chocolate dan karamel. Hal ini ditemukan pada pada taraf perlakuan A1 (buah masak awal) dan A2 (buah masak sedang). Sedangkan pada A3 (buah masak penuh) walaupun tanpa pemeraman, yang penting difermentasi sudah bisa menghasilkan senyawa volatil yang kaya aroma yaitu dari kelas alkohol seperti 2,3 butanediol yang memberikan aroma sweet chocolate, bunga, cream. Phenethyl alkohol dengan aroma caramel, sweet dan bunga. Acetylpyrrole memberi aroma nutty dan roasty pop corn.

## E. DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O. (2016). *Chocolate Science and Technology* (second). John Weley & Sons.Ltd. <https://zeabooks.com/book/chocolate-science-and-technology-2nd-edition/#download>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., & Fowler, M. et al. (2008). Modelling tempering behaviour of dark chocolates from varying particle size distribution and fat content using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.02.002>
- Aprotosoai, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Arihara, K., Yokoyama, I., & Ohata, M. (2019). DMHF (2,5-dimethyl-4hydroxy-3(2H)-furanone), a volatile food component with attractive sensory properties, brings physiological functions through inhalation. *Advances in Food and Nutrition Reasearch*, 89. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.05.001>
- Burdock, G. A. (2016). Fenaroli's handbook of flavor ingredients, sixth edition. In *Fenaroli's handbook of flavor ingredients, sixth edition*.
- Castro-Alayo, E. M., Idrogo-Vásquez, G., Siche, R., & Cardenas-Toro, F. P. (2019). Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa. In *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01157>
- Dand, R. (2011). Cocoa bean processing and the manufacture of chocolate. In *The International Cocoa Trade* (pp. 268–289). <https://doi.org/10.1016/b978-0-85709-125-3.50009-4>
- Effenberger, I., Hoffmann, T., Jonczyk, R., & Schwab, W. (2019). Novel biotechnological glucosylation of high-impact aroma chemicals, 3(2H)- and 2(5H)-furanones. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47514-9>
- Frauendorfer, F., & Schieberle, P. (2006). Identification of the key aroma compounds in cocoa powder based on molecular sensory correlations.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf060728k>
- Granvogl, M., Bugan, S., & Schieberle, P. (2006). Formation of amines and aldehydes from parent amino acids during thermal processing of cocoa and model systems: New insights into pathways of the strecker reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1730–1739. <https://doi.org/10.1021/jf0525939>
- Jinap, S. (1994). Organic acids in cocoa beans - a review. *ASEAN Food Journal*, 9(1), 3–12.
- Krings, U., Zalena, K., Wu, S., & Berger, R. G. (2006). *Thin-layer high-vacuum distillation to isolate volatile flavour compounds of cocoa powder* (5th ed.). European Food Research and Technology.
- Kusumaningrum, I, Wijaya, H. C., Kusnandar, F., & Tanjung Sari, A. B. (2014). Profil aroma dan mutu sensori cita rasa pasta kakao unggulan dari beberapa daerah di Indonesia. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 25(1), 106–114. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.106>
- Kusumaningrum, Intan, Hanny Wijaya, C., Kusnandar, F., -, M., & Tunjung Sari, A. B. (2014). PROFIL AROMA DAN MUTU SENSORI CITARASA PASTA KAKAO UNGGULAN DARI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.106>
- Maarse, H. (1991). *Volatile compounds in foods and beverages* (Vol. 44). CRC press.
- Misnawi, & Ariza, B. T. S. (2011a). Use of gas Chromatography-Olfactometry in combination with solid phase micro extraction for cocoa liquor aroma analysis. *International Food Research Journal*, 18, 829–835.
- Misnawi, & Ariza, B. T. S. (2011b). Analysis of Pyrazine and Volatile Compounds in Cocoa Beans Using Solid Phase Microextraction. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 27(1), 24–35. <https://doi.org/10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v27i1.143>
- Misnawi, J. (2008). PHY S ICO-CHEMICAL CHANGES DURING COCOA FERMENTATION AND KEY ENZY MES INVOLVED Perubahan Fisiko-Kimia Selama Fermentasi Biji Kakao Cocoa beans are obtained from. *Review*

*Penelitian Kopi Dan Kakao*, 24, 47–64.  
<https://www.researchgate.net/publication/292019683>

- Nuwiah, N. (2010). Uji Senyawa aroma khas coklat hasil roasting asam amino hidrofobik dan fruktosa dalam lemak kakao. *Jurnal Agriplus*, 20, 128–854.
- Parker, J. K. (2015). Introduction to aroma compounds in foods. In *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*.  
<https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-103-0.00001-1>
- Pratiwi, R. (2016). *PENCOKLATAN NON-ENZIMATIS MAILLARD TERINDUKSI (INDUCED MAILLARD REACTION) SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN KUALITAS CITARASA DAN AROMA KAKAO RAKYAT*.  
<http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/77805>
- Purwo, S. (2012). Flavor coklat profil dan aplikasi. *Food Review Indonesia*.  
<https://www.foodreview.co.id>
- Rizzi, G. P., & Bunke, P. R. (1998). The use of roasting kinetics data to characterize natural and artificial chocolate aroma precursors. *Developments in Food Science*, 535–546. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(98\)80075-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(98)80075-7)
- Rodriguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H. B., Orozco-Avila, I., Lugo-Cervantes, E., & Jaramillo-Flores, M. E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.028>
- Sánchez-Castañeda, A. K., Athès, V., Moussa, M., López-Miranda, J., Páez-Lerma, J. B., Soto-Cruz, N. Ó., & Trelea, I. C. (2018). Modeling of isoamyl acetate production by fermentation with *Pichia fermentans* in an aerated system coupled to in situ extraction. *Process Biochemistry*, 65, 11–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.10.010>
- TGSC, I. S. (2023). *Tetradecanal (on line)*. TGSC Information System.  
<http://thegoodscantscompany.com>
- Wong, K. H., Abdul Aziz, S., & Mohamed, S. (2008). Sensory aroma from Maillard reaction of individual and combinations of amino acids with glucose in acidic conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(9),

1512–1519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01445.x>

Ziegler, G. (2009). Flavour Development in Cocoa and Chocolate. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use: Fourth Edition* (pp. 169–191). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch8>

## BAB V

### PEMBAHASAN UMUM

Sebagaimana telah disebutkan pada Bab I pendahuluan umum bahwa perlu adanya perhatian produsen kakao Indonesia terhadap kualitas biji kakao yang diekspor. Harga biji kakao Indonesia dikenakan potongan harga dibandingkan dengan harga produk yang sama dari negara produsen lain. Hal ini disebabkan rendahnya mutu kakao Indonesia di pasar internasional karena biji kakao Indonesia mempunyai kadar asam yang tinggi dan mempunyai senyawa prekursor aroma yang rendah (Kementan\_RI, 2019).

Biji kakao yang berkualitas ditentukan oleh banyak faktor, 75 % diantaranya adalah teknik pengolahan pasca panen terutama dalam hal fermentasi. Fermentasi merupakan inti dari proses pengolahan biji kakao. Proses ini tidak hanya bertujuan untuk membebaskan biji kakao dari *pulp* (daging buah) dan mematikan biji saja, namun tujuan dari proses fermentasi ini terutama untuk memperbaiki dan membentuk cita rasa coklat yang enak dan menyenangkan serta mengurangi rasa sepat dan pahit, (Haryadi dan Supriyanto, 2017). Senyawa pembentuk cita rasa pada coklat adalah polifenol, theobromin dan asam-asam organik. Sedangkan komponen prekursor aroma diantaranya asam amino dan gula reduksi terbentuk dari hasil hidrolisis protein dan sukrosa biji kakao.

Faktor yang berpengaruh terhadap hasil fermentasi biji kakao diantaranya tingkat kematangan buah pada saat pemanenan dan lama pemeraman buah kakao, sebelum dilakukan fermentasi. Saat pemanenan (tingkat kematangan buah) dan lama pemeraman di dalam buah setelah panen juga mempengaruhi hasil biji kakao kering hasil fermentasi. Tingkat kematangan buah akan berpengaruh terhadap kestabilan suhu fermentasi sehingga proses fermentasi akan berlangsung dengan sempurna. Pemeraman buah akan menghasilkan keseragaman kematangan buah sehingga biji kakao kering hasil fermentasi memenuhi syarat mutu (Iflah, 2015).

**Berdasarkan rumusan masalah penelitian pada bab I yaitu bagaimana pengaruh tingkat kematangan buah kakao dan lama pemeraman terhadap perubahan sifat fisiko kimia pulp dan biji kakao.** Sesuai hasil penelitian yang

digambarkan pada bab II diperoleh bahwa tingkat kematangan buah tidak berpengaruh nyata terhadap berat pulp, kadar air pulp, kadar gula total pulp, kadar glukosa/fruktosa pulp, dan pH pulp dari buah kakao segar. Tingkat kematangan buah juga tidak berpengaruh terhadap kadar air biji dan berat biji kakao segar. Namun, tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap kandungan polifenol dan sukrosa pulp.

Hal di atas dapat dijelaskan bahwa buah kakao merupakan buah nonklimakterik yaitu tidak menunjukkan adanya perubahan pola respirasi yang mendadak seperti buah klimakterik (Kou et al., 2021). Pola perubahan respirasi yang tiba-tiba pada buah klimakterik meningkatkan kadar air dalam buah. Fenomena ini tidak terjadi pada buah kakao, sehingga tidak ada perubahan signifikan pada kadar air pulp, kadar gula total pulp, kadar glukosa/fruktosa dan pH pulp yang diamati pada tiga tingkat kematangan yang berbeda. pH pulp tidak berubah secara signifikan karena kadar air pulp yang tidak dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah. Demikian juga tidak ada perubahan signifikan pada kadar air biji dan berat biji kakao segar jika ditinjau dari tingkat kematangan yang berbeda. Dengan semakin matangnya buah tidak terjadi perubahan yang signifikan pada kadar air biji dan berat biji kakao segar. Tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap sukrosa pulp, semakin matang buah kandungan sukrosa semakin menurun karena selama pematangan sukrosa dipecah menjadi glukosa dan fruktosa.

Tingkat kematangan berpengaruh terhadap kandungan polyphenol biji kakao segar. Sebelum pemeraman buah dilakukan, kandungan polyphenol pada tingkat kematangan awal, sedang dan akhir tidak berbeda nyata. Tetapi setelah pemeraman dilakukan baik 3 hari maupun 6 hari pemeraman maka kandungan polyphenol pada 3 tingkat kematangan berbeda sangat nyata, dimana tingkat kematangan sedang (A2) yang mempunyai polyphenol tertinggi (lihat Tabel 2.6). Hal ini disebabkan pada saat pemeraman terjadi penambahan berat biji yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel untuk persiapan perkecambahan biji (Sakiroh et al., 2018). Pertumbuhan maksimum sel-sel terjadi pada tingkat kematangan sedang (A2), sehingga polyphenol paling banyak ditemukan pada tingkat kematangan ini. Pemanenan buah pada tingkat kematangan penuh (A3), lalu dilakukan pemeraman maka dihasilkan polyphenol yang berbeda nyata (lebih rendah) dengan tingkat kematangan sedang (lihat Tabel 2.6). ini berarti

pertumbuhan sel-sel sudah menurun pada tingkat kematangan penuh (A3), dimana polyphenol hanya ditemukan dalam sel.

Lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap berat pulp, kadar gula total, kadar sukrosa, dan kadar glukosa/fruktosa serta berat dan kandungan polifenol biji. Pengaruh lama pemeraman terhadap kadar air pulp, pH pulp dan kadar air biji tidak signifikan. Semakin lama pemeraman, berat pulp semakin menurun karena menurut Aroyeun, (2006) selama pemeraman gula dalam pulp terdegradasi menjadi senyawa sederhana yaitu CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan energy. Demikian pula kandungan total gula, kandungan sukrosa dan glukosa/fruktosa semakin menurun dengan semakin lamanya pemeraman. Suhu tempat dilakukannya pemeraman semakin lama semakin meningkat khususnya pada pukul 12.00 sampai 14.00 siang hari, suhu tertinggi dicapai pada suhu 31°C pada pemeraman hari terakhir yaitu pada hari ke 6. Pada suhu tinggi, amilase aktif memecah karbohidrat menjadi glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Total gula adalah gabungan sukrosa, glukosa dan fruktosa. Pada saat yang sama, sukrosa terurai menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa yang terbentuk kemudian dioksidasi untuk menghasilkan CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, dan energi.

Lama pemeraman berpengaruh nyata terhadap berat biji dan kandungan polyphenol biji. Berat biji kakao segar meningkat dengan semakin lamanya pemeraman. Pertambahan berat biji kakao disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel dalam persiapan perkecambahan biji. Pertumbuhan sel disertai dengan peningkatan kandungan polifenol dalam sel. Oleh karena itu, semakin lama waktu pemeraman maka kandungan polifenolnya semakin tinggi.

Terdapat pengaruh interaksi antara tingkat kematangan buah dan lama pemeraman terhadap total gula pulp dan glukosa/fruktosa. Total gula tertinggi ditemukan pada A1B0 (tingkat kematangan awal, tanpa pemeraman) sedangkan yang terendah ditemukan pada A1B6 (Tingkat kematangan awal, pemeraman 6 hari). Pada buah dengan tingkat kematangan awal terjadi respirasi yang tinggi ini dilihat dari terjadinya penurunan kandungan total gula dari 11.9 % pada sampel masak awal peram 0 hari menjadi 6.5 % pada sampel buah masak awal peram 3 hari, kedua sampel ini berbeda sangat nyata. Total gula buah masak awal peram 3 hari sampai peram 6 hari semakin menurun tapi tidak berbeda nyata. Pada buah dengan tingkat kematangan penuh setelah panen terjadi perombakan pati menjadi glukosa/fruktosa dan sukrosa, sehingga total gula meningkat pada hari pertama



pemeraman, kemudian menurun sampai hari ke 6 pemeraman. Sedangkan pada buah masak sedang terlihat lebih stabil dibanding yang lainnya, namun tetap terjadi penurunan total gula sampai hari ke 6 pemeraman. Pada buah masak awal terjadi respirasi yang tinggi karena buah ini mempunyai jaringan lebih muda dibanding buah matang sedang dan matang penuh. Buah dengan jaringan muda akan mengalami proses metabolisme yang lebih tinggi dibanding buah yang jaringannya lebih tua. Rendahnya total gula pada pemeraman 6 hari, ini menguntungkan karena akan menghasilkan asam asetat yang sedikit sehingga menghasilkan biji yang tidak terlalu asam.

Terdapat pengaruh interaksi antara tingkat kematangan buah dan lama pemeraman terhadap kandungan polyphenol biji kakao segar. Semakin lama pemeraman terjadi peningkatan kandungan polyphenol dalam biji terutama pada biji yang berasal dari buah matang sedang. Polyphenol biji dari buah matang sedang paling tinggi dan berbeda nyata dengan biji dari buah matang awal dan buah matang penuh. Hal ini disebabkan pertumbuhan sel-sel buah pada tingkat kematangan sedang sudah maksimum, sehingga kandungan polyphenol pada buah matang sedang ini paling tinggi. Lain halnya biji dari buah matang awal, ini masih terjadi proses pertumbuhan sel. Sedangkan pada buah matang penuh adalah awal terjadinya kelayuan (*senescen*). Interaksi antara tingkat kematangan sedang (A2) dengan lama pemeraman 6 hari (B6) yaitu A2B6 menghasilkan polyphenol tertinggi yaitu 13.06 mg/g in GAE.

Pemeraman selama 6 hari sebelum fermentasi biji kakao dengan tingkat kematangan A2 menurunkan keasaman dan meningkatkan kandungan polifenol dan berat biji kakao. Kenaikan berat biji juga meningkatkan rendemen biji kakao. Oleh karena itu, pemeraman 6 hari dengan tingkat kematangan sedang (A2) dapat diterapkan pada industri pengolahan kakao, khususnya sebelum fermentasi biji kakao dilakukan. Setelah mengalami pemeraman selama 6 hari, biji kakao juga dapat menjadi sumber polifenol yang baik untuk kesehatan manusia.

**Untuk menjawab pertanyaan atau rumusan masalah ke 2 yaitu bagaimana pengaruh tingkat kematangan buah, lama pemeraman dan fermentasi terhadap pembentukan prekursor aroma kakao**, maka dilakukan sub topik penelitian kedua yang ditambahkan perlakuan fermentasi dan non-fermentasi sebagai pembanding. Pada sub topik penelitian ini digunakan 3 lama pemeraman yaitu 0 hari, 3 hari dan 6 hari. Selang lama pemeraman 3 hari yang

dijadikan dasar yang diperoleh pada topik penelitian 1 karena pemeraman 0 hari, 1 hari dan 2 hari tidak berbeda nyata tetapi peram 0 hari berbeda nyata dengan pemeraman 3 hari, ini terjadi pada beberapa parameter seperti total gula, glukosa/fruktosa. Parameter yang diamati setelah biji kakao difermentasi dan dikeringkan adalah asam amino dan gula reduksi, selain itu juga diamati polyphenol biji kering, pH biji kering, *cut tes* (uji belah) dan kadar air biji kakao kering.

Hasil yang diperoleh dari topik penelitian 2 Berdasarkan data dari analisa uji belah yang meliputi identifikasi persentase biji *unfermented*, biji *underfermented* dan biji *fermented* maka dapat dikatakan bahwa diantara taraf perlakuan yang digunakan maka yang terbaik adalah taraf perlakuan pemeraman 6 hari (B3) pada tingkat kematangan sedang (A2), atau dengan kata lain sampel A2B3 yang mendekati fermentasi sempurna. Alasannya adalah A2B3 yang memiliki persentase biji *unfermented* terkecil yaitu 0.25 % dan mempunyai persentase biji *fermented* terbesar yaitu 98.5 %. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Emmanuel Ohene Afoakwa *et al.*, (2012) bahwa fermentasi buah kakao dari buah yang diperam waktu fermentasinya lebih cepat dan menghasilkan jumlah biji *fermented* yang lebih tinggi.

Buah dengan tingkat kematangan sedang (A2) memiliki pH biji kering tertinggi dan pH biji kering terendah diperoleh pada buah matang penuh (A3). Semakin matang buah maka pati akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa. Jika glukosa tinggi maka asam asetat yang dihasilkan saat fermentasi juga akan tinggi, sehingga keasamannya tinggi atau pH akan rendah. pH tertinggi diperoleh pada pemeraman 6 hari (B3) kemudian berturut-turut pemeraman 3 hari (B2) dan tanpa pemeraman (B1). Pada biji kakao kering fermentasi semakin lama pemeraman pH semakin naik. Selama pemeraman terjadi respirasi pada buah dimana glukosa digunakan sebagai substrat dalam reaksi metabolik dimana gula didegradasi sehingga terbentuk  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energy (Aroyeun *et al.*, 2006). Semakin lama pemeraman glukosa akan semakin menurun sehingga asam asetat yang terbentuk saat fermentasi juga menurun sehingga asam berkurang dan pH akan naik. Polyphenol tertinggi ditemukan pada biji kakao kering dari buah dengan tingkat kematangan sedang (A2) kemudian berturut-turut tingkat kematangan awal (A1) dan matang penuh (A3). Ditinjau dari lama pemeraman polyphenol tertinggi berada pada biji kakao kering (B1) tanpa pemeraman, kemudian berturut-turut biji

kakao kering dengan pemeraman 3 hari (B2) dan pemeraman 6 hari (B3). Biji kakao kering non fermentasi mempunyai kandungan polyphenol yang lebih tinggi dibandingkan biji kakao kering fermentasi. Kandungan polyphenol banyak hilang karena berdifusi ke dalam cairan fermentasi dan akibat oksidasi selama fermentasi.

Menurut hasil penelitian Hinneh et al., (2018) semakin lama pemeraman gula reduksi semakin tinggi. Sedangkan pada penelitian ini lama pemeraman yang mempunyai gula reduksi tertinggi adalah peram 3 hari. Gula reduksi yang tinggi ini adalah hasil perombakan pati menjadi gula sederhana yaitu glukosa dan fruktosa. Gula reduksi kemudian menurun pada pemeraman 6 hari karena terjadinya proses respirasi, dimana glukosa dioksidasi menjadi CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan energy.

Semakin matang buah kandungan gula reduksi semakin tinggi, dalam penelitian ini A3 atau tingkat kematangan penuh mempunyai kandungan gula reduksi tertinggi, kemudian berturut-turut A2 (masak sedang) dan A1 (masak awal). Hal ini sesuai pernyataan (Sudjatha & Wisaniyasa, 2017) bahwa semakin matang buah maka tingkat keasaman menurun dan kandungan gula semakin meningkat, karena pati pada buah matang akan dirombak menjadi senyawa sukrosa, glukosa dan fruktosa.

Pada analisa asam amino dalam penelitian ini dideteksi 10 jenis asam amino yang dominan dalam biji kakao varietas *Trinitario* asal Kabupaten Pinrang, Sulawesi selatan yaitu alanine, arginine, glutamic acid, histidine, leucine-isoleucine, lysine, methionine, prolin, threonine dan valin. Kesepuluh jenis asam amino ini mempunyai pola grafik yang hampir sama yaitu semakin lama pemeraman maka kandungan asam amino pada tingkat kematangan A2 dan A3 semakin menurun. Sebaliknya tingkat kematangan A1 mempunyai asam amino yang semakin meningkat dengan semakin lamanya pemeraman. Tingkat kematangan A3 mempunyai asam amino yang paling rendah pada 10 jenis asam amino di atas.

Semakin tinggi asam amino seperti alanin, leucine-isoleucin, valin, lysin, methionine dan prolin maka aroma kakao akan semakin baik. Sedangkan asam amino seperti arginine, glutamic acid, histidine, dan threonine tetap dibutuhkan walaupun dalam jumlah sedikit karena merupakan bagian dari aroma coklat.

Salah satu kelemahan biji kakao dari buah varietas *Trinitario* klon S2 yang digunakan dalam penelitian ini adalah tidak ditemukannya asam amino phenylalanine dan tirosin yang merupakan prekursor yang berkontribusi terhadap pembentukan aroma kakao (Voigt, 2009; Sukha *et al.*, 2017). Phenylalanine bila bereaksi dengan glukosa dapat menghasilkan aroma bunga mawar sedikit pahit, sedangkan tirosin bila bereaksi dengan glukosa akan menghasilkan aroma bunga mawar dan rasa manis (Wong *et al.*, 2008).

**Untuk menjawab pertanyaan atau rumusan masalah ke 3 yaitu bagaimana karakteristik profil senyawa volatil biji kakao berdasarkan tingkat kematangan buah ,lama pemeraman buah dan fermentasi biji kakao** maka dilakukan sub topik penelitian ke 3 yaitu menganalisis kandungan senyawa volatile atau profil aroma biji kakao menggunakan analisis Gas Chromatography Mass Spectrometri (GCMS) dengan metode SPME (Solid Phase Microextraction).

Tiap sampel yang diobservasi baik pada buah kakao masak awal, masak sedang dan masak penuh, masing-masing memberikan senyawa volatil penciri yang khas. Sampel biji kakao sangrai yang memiliki aroma yang paling kaya adalah biji kakao yang berasal dari pemeraman 6 hari yang difermentasi, karena perlakuan ini menyebabkan munculnya kelompok senyawa alkohol dan ester yang merupakan komponen aroma penting kakao yang memberikan aroma bunga, buah, madu, *sweet chocolate* dan karamel. Hal ini ditemukan pada pada taraf perlakuan A1 (buah masak awal) dan A2 (buah masak sedang). Sedangkan pada A3 (buah masak penuh) walaupun tanpa pemeraman, yang penting difermentasi sudah bisa menghasilkan senyawa volatil yang kaya aroma yaitu dari kelas alkohol yang memberikan aroma *sweet chocolate*, bunga, *cream*. Phenethyl alkohol dengan aroma karamel, manis dan bunga. Acetylpyrrole memberi aroma kacang dan pop corn sangrai.

Tingkat kematangan buah yang tepat untuk dipanen agar mempunyai asam amino (precursor aroma) tetap tinggi, biji *unfermented* rendah, biji *fermented* tinggi dan pH yang menghasilkan intensitas aroma yang kuat adalah biji kakao yang berasal dari buah matang sedang. Biji kakao dari buah matang sedang ini juga menghasilkan senyawa volatil dari kelompok ester yang menghasilkan aroma buah, bunga, madu dan tembakau. Jadi teori yang menyebutkan bahwa pemanenan kakao harus pada buah dengan tingkat kematangan yang penuh diragukan karena buah yang matang penuh (A3) pada penelitian ini mempunyai

asam amino (prekursor aroma) paling rendah dibanding tingkat kematangan yang lain. Selain itu rendemen yang dihasilkan pada buah dengan tingkat kematangan penuh rendah karena ada hewan pemangsa yang mendahului petani untuk memanen buah yang berwarna kuning ini.

Salah satu kelemahan pada biji kakao varietas Trinitario klon S2 yang digunakan dalam penelitian ini adalah tidak ditemukannya kelompok senyawa volatil pirazin yang merupakan kelompok senyawa volatil dominan penyusun aroma kakao. Keunggulannya adalah ditemukannya kelompok senyawa volatil ester pada biji kakao yang berasal dari buah matang sedang yang diperam 6 hari, dimana kelompok senyawa volatil ester adalah komponen senyawa penyusun aroma kakao kedua terbesar setelah senyawa volatil pirazin.

Oleh karena itu dapat direkomendasikan bahwa pemeraman 6 hari yang difermentasi, baik diaplikasikan pada buah dengan tingkat kematangan sedang (A2) karena mempunyai pH dengan intensitas aroma yang tinggi, biji *unfermented* (slaty) yang rendah, biji *fermented* tertinggi dan gula reduksi atau prekursor aroma yang tinggi serta mengandung senyawa volatil ester yang memberikan aroma bunga, buah, madu dan tembakau. Dimana senyawa volatil ester ini adalah kelompok senyawa volatil kedua terbesar penyusun aroma kakao setelah pirazin.

# **LAMPIRAN**

## **BAB II**

Lampiran 2.1a Data pengamatan berat pulp biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	47.57	34.49	41.03
A1B1	45.16	48.02	46.59
A1B2	46.73	42.79	44.76
A1B3	44.25	43.78	44.01
A1B4	41.98	36.74	39.36
A1B5	37.16	30.63	33.89
A1B6	51.83	36.05	43.94
A2B0	47.34	45.5	46.42
A2B1	47.32	44.73	46.02
A2B2	47.30	45.83	46.56
A2B3	40.69	41.79	41.24
A2B4	34.69	34.38	34.53
A2B5	43.64	24.37	34.00
A2B6	35.04	25.69	30.36
A3B0	46.69	49.23	47.96
A3B1	42.13	42.94	42.53
A3B2	42.60	41.43	42.01
A3B3	30.27	46.17	38.22
A3B4	33.01	39.26	36.13
A3B5	26.9	32.6	29.75
A3B6	26.18	33.21	29.69

Lampiran 2.1b Data analisa berat pulp buah kakao (g/100 g biji basah)

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (g)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	41.03	46.59	44.76	44.01	39.36	33.89	43.94	41.94
Masak sedang	46.42	46.02	46.56	41.24	34.53	34.00	30.36	39.87
Masak penuh	47.96	42.53	42.01	38.22	36.13	29.75	29.69	38.04
Rata-rata	45.14	45.05	44.44	41.16	36.67	32.55	34.66	39.95

## Lampiran 2.1c Analisa sidik ragam berat pulp buah kakao segar

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Berat Pulp

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1440.864 <sup>a</sup>	20	72.043	2.211	.039
Intercept	67048.885	1	67048.885	2057.475	.000
Tingkat_kematangan	106.434	2	53.217	1.633	.219
Lama_pemeraman	1007.878	6	167.980	5.155	.002
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	326.551	12	27.213	.835	.617
Error	684.347	21	32.588		
Total	69174.096	42			
Corrected Total	2125.211	41			

## Lampiran 2.1d Analisa Tukey lama pemeraman terhadap berat pulp buah kakao

Lama Pemeraman (hr)	N	Subset	
		1	2
5	6	32.5500	
6	6	34.6667	34.6667
4	6	36.6767	36.6767
3	6	41.1583	41.1583
2	6		44.4467
1	6		45.0500
0	6		45.1367
Sig.		.172	.058



Lampiran 2.2a Data pengamatan kadar air pulp biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	81.29	75.36	78.325
A1B1	80.54	86.03	83.285
A1B2	76.37	80.06	78.215
A1B3	82.42	81.93	82.175
A1B4	83.76	82.47	83.115
A1B5	79.75	80.71	80.23
A1B6	88.42	77.82	83.12
A2B0	80.42	82.27	81.345
A2B1	80.91	80.17	80.54
A2B2	82.12	82.25	82.185
A2B3	76.42	78.13	77.275
A2B4	74.57	79.67	77.12
A2B5	82.19	78.46	80.325
A2B6	80.9	78.29	79.595
A3B0	80.27	81.47	80.87
A3B1	78.22	81.33	79.775
A3B2	81.39	83.1	82.245
A3B3	73.89	82.6	78.245
A3B4	77.7	85.53	81.615
A3B5	79.97	82.98	81.475
A3B6	69.72	79.13	74.425

Lampiran 2.2b Data analisa kadar air pulp buah kakao

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (g)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	78.32	83.28	78.21	82.17	83.11	80.23	83.12	81.20
Masak sedang	81.34	80.54	82.18	77.27	77.12	80.32	79.59	79.76
Masak penuh	80.87	79.77	82.24	78.24	81.61	81.47	74.42	79.80
Rata-rata	80.17	81.19	80.87	79.23	80.61	80.67	79.04	80.25

## Lampiran 2.2c Analisa sidik ragam kadar air pulp buah kakao segar

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Kadar Air Pulp

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	214.441 <sup>a</sup>	20	10.722	.907	.585
Intercept	270562.881	1	270562.881	22884.250	.000
Tingkat_kematangan	18.858	2	9.429	.798	.464
Lama_pemeraman	24.641	6	4.107	.347	.903
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	170.941	12	14.245	1.205	.342
Error	248.285	21	11.823		
Total	271025.607	42			
Corrected Total	462.726	41			

## Lampiran 2.3a Data hasil pengamatan total gula pulp biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	9.97	13.84	11.90
A1B1	7.04	9.6	8.32
A1B2	11.52	8.59	10.05
A1B3	6.74	6.29	6.51
A1B4	5.05	6.41	5.73
A1B5	4.19	5.98	5.08
A1B6	3.61	4.95	4.28
A2B0	6.15	6.78	6.46
A2B1	7.29	8.28	7.78
A2B2	7.21	6.88	7.04
A2B3	7.98	8.05	8.01
A2B4	6.95	7.98	7.46
A2B5	7.61	6.59	7.10
A2B6	6.24	6.32	6.28
A3B0	5.78	5.86	5.82
A3B1	8.93	11.77	10.35
A3B2	5.42	9.21	7.31
A3B3	7.78	9.58	8.68
A3B4	6.97	9.07	8.02
A3B5	7.09	6.97	7.03
A3B6	6.1	5.85	5.97

Lampiran 2.3b Data analisa total gula pulp buah kakao segar

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (g)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	11.90	8.32	10.05	6.515	5.73	5.085	4.28	7.411
Masak sedang	6.465	7.785	7.045	8.015	7.465	7.1	6.28	7.165
Masak penuh	5.82	10.35	7.315	8.68	8.02	7.03	5.975	7.598
Rata-rata	8.061	8.818	8.137	7.737	7.072	6.405	5.512	7.391

Lampiran 2.3c Analisa sidik ragam total gula pulp buah kakao segar

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Total Gula Pulp

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	130.253 <sup>a</sup>	20	6.513	3.856	.002
Intercept	2295.039	1	2295.039	1358.993	.000
Tingkat_Kematangan	1.325	2	.662	.392	.680
Lama_Pemeraman	46.640	6	7.773	4.603	.004
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman	82.288	12	6.857	4.061	.002
Error	35.464	21	1.689		
Total	2460.756	42			
Corrected Total	165.718	41			

Lampiran 2.3d Analisis Tukey lama pemeraman terhadap total gula pulp kakao

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B6	6	5.5117	
B5	6	6.4050	6.4050
B4	6	7.0717	7.0717
B3	6	7.7367	7.7367
Bo	6		8.0633
B2	6		8.1383
B1	6		8.8183
Sig.		.089	.054

Lampiran 2.4a Data pengamatan sukrosa pulp biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	0.58	0.97	0.775
A1B1	0.73	0.86	0.795
A1B2	0.8	0.67	0.735
A1B3	0.96	0.52	0.74
A1B4	0.73	0.65	0.69
A1B5	0.4	0.65	0.525
A1B6	0.47	0.36	0.415
A2B0	0.47	0.33	0.4
A2B1	0.57	0.7	0.635
A2B2	0.56	0.73	0.645
A2B3	0.6	0.79	0.695
A2B4	0.59	0.58	0.585
A2B5	0.32	0.47	0.395
A2B6	0.47	0.3	0.385
A3B0	0.46	0.47	0.465
A3B1	0.81	0.94	0.875
A3B2	0.79	0.84	0.815
A3B3	0.61	0.53	0.57
A3B4	0.74	0.43	0.585
A3B5	0.39	0.42	0.405
A3B6	0.3	0.36	0.33

Lampiran 2.4b Data analisa sukrosa pulp buah kakao segar

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (g)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	0.775	0.795	0.735	0.740	0.69	0.525	0.415	0.667
Masak sedang	0.40	0.635	0.645	0.695	0.585	0.395	0.385	0.534
Masak penuh	0.465	0.875	0.815	0.57	0.585	0.405	0.33	0.578
Rata-rata	0.547	0.768	0.732	0.668	0.62	0.442	0.377	0.593

## Lampiran 2.4c Analisa sidik ragam sukrosa pulp buah kakao segar

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.093 <sup>a</sup>	20	.055	3.101	.007
Intercept	14.786	1	14.786	839.198	.000
Tingkat_Kematangan	.130	2	.065	3.687	.042
Lama_pemeraman	.769	6	.128	7.277	.000
Tingkat_Kematangan * Lama_pemeraman	.193	12	.016	.915	.549
Error	.370	21	.018		
Total	16.249	42			
Corrected Total	1.463	41			

## Lampiran 2.4d Analisa Tukey tingkat kematangan terhadap sukrosa pulp buah kakao segar

Tingkat Kematangan	N	Subset	
		1	2
A2	14	.5343	
A3	14	.5779	.5779
A1	14		.6679
Sig.		.666	.196

## Lampiran 2.4e Analisa Tukey lama pemeraman terhadap sukrosa pulp buah kakao segar

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
6	6	.3767		
5	6	.4417	.4417	
0	6	.5467	.5467	.5467
4	6	.6200	.6200	.6200
3	6		.6683	.6683
2	6			.7317
1	6			.7683
Sig.		.058	.090	.102

Lampiran 2.5a Data pengamatan glukosa/fruktosa pulp biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	9.36	12.8	11.09
A1B1	6.27	8.7	7.485
A1B2	10.68	7.89	9.285
A1B3	5.73	5.74	5.735
A1B4	4.28	5.79	5.035
A1B5	3.77	5.30	4.535
A1B6	3.11	4.57	3.84
A2B0	5.66	6.43	6.045
A2B1	6.69	7.54	7.115
A2B2	6.62	6.11	6.365
A2B3	7.35	7.22	7.285
A2B4	6.33	7.37	6.85
A2B5	7.28	6.30	6.79
A2B6	5.74	6	5.87
A3B0	5.3	5.37	5.335
A3B1	8.08	10.78	9.43
A3B2	4.59	8.32	6.455
A3B3	7.14	9.03	8.085
A3B4	6.19	8.61	7.4
A3B5	6.67	6.53	6.6
A3B6	5.79	5.47	5.63

Lampiran 2.5b Data analisa glukosa/fruktosa pulp buah kakao segar

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (%)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	11.09	7.485	9.285	5.735	5.035	4.535	3.840	6.715
Masak Sedang	6.045	7.115	6.365	7.285	6.850	6.790	5.870	6.617
Masak penuh	5.335	9.43	6.455	8.085	7.400	6.600	5.630	6.990
Rata-rata	7.490	8.01	7.368	7.035	6.428	5.975	5.113	6.774

## Lampiran 2.5c Analisa sidik ragam glukosa/fruktosa pulp buah kakao segar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	115.306 <sup>a</sup>	20	5.765	3.628	.002
Intercept	1927.149	1	1927.149	1212.850	.000
Tingkat_kematangan	1.053	2	.527	.331	.722
Lama_pemeraman	35.836	6	5.973	3.759	.011
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	78.417	12	6.535	4.113	.002
Error	33.368	21	1.589		
Total	2075.823	42			
Corrected Total	148.674	41			

## Lampiran 2.5d Analisa Tukey lama pemeraman terhadap glukosa/fruktosa pulp buah kakao segar

Lama pemeraman (hr)	N	Subset	
		1	2
6	6	5.1133	
5	6	5.9750	5.9750
4	6	6.4283	6.4283
3	6	7.0350	7.0350
2	6	7.3683	7.3683
0	6		7.4867
1	6		8.0100
Sig.		.068	.123

Lampiran 2.5e Analisa Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap glukosa-fruktosa pulp buah kakao

**Glucose Fructose**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A1B6	2	3.8400		
A1B5	2	4.5350	4.5350	
A1B4	2	5.0350	5.0350	
A3B0	2	5.3350	5.3350	
A3B6	2	5.6300	5.6300	
A1B3	2	5.7350	5.7350	
A2B6	2	5.8700	5.8700	
A2B0	2	6.0450	6.0450	6.0450
A2B2	2	6.3650	6.3650	6.3650
A3B2	2	6.4550	6.4550	6.4550
A3B5	2	6.6000	6.6000	6.6000
A2B5	2	6.7900	6.7900	6.7900
A2B4	2	6.8500	6.8500	6.8500
A2B1	2	7.1150	7.1150	7.1150
A2B3	2	7.2850	7.2850	7.2850
A3B4	2	7.4000	7.4000	7.4000
A1B1	2	7.4850	7.4850	7.4850
A3B3	2	8.0850	8.0850	8.0850
A1B2	2		9.2850	9.2850
A3B1	2		9.4300	9.4300
A1B0	2			11.0800
Sig.		.182	.070	.056



Lampiran 2.6a Data pengamatan pH pulp kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	3.405	3.19	3.2975
A1B1	3.279	3.264	3.2715
A1B2	3.138	3.470	3.304
A1B3	3.615	3.832	3.7235
A1B4	3.417	3.434	3.4255
A1B5	3.232	3.735	3.4835
A1B6	3.650	3.140	3.395
A2B0	3.351	3.35	3.3505
A2B1	3.580	3.540	3.56
A2B2	3.403	3.618	3.5105
A2B3	3.446	3.315	3.3805
A2B4	3.293	3.326	3.3095
A2B5	3.692	3.445	3.5685
A2B6	3.496	3.609	3.5525
A3B0	3.232	3.348	3.29
A3B1	3.352	3.435	3.3935
A3B2	3.294	3.419	3.3565
A3B3	3.370	3.342	3.356
A3B4	3.160	3.463	3.3115
A3B5	3.676	3.908	3.792
A3B6	3.646	3.339	3.4925

Lampiran 2.6b Data analisa pH pulp buah kakao segar

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	3.297	3.271	3.304	3.723	3.425	3.483	3.395	3.414
Masak Sedang	3.350	3.56	3.510	3.380	3.309	3.568	3.552	3.461
Masak penuh	3.290	3.393	3.356	3.356	3.311	3.792	3.492	3.427
Rata-rata	3.312	3.408	3.390	3.486	3.348	3.614	3.479	3.434

Lampiran 2.6c Analisa sidik ragam pH pulp buah kakao segar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.820 <sup>a</sup>	20	.041	1.519	.174
Intercept	495.423	1	495.423	18354.656	.000
Tingkat kematangan (A)	.017	2	.008	.310	.737
Lama pemeraman (B)	.372	6	.062	2.300	.073
Perlakuan_A * Perlakuan_B	.431	12	.036	1.330	.273
Error	.567	21	.027		
Total	496.810	42			
Corrected Total	1.387	41			

Lampiran 2.7a Data pengamatan kadar air biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B0	48.06	40.79	44.425
A1B1	43.8	57.3	50.55
A1B2	39.84	42.73	41.285
A1B3	45.77	41.99	43.88
A1B4	43.98	56.52	50.25
A1B5	50.46	39.81	45.135
A1B6	76.89	40.44	58.665
A2B0	45.68	46.03	45.855
A2B1	37.42	36.83	37.125
A2B2	41.22	36.94	39.08
A2B3	42.36	42.88	42.62
A2B4	42.08	42.38	42.23
A2B5	47.43	42.56	44.995
A2B6	40.94	40.49	40.715
A3B0	42.81	42.72	42.765
A3B1	41.19	36.76	38.975
A3B2	43.75	47.46	45.605
A3B3	43.79	42	42.895
A3B4	45.81	47.48	46.645
A3B5	44.62	43.2	43.91
A3B6	43.44	38.14	40.79

Lampiran 2.7b Data analisa kadar air biji kakao segar

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (%)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	44.425	50.55	41.285	43.88	50.25	45.135	58.665	47.741
Masak Sedang	45.855	37.125	39.08	42.62	42.23	44.995	40.715	41.802
Masak penuh	42.765	38.975	45.605	42.895	46.645	43.91	40.79	43.08
Rata-rata	44.348	42.217	41.99	43.13	46.37	44.68	46.72	44.208

Lampiran 2.7c Analisa sidik ragam kadar air biji kakao segar

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Kadar Air Biji

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	889.149 <sup>a</sup>	20	44.457	.948	.546
Intercept	82087.360	1	82087.360	1750.454	.000
Tingkat kematangan (A)	273.478	2	136.739	2.916	.076
Lama pemeraman (B)	127.852	6	21.309	.454	.834
Perlakuan_A * Perlakuan_B	487.819	12	40.652	.867	.589
Error	984.793	21	46.895		
Total	83961.301	42			
Corrected Total	1873.942	41			

Lampiran 2.8a Data pengamatan berat biji kakao segar

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata (g/100 g berat basah)
	I	II	
A1B0	52.44	65.99	59.215
A1B1	56.37	52.94	54.655
A1B2	55.8	59.7	57.75
A1B3	57.39	56.64	57.015
A1B4	60.31	63.79	62.05
A1B5	65.13	69.78	67.455
A1B6	48.74	65.81	57.275
A2B0	54.51	56.48	55.495
A2B1	54.46	55.51	54.985
A2B2	54.11	58.23	56.17
A2B3	61.56	60.38	60.97
A2B4	66.3	66.78	66.54
A2B5	57.54	78.12	67.83
A2B6	66.44	76.08	71.26
A3B0	56.65	51.73	54.19
A3B1	60.32	58.03	59.175
A3B2	58.89	59.12	59.005
A3B3	70.23	55.83	63.03
A3B4	67.56	62.28	64.92
A3B5	73.11	69.24	71.175
A3B6	75.72	69.08	72.4

Lampiran 2.8b Data analisa berat biji kakao segar (g/100 g biji basah)

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)							Rata-rata (g)
	0	1	2	3	4	5	6	
Masak Awal	59.215	54.655	57.75	57.015	62.05	67.455	57.275	59.345
Masak Sedang	55.495	54.985	56.17	60.97	66.54	67.83	71.26	61.893
Masak penuh	54.19	59.175	59.00	63.03	64.92	71.175	72.4	63.413
Rata-rata	56.30	56.272	57.64	60.338	64.50	68.82	66.978	61.55

Lampiran 2.8c Analisa sidik ragam berat biji kakao segar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1398.515 <sup>a</sup>	20	69.926	2.098	.050
Intercept	159115.367	1	159115.367	4773.077	.000
Tingkat_kematangan	118.335	2	59.167	1.775	.194
Lama_Pemeraman	979.250	6	163.208	4.896	.003
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	300.930	12	25.077	.752	.689
Error	700.056	21	33.336		
Total	161213.938	42			
Corrected Total	2098.571	41			

Lampiran 2.8d Analisa Tukey lama pemeraman terhadap berat biji kakao segar

**Berat Biji**

Lama Pemeraman (hr)	N	Subset	
		1	2
1	6	56.2717	
0	6	56.3000	
2	6	57.6417	
3	6	60.3383	60.3383
4	6	64.5033	64.5033
6	6	66.9783	66.9783
5	6		68.8200
Sig.		.054	.194

Lampiran 2.9a Data pengamatan polyphenol biji kakao

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata (mg/ g in GAE)
	I	II	
A1B0	4.88	4.63	4.755
A1B3	7.51	7.96	7.735
A1B6	9.13	10.2	9.665
A2B0	4.61	5.19	4.9
A2B3	10.5	10.9	10.7
A2B6	13.2	12.9	13.05
A3B0	5.22	5.36	5.29
A3B3	8.98	8.69	8.835
A3B6	10.4	10.6	10.5

Lampiran 2.9b Data analisa polyphenol biji kakao segar

Tingkat Kematangan	Lama Pemeraman (Hari)			Rata-rata (mg/g in GAE)
	0	3	6	
Masak Awal	4.755	7.735	9.665	7.385
Masak Sedang	4.90	10.7	13.05	9.55
Masak penuh	5.29	8.835	10.5	8.208
Rata-rata	4.982	9.09	11.072	8.381

Lampiran 2.9c Analisa sidik ragam polyphenol biji kakao segar

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	137.518 <sup>a</sup>	8	17.190	144.587	.000
Intercept	1264.374	1	1264.374	10634.925	.000
Tingkat_kematangan	14.330	2	7.165	60.268	.000
Lama_pemeraman	115.787	2	57.894	486.955	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	7.401	4	1.850	15.562	.000
Error	1.070	9	.119		
Total	1402.963	18			
Corrected Total	138.588	17			

Lampiran 2.9d Analisa Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap polyphenol biji kakao

**Polyphenol**

Tingkat kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A1 (awal)	6	7.3850		
A3 (penuh)	6		8.2083	
A2 (sedang)	6			9.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 2.9e Analisa Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap polyphenol biji kakao.

### Polyphenol

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
B0 (0 hari)	6	4.9817		
B3 (3 hari)	6		9.0900	
B6 (6 hari)	6			11.0717
Sig.		1.000	1.000	1.000

LAMPIRAN  
BAB III



Lampiran 3.1a Data pengamatan kadar air biji kakao basah fermentasi

Kombinasi Perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1	47.31	46.09	46.7
A1B2	52.82	49.53	51.175
A1B3	58.33	57.63	57.98
A2B1	44.84	46.02	45.43
A2B2	53.34	51.32	52.33
A2B3	55.11	56.44	55.775
A3B1	43.76	46.03	44.895
A3B2	56.47	50.83	53.65
A3B3	54.55	53.21	53.88

Lampiran 3.1b Data rata-rata kadar air biji kakao basah fermentasi

Tingkat Kematangan	Lama pemeraman (hari)			Rata-rata (%)
	0 (B1)	3 (B2)	6 (B3)	
Masak awal (A1)	46.70	51.175	57.98	51.95
Masak sedang (A2)	45.43	52.33	55.775	51.18
	44.89	53.65	53.88	50.81
Masak penuh (A3)				
Rata-rata	45.67	52.39	55.88	

Lampiran 3.1c Analisis sidik ragam (Anova) kadar air biji kakao basah fermentasi

### Tests of Between-Subjects Effects

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	349.086 <sup>a</sup>	8	43.636	13.357	.000
Intercept	47394.021	1	47394.021	14507.806	.000
Tingkat_kematangan	4.084	2	2.042	.625	.557
Lama_Pemeraman	322.671	2	161.335	49.386	.000
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	22.331	4	5.583	1.709	.231
Error	29.401	9	3.267		
Total	47772.508	18			
Corrected Total	378.487	17			

Lampiran 3.1d Uji tukey lama pemeraman terhadap kadar air biji kakao basah fermentasi

**Kadar air Fermentasi**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
B1	6	45.6750		
B2	6		52.3850	
B3	6			55.8783
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.2a Data pengamatan kadar air biji kakao kering

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	6.78	6.96	6.87
A1B1C2	6.74	5.97	6.355
A1B2C1	6.69	5.48	6.085
A1B2C2	6.89	6.75	6.82
A1B3C1	6.95	6.75	6.85
A1B3C2	5.34	5.84	5.59
A2B1C1	6.01	6.29	6.15
A2B1C2	6.74	6.08	6.41
A2B2C1	5.9	5.9	5.9
A2B2C2	6.65	6.8	6.725
A2B3C1	6.86	6.57	6.715
A2B3C2	5.53	4.82	5.175
A3B1C1	5.91	6.49	6.2
A3B1C2	6.18	6	6.09
A3B2C1*	6.3	6.3	6.3
A3B2C2	6.7	6.83	6.765
A3B3C1	6.9	6.42	6.66
A3B3C2	5.66	5.46	5.56

Lampiran 3.2b Data rata-rata kadar air biji kakao kering

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)
awal (A1)	6.87	6.085	6.85	6.60	6.355	6.82	5.59	6.255
sedang (A2)	6.15	5.90	6.715	6.255	6.41	6.725	5.175	6.10
penuh (A3)	6.20	6.30	6.66	6.38	6.09	6.765	5.56	6.14
Rata-rata	6.41	6.09	6.74	6.41	6.285	6.77	5.442	6.16

Lampiran 3.2c Analisis sidik ragam (Anova) kadar air biji kakao kering

Dependent Variable: Kadar Air biji Kering

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8.420 <sup>a</sup>	17	.495	4.266	.002
Intercept	1424.308	1	1424.308	12267.351	.000
Tingkat_Kematangan	.386	2	.193	1.663	.217
Lama_Pemeraman	.753	2	.377	3.243	.063
Fermentasi_Non	.558	1	.558	4.802	.042
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman	.329	4	.082	.709	.596
Tingkat_Kematangan * Fermentasi_Non	.057	2	.029	.246	.785
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	5.924	2	2.962	25.510	.000
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.413	4	.103	.889	.490
Error	2.090	18	.116		
Total	1434.817	36			
Corrected Total	10.510	35			

Lampiran 3.2d Analisa Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap kadar air biji kakao kering

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
B3C2	6	5.4417		
B2C1	6		6.0950	
B1C2	6		6.2850	6.2850
B1C1	6		6.4067	6.4067
B3C1	6			6.7417
B2C2	6			6.7700
Sig.		1.000	.584	.144

Lampiran 3.3a Data hasil pengamatan pH biji kakao basah fermentasi

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1	4.40	4.20	4.30
A1B2	4.90	4.70	4.80
A1B3	4.60	5.10	4.85
A2B1	4.60	4.40	4.50
A2B2	5.00	5.00	5.00
A2B3	6.20	6.50	6.35
A3B1	4.10	4.00	4.05
A3B2	5.30	4.90	5.10
A3B3	5.80	5.90	5.85

Lampiran 3.3b Data rata-rata pH biji kakao basah fermentasi

Tingkat kematangan	Lama pemeraman			Rata-rata
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)	
Matang awal (A1)	4.30	4.80	4.85	4.65
Matang sedang (A2)	4.50	5.00	6.35	5.28
Matang penuh (A3)	4.05	5.10	5.85	5.00
Rata-rata	4.28	4.97	5.68	

## Lampiran 3.3c Analisis sidik ragam (Anova) pH biji kakao basah fermentasi

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: pH Biji Fermentasi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8.511 <sup>a</sup>	8	1.064	29.922	.000
Intercept	446.009	1	446.009	12544.000	.000
Tingkat_kematangan	1.208	2	.604	16.984	.001
Lama_Pemeraman	5.881	2	2.941	82.703	.000
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	1.422	4	.356	10.000	.002
Error	.320	9	.036		
Total	454.840	18			
Corrected Total	8.831	17			

## Lampiran 3.3d Uji Tukey tingkat kematangan terhadap pH biji kakao basah fermentasi.

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset	
		1	2
A1	6	4.6500	
A3	6		5.0000
A2	6		5.2833
Sig.		1.000	.067

## Lampiran 3.3e Uji Tukey lama pemeraman terhadap pH biji kakao basah fermentasi

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
B1	6	4.2833		
B2	6		4.9667	
B3	6			5.6833
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.3f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap pH biji kakao basah fermentasi

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3B1	2	4.0500			
A1B1	2	4.3000	4.3000		
A2B1	2	4.5000	4.5000	4.5000	
A1B2	2		4.8000	4.8000	
A1B3	2		4.8500	4.8500	
A2B2	2		5.0000	5.0000	
A3B2	2			5.1000	
A3B3	2				5.8500
A2B3	2				6.3500
Sig.		.386	.070	.143	.282

Lampiran 3.4a Data pengamatan pH biji kakao kering fermentasi dan tanpa fermentasi

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	5.8	5.7	5.75
A1B1C2	5.3	5.4	5.35
A1B2C1	5.6	5.6	5.60
A1B2C2	5.3	5.4	5.35
A1B3C1	5.7	5.6	5.65
A1B3C2	5.8	5.9	5.85
A2B1C1	5.8	5.7	5.75
A2B1C2	5.4	5.7	5.55
A2B2C1	5.7	5.5	5.6
A2B2C2	5.4	5.6	5.5
A2B3C1	5.6	5.7	5.65
A2B3C2	5.8	5.9	5.85
A3B1C1	5.6	5.5	5.55
A3B1C2	4.8	4.9	4.85
A3B2C1	5.7	5.4	5.55
A3B2C2	5.3	5.4	5.35
A3B3C1	5.6	5.5	5.55
A3B3C2	5.8	5.9	5.85

Lampiran 3.4b Data rata-rata pH biji kakao kering

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)
Awal (A1)	5.75	5.60	5.65	5.67	5.35	5.35	5.85	5.52
Sedang (A2)	5.75	5.60	5.65	5.67	5.55	5.50	5.85	5.63
Penuh (A3)	5.55	5.55	5.55	5.55	4.85	5.35	5.85	5.35
Rata-rata	5.68	5.58	5.62	5.63	5.25	5.40	5.85	5.50

Lampiran 3.4c Analisis sidik ragam (Anova) pH biji kakao kering

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH Biji Kering

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.968 <sup>a</sup>	17	.116	10.686	.000
Intercept	1114.447	1	1114.447	102872.026	.000
Tingkat_kematangan	.254	2	.127	11.718	.001
Lama_Pemeraman	.521	2	.260	24.026	.000
Fermentasi_Non	.147	1	.147	13.564	.002
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	.221	4	.055	5.103	.006
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.044	2	.022	2.026	.161
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.681	2	.340	31.410	.000
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.101	4	.025	2.333	.095
Error	.195	18	.011		
Total	1116.610	36			
Corrected Total	2.163	35			

Lampiran 3.4d Analisa Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap pH biji kakao kering

Tingkat Kematangan	N	Subset	
		1	2
A3	12	5.4500	
A1	12		5.5917
A2	12		5.6500
Sig.		1.000	.375

Lampiran 3.4e Analisa Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap pH biji kakao kering

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B1	12	5.4667	
B2	12	5.4917	
B3	12		5.7333
Sig.		.828	1.000

Lampiran 3.4f Analisa Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap pH biji kakao kering

Interaksi	N	Subset	
		1	2
A3B1	4	5.2000	
A3B2	4	5.4500	5.4500
A1B2	4	5.4750	5.4750
A1B1	4	5.5500	5.5500
A2B2	4	5.5500	5.5500
A2B1	4	5.6500	5.6500
A3B3	4		5.7000
A1B3	4		5.7500
A2B3	4		5.7500
Sig.		.096	.531



Lampiran 3.4g Analisa Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap pH biji kakao kering.

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
B1C2	6	5.2500		
B2C2	6	5.4000	5.4000	
B2C1	6		5.5833	5.5833
B3C1	6		5.6167	5.6167
B1C1	6		5.6833	5.6833
B3C2	6			5.8500
Sig.		.620	.058	.085

Lampiran 3.5a Data pengamatan kadar polyphenol biji kakao basah fermentasi

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1	6.78	6.94	6.86
A1B2	5.25	5.30	5.27
A1B3	12.95	5.30	12.71
A2B1	3.64	3.13	3.38
A2B2	6.72	7.59	7.15
A2B3	12.06	11.48	11.77
A3B1	2.28	2.16	2.22
A3B2	4.93	4.71	4.82
A3B3	11.51	10.12	10.81

Lampiran 3.5b Data rata-rata kadar polyphenol biji kakao basah fermentasi

Tingkat kematangan	Lama pemeraman			Rata-rata
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)	
Matang awal (A1)	6.86	5.27	12.71	8.28
Matang sedang (A2)	3.38	7.15	11.77	7.43
Matang penuh (A3)	2.22	4.82	10.81	5.95
Rata-rata	4.15	5.75	11.76	

Lampiran 3.5c Analisis sidik ragam (Anova) polyphenol biji kakao basah fermentasi

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Polyphenol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	226.411 <sup>a</sup>	8	28.301	141.613	.000
Intercept	939.322	1	939.322	4700.136	.000
Tingkat_kematangan	16.717	2	8.359	41.825	.000
Lama_Pemeraman	193.364	2	96.682	483.772	.000
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	16.330	4	4.082	20.428	.000
Error	1.799	9	.200		
Total	1167.532	18			
Corrected Total	228.210	17			

a. R Squared = .992 (Adjusted R Squared = .985)

Lampiran 3.5d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap polyphenol biji kakao basah fermentasi

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	6	5.9517		
A2	6		7.4367	
A1	6			8.2833
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.5e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap polyphenol biji kakao basah fermentasi

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
B1	6	4.1550		
B2	6		5.7500	
B3	6			11.7667
Sig.		1.000	1.000	1.000

b. Alpha = 0.05.

Lampiran 3.5f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap polyphenol biji kakao basah fermentasi

### Polyphenol

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
A3B1	2	2.2200						
A2B1	2	3.3850	3.3850					
A3B2	2		4.8200	4.8200				
A1B2	2			5.2750	5.2750			
A1B1	2				6.8600	6.8600		
A2B2	2					7.1550		
A3B3	2						10.8150	
A2B3	2						11.7700	11.7700
A1B3	2							12.7150
Sig.		.298	.137	.974	.087	.998	.505	.517

Lampiran 3.6a Data pengamatan kadar polyphenol biji kakao kering

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	13.739	13.652	13.695
A1B1C2	6.224	6.129	6.176
A1B2C1	6.432	6.824	6.628
A1B2C2	6.705	6.622	6.663
A1B3C1	9.937	9.815	9.876
A1B3C2	3.898	4.058	3.978
A2B1C1	13.404	13.252	13.328
A2B1C2	4.301	4.384	4.342
A2B2C1	14.474	14.198	14.336
A2B2C2	8.100	8.184	8.142
A2B3C1	13.325	12.522	12.923
A2B3C2	3.950	4.084	4.017
A3B1C1	11.044	11.301	11.172
A3B1C2	4.334	4.088	4.211
A3B2C1	8.593	8.685	8.639
A3B2C2	4.692	4.576	4.634
A3B3C1	5.860	6.001	5.930
A3B3C2	5.190	4.989	5.089

Lampiran 3.6b Data rata-rata kadar polyphenol biji kakao kering

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (mg/g in GEA)	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (mg/g in GEA)
Awal (A1)	13.695	6.628	9.876	10.066	6.176	6.663	3.978	5.605
Sedang (A2)	13.328	14.336	12.923	13.529	4.342	8.142	4.017	5.500
Penuh (A3)	11.172	8.639	5.930	8.580	4.211	4.634	5.089	4.644
Rata-rata	12.731	9.867	9.576	10.725	4.909	6.479	4.361	5.250

Lampiran 3.6c Analisis sidik ragam polyphenol biji kakao kering

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Polifenol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	460.148 <sup>a</sup>	17	27.068	810.414	.000
Intercept	2297.061	1	2297.061	68774.975	.000
Tingkat_kematangan	50.947	2	25.473	762.683	.000
Lama_pemeraman	21.199	2	10.599	317.353	.000
Fermentasi_non	269.781	1	269.781	8077.345	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	33.039	4	8.260	247.303	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_non	29.758	2	14.879	445.489	.000
Lama_pemeraman * Fermentasi_non	29.797	2	14.898	446.061	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman * Fermentasi_non	25.628	4	6.407	191.827	.000
Error	.601	18	.033		
Total	2757.811	36			
Corrected Total	460.750	35			

Lampiran 3.6d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap polyphenol biji kakao kering

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	6.61275		
A1	12		7.83625	
A2	12			9.51483
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.6e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap polyphenol biji kakao kering

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
B3	12	6.96908		
B2	12		8.17375	
B1	12			8.82100
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.6f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap polyphenol biji kakao kering

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3C2	6	4.64483			
A2C2	6	5.50050	5.50050		
A1C2	6	5.60600	5.60600		
A3C1	6		8.58067	8.58067	
A1C1	6			10.06650	
A2C1	6				13.529
Sig.		.951	.088	.760	1.000

Lampiran 3.6g Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap polyphenol biji kakao kering

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
B3C2	6	4.36150		
B1C2	6	4.91000		
B2C2	6	6.47983	6.47983	
B3C1	6		9.57667	9.57667
B2C1	6		9.86767	9.86767
B1C1	6			12.73200
Sig.		.543	.101	.147

Lampiran 3.6h Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap kadar polyphenol biji kakao kering

Interaksi	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1B3C2	2	3.9780								
A2B3C2	2	4.0170								
A3B1C2	2	4.2110								
A2B1C2	2	4.3425								
A3B2C2	2	4.6340	4.6340							
A3B3C2	2		5.0895							
A3B3C1	2			5.9305						
A1B1C2	2			6.1765						
A1B2C1	2			6.6280						
A1B2C2	2			6.6635						
A2B2C2	2				8.1420					
A3B2C1	2				8.6390					
A1B3C1	2					9.8760				
A3B1C1	2						11.1725			
A2B3C1	2							12.9235		
A2B1C1	2							13.3280	13.3280	
A1B1C1	2								13.6955	13.6955
A2B2C1	2									14.3360
Sig.		.111	.560	.051	.429	1.000	1.000	.725	.831	.129

Lampiran 3.7a Data pengamatan persentase biji kakao *unfermented*

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata (%)
	I	II	
A1B1	3	1.5	2.25
A1B2	4	6	5
A1B3	1.5	0.5	1
A2B1	3.75	2	2.87
A2B2	1.5	2.5	2
A2B3	0.5	0	0.25
A3B1	5	7	6
A3B2	7	8	7.5
A3B3	0.5	0.5	0.5

Lampiran 3.7b Data rata-rata persentase biji kakao *unfermented*

Tingkat kematangan	Lama pemeraman			Rata-rata (%)
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)	
Awal (A1)	2.25	5	1	2.75
Sedang (A2)	2.87	2	0.25	1.71
Penuh (A3)	6	7.5	0.5	4.67
Rata-rata	3.71	4.83	0.58	

Lampiran 3.7c Analisis sidik ragam (Anova) biji *unfermented***Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	105.250 <sup>a</sup>	8	13.156	14.298	.000
Intercept	166.531	1	166.531	180.985	.000
Tingkat_kematangan	27.021	2	13.510	14.683	.001
Lama_pemeraman	58.188	2	29.094	31.619	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	20.042	4	5.010	5.445	.017
Error	8.281	9	.920		
Total	280.063	18			
Corrected Total	113.531	17			

Lampiran 3.7d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap persentase biji kakao *unfermented*

Tingkat Kematangan	N	Subset	
		1	2
A2	6	1.7083	
A1	6	2.7500	
A3	6		4.6667
Sig.		.199	1.000

Lampiran 3.7e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap persentase biji kakao *unfermented*

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B3	6	.5833	
B1	6		3.7083
B2	6		4.8333
Sig.		1.000	.160

Lampiran 3.7f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap persentase biji kakao *unfermented*

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A2B3	2	.2500			
A3B3	2	.5000			
A1B3	2	1.0000			
A2B2	2	2.0000	2.0000		
A1B1	2	2.2500	2.2500	2.2500	
A2B1	2	2.8750	2.8750	2.8750	
A1B2	2		5.0000	5.0000	5.0000
A3B1	2			6.0000	6.0000
A3B2	2				7.5000
Sig.		.254	.153	.053	.298



Lampiran 3.8a Data pengamatan biji kakao *underfermented*

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata (%)
	I	II	
A1B1	9.25	5	7.125
A1B2	11.25	15	13.125
A1B3	11.5	6.5	9
A2B1	15.5	5	10.25
A2B2	5.5	11	8.25
A2B3	1.5	1	1.25
A3B1	9	15	12
A3B2	13.25	8	10.625
A3B3	6.5	1.5	4

Lampiran 3.8b Data rata-rata biji kakao *underfermented*

Tingkat kematangan	Lama pemeraman			Rata-rata (%)
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)	
Awal (A1)	7.125	13.125	9	9.75
Sedang (A2)	10.25	8.25	1.25	6.58
Penuh (A3)	12	10.625	4	8.875
Rata-rata	9.79	10.67	4.75	

Lampiran 3.8c Analisa sidik ragam biji kakao *underfermented***Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Biji Underfermented

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	232.299 <sup>a</sup>	8	29.037	1.825	.194
Intercept	1270.920	1	1270.920	79.866	.000
Tingkat_kematangan	32.090	2	16.045	1.008	.403
Lama_pemeraman	122.382	2	61.191	3.845	.062
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	77.826	4	19.457	1.223	.367
Error	143.219	9	15.913		
Total	1646.438	18			
Corrected Total	375.517	17			

Lampiran 3.9a Data pengamatan persentase biji kakao *fermented*

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata (%)
	I	II	
A1B1	87.75	93.5	90.62
A1B2	84.75	79	81.87
A1B3	87	93	90
A2B1	80.75	93	86.87
A2B2	93	86.5	89.75
A2B3	98	99	98.5
A3B1	86	78	82
A3B2	79.8	84	81.9
A3B3	93	98	95.5

Lampiran 3.9b Data rata-rata persentase biji kakao *fermented*

Tingkat kematangan	Lama pemeraman			Rata-rata (%)
	0 hr (B1)	3 hr (B2)	6 hr (B3)	
Awal (A1)	90.62	81.87	90	87.49
Sedang (A2)	86.87	89.75	98.5	91.71
Penuh (A3)	82	81.9	95.5	86.47
Rata-rata	86.49	84.51	94.67	

Lampiran 3.9c Analisa sidik ragam (Anova) biji kakao *fermented*

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Biji Fermented

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	579.277 <sup>a</sup>	8	72.410	3.242	.049
Intercept	141166.411	1	141166.411	6319.666	.000
Tingkat_kematangan	92.506	2	46.253	2.071	.182
Lama_pemeraman	347.706	2	173.853	7.783	.011
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	139.066	4	34.766	1.556	.267
Error	201.039	9	22.338		
Total	141946.728	18			
Corrected Total	780.316	17			

Lampiran 3.9d Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap persentase biji kakao *fermented*

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B2	6	84.5083	
B1	6	86.5000	
B3	6		94.6667
Sig.		.753	1.000

Lampiran 3.10a Data pengamatan gula reduksi biji kakao

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	1.58	1.28	1.43
A1B1C2	1.14	0.96	1.05
A1B2C1	1.62	1.89	1.75
A1B2C2	1.76	1.84	1.80
A1B3C1	1.81	1.62	1.71
A1B3C2	1.28	1.51	1.39
A2B1C1	1.56	1.57	1.56
A2B1C2	1.22	1.19	1.20
A2B2C1	2.08	2.28	2.18
A2B2C2	1.5	1.46	1.48
A2B3C1	1.95	1.61	1.78
A2B3C2	1.22	1.54	1.38
A3B1C1	1.79	1.64	1.71
A3B1C2	2.02	1.83	1.92
A3B2C1	2.47	2.2	2.33
A3B2C2	1.77	1.74	1.75
A3B3C1	1.64	2.25	1.94
A3B3C2	1.29	0.99	1.14

Lampiran 3.10b Data rata-rata kandungan gula reduksi biji kakao

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	1.43	1.75	1.71	1.63	1.05	1.80	1.39	1.41
Sedang (A2)	1.56	2.18	1.78	1.84	1.20	1.48	1.38	1.35
Penuh (A3)	1.71	2.33	1.94	1.99	1.92	1.75	1.14	1.60
Rata-rata	1.57	2.09	1.81	1.82	1.39	1.68	1.30	1.45

## Lampiran 3.10c Analisa sidik ragam gula reduksi biji kakao

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Gula Reduksi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.046 <sup>a</sup>	17	.238	7.530	.000
Intercept	96.997	1	96.997	3068.748	.000
Tingkat_kematangan	.493	2	.247	7.799	.004
Lama_Pemeraman	1.105	2	.552	17.475	.000
Fermentasi_Non	1.202	1	1.202	38.031	.000
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	.393	4	.098	3.106	.042
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.110	2	.055	1.735	.205
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.177	2	.089	2.801	.087
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.567	4	.142	4.484	.011
Error	.569	18	.032		
Total	101.612	36			
Corrected Total	4.615	35			

a. R Squared = .877 (Adjusted R Squared = .760)

## Lampiran 3.10d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap kandungan gula reduksi biji kakao.

Tingkat kematangan	N	Subset	
		1	2
A1	12	1.5253	
A2	12	1.5974	
A3	12		1.8016
Sig.		.590	1.000

## Lampiran 3.10e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap kandungan gula reduksi biji kakao.

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B1	12	1.4814	
B3	12	1.5578	
B2	12		1.8852
Sig.		.555	1.000

Lampiran 3.10f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap kandungan gula reduksi biji kakao

Interaksi	N	Subset	
		1	2
A1B1	4	1.2412	
A2B1	4	1.3840	1.3840
A3B3	4	1.5408	1.5408
A1B3	4	1.5554	1.5554
A2B3	4	1.5770	1.5770
A1B2	4	1.7792	1.7792
A3B1	4	1.8188	1.8188
A2B2	4	1.8312	1.8312
A3B2	4		2.0452
Sig.		.203	.109

Lampiran 3.10g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap gula reduksi biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
A1B1C2	2	1.0522				
A3B3C2	2	1.1370	1.1370			
A2B1C2	2	1.2038	1.2038			
A2B3C2	2	1.3769	1.3769	1.3769		
A1B3C2	2	1.3946	1.3946	1.3946		
A1B1C1	2	1.4303	1.4303	1.4303		
A2B2C2	2	1.4827	1.4827	1.4827	1.4827	
A2B1C1	2	1.5642	1.5642	1.5642	1.5642	
A3B1C1	2	1.7128	1.7128	1.7128	1.7128	1.7128
A1B3C1	2	1.7162	1.7162	1.7162	1.7162	1.7162
A3B2C2	2	1.7561	1.7561	1.7561	1.7561	1.7561
A1B2C1	2	1.7582	1.7582	1.7582	1.7582	1.7582
A2B3C1	2		1.7772	1.7772	1.7772	1.7772
A1B2C2	2		1.8002	1.8002	1.8002	1.8002
A3B1C2	2			1.9249	1.9249	1.9249
A3B3C1	2			1.9446	1.9446	1.9446
A2B2C1	2				2.1798	2.1798
A3B2C1	2					2.3344
Sig.		.055	.086	.217	.060	.131

Lampiran 3.11a Data pengamatan asam amino alanine

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.671	0.698	0.684
A1B1C2	0.7	0.659	0.679
A1B2C1	0.75	0.778	0.764
A1B2C2	0.621	0.549	0.585
A1B3C1	0.918	0.878	0.898
A1B3C2	0.867	0.925	0.896
A2B1C1	0.8	0.765	0.782
A2B1C2	0.873	0.911	0.892
A2B2C1	0.676	0.723	0.699
A2B2C2	0.615	0.547	0.581
A2B3C1	0.641	0.661	0.651
A2B3C2	0.713	0.697	0.705
A3B1C1	0.604	0.544	0.574
A3B1C2	0.673	0.616	0.644
A3B2C1	0.542	0.55	0.546
A3B2C2	0.487	0.574	0.530
A3B3C1	0.471	0.565	0.518
A3B3C2	0.499	0.409	0.454

Lampiran 3.11b Data rata-rata asam amino alanine

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.684	0.764	0.898	0.782	0.679	0.585	0.896	0.72
Sedang (A2)	0.782	0.699	0.651	0.711	0.892	0.581	0.705	0.726
Penuh (A3)	0.574	0.546	0.518	0.546	0.644	0.530	0.454	0.543
Rata-rata	0.68	0.669	0.689	0.679	0.738	0.565	0.685	0.663

## Lampiran 3.11c Analisa sidik ragam asam amino alanine

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Alanin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.612 <sup>a</sup>	17	.036	23.612	.000
Intercept	16.227	1	16.227	10637.476	.000
Tingkat_kematangan	.296	2	.148	97.088	.000
Lama_pemeraman	.055	2	.027	18.023	.000
Fermentasi_Non	.003	1	.003	1.639	.217
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	.191	4	.048	31.269	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.010	2	.005	3.190	.065
Lama_pemeraman * Fermentasi_Non	.040	2	.020	13.246	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman * Fermentasi_Non	.018	4	.004	2.897	.052
Error	.027	18	.002		
Total	16.867	36			
Corrected Total	.640	35			

## Lampiran 3.11d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino alanin

Tingkat kematangan	N	Subset	
		1	2
A3	12	.5445	
A2	12		.7185
A1	12		.7512
Sig.		1.000	.129

Lampiran 3.11e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino alanin

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B2	12	.6177	
B3	12		.6870
B1	12		.7095
Sig.		1.000	.356

Lampiran 3.11f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino alanine

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3B3	4	.48600			
A3B2	4	.53825	.53825		
A3B1	4	.60925	.60925	.60925	
A2B2	4		.64025	.64025	
A1B2	4		.67450	.67450	
A2B3	4		.67800	.67800	
A1B1	4			.68200	
A2B1	4				.83725
A1B3	4				.89700
Sig.		.134	.060	.736	.887

Lampiran 3.11g Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino alanin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

interaksi	N	Subset
		1
B2C2	6	.56550
B2C1	6	.66983
B1C1	6	.68033
B3C2	6	.68500
B3C1	6	.68900
B1C2	6	.73867
Sig.		.254



Lampiran 3.12a Data pengamatan asam amino arginine

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.417	0.374	0.395
A1B1C2	0.342	0.418	0.38
A1B2C1	0.452	0.516	0.484
A1B2C2	0.385	0.364	0.374
A1B3C1	0.675	0.572	0.623
A1B3C2	0.687	0.519	0.603
A2B1C1	0.852	0.782	0.817
A2B1C2	0.837	0.904	0.870
A2B2C1	0.539	0.6	0.569
A2B2C2	0.545	0.531	0.538
A2B3C1	0.311	0.368	0.339
A2B3C2	0.332	0.295	0.313
A3B1C1	0.431	0.371	0.401
A3B1C2	0.316	0.324	0.32
A3B2C1	0.291	0.35	0.320
A3B2C2	0.266	0.311	0.288
A3B3C1	0.327	0.362	0.344
A3B3C2	0.345	0.322	0.333

Lampiran 3.12b Data rata-rata asam amino arginine

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.395	0.484	0.623	0.5	0.38	0.374	0.603	0.452
Sedang (A2)	0.817	0.569	0.339	0.575	0.870	0.538	0.313	0.574
Penuh (A3)	0.401	0.320	0.344	0.355	0.32	0.288	0.333	0.314
Rata-rata	0.537	0.457	0.435	0.477	0.523	0.4	0.416	0.447

## Lampiran 3.12c Analisa sidik ragam asam amino arginine

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Arginine

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.034 <sup>a</sup>	17	.061	27.417	.000
Intercept	7.685	1	7.685	3465.009	.000
Tingkat_kematangan	.350	2	.175	78.792	.000
Lama_Pemeraman	.085	2	.042	19.130	.000
Fermentasi_Non	.008	1	.008	3.747	.069
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	.574	4	.144	64.757	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.004	2	.002	.874	.434
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.003	2	.002	.763	.481
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.009	4	.002	1.050	.409
Error	.040	18	.002		
Total	8.759	36			
Corrected Total	1.074	35			

## Lampiran 3.12d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino arginine biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	.33467		
A1	12		.47675	
A2	12			.57467
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.12e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino arginine biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B3	12	.42625	
B2	12	.42917	
B1	12		.53067
Sig.		.987	1.000

Lampiran 3.12f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino arginine biji kakao

**Arginine**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3B2	4	.30450			
A2B3	4	.32650	.32650		
A3B3	4	.33900	.33900		
A3B1	4	.36050	.36050		
A1B1	4	.38775	.38775		
A1B2	4		.42925		
A2B2	4			.55375	
A1B3	4			.61325	
A2B1	4				.84375
Sig.		.322	.117	.731	1.000

Lampiran 3.13a Data pengamatan asam glutamate biji kakao

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	1.013	0.984	0.998
A1B1C2	1.091	1.168	1.129
A1B2C1	1.045	1.111	1.078
A1B2C2	1.286	1.272	1.279
A1B3C1	1.242	1.2	1.221
A1B3C2	1.277	1.316	1.296
A2B1C1	1.388	1.461	1.424
A2B1C2	1.508	1.593	1.550
A2B2C1	1.395	1.39	1.392
A2B2C2	1.296	1.264	1.28
A2B3C1	1.328	1.345	1.336
A2B3C2	1.092	1.216	1.154
A3B1C1	1.062	1.076	1.069
A3B1C2	1.191	1.14	1.165
A3B2C1	1.227	1.082	1.154
A3B2C2	1.137	1.035	1.086
A3B3C1	0.973	0.961	0.967
A3B3C2	0.904	1.007	0.955

Lampiran 3.13b Data rata-rata asam glutamate biji kakao

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.998	1.078	1.221	1.099	1.129	1.279	1.296	1.235
Sedang (A2)	1.424	1.392	1.336	1.384	1.550	1.28	1.154	1.328
Penuh (A3)	1.069	1.154	0.967	1.063	1.165	1.086	0.967	1.073
Rata-rata	1.164	1.208	1.175	1.182	1.281	1.215	1.139	1.212

## Lampiran 3.13c Analisa sidik ragam asam amino asam glutamate

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Glutamic acid

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.922 <sup>a</sup>	17	.054	21.982	.000
Intercept	51.543	1	51.543	20883.042	.000
Tingkat_kematangan	.521	2	.260	105.448	.000
Lama_pemeraman	.032	2	.016	6.425	.008
Fermentasi_Non	.007	1	.007	2.927	.104
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	.231	4	.058	23.385	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.058	2	.029	11.697	.001
Lama_pemeraman * Fermentasi_Non	.039	2	.020	7.950	.003
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman * Fermentasi_Non	.035	4	.009	3.548	.027
Error	.044	18	.002		
Total	52.510	36			
Corrected Total	.967	35			

## Lampiran 3.13d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam glutamate biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	1.06625		
A1	12		1.16708	
A2	12			1.35633
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.13e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam glutamate biji kakao

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B3	12	1.15508	
B2	12		1.21167
B1	12		1.22292
Sig.		1.000	.845

Lampiran 3.13f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam glutamate biji kakao

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3B3	4	.96125			
A1B1	4	1.06400	1.06400		
A3B1	4	1.11725	1.11725		
A3B2	4	1.12025	1.12025		
A1B2	4		1.17850	1.17850	
A2B3	4		1.24525	1.24525	
A1B3	4		1.25875	1.25875	
A2B2	4			1.33625	1.33625
A2B1	4				1.48750
Sig.		.185	.053	.193	.235

Lampiran 3.13g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap asam glutamat biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset	
		1	2
A3C1	6	1.06350	
A3C2	6	1.06900	
A1C1	6	1.09917	
A1C2	6	1.23500	1.23500
A2C2	6		1.32817
A2C1	6		1.38450
Sig.		.120	.227



Lampiran 3.13h Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam glutamat biji kakao

interaksi	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A3B3C2	2	.95550								
A3B3C1	2	.96700	.96700							
A1B1C1	2	.99850	.99850							
A3B1C1	2	1.0690	1.0690	1.0690						
A1B2C1	2	1.0780	1.0780	1.0780						
A3B2C2	2	1.0860	1.0860	1.0860	1.08600					
A1B1C2	2	1.1295	1.1295	1.1295	1.12950	1.129				
A2B3C2	2	1.1540	1.1540	1.1540	1.15400	1.154	1.1540			
A3B2C1	2	1.1545	1.1545	1.1545	1.15450	1.154	1.1545			
A3B1C2	2		1.1655	1.1655	1.16550	1.165	1.1655			
A1B3C1	2			1.2210	1.22100	1.221	1.2210	1.2210		
A1B2C2	2				1.27900	1.279	1.2790	1.2790	1.27900	
A2B2C2	2				1.28000	1.280	1.2800	1.2800	1.28000	
A1B3C2	2					1.296	1.2965	1.2965	1.29650	
A2B3C1	2						1.3365	1.3365	1.33650	
A2B2C1	2							1.3925	1.39250	1.3925
A2B1C1	2								1.42450	1.4245
A2B1C2	2									1.5505
Sig.		.052	.053	.267	.062	.164	.095	.141	.324	.221

Lampiran 3.13i Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam glutamate biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset
		1
B3C2	6	1.13533
B1C1	6	1.16400
B3C1	6	1.17483
B2C1	6	1.20833
B2C2	6	1.21500
B1C2	6	1.28183
Sig.		.682



Lampiran 3.14a Data pengamatan asam amino histidine

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.07	0.062	0.066
A1B1C2	0.122	0.175	0.148
A1B2C1	0.182	0.237	0.209
A1B2C2	0.191	0.231	0.211
A1B3C1	0.365	0.386	0.375
A1B3C2	0.457	0.524	0.490
A2B1C1	0.519	0.426	0.472
A2B1C2	0.315	0.294	0.304
A2B2C1	0.31	0.229	0.269
A2B2C2	0.129	0.109	0.119
A2B3C1	0.115	0.13	0.122
A2B3C2	0.167	0.193	0.18
A3B1C1	0.13	0.21	0.17
A3B1C2	0.084	0.129	0.106
A3B2C1	0.069	0.106	0.087
A3B2C2	0.107	0.069	0.088
A3B3C1	0.061	0.038	0.049
A3B3C2	0.046	0.039	0.042

Lampiran 3.14b Data rata-rata asam amino histidine

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.066	0.2095	0.3755	0.217	0.1485	0.211	0.4905	0.2833
Sedang (A2)	0.4725	0.2695	0.1225	0.288	0.3045	0.119	0.18	0.2011
Penuh (A3)	0.17	0.0875	0.0495	0.102	0.1065	0.088	0.0425	0.079
Rata-rata	0.2361	0.1888	0.1825	0.2023	0.186	0.139	0.237	0.1878

## Lampiran 3.14c Analisa sidik ragam (Anova) asam amino histidine

Dependent Variable: Histidin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.642 <sup>a</sup>	17	.038	32.987	.000
Intercept	1.371	1	1.371	1198.288	.000
Tingkat_kematangan	.197	2	.098	85.965	.000
Lama_pemeraman	.017	2	.009	7.603	.004
Fermentasi_non	.002	1	.002	1.692	.210
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	.349	4	.087	76.307	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_non	.036	2	.018	15.557	.000
Lama_pemeraman * Fermentasi_non	.022	2	.011	9.589	.001
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman * Fermentasi_non	.019	4	.005	4.109	.015
Error	.021	18	.001		
Total	2.034	36			
Corrected Total	.662	35			

## Lampiran 3.14d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino histidine biji kakao

Tingkat Kematangan	N	Subset	
		1	2
A3	12	.09067	
A2	12		.24467
A1	12		.25017
Sig.		1.000	.917

## Lampiran 3.14e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino histidine biji kakao

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B2	12	.16408	
B3	12		.21008
B1	12		.21133
Sig.		1.000	.995

Lampiran 3.14f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino histidine biji kakao

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A3B3	4	.04600		
A3B2	4	.08775	.08775	
A1B1	4	.10725	.10725	
A3B1	4	.13825	.13825	
A2B3	4	.15125	.15125	
A2B2	4		.19425	
A1B2	4		.21025	
A2B1	4			.38850
A1B3	4			.43300
Sig.		.294	.143	.978

Lampiran 3.14g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dengan fermentasi terhadap asam amino histidine biji kakao

interaksi	N	Subset
		1
A3C2	6	.07900
A3C1	6	.10233
A2C2	6	.20117
A1C1	6	.21700
A1C2	6	.28333
A2C1	6	.28817
Sig.		.051

Lampiran 3.14h Uji Tukey interaksi lama pemeraman dengan fermentasi terhadap asam amino histidine biji kakao

Interaksi	N	Subset
		1
B2C2	6	.13933
B3C1	6	.18250
B1C2	6	.18650
B2C1	6	.18883
B1C1	6	.23617
B3C2	6	.23767
Sig.		.841

Lampiran 3.14i Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino histidin

### Histidin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
A3B3C2	2	.04250						
A3B3C1	2	.04950	.04950					
A1B1C1	2	.06600	.06600					
A3B2C1	2	.08750	.08750	.08750				
A3B2C2	2	.08800	.08800	.08800				
A3B1C2	2	.10650	.10650	.10650				
A2B2C2	2	.11900	.11900	.11900				
A2B3C1	2	.12250	.12250	.12250				
A1B1C2	2	.14850	.14850	.14850	.14850			
A3B1C1	2	.17000	.17000	.17000	.17000	.17000		
A2B3C2	2		.18000	.18000	.18000	.18000		
A1B2C1	2			.20950	.20950	.20950		
A1B2C2	2			.21100	.21100	.21100		
A2B2C1	2				.26950	.26950	.26950	
A2B1C2	2					.30450	.30450	
A1B3C1	2						.37550	.37550
A2B1C1	2							.47250
A1B3C2	2							.49050
Sig.		.080	.068	.099	.113	.055	.238	.154

Lampiran 3.15a Data pengamatan asam amino leucine-isoleucine

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.563	0.524	0.543
A1B1C2	0.638	0.752	0.695
A1B2C1	0.662	0.673	0.667
A1B2C2	0.825	0.808	0.816
A1B3C1	0.953	0.933	0.943
A1B3C2	0.943	1.037	0.99
A2B1C1	0.956	1.001	0.978
A2B1C2	0.669	0.655	0.662
A2B2C1	0.615	0.594	0.604
A2B2C2	0.533	0.505	0.519
A2B3C1	0.761	0.742	0.751
A2B3C2	0.48	0.523	0.501
A3B1C1	0.5	0.419	0.459
A3B1C2	0.47	0.534	0.502
A3B2C1	0.418	0.424	0.421
A3B2C2	0.381	0.436	0.408
A3B3C1	0.337	0.377	0.357
A3B3C2	0.384	0.334	0.359

Lampiran 3.15b Data rata-rata asam amino leucine-isoleucine

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)
Awal (A1)	0.543	0.667	0.943	0.718	0.695	0.816	0.99	0.834
Sedang (A2)	0.978	0.604	0.751	0.778	0.662	0.519	0.501	0.561
Penuh (A3)	0.459	0.421	0.357	0.412	0.502	0.408	0.359	0.423
Rata-rata	0.66	0.564	0.684	0.636	0.620	0.581	0.617	0.606

Lampiran 3.15c Analisa sidik ragam asam amino leucine-isoleucine

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.454 <sup>a</sup>	17	.086	64.629	.000
Intercept	13.887	1	13.887	10494.466	.000
Tingkat_Kematangan	.812	2	.406	306.645	.000
Lama_Pemeraman	.043	2	.021	16.072	.000
Fermentasi_Non	.008	1	.008	6.235	.022
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman	.380	4	.095	71.880	.000
Tingkat_Kematangan * Fermentasi_Non	.174	2	.087	65.764	.000
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.011	2	.006	4.189	.032
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.026	4	.006	4.899	.008
Error	.024	18	.001		
Total	15.364	36			
Corrected Total	1.478	35			

Lampiran 3.15d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino leucine-isoleucine biji kakao

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	.41783		
A2	12		.66950	
A1	12			.77592
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.15e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino leucine-isoleucine

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B2	12	.57283	
B1	12		.64008
B3	12		.65033
Sig.		1.000	.772

Lampiran 3.15f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino leucine-isoleucine biji kakao

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
A3B3	4	.35800				
A3B2	4	.41475	.41475			
A3B1	4	.48075	.48075			
A2B2	4	.56175	.56175	.56175		
A1B1	4		.61925	.61925	.61925	
A2B3	4		.62650	.62650	.62650	
A1B2	4			.74200	.74200	.74200
A2B1	4				.82025	.82025
A1B3	4					.96650
Sig.		.101	.079	.200	.110	.052

Lampiran 3.15g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap asam amino leucine-isoleucine biji kakao

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A3C1	6	.41250		
A3C2	6	.42317		
A2C2	6	.56083	.56083	
A1C1	6		.71800	.71800
A2C1	6		.77817	.77817
A1C2	6			.83383
Sig.		.354	.060	.617

Lampiran 3.15h Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino leucine-isoleucine biji kakao

Interaksi	N	Subset									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A3B3C1	2	.3570									
A3B3C2	2	.3590									
A3B2C2	2	.4085	.4085								
A3B2C1	2	.4210	.4210								
A3B1C1	2	.4595	.4595	.4595							
A2B3C2	2	.5015	.5015	.5015							
A3B1C2	2	.5020	.5020	.5020							
A2B2C2	2		.5190	.5190	.5190						
A1B1C1	2		.5435	.5435	.5435	.5435					
A2B2C1	2			.6045	.6045	.6045	.6045				
A2B1C2	2				.6620	.662	.6620	.6620			
A1B2C1	2					.6675	.6675	.6675			
A1B1C2	2						.6950	.6950	.6950		
A2B3C1	2							.7515	.7515		
A1B2C2	2								.8165	.8165	
A1B3C1	2									.9430	.9430
A2B1C1	2										.9785
A1B3C2	2										.9900
Sig.		.054	.089	.054	.059	.152	.563	.579	.170	.135	.995

Lampiran 3.15i Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino leucine-isoleucine biji kakao

Interaksi	N	Subset
		1
B2C1	6	.56433
B2C2	6	.58133
B3C2	6	.61683
B1C2	6	.61967
B1C1	6	.66050
B3C1	6	.68383
Sig.		.929



Lampiran 3.16a Data pengamatan asam amino Lysin

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.46	0.5	0.48
A1B1C2	0.55	0.61	0.58
A1B2C1	0.77	0.81	0.79
A1B2C2	0.6	0.62	0.61
A1B3C1	1.11	1.06	1.085
A1B3C2	1.23	1.14	1.185
A2B1C1	0.96	0.96	0.96
A2B1C2	0.7	0.62	0.66
A2B2C1	0.41	0.49	0.45
A2B2C2	0.54	0.46	0.5
A2B3C1	0.69	0.68	0.685
A2B3C2	0.41	0.31	0.36
A3B1C1	0.31	0.31	0.31
A3B1C2	0.27	0.31	0.29
A3B2C1	0.27	0.26	0.265
A3B2C2	0.22	0.21	0.215
A3B3C1	0.24	0.21	0.225
A3B3C2	0.17	0.2	0.185

Lampiran 3.16b Data rata-rata asam amino Lysin

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.48	0.79	1.085	0.625	0.58	0.61	1.185	0.792
Sedang (A2)	0.96	0.45	0.685	0.698	0.66	0.5	0.36	0.507
Penuh (A3)	0.31	0.265	0.225	0.267	0.29	0.215	0.185	0.230
Rata-rata	0.583	0.502	0.665	0.530	0.510	0.442	0.577	0.510

Lampiran 3.16c Analisa sidik ragam asam amino Lysin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.119 <sup>a</sup>	17	.183	134.433	.000
Intercept	10.698	1	10.698	7840.013	.000
Tingkat_kematangan	1.808	2	.904	662.301	.000
Lama_pemeraman	.134	2	.067	49.035	.000
Fermentasi_Non	.048	1	.048	35.522	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	.921	4	.230	168.654	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.065	2	.033	23.845	.000
Lama_pemeraman * Fermentasi_Non	.001	2	.001	.484	.624
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman * Fermentasi_Non	.142	4	.035	25.975	.000
Error	.025	18	.001		
Total	13.841	36			
Corrected Total	3.143	35			

Lampiran 3.16d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino Lysin

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	.2464		
A2	12		.6029	
A1	12			.7861
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.16e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino Lysin

Lama Pemeraman	N	Subset		
		1	2	3
B2	12	.4699		
B1	12		.5463	
B3	12			.6193
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.16f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dengan lama pemeraman terhadap asam amino Lysin

<b>Lysin</b>							
Interaksi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
A3B3	4	.20300					
A3B2	4	.23725	.23725				
A3B1	4	.29900	.29900	.29900			
A2B2	4		.47550	.47550	.47550		
A2B3	4			.52300	.52300		
A1B1	4			.52950	.52950		
A1B2	4				.69700	.69700	
A2B1	4					.81025	
A1B3	4						1.13175
Sig.		.913	.058	.073	.095	.812	1.000

Lampiran 3.16g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dengan fermentasi terhadap asam amino lysin

Interaksi	N	Subset	
		1	2
A3C2	6	.22717	
A3C1	6	.26567	
A2C2	6	.50767	.50767
A2C1	6		.69817
A1C1	6		.78167
A1C2	6		.79050
Sig.		.186	.179

Lampiran 3.16h Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino Lysin

Interaksi	N	Subset									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A3B3C2	2	.1820									
A3B2C2	2	.2130	.2130								
A3B3C1	2	.2240	.2240								
A3B2C1	2	.2615	.2615								
A3B1C2	2	.2865	.2865								
A3B1C1	2	.3115	.3115	.3115							
A2B3C2	2		.3600	.3600	.3600						
A2B2C1	2			.4490	.4490	.4490					
A1B1C1	2				.4780	.4780	.4780				
A2B2C2	2				.5020	.5020	.5020				
A1B1C2	2					.5810	.5810	.5810			
A1B2C2	2						.6070	.6070			
A2B1C2	2							.6610	.6610		
A2B3C1	2							.6860	.6860		
A1B2C1	2								.7870		
A2B1C1	2									.9595	
A1B3C1	2									1.080	1.0800
A1B3C2	2										1.1835
Sig.		.128	.054	.087	.070	.114	.131	.365	.151	.194	.386

Lampiran 3.17a Data pengamatan asam amino valin

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.468	0.497	<b>0.482</b>
A1B1C2	0.472	0.448	0.46
A1B2C1	0.643	0.763	<b>0.703</b>
A1B2C2	0.512	0.606	0.559
A1B3C1	0.874	0.822	<b>0.848</b>
A1B3C2	0.684	0.681	0.682
A2B1C1	0.614	0.69	<b>0.652</b>
A2B1C2	0.429	0.438	0.433
A2B2C1	0.702	0.692	<b>0.697</b>
A2B2C2	0.55	0.521	0.535
A2B3C1	0.581	0.651	<b>0.616</b>
A2B3C2	0.498	0.414	0.456
A3B1C1	0.481	0.392	<b>0.436</b>
A3B1C2	0.414	0.511	0.462
A3B2C1	0.535	0.528	<b>0.531</b>
A3B2C2	0.369	0.337	0.353
A3B3C1	0.359	0.383	<b>0.371</b>
A3B3C2	0.296	0.322	0.309

Lampiran 3.17b Data rata-rata asam amino valin

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.482	0.703	0.848	0.678	0.46	0.559	0.682	0.567
Sedang (A2)	0.652	0.697	0.616	0.655	0.433	0.535	0.456	0.475
Penuh (A3)	0.436	0.531	0.371	0.446	0.462	0.353	0.309	0.375
Rata-rata	0.523	0.643	0.611	0.593	0.451	0.482	0.482	0.472

## Lampiran 3.17c Analisa sidik ragam asam amino valin

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Valin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.692 <sup>a</sup>	17	.041	22.274	.000
Intercept	10.215	1	10.215	5591.141	.000
Tingkat_kematangan	.288	2	.144	78.879	.000
Lama_pemeraman	.038	2	.019	10.338	.001
Fermentasi_non	.131	1	.131	71.789	.000
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman	.181	4	.045	24.818	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_non	.018	2	.009	4.957	.019
Lama_pemeraman * Fermentasi_non	.012	2	.006	3.388	.056
Tingkat_kematangan * Lama_pemeraman * Fermentasi_non	.023	4	.006	3.117	.041
Error	.033	18	.002		
Total	10.940	36			
Corrected Total	.725	35			

## Lampiran 3.17d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino valin

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	.41058		
A2	12		.56500	
A1	12			.62250
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.17e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino valin

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B1	12	.48783	
B3	12		.54708
B2	12		.56317
Sig.		1.000	.634

Lampiran 3.17f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino valin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A3B3	4	.34000		
A3B2	4	.44225	.44225	
A3B1	4	.44950	.44950	
A1B1	4	.47125	.47125	
A2B3	4	.53600	.53600	
A2B1	4	.54275	.54275	
A2B2	4		.61625	.61625
A1B2	4		.63100	.63100
A1B3	4			.76525
Sig.		.072	.115	.350

Lampiran 3.17g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap asam amino valin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A3C2	6	.37483		
A3C1	6	.44633	.44633	
A2C2	6	.47500	.47500	
A1C2	6		.56717	.56717
A2C1	6			.65500
A1C1	6			.67783
Sig.		.497	.295	.388

Lampiran 3.17h Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino valin

interaksi	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
A3B3C2	2	.30900							
A3B2C2	2	.35300	.35300						
A3B3C1	2	.37100	.37100	.37100					
A2B1C2	2	.43350	.43350	.43350	.43350				
A3B1C1	2	.43650	.43650	.43650	.43650				
A2B3C2	2	.45600	.45600	.45600	.45600	.45600			
A1B1C2	2	.46000	.46000	.46000	.46000	.46000			
A3B1C2	2	.46250	.46250	.46250	.46250	.46250			
A1B1C1	2		.48250	.48250	.48250	.48250	.48250		
A3B2C1	2			.53150	.53150	.53150	.53150	.53150	
A2B2C2	2			.53550	.53550	.53550	.53550	.53550	
A1B2C2	2				.55900	.55900	.55900	.55900	
A2B3C1	2					.61600	.61600	.61600	
A2B1C1	2						.65200	.65200	
A1B3C2	2							.68250	.68250
A2B2C1	2							.69700	.69700
A1B2C1	2							.70300	.70300
A1B3C1	2								.84800
Sig.		.111	.279	.069	.320	.084	.056	.051	.066



Lampiran 3.18a Data pengamatan asam amino methionine

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.32	0.395	0.357
A1B1C2	0.344	0.424	0.384
A1B2C1	0.387	0.412	0.399
A1B2C2	0.388	0.371	0.379
A1B3C1	0.542	0.497	0.519
A1B3C2	0.491	0.541	0.516
A2B1C1	0.573	0.514	0.543
A2B1C2	0.465	0.506	0.485
A2B2C1	0.64	0.683	0.661
A2B2C2	0.38	0.373	0.376
A2B3C1	0.429	0.44	0.434
A2B3C2	0.291	0.364	0.327
A3B1C1	0.339	0.26	0.299
A3B1C2	0.337	0.3	0.318
A3B2C1	0.249	0.271	0.26
A3B2C2	0.25	0.222	0.236
A3B3C1	0.265	0.207	0.236
A3B3C2	0.17	0.186	0.178

Lampiran 3.18b Data rata-rata asam amino Methionine

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)	0 hari (B1)	3 hari (B2)	6 hari (B3)	Rata2 (%)
Awal (A1)	0.357	0.399	0.519	0.425	0.384	0.379	0.516	0.426
Sedang (A2)	0.543	0.661	0.434	0.546	0.485	0.376	0.327	0.396
Penuh (A3)	0.299	0.26	0.236	0.265	0.318	0.236	0.178	0.244
Rata-rata	0.399	0.44	0.396	0.412	0.395	0.33	0.34	0.355

## Lampiran 3.18c Analisa sidik ragam asam amino methionine

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Methionine

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.537 <sup>a</sup>	17	.032	26.759	.000
Intercept	5.310	1	5.310	4500.807	.000
Tingkat_kematangan	.314	2	.157	132.978	.000
Lama_Pemeraman	.005	2	.003	2.229	.137
Fermentasi_Non	.029	1	.029	24.496	.000
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman	.116	4	.029	24.625	.000
Tingkat_kematangan * Fermentasi_Non	.040	2	.020	16.921	.000
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.017	2	.008	7.076	.005
Tingkat_kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.016	4	.004	3.376	.032
Error	.021	18	.001		
Total	5.868	36			
Corrected Total	.558	35			

a. R Squared = .962 (Adjusted R Squared = .926)

## Lampiran 3.18d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino methionine

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	.25467		
A1	12		.42600	
A2	12			.47150
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.18e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino methionine

Lama Pemeraman	N	Subset
		1
B3	12	.36858
B2	12	.38550
B1	12	.39808
Sig.		.117

Lampiran 3.18f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino methionine

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A3B3	4	.20700		
A3B2	4	.24800	.24800	
A3B1	4	.30900	.30900	
A1B1	4		.37075	.37075
A2B3	4		.38100	.38100
A1B2	4		.38950	.38950
A2B1	4			.51450
A1B3	4			.51775
A2B2	4			.51900
Sig.		.469	.116	.087

Lampiran 3.18g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap asam amino methionine

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3C2	6	.24417			
A3C1	6	.26517	.26517		
A2C2	6		.39650	.39650	
A1C1	6			.42550	.42550
A1C2	6			.42650	.42650
A2C1	6				.54650
Sig.		.997	.058	.983	.096

Lampiran 3.18h Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino methionine

Interaksi	N	Subset
		1
B2C2	6	.33067
B3C2	6	.34050
B1C2	6	.39600
B3C1	6	.39667
B1C1	6	.40017
B2C1	6	.44033
Sig.		.691

Lampiran 3.18i Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino methionine

Interaksi	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A3B3C2	2	.17800								
A3B2C2	2	.23600	.23600							
A3B3C1	2	.23600	.23600							
A3B2C1	2	.26000	.26000	.26000						
A3B1C1	2	.29950	.29950	.29950	.29950					
A3B1C2	2		.31850	.31850	.31850					
A2B3C2	2		.32750	.32750	.32750					
A1B1C1	2		.35750	.35750	.35750	.35750				
A2B2C2	2			.37650	.37650	.37650				
A1B2C2	2			.37950	.37950	.37950	.37950			
A1B1C2	2			.38400	.38400	.38400	.38400	.38400		
A1B2C1	2				.39950	.39950	.39950	.39950		
A2B3C1	2				.43450	.43450	.43450	.43450	.43450	
A2B1C2	2					.48550	.48550	.48550	.48550	
A1B3C2	2						.51600	.51600	.51600	
A1B3C1	2							.51950	.51950	
A2B1C1	2								.54350	.54350
A2B2C1	2									.66150
Sig.		.122	.122	.107	.059	.087	.055	.058	.224	.145

Lampiran 3.19a Data pengamatan asam amino threonine

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.737	0.826	0.781
A1B1C2	0.942	0.888	0.915
A1B2C1	1.05	1.135	1.092
A1B2C2	1.147	1.078	1.112
A1B3C1	1.192	1.12	1.156
A1B3C2	1.088	1.101	1.094
A2B1C1	1.266	1.296	1.281
A2B1C2	1.362	1.379	1.370
A2B2C1	0.832	0.903	0.867
A2B2C2	0.781	0.833	0.807
A2B3C1	0.999	0.996	0.997
A2B3C2	0.745	0.688	0.716
A3B1C1	0.601	0.577	0.589
A3B1C2	0.59	0.543	0.566
A3B2C1	0.579	0.578	0.578
A3B2C2	0.639	0.578	0.608
A3B3C1	0.582	0.519	0.550
A3B3C2	0.614	0.607	0.610

Lampiran 3.19b Data rata-rata asam amino threonine

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.781	1.092	1.156	1.010	0.915	1.112	1.094	1.040
Sedang (A2)	1.281	0.867	0.997	1.048	1.370	0.807	0.716	0.964
Penuh (A3)	0.589	0.578	0.550	0.572	0.566	0.608	0.610	0.595
Rata-rata	0.883	0.845	0.901	0.876	0.95	0.842	0.806	0.866

## Lampiran 3.19c Analisa sidik ragam asam amino threonine

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Threonine

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.415 <sup>a</sup>	17	.142	100.476	.000
Intercept	27.372	1	27.372	19362.091	.000
Tingkat_Kematangan	1.496	2	.748	528.989	.000
Lama_Pemeraman	.037	2	.019	13.257	.000
Fermentasi_Non	.001	1	.001	.672	.423
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman	.764	4	.191	135.096	.000
Tingkat_Kematangan * Fermentasi_Non	.025	2	.012	8.686	.002
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.039	2	.020	13.825	.000
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.053	4	.013	9.381	.000
Error	.025	18	.001		
Total	29.812	36			
Corrected Total	2.440	35			

## Lampiran 3.19d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino threonine

Tingkat Kematangan	N	Subset	
		1	2
A3	12	.58392	
A2	12		1.00667
A1	12		1.02533
Sig.		1.000	.459

Lampiran 3.19e Uji Tukey pengaruh lama pemeraman terhadap asam amino threonine

Lama Pemeraman	N	Subset	
		1	2
B2	12	.84442	
B3	12	.85425	
B1	12		.91725
Sig.		.800	1.000

Lampiran 3.19f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino threonine

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3B1	4	.57775			
A3B3	4	.58050			
A3B2	4	.59350			
A2B2	4		.83725		
A1B1	4		.84825		
A2B3	4		.85700		
A1B2	4			1.10250	
A1B3	4			1.12525	
A2B1	4				1.32575
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.19g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap asam amino threonine

Interaksi	N	Subset	
		1	2
A3C1	6	.57267	
A3C2	6	.59517	
A2C2	6		.96467
A1C1	6		1.01000
A1C2	6		1.04067
A2C1	6		1.04867
Sig.		1.000	.959

Lampiran 3.19h Uji Tukey interaksi lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino threonine

Interaksi	N	Subset
		1
B3C2	6	.80717
B2C2	6	.84267
B2C1	6	.84617
B1C1	6	.88383
B3C1	6	.90133
B1C2	6	.95067
Sig.		.947

Lampiran 3.19i Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino threonine

Threonine										
Interaksi	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A3B3C1	2	.55050								
A3B1C2	2	.56650	.56650							
A3B2C1	2	.57850	.57850							
A3B1C1	2	.58900	.58900							
A3B2C2	2	.60850	.60850							
A3B3C2	2	.61050	.61050							
A2B3C3	2		.71650	.71650						
A1B1C1	2			.78150	.78150					
A2B2C2	2			.80700	.80700					
A2B2C1	2			.86750	.86750	.86750				
A1B1C2	2				.91500	.91500				
A2B3C1	2					.99750	.99750			
A1B2C1	2						1.09250	1.09250		
A1B3C2	2						1.09450	1.09450		
A1B2C2	2						1.11250	1.11250		
A1B3C1	2							1.15600	1.15600	
A2B1C1	2								1.28100	1.28100
A2B1C2	2									1.37050
Sig.		.965	.053	.051	.119	.140	.267	.946	.175	.627



Lampiran 3.20a Data pengamatan asam amino prolin

Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata
	I	II	
A1B1C1	0.609	0.546	0.577
A1B1C2	0.679	0.773	0.726
A1B2C1	0.705	0.648	0.676
A1B2C2	0.797	0.778	0.787
A1B3C1	1.011	0.957	0.984
A1B3C2	0.913	0.927	0.92
A2B1C1	0.982	1.011	0.996
A2B1C2	0.53	0.523	0.526
A2B2C1	1	0.918	0.959
A2B2C2	0.625	0.673	0.649
A2B3C1	0.725	0.758	0.741
A2B3C2	0.506	0.585	0.545
A3B1C1	0.575	0.602	0.588
A3B1C2	0.497	0.542	0.519
A3B2C1	0.446	0.463	0.454
A3B2C2	0.465	0.399	0.432
A3B3C1	0.386	0.359	0.372
A3B3C2	0.348	0.334	0.341

Lampiran 3.20b Data rata-rata asam amino prolin

Tingkat kematangan	Non Fermentasi (C1)				Fermentasi (C2)			
	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2	0 hari	3 hari	6 hari	Rata2
	(B1)	(B2)	(B3)	(%)	(B1)	(B2)	(B3)	(%)
Awal (A1)	0.577	0.676	0.984	0.746	0.726	0.787	0.92	0.811
Sedang (A2)	0.996	0.959	0.741	0.899	0.526	0.649	0.545	0.573
Penuh (A3)	0.588	0.454	0.372	0.471	0.519	0.432	0.341	0.431
Rata-rata	0.720	0.696	0.699	0.705	0.59	0.622	0.602	0.605

## Lampiran 3.20c Analisa sidik ragam asam amino prolin

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Prolin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.487 <sup>a</sup>	17	.087	69.842	.000
Intercept	15.465	1	15.465	12344.487	.000
Tingkat_Kematangan	.760	2	.380	303.497	.000
Lama_Pemeraman	.000	2	.000	.195	.825
Fermentasi_Non	.091	1	.091	72.402	.000
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman	.326	4	.082	65.129	.000
Tingkat_Kematangan * Fermentasi_Non	.245	2	.122	97.628	.000
Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.005	2	.002	1.919	.176
Tingkat_Kematangan * Lama_Pemeraman * Fermentasi_Non	.060	4	.015	11.980	.000
Error	.023	18	.001		
Total	16.975	36			
Corrected Total	1.510	35			

a. R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .971)

## Lampiran 3.20d Uji Tukey pengaruh tingkat kematangan terhadap asam amino prolin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Tingkat Kematangan	N	Subset		
		1	2	3
A3	12	.45133		
A2	12		.73633	
A1	12			.77858
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3.20e Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan lama pemeraman terhadap asam amino prolin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
A3B3	4	.35675			
A3B2	4	.44325	.44325		
A3B1	4	.55400	.55400	.55400	
A2B3	4	.64350	.64350	.64350	
A1B1	4	.65175	.65175	.65175	
A1B2	4		.73200	.73200	.73200
A2B1	4			.76150	.76150
A2B2	4			.80400	.80400
A1B3	4				.95200
Sig.		.053	.062	.154	.282

Lampiran 3.20f Uji Tukey interaksi tingkat kematangan dan fermentasi terhadap asam amino prolin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset		
		1	2	3
A3C2	6	.43083		
A3C1	6	.47183		
A2C2	6	.57367	.57367	
A1C1	6		.74600	.74600
A1C2	6			.81117
A2C1	6			.89900
Sig.		.312	.144	.244

Lampiran 3.20g Uji Tukey interaksi tingkat kematangan, lama pemeraman dan fermentasi terhadap asam amino prolin

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Interaksi	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A3B3C2	2	.34100								
A3B3C1	2	.37250								
A3B2C2	2	.43200	.43200							
A3B2C1	2	.45450	.45450	.45450						
A3B1C2	2		.51950	.51950	.51950					
A2B1C2	2		.52650	.52650	.52650					
A2B3C2	2		.54550	.54550	.54550	.54550				
A1B1C1	2			.57750	.57750	.57750				
A3B1C1	2			.58850	.58850	.58850	.58850			
A2B2C2	2				.64900	.64900	.64900	.64900		
A1B2C1	2					.67650	.67650	.67650		
A1B1C2	2						.72600	.72600		
A2B3C1	2							.74150		
A1B2C2	2							.78750	.78750	
A1B3C2	2								.92000	.92000
A2B2C1	2									.95900
A1B3C1	2									.98400
A2B1C1	2									.99650
Sig.		.212	.212	.078	.098	.091	.065	.061	.084	.754

Lampiran 3.21 Pembuatan standart ( Stok Glukosa 100 ppm )

Std No	Konsentrasi	Pengambilan Larutan (ul)		Total Volume (ul)
		Glukosa	Aquadest	
1	0 ppm	0	1000	1000
2	20 ppm	200	800	1000
3	40 ppm	400	600	1000
4	60 ppm	600	400	1000
5	80 ppm	800	200	1000
6	100 ppm	1000	0	1000



LAMPIRAN  
BAB **IV**

## Lampiran 4.1 Hasil analisis PCA senyawa volatile biji kakao dari buah masak awal

**1. Buah kakao dengan tingkat kematangan awal**

Eigenvalues:

	F1	F2	F3	F4	F5
Eigenvalue	5,4418	3,7136	3,3764	1,6194	0,8487
Variability (%)	36,2787	24,7576	22,5095	10,7959	5,6583
Cumulative %	36,2787	61,0363	83,5458	94,3417	100,0000

⇒ Keragaman yang menjelaskan sampai sumbu ketiga sebesar 83,55%

Squared cosines of the variables:

	F1	F2	F3	F4	F5
asam Karboksilat	<b>0,8750</b>	0,0731	0,0281	0,0193	0,0044
Piridin	<b>0,3699</b>	0,1440	0,2384	0,2178	0,0298
Ester	0,0001	0,0416	<b>0,9101</b>	0,0482	0,0000
Alkohol	<b>0,7038</b>	0,0227	0,2207	0,0338	0,0190
Amina/bersenyawa N	0,2120	<b>0,4391</b>	0,1113	0,1085	0,1291
Aldehid	0,0331	0,0502	<b>0,6405</b>	0,2380	0,0381
Pirol	0,0044	<b>0,5389</b>	0,2694	0,1721	0,0152
Furan	0,2794	<b>0,3964</b>	0,1118	0,2106	0,0019
Keton	<b>0,6556</b>	0,1618	0,0418	0,1389	0,0021
Firazin	0,1921	0,3703	<b>0,3922</b>	0,0034	0,0420
Eter	0,2721	0,0619	<b>0,3258</b>	0,0204	0,3197
Hidrocarbon	<b>0,9299</b>	0,0368	0,0012	0,0320	0,0000
B'senyawa S	0,0002	<b>0,7113</b>	0,0063	0,2814	0,0007
Turunan Benzena	<b>0,8553</b>	0,1095	0,0228	0,0026	0,0098
Others	0,0590	<b>0,5560</b>	0,0558	0,0924	0,2368

Squared cosines of the observations:

	F1	F2	F3	F4	F5
A1B1C1	<b>0,4611</b>	0,0700	0,2705	0,0084	0,1901
A1B1C2	0,2761	<b>0,3633</b>	0,3498	0,0014	0,0094
A1B2C1	0,1412	<b>0,3419</b>	0,1503	0,1088	0,2577
A1B2C2	<b>0,5396</b>	0,1434	0,2158	0,0945	0,0068
A1B3C1	0,1731	<b>0,5463</b>	0,0220	0,2566	0,0020
A1B3C2	<b>0,4822</b>	0,0480	0,2794	0,1879	0,0025

Lampiran 4.2 Hasil analisa PCA senyawa volatil biji kakao dari buah masak sedang

## 2. Buah kakao dengan tingkat kematangan sedang

Eigenvalues:

	F1	F2	F3	F4	F5
Eigenvalue	5,2043	3,5669	3,1602	1,8566	1,2120
Variability (%)	34,6951	23,7795	21,0678	12,3773	8,0803
Cumulative %	34,6951	58,4746	79,5424	91,9197	100,0000

⇒ Keragaman yang menjelaskan sampai sumbu ketiga sebesar 79,54%

Squared cosines of the variables:

	F1	F2	F3	F4	F5
asam Karboksilat	0,2363	0,2267	0,2298	0,0380	<b>0,2693</b>
Piridin	0,3128	0,0001	<b>0,4866</b>	0,1730	0,0274
Ester	0,0829	<b>0,7633</b>	0,0074	0,0915	0,0549
Alkohol	0,3168	0,1990	<b>0,4391</b>	0,0096	0,0354
Amina/bersenyawa N	0,2415	0,2121	<b>0,5427</b>	0,0034	0,0003
Aldehid	0,0000	<b>0,7036</b>	0,1557	0,0611	0,0796
Pirol	<b>0,5523</b>	0,0119	0,1678	0,2663	0,0017
Furan	<b>0,7227</b>	0,1422	0,0639	0,0698	0,0014
Keton	0,2361	0,1810	0,0219	<b>0,5464</b>	0,0147
Firazin	0,1164	0,3174	0,0295	0,1508	<b>0,3859</b>
Eter	<b>0,6726</b>	0,2795	0,0001	0,0477	0,0001
Hidrocarbon	<b>0,7455</b>	0,0632	0,0905	0,0853	0,0155
B'senyawa S	<b>0,5680</b>	0,3644	0,0264	0,0072	0,0340
Turunan Benzena	0,3821	0,0096	<b>0,5162</b>	0,0752	0,0169
Others	0,0182	0,0928	<b>0,3826</b>	0,2314	0,2749

Squared cosines of the observations:

	F1	F2	F3	F4	F5
A2B1C1	<b>0,8173</b>	0,1102	0,0439	0,0281	0,0004
A2B1C2	0,2348	<b>0,4391</b>	0,0362	0,1086	0,1814
A2B2C1	<b>0,4624</b>	0,0001	0,4368	0,0912	0,0094
A2B2C2	0,0229	0,0610	<b>0,6538</b>	0,2623	0,0000
A2B3C1	0,0029	0,0300	0,0750	0,3452	<b>0,5469</b>
A2B3C2	0,0594	<b>0,7838</b>	0,0253	0,0878	0,0436



Lampiran 4.3 Hasil analisis PCA senyawa volatil biji kakao dari buah masak penuh

### 3. Buah kakao dengan tingkat kematangan penuh

Eigenvalues:

	F1	F2	F3	F4	F5
Eigenvalue	4,5313	3,8734	2,9769	2,1378	1,4807
Variability (%)	30,2085	25,8229	19,8459	14,2517	9,8711
Cumulative %	30,2085	56,0314	75,8772	90,1289	100,0000

⇒ Keragaman menjelaskan sampai sumbu utama ketiiga sebesar 75,88%

Squared cosines of the variables:

	F1	F2	F3	F4	F5
asam Karboksilat	0,0114	0,0794	0,1535	<b>0,7400</b>	0,0157
Piridin	0,1152	<b>0,5480</b>	0,2842	0,0449	0,0077
Ester	0,1101	<b>0,4283</b>	0,4131	0,0048	0,0437
Alkohol	<b>0,5623</b>	0,0380	0,0029	0,2693	0,1275
Amina/bersenyawa N	0,2261	<b>0,5003</b>	0,1916	0,0421	0,0398
Aldehid	0,0462	0,0465	<b>0,6590</b>	0,0454	0,2029
Pirol	<b>0,4579</b>	0,2818	0,2278	0,0000	0,0324
Furan	0,0015	0,3235	<b>0,5136</b>	0,1608	0,0007
Keton	<b>0,6330</b>	0,0942	0,0296	0,0409	0,2023
Firazin	0,3113	0,1032	0,0174	0,0053	<b>0,5628</b>
Eter	0,0007	<b>0,8646</b>	0,0860	0,0046	0,0441
Hidrocarbon	<b>0,6713</b>	0,0937	0,0519	0,0754	0,1078
B'senyawa S	0,1584	<b>0,4000</b>	0,0575	0,3762	0,0078
Turunan Benzena	<b>0,5086</b>	0,0004	0,1120	0,2937	0,0853
Others	<b>0,7171</b>	0,0716	0,1769	0,0343	0,0001

Squared cosines of the observations:

	F1	F2	F3	F4	F5
A3B1C1	<b>0,4528</b>	0,2117	0,2998	0,0052	0,0305
A3B1C2	<b>0,5211</b>	0,1477	0,0191	0,0042	0,3079
A3B2C1	<b>0,3928</b>	0,2762	0,2840	0,0454	0,0016
A3B2C2	0,1451	<b>0,5899</b>	0,2351	0,0267	0,0032
A3B3C1	0,0054	0,0050	0,0031	<b>0,9066</b>	0,0799
A3B3C2	0,1844	0,1471	0,2339	0,1634	<b>0,2711</b>

## Lampiran 5.1 Proses pascapanen biji kakao



Pemanenan buah kakao



Tingkat kematangan awal penuh



Tingkat kematangan sedang



Tingkat kematangan



Pemeraman buah



Pembelahan buah

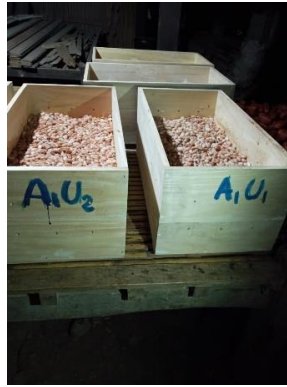


Penimbangan biji basah

## Lampiran 5.1 Lanjutan



Pemasukan biji ke peti kayu



Fermentasi hari ke 1



Pengadukan biji fermentasi



Fermentasi hari ke 6



Pencucian setelah fermentasi



Penjemuran biji kakao

## Lampiran 5.2 Penampakan buah kakao selama 6 hari pemeraman



Pemeraman 1 hari



Pemeraman 2 hari



Pemeraman 3 hari



Pemeraman 4 hari



Pemeraman 5 hari



Pemeraman 6 hari



Penampakan isi buah yang diperam 6 hari

## Lampiran 5.3 Penampakan biji kakao kering



Biji kering hasil fermentasi (C2) peram 0 hari (B1), 3 hari (B2) dan 6 hari (B3)



Biji kering non fermentasi peram 0 hari, 3 hari dan 6 hari

## Lampiran 5.3 Lanjutan

Biji kering tanpa pemeraman (B<sub>1</sub>) fermentasi (C<sub>2</sub>) dan non fermentasi (C<sub>1</sub>)Biji kering peram 3 hari (B<sub>2</sub>) fermentasi (C<sub>2</sub>) dan non fermentasi (C<sub>1</sub>)



Biji kering peram 6 hari (B3) fermentasi (C2) dan non fermentasi (C1)