

PENGARUH WADAH FERMENTASI TERHADAP MUTU MIKROBIOLOGI DAN KIMIA BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

EFFECT OF FERMENTATION CONTAINER TYPE ON THE MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITY OF FORASTERO COCOA BEANS (*Theobroma cacao* L.)

Ria Fitriani¹, Baiq Rien Handayani^{2*}, Mutia Devi Ariyana²

¹Mahasiswa Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri, Universitas Mataram

²Staff Pengajar Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri, Universitas Mataram

*email: baigrienhs@unram.ac.id

ABSTRACT

*This study investigates how fermentation containers affect temperature, humidity, and aeration during cocoa bean fermentation, and how these factors influence the populations and activities of microorganisms involved in the process. The objective of the research was to determine the effect of different fermentation containers on the microbiological and chemical quality of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). The experimental design employed was a completely randomized design (CRD) with one factor: type of fermentation container (wooden box, bamboo basket, banana leaves, polystyrene (PS) plastic box, polypropylene (PP) plastic box, and plastic sack). Observed data were analyzed using analysis of variance (ANOVA); significant differences were further tested by Tukey's honestly significant difference (HSD) test at the 5% level. The results showed that the type of fermentation container affected the fermentation index but did not significantly affect the pH of the cocoa beans. Different containers produced different microbiological quality (yeasts, lactic acid bacteria, and acetic acid bacteria). The polystyrene (PS) plastic box yielded the highest fermentation index value (0.9), indicating that fermentation proceeded most favorably in the PS plastic box.*

Keywords: cocoa beans, fermentation, fermentation container, fermentation index

ABSTRAK

Wadah fermentasi pada biji kakao berpengaruh pada suhu, kelembaban, dan aerasi selama proses fermentasi, yang berdampak pada populasi dan aktivitas mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi kakao. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan wadah fermentasi terhadap mutu mikrobiologi dan mutu kimia biji kakao (*Theobroma cacao* L.). Desain eksperimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor: perbedaan wadah fermentasi (kotak kayu, besek bambu, daun pisang, kotak plastik Polystirena (PS), kotak plastik polypropilena (PP), dan karung plastik). Data yang diamati dianalisis menggunakan Analisis Keragaman (ANOVA); perbedaan data yang signifikan diuji lebih lanjut dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada tingkat 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa wadah fermentasi berpengaruh terhadap nilai Indeks Fermentasi tetapi tidak berpengaruh terhadap nilai pH biji kakao. Wadah fermentasi yang berbeda menghasilkan mutu mikrobiologi (khamir, bakteri asam laktat, dan bakteri asam asetat) yang berbeda. Wadah kotak plastik PS menghasilkan biji kakao dengan nilai Indeks fermentasi yang tertinggi sebesar 0,9 yang menunjukkan bahwa proses fermentasi paling baik terjadi pada wadah kotak plastik PS.

Kata Kunci: biji kakao, fermentasi, indeks fermentasi, wadah

PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki nilai jual tinggi baik di pasar lokal maupun Internasional. Pada tahun 2020 Indonesia menjadi negara ketiga produsen kakao terbesar di dunia dengan produksi mencapai 659,7 ribu ton dan meningkat menjadi 667,3 ribu ton pada tahun 2022 (Myk, 2023). Salah satu wilayah penghasil kakao di Indonesia adalah Nusa Tenggara Barat (NTB), dengan produksi mencapai 2.600 ton pada tahun 2024 (BPS, 2025). Besarnya potensi produksi ini menjadikan kakao komoditas strategis bagi perekonomian masyarakat.

Meski demikian, mutu biji kakao Indonesia masih tergolong rendah. Sebagian besar ekspor kakao Indonesia masih berupa biji mentah, yaitu sekitar 83% (BPS, 2018). Rendahnya mutu biji kakao terutama berasal dari hasil panen petani lokal yang ditandai dengan biji belum kering sempurna, ukuran tidak seragam, kadar kulit tinggi, pH rendah, cita rasa bervariasi, serta kondisi biji yang tidak sepenuhnya terfermentasi (Kementerian Pertanian, 2012). Mutu biji kakao sangat menentukan harga jual dan kualitas produk akhir yang dihasilkan (Ariyanti, 2017), sehingga upaya peningkatan kualitas menjadi sangat penting.

Faktor penting yang mempengaruhi mutu biji kakao adalah proses penanganan pasca panen khususnya proses fermentasi. Proses ini sangat krusial karena berperan dalam menentukan mutu akhir produk (Aris *et al.*, 2020). Menurut Ariyanti (2017) biji kakao yang telah melewati proses fermentasi memiliki kualitas dan mutu lebih baik dibandingkan yang tidak melewati proses fermentasi. Fermentasi pada kakao bertujuan untuk membentuk aroma dan cita rasa yang khas. Proses ini juga dapat mengurangi rasa pahit dan sepat pada biji kakao (Widyotomo dan Mulato, 2008).

Proses fermentasi melibatkan aktivitas mikroorganisme yang bekerja secara sinergis dalam menguraikan senyawa-senyawa pada biji kakao. Fermentasi alami pada biji kakao melibatkan mikroba seperti khamir, bakteri asam laktat, dan bakteri asam asetat (Kustyawati dan Setyani, 2008). Dalam fermentasi, khamir bertindak di awal fermentasi kemudian disusul oleh bakteri asam laktat baru bakteri asam asetat (Sarbu & Csutak, 2019). Pada saat fermentasi terjadi proses perombakan glukosa dan pektin menjadi etanol dan karbon dioksida. Kemudian etanol akan diubah menjadi asam-asam organik seperti asam malat, asam sitrat dan asam asetat yang akan menginduksi reaksi enzimatik pada biji. Reaksi enzimatik ini menyebabkan perubahan senyawa biokimia yang membentuk aroma, rasa, dan warna pada kakao (Apriyanto *et al.*, 2018).

Aktivitas mikroba selama fermentasi sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya adalah jenis wadah fermentasi yang digunakan. Perbedaan wadah fermentasi dapat berpengaruh terhadap suhu, kelembaban, dan aerasi selama proses fermentasi, yang berdampak pada populasi dan aktivitas mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi kakao. Suhu fermentasi pada biji kakao terus meningkat seiring bertambahnya lama fermentasi, hal ini dipengaruhi oleh pertumbuhan mikroba pada saat fermentasi. Berdasarkan penelitian Aryani *et al.* (2018), penggunaan wadah fermentasi dapat berpengaruh terhadap suhu yang dihasilkan. Sedangkan kelembaban penting karena mikroba memerlukan air untuk dapat tumbuh. Hal ini sejalan dengan penelitian Fitriani *et al.* (2024), dimana jumlah kadar air berbanding lurus dengan jumlah total mikroba. Semakin lama fermentasi jumlah kadar air menurun dan begitu juga dengan jumlah total mikroba. Menurut Junus *et al.* (2014), proses aerasi dapat meningkatkan pH dan memacu pertumbuhan mikroorganisme aerob sehingga asam-asam amino cepat dimanfaatkan oleh mikroorganisme.

Beberapa wadah fermentasi yang umum digunakan petani antara lain kotak kayu, karung plastik, daun pisang, kotak plastik, dan besek bambu. Setiap jenis wadah memiliki karakteristik tersendiri yang dapat berpengaruh terhadap laju fermentasi, pertumbuhan mikroba, serta kualitas akhir biji yang dihasilkan. Kotak kayu yang digunakan untuk fermentasi biji kakao berasal dari kayu dengan karakteristik tidak bergetas, tahan lama, dan tahan terhadap air. Berdasarkan penelitian dari Rasadi (2015), fermentasi menggunakan kotak kayu menghasilkan indeks fermentasi paling tinggi dibandingkan dengan fermentasi menggunakan wadah daun pisang dan kotak plastik. Indeks fermentasi merupakan indikator yang digunakan untuk menentukan seberapa baik proses fermentasi terjadi pada suatu bahan.

Fermentasi biji kakao menggunakan wadah karung plastik dilakukan karena lebih efisien dan mudah didapatkan. Karung plastik juga memiliki sifat yang kuat, transparan, fleksibel dan murah, sehingga banyak petani kakao yang menggunakannya. Jenis karung plastik yang dipakai terbuat dari *Polypropylene* (PE) yang memiliki keuntungan permeabilitas uap air dan air rendah, mudah dikelim panas, fleksibel, dapat digunakan untuk penyimpanan beku (-50°C), transparan sampai buram, dapat digunakan sebagai bahan laminasi dengan bahan lain. Menurut penelitian Karinawantika (2015), fermentasi menggunakan karung plastik menghasilkan karakteristik fisik dan kimia yang lebih baik dibandingkan biji kakao tanpa fermentasi dan mendekati karakteristik fisik dan kimia biji kakao hasil fermentasi dengan wadah kotak kayu.

Fermentasi menggunakan wadah daun pisang adalah fermentasi paling sederhana yang biasa dilakukan oleh para petani kakao. Fermentasi ini dilakukan dengan cara menimbun atau menumpuk biji kakao segar di atas daun hingga membentuk kerucut kemudian biji ditutup kembali menggunakan daun pisang. Kapasitas biji kakao dapat mencapai 150 kg untuk fermentasi menggunakan wadah daun pisang. Meski cara fermentasi ini mudah dan sederhana, namun berdasarkan hasil penelitian Rasadi (2015), fermentasi dengan daun pisang menghasilkan pulp paling banyak dibandingkan dengan fermentasi menggunakan kotak kayu dan kotak plastik. Hal ini dikarenakan celah pada saat fermentasi lebih kecil sehingga cairan pulp tidak banyak terbuang keluar.

Fermentasi menggunakan kotak plastik memiliki beberapa kelebihan yaitu mudah diperoleh, pengadukan mudah dilakukan, mudah dipindahkan, dan biji dapat terhindar dari kotoran selama fermentasi (Rasadi, 2015). Kotak plastik yang digunakan untuk fermentasi biji kakao harus memenuhi syarat yaitu memiliki lubang di setiap sisinya agar aerasi dapat terjadi dan tidak melepaskan bagian atau unsur yang dapat mengganggu kesehatan atau mempengaruhi mutu hasil. Berdasarkan penelitian dari Rasadi (2015), menyatakan bahwa fermentasi menggunakan kotak plastik menghasilkan kadar biji *slaty* yang rendah, sehingga dapat dikatakan bahwa fermentasi berjalan dengan baik.

Selain wadah-wadah di atas, petani lokal di NTB juga sering menggunakan besek bambu sebagai alternatif murah dan tradisional yang mudah dibuat dari anyaman bambu lokal (Sucipto & Handoko, 2022). Struktur anyamannya memberikan aerasi tinggi melalui celah-celah alami, yang mempercepat kenaikan suhu fermentasi dan penurunan kadar air pasca pengeringan, se kaligus mencegah karat akibat asam organik (Chandra & Maulida, 2025). Namun, aerasi berlebih ini cenderung menghambat fase anaerob awal yang krusial untuk aktivitas khamir dan bakteri asam laktat, sehingga menghasilkan indeks fermentasi terendah dibandingkan dengan kotak kayu (Sucipto & Handoko, 2022). Meski demikian, besek bambu tetap efektif untuk skala kecil dengan pengadukan harian dan tutup daun pisang, mencapai mutu ekspor golongan B (SNI) jika dikombinasikan dengan kultur starter 10% (Chandra & Maulida, 2025).

Pada penelitian sebelumnya lebih banyak berfokus pada mutu fisik biji kakao (*cut test*, rendemen, kadar *slaty*) dan indeks fermentasi secara umum. Namun data mengenai pengaruh perbedaan wadah fermentasi terhadap mutu mikrobiologi serta mutu kimia pada varietas *Forastero* yang dominan di NTB masih sangat terbatas. Padahal varietas *Forastero* memiliki karakteristik pulp yang lebih tebal dan kebutuhan aerasi spesifik yang berbeda dengan varietas lainnya, sehingga memerlukan kajian mendalam mengenai interaksi wadah fermentasi dengan dinamika populasi mikroba dan perubahan senyawa kimia selama proses fermentasi. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui wadah fermentasi yang paling efektif dalam menghasilkan mutu mikrobiologi dan mutu kimia terbaik pada biji kakao varietas *Forastero*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah buah kakao jenis *forastero* yang diambil dari desa Bebidas kabupaten Lombok Timur, media *Plate Count Agar* (PCA), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *de Man, Rogosa, Sharpe Agar* (MRSA), media *Agar Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate* (GYC).

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan percobaan dalam laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yakni perbedaan wadah fermentasi. Data hasil pengamatan kemudian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf 5% dengan software SPSS. Apabila terdapat beda nyata, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf nyata 5%. Uji lanjut BNJ dilakukan untuk parameter kimia (nilai pH dan nilai Indeks Fermentasi), sedangkan untuk parameter mikrobiologi dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Bahan baku yang digunakan adalah kakao jenis *Forastero* (umur ± 8 tahun) yang sudah siap panen dengan ciri kulit buah berwarna kuning. Buah kakao yang telah dipetik kemudian dibelah menggunakan pisau dengan hati-hati agar tidak melukai biji. Kemudian dilakukan sortasi untuk memisahkan biji dengan kotorannya. Setelah itu dimasukkan 600 g biji kakao segar ke dalam wadah (Gambar 1). Fermentasi berlangsung selama 144 jam atau 6 hari dan dilakukan pengadukan setiap 48 jam sekali (Fitriani *et al.*, 2024).



Gambar 1. Biji kakao Sebelum Fermentasi

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati yaitu mutu mikrobiologi seperti total khamir, total bakteri asam laktat (BAL), dan bakteri asam asetat. selanjutnya mutu kimia yaitu nilai pH dan nilai indeks fermentasi. Pengambilan sampel dilakukan setelah fermentasi selama 6 hari (Gambar 2).



Gambar 2. Biji Kakao Setelah Fermentasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mutu Mikrobiologi

Mutu mikrobiologi yang diamati pada penelitian ini yaitu total khamir, total bakteri asam laktat (BAL), dan total bakteri asam asetat (BAA). Adapun pengaruh wadah fermentasi terhadap total mikroba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Wadah Fermentasi Terhadap Total Mikroba pada Biji Kakao

Wadah Fermentasi	Σ Khamir (CFU/g)	Σ BAL (CFU/g)	Σ BAA (CFU/g)
Kotak kayu	$5,3 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$	$7,7 \times 10^6$
Besek bambu	$2,4 \times 10^4$	$1,9 \times 10^6$	$6,1 \times 10^6$
Daun pisang	0	$7,4 \times 10^6$	$8,7 \times 10^6$
Kotak plastik PS	$3,9 \times 10^4$	$1,8 \times 10^6$	$5,7 \times 10^5$
Kotak plastik PP	$2,8 \times 10^3$	$6,1 \times 10^6$	$8,1 \times 10^4$
Karung plastik	$2,7 \times 10^4$	$9,9 \times 10^7$	$5,2 \times 10^6$

Total Khamir

Khamir merupakan kelompok mikroorganisme yang mendominasi fase awal fermentasi biji kakao. Dominasi pertumbuhan khamir umumnya terjadi pada rentang waktu fermentasi sekitar jam ke-12 hingga jam ke-24 (Gusriani & Koto, 2022). Setelah periode tersebut, populasi khamir mulai menurun dan dominasinya digantikan oleh mikroorganisme lain, terutama bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat (Lima *et al.*, 2021). Pereira *et al.* (2013) melaporkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* merupakan spesies khamir yang paling dominan pada rentang fermentasi jam ke-12 hingga jam ke-24.

Pada fase awal fermentasi biji kakao, khamir tidak hanya mendominasi komunitas mikroba, tetapi juga berperan penting dalam memecah gula yang terdapat pada pulp menjadi etanol dan karbon dioksida. Selain itu, khamir menghasilkan senyawa *volatile organic compounds* (VOC) yang berfungsi sebagai prekursor aroma khas pada biji kakao. Melalui metabolisme asam amino, khamir membentuk senyawa penting seperti ester asetat dan etil ester, yaitu kelompok asam lemak yang berkontribusi terhadap pembentukan cita rasa dan aroma produk akhir (Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022). Khamir juga memiliki aktivitas pektinolitik yang membantu degradasi pektin pada pulp, sehingga mempermudah pelepasan cairan pulp dan mendukung tahapan fermentasi berikutnya (Muñoz, 2022).

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 1. total populasi khamir tertinggi ditemukan pada fermentasi biji kakao menggunakan wadah kotak kayu. Hal ini diduga karena kotak kayu memiliki sifat fisik yang mendukung fase pertumbuhan khamir. Schwan & Fleet (2015), menyatakan bahwa kotak kayu memiliki daya isolasi termal yang baik, sehingga mampu mempertahankan suhu fermentasi optimal dan menyediakan aerasi terbatas yang dapat mendukung metabolisme khamir. Umumnya suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 25-30 °C. Liszkowska & Berlowska (2021), juga menyatakan bahwa fermentasi khamir dengan *Saccharomyces cerevisiae* pada rentang 15-35 °C menunjukkan bahwa kinetik pertumbuhan dan fermentasi paling baik berada di sekitar 25-30 °C, sedangkan suhu lebih rendah memperlambat pertumbuhan dan fermentasi.

Selain pengaruh suhu, Camu *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa kayu berpotensi menjadi sumber inokulum alami karena mikroorganisme dapat menetap pada pori-pori permukaannya. Hal ini didukung oleh penelitian Roos *et al.* (2019), yang menyatakan bahwa permukaan dalam tong kayu pada produksi bir lambic menjadi sumber inokulum tambahan, dengan jumlah *Saccharomyces* paling tinggi terdeteksi pada wadah tong kayu yang belum dibersihkan dibandingkan setelah proses pembersihan. Hal ini sejalan dengan penelitian Pereira *et al.* (2013), yang melaporkan bahwa populasi khamir lebih tinggi pada fermentasi kakao menggunakan wadah kotak kayu dibandingkan wadah tanki stainless steel. Pada wadah kotak kayu, khamir masih terdeteksi hingga hari ke-6, sedangkan pada stainless steel populasi khamir tidak lagi terdeteksi pada hari ke-5 (jam ke-108). Kondisi ini menunjukkan bahwa sifat fisik wadah kayu mendukung keberlangsungan fase khamir. Sebaliknya, pada fermentasi biji kakao menggunakan wadah daun pisang tidak ditemukan pertumbuhan khamir. Hal ini diduga karena daun pisang kurang mampu mempertahankan panas serta permeabilitas oksigen yang tinggi. Daun pisang mudah mengalami pelayuan dan tidak memberikan isolasi termal yang baik, sehingga kelembapan pulp lebih cepat menurun. Penurunan kadar air dan substrat gula menyebabkan sumber nutrisi khamir terbatas, sehingga khamir tidak mampu tumbuh sampai akhir fermentasi (Gonibala *et al.*, 2019). Selain itu, struktur daun pisang yang tipis dan terbuka menyebabkan oksigen

lebih mudah masuk ke massa fermentasi, sehingga aktivitas bakteri asam asetat meningkat. Kondisi asam asetat yang tinggi serta penurunan pH yang terlalu cepat dapat menyebabkan sel khamir mengalami kematian atau tidak mampu berkembang hingga akhir fermentasi (Dadie *et al.*, 2010).

Total Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang berperan penting pada fermentasi biji kakao setelah khamir. Bakteri asam laktat sudah ada dari awal fermentasi, namun puncak maksimum pertumbuhannya terjadi pada jam ke-24 hingga jam ke-48 (Korcari *et al.*, 2023). Bakteri asam laktat berperan dalam mengubah gula dan asam sitrat menjadi asam laktat, serta berkontribusi dalam menurunkan pH pada pulp biji kakao. Bakteri asam laktat akan menghasilkan asam laktat, asam asetat, dan mannitol yang mendukung pembentukan prekursor rasa coklat (Ho *et al.*, 2015).

Jumlah bakteri asam laktat tertinggi ditemukan pada perlakuan karung plastik yaitu $9,9 \times 10^7$ CFU/g (Tabel 1.). Tingginya bakteri asam laktat pada karung plastik diduga disebabkan oleh kondisi semi-anaerob dan akumulasi cairan fermentasi, yang sangat mendukung pertumbuhan BAL. Menurut Vuyst & Weckx (2016), bakteri asam laktat tumbuh optimal pada lingkungan dengan oksigen terbatas dan ketersediaan substrat yang cukup. Hal ini juga didukung oleh Gusriani & Koto, (2022), yang melaporkan bahwa permeabilitas oksigen pada karung plastik lebih rendah dibandingkan pada kotak kayu, sehingga mendukung kondisi pertumbuhan bakteri asam laktat. Namun, jika jumlah BAL mendominasi tanpa adanya keseimbangan dengan mikroorganisme lain maka dapat menghambat tahapan fermentasi berikutnya. Spesies bakteri asam laktat yang dominan ditemukan pada fermentasi biji kakao adalah *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Lactobacillus fermentum* (Nasser & Niamke, 2017).

Jumlah BAL terendah terdapat pada besek bambu dan kotak plastik PS. Pada fermentasi biji kakao menggunakan wadah besek bambu jumlah BAL yang rendah diduga karena permeabilitas oksigen yang tinggi, sehingga menciptakan kondisi yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Hal ini juga didukung oleh penelitian Schwan & Wheals (2004), yang menyatakan bahwa aerasi pada besek bambu sangat tinggi, sehingga bakteri asam laktat yang tumbuh lebih rendah dibandingkan pada kantong plastik. Penelitian dari Sionek *et al.* (2024), juga menyatakan bahwa oksigen dapat menyebabkan stress oksidatif yang bersifat toksik pada bakteri asam laktat. Begitupula Pada fermentasi biji kakao menggunakan wadah kotak plastik PS, jumlah bakteri asam laktat rendah karena permeabilitas oksigen tinggi yang menyebabkan kondisi oksigen melimpah sehingga pertumbuhan BAL terhambat. Pereira *et al.* (2013), juga melaporkan bahwa populasi bakteri asam laktat 3 kali lebih rendah pada kotak polystirena (PS) dibandingkan pada kantong polietilen, disebabkan drainase pulp yang cepat dan permeabilitas oksigen yang tinggi.

Total Bakteri Asam Asetat

Bakteri asam asetat merupakan bakteri yang berperan penting pada fermentasi biji kakao selain khamir dan bakteri asam laktat. Pertumbuhan optimum bakteri asam asetat terjadi pada jam ke-72 fermentasi (Rahayu *et al.*, 2021). Peran bakteri asam asetat pada fermentasi biji kakao, yaitu mengoksidasi etanol menjadi asam asetat yang menyebabkan peningkatan suhu dan kematian pada embrio biji kakao serta memicu proteolisis prekursor rasa coklat. Preteolisis rasa coklat merupakan proses pemecahan protein biji kakao oleh enzim endogenous yang menghasilkan peptide dan asam amino bebas yang menjadi bahan baku reaksi maillard saat roasting biji kakao (Lima *et al.*, 2021).

Jumlah bakteri asam asetat tertinggi diperoleh pada wadah daun pisang, yaitu $8,7 \times 10^6$ CFU/g (Tabel 1.). Tingginya jumlah bakteri asam asetat diduga karena daun pisang memiliki permeabilitas oksigen yang tinggi. Bakteri asam asetat membutuhkan oksigen untuk mengubah etanol menjadi asam asetat, sehingga BAA tumbuh paling tinggi pada wadah daun pisang dengan sifatnya yang memungkinkan oksigen masuk lebih optimal dibandingkan wadah yang lainnya. Selain itu daun pisang juga dapat mengalirkan cairan pulp yang berlebih yang menyebabkan kondisi fermentasi tidak terlalu lembab sehingga dapat mengurangi dominasi bakteri anaerob seperti asam laktat yang bersaing

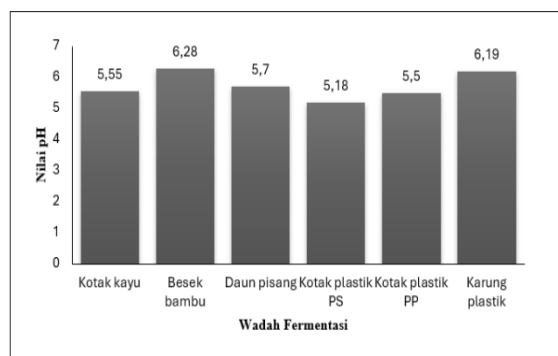
dengan bakteri asam asetat (Dadie *et al.*, 2010). Menurut Schwan (1998), ketersediaan oksigen merupakan faktor utama yang menentukan pertumbuhan bakteri asam asetat selama fermentasi kakao.

Sebaliknya pada wadah kotak plastik PP populasi bakteri asam asetat tumbuh paling rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sifat plastik PP yang kedap udara, sehingga menghalangi proses pertukaran oksigen. Sifat plastik PP yang kurang permeabel terhadap oksigen, mengakibatkan kondisi fermentasi cenderung anaerob, sedangkan bakteri asam asetat membutuhkan oksigen untuk mengubah etanol menjadi asam asetat. Hal ini juga didukung oleh penelitian Mulyawan *et al.* (2019), yang menyatakan bahwa plastik PP yang memiliki permeabilitas O₂ rendah cocok digunakan sebagai kemasan untuk memperpanjang daya simpan makanan. Adapun spesies bakteri asam asetat yang paling umum ditemukan pada fermentasi biji kakao adalah *Acetobacter pasteurianus*. Selain itu terdapat genus lain juga seperti *Acetobacter tropicalis*, *Acetobacter okinawensis*, *Acetobacter malorum*, *Acetobacter syzygii*, dan *Gluconobacter frateurii* (Celso *et al.*, 2021).

Mutu Kimia

Nilai pH

Nilai pH atau derajat keasaman merupakan parameter penting dalam fermentasi biji kakao. Nilai pH berfungsi sebagai indikator utama dan pengatur kunci dalam fermentasi biji kakao, yang mempengaruhi suksesi mikroorganisme, aktivitas enzim, serta kualitas akhir produk. Di awal fermentasi, pH bersifat tidak terlalu asam sehingga mendukung pertumbuhan khamir. Kemudian mengalami penurunan pada hari kedua dan ketiga karena bakteri asam laktat yang menguraikan asam sitrat menjadi asam laktat. Setelah hari kelima pH mulai naik dikarenakan jumlah BAL yang mulai menurun dan bakteri asam asetat mulai mendominasi (Sigalingging *et al.*, 2020). Adapun pengaruh wadah fermentasi terhadap nilai pH pada biji kakao dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh Wadah Fermentasi Terhadap Nilai pH Pada Biji Kakao

Berdasarkan hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan wadah fermentasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap nilai pH biji kakao. Adapun rata-rata nilai pH dapat dilihat pada Gambar 4. Perubahan nilai pH pada fermentasi biji kakao umumnya disebabkan oleh aktivitas suksesi mikroba yang memetabolisme gula pada pulp menjadi asam organik. Sigalingging *et al.*, (2020) juga menyatakan bahwa dinamika pertumbuhan mikroba berpengaruh terhadap nilai pH. Nilai pH yang tidak berbeda nyata menunjukkan bahwa dinamika pertumbuhan mikroba seperti khamir, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat berjalan serupa pada setiap wadah fermentasi biji kakao. Nengsi *et al.* (2025), juga menyatakan bahwa nilai pH pada fermentasi biji kakao menggunakan wadah kotak kayu, *styrofoam*, dan keranjang bambu tidak berbeda nyata yaitu berkisar dari 5-6. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian Laxiana & Sugiarto (2019), yang menyatakan bahwa jenis wadah fermentasi tidak mempengaruhi nilai pH.

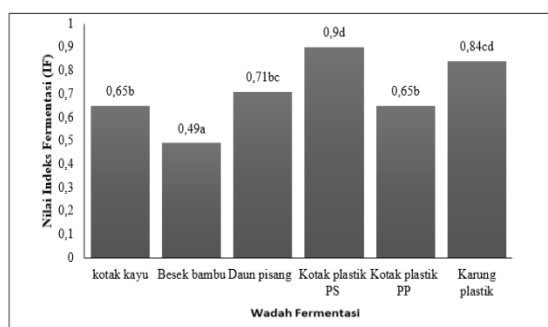
Nilai rata-rata pH fermentasi biji kakao pada Gambar 4. berkisar antara 5,18–6,28. Rentang nilai ini menunjukkan bahwa proses fermentasi pada setiap wadah berlangsung dengan cukup baik, karena pH yang dihasilkan tidak terlalu asam maupun terlalu basa, sehingga masih berada pada kondisi yang

mendukung aktivitas mikroorganisme selama fermentasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Apriyanto (2017) yang menyatakan bahwa pH fermentasi kakao umumnya berada pada kisaran 4,9–6,3 dan berperan penting dalam menentukan keberhasilan proses fermentasi. Menurut Hartuti *et al.* (2020), pH ideal selama fermentasi kakao berada pada kisaran 4,5–5,5, yang menunjukkan fase aktif pembentukan asam organik oleh mikroorganisme. Namun demikian, peningkatan pH hingga mendekati netral juga merupakan bagian dari proses fermentasi lanjutan. Kondisi ini berkaitan dengan terjadinya degradasi asam serta aktivitas enzimatis di dalam biji kakao yang berperan dalam pembentukan senyawa prekursor aroma. Aryani *et al.* (2018) menyatakan bahwa pembentukan senyawa cita rasa khas cokelat akan berlangsung lebih intensif pada pH yang mendekati netral (sekitar 6–7). Dengan demikian, nilai pH tertinggi yang mencapai 6,28 pada penelitian ini mengindikasikan bahwa proses fermentasi tidak hanya berlangsung dengan baik, tetapi juga telah mendukung tahap pembentukan aroma khas kakao.

Indeks Fermentasi

Nilai indeks fermentasi (IF) merupa kan parameter kimia yang digunakan untuk menilai tingkat keberhasilan fermentasi biji kakao berdasarkan perubahan senyawa polifenol di dalam biji. Indeks fermentasi ditentukan dari absorbansi ekstrak biji kakao pada panjang gelombang 460 nm dan 530 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 530 nm menunjukkan degradasi antosianin (warna ungu) pada biji kakao dan nilai absorbansi pada panjang gelombang 460 nm menunjukkan oksidasi polifenol (warna coklat) pada biji kakao (Febrianto & Zhu, 2020). Mohtar (2025) dan Yumas (2021), menyatakan bahwa degradasi antosianin dan oksidasi polifenol berperan penting dalam pembentukan senyawa aroma dan perubahan warna pada biji kakao.

Berdasarkan analisis ANOVA perbedaan wadah fermentasi memberikan pengaruh nyata pada nilai indeks fermentasi biji kakao, sehingga dilakukan uji lanjut BNJ. Adapun pengaruh wadah fermentasi terhadap nilai indeks fermentasi berdasarkan uji lanjut BNJ dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh Wadah Fermentasi Terhadap Nilai Indeks Fermentasi pada Biji Kakao

Nilai indeks fermentasi tertinggi terdapat pada wadah kotak plastik PS. Hal ini diduga karena sifat kotak plastik PS cenderung lebih rapat dan kurang menyerap air, sehingga panas hasil aktivitas mikroba lebih mudah terperangkap. Akibatnya suhu naik dan mempercepat kematian biji, aktivasi enzim dan difusi asam. Indarti *et al.* (2011), juga menyatakan bahwa kotak plastik memiliki konduktivitas yang rendah, sehingga suhu terperangkap lebih lama dan mengoptimalkan kematian biji. Effendi (2021), juga menyatakan bahwa wadah fermentasi yang kurang menyerap air menyebabkan indeks fermentasi lebih tinggi dibandingkan dengan kotak kayu.

Nilai indeks fermentasi terendah terdapat pada wadah besek bambu. Hal ini diduga karena sifat permeabilitas oksigen besek bambu yang tinggi, sehingga menghambat fase anaerobik aktivitas mikroba pembentuk prekursor cokelat. Oksigen yang berlebih dapat memperlambat produksi asam asetat dan asam laktat, sehingga pH turun dengan lambat menyebabkan dinding kakao kurang rusak. Akibatnya indikator fermentasi buruk dibandingkan dengan wadah plastik dan kotak kayu. Hal ini juga didukung oleh Sucipto & Handoko (2022), dimana fermentasi menggunakan besek bambu menghasilkan nilai rendemen paling rendah dibandingkan wadah kotak kayu dan wadah paralon.

Chandra & Maulida (2025), juga menyatakan bahwa fermentasi menggunakan wadah besek bambu lebih lama mencapai nilai indeks fermentasi ideal dibandingkan kotak kayu, karena permeabilitas oksigennya yang tinggi.

Beberapa faktor yang mempengaruhi nilai indeks fermentasi yaitu aktivitas mikrobiologi dan nilai pH. Nilai indeks fermentasi sangat dipengaruhi oleh keseimbangan aktivitas khamir, bakteri asam laktat (BAL), dan bakteri asam asetat (BAA), serta perubahan pH selama fermentasi. Khamir berperan pada tahap awal dengan mengubah gula menjadi etanol, yang selanjutnya dimanfaatkan oleh BAA untuk menghasilkan asam asetat. Sementara itu, BAL menghasilkan asam laktat yang berkontribusi terhadap penurunan pH. Kombinasi aktivitas ketiga mikroorganisme tersebut menyebabkan terbentuknya kondisi asam dan peningkatan suhu yang memungkinkan terjadinya difusi asam ke dalam biji kakao. Difusi asam ini berperan dalam mematikan embrio, mengaktifkan enzim endogen, serta memicu degradasi pigmen dan pembentukan senyawa prekursor aroma, yang menjadi indikator meningkatnya nilai indeks fermentasi.

Namun demikian, keberhasilan fermentasi tidak ditentukan oleh tingginya jumlah salah satu mikroorganisme saja, melainkan oleh keseimbangan aktivitas ketiganya. Jumlah BAL dan BAA yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kondisi terlalu asam, sehingga menghambat aktivitas enzim, sedangkan jumlah yang terlalu rendah dapat menyebabkan fermentasi tidak berlangsung sempurna. Oleh karena itu, kondisi keasaman yang moderat (pH sekitar 5–6) menjadi penting untuk mendukung reaksi enzimatik tanpa menghambat aktivitas mikroorganisme. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara jumlah mikroorganisme dan perubahan pH selama fermentasi berperan penting dalam menentukan tinggi rendahnya nilai indeks fermentasi biji kakao. Pernyataan ini didukung oleh Schwan dan Wheals (2004) yang menyatakan bahwa keberhasilan fermentasi kakao ditentukan oleh suksesi mikroba yang seimbang antara khamir, BAL, dan BAA. Selain itu, Afoakwa (2010) menjelaskan bahwa perubahan pH dan pembentukan asam organik selama fermentasi berperan penting dalam aktivasi enzim dan pembentukan prekursor aroma. Lebih lanjut, Ho *et al.* (2014) menyatakan bahwa interaksi antara produksi etanol, asam laktat, dan asam asetat serta peningkatan suhu fermentasi merupakan faktor utama yang menentukan kualitas fermentasi biji kakao.

Berdasarkan Gambar 4., nilai fermentasi paling tinggi yaitu 0,9 pada wadah kotak plastik PS. Nilai ini sebenarnya belum menunjukkan terjadinya fermentasi secara sempurna pada biji kakao. Deb *et al.* (2025), menyatakan bahwa nilai indeks fermentasi yang kurang dari 1 menunjukkan fermentasi yang belum sempurna, sedangkan nilai indeks fermentasi sama dengan atau lebih dari 1 berarti fermentasinya berjalan dengan sempurna. Hasil ini memperlihatkan bahwa fermentasi biji kakao pada semua wadah belum berjalan secara sempurna. Faktor utama penyebab nilai IF <1 diduga karena suhu fermentasi yang terlalu rendah atau belum mencapai suhu optimum (45–50°C). Suhu optimal sekitar 45–50°C meningkatkan penetrasi asam, mengaktifkan enzim seperti polifenol oksidase untuk mengurangi kepahitan (Khaerunnisa *et al.*, 2023).

Menurut Nasrillah (2018), salah satu cara untuk meningkatkan nilai indeks fermentasi pada biji kakao adalah dengan menambahkan starter seperti *Lactobacillus plantarum*. Nasrillah (2018), menunjukkan nilai IF biji kakao tanpa starter bernilai 0,94 sedangkan biji kakao yang diberikan starter *Lactobacillus plantarum* memiliki nilai IF lebih dari satu. Selain itu, Deb *et al.* (2025) juga menyatakan bahwa penyimpanan buah sebelum fermentasi juga memiliki korelasi positif terhadap kenaikan nilai indeks fermentasi. Selama penyimpanan buah terjadi penguapan air dan inversi sukrosa yang menyebabkan volume pulpa per biji menyusut, sehingga sirkulasi udara (mikro-aerasi) dalam massa fermentasi menjadi lebih baik. Kondisi ini secara tidak langsung meningkatkan aktivitas enzim polifenol oksidase yang bertanggung jawab dalam mengoksidasi polifenol, sehingga meningkatkan nilai IF dan memperbaiki perubahan warna coklat pada keping biji kakao.

KESIMPULAN

Perbedaan wadah fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap nilai Indeks Fermentasi (IF) tetapi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap nilai pH. Perbedaan wadah fermentasi juga

menghasilkan pertumbuhan khamir, BAL dan bakteri asam asetat yang berbeda. Berdasarkan nilai IF nya fermentasi Wadah kotak plastik polistirena (PS), sedangkan nilai terendah terdapat pada wadah besek bambu. Berdasarkan nilai indeks fermentasi (IF) didapatkan wadah terbaik untuk fermentasi biji kakao varietas *Forastero* yaitu kotak plastik PS karena nilai IF nya paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O. 2010. Chocolate science and technology. Wiley-Blackwell.
- Apriyanto, M. 2017. Perubahan pH, keasaman dan indeks fermentasi biji kakao selama fermentasi hasil biji kakao (*Theobroma cacao* L.). Jurnal Teknologi Pertanian 6(1): 12–18. <https://doi.org/10.32520/jtp.v6i1.97>
- Apriyanto, M., Sutardi, S., Supriyanto, S., & Harmayani, E. 2018. Fermentasi Biji Kakao Kering Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti*. Agitech 37(3): 302–311. <https://doi.org/10.22146/agitech.17113>
- Aris, S. E., Jumiono, A., Magister, P., Pangan, T., Pascasarjana, S., & Djuanda, U. 2020. Faktor-Faktor Pasca Panen. Jurnal Ilmiah Pangan Halal 2(2): 73–78.
- Ariyanti, M. 2017. Karakteristik mutu biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan perlakuan waktu fermentasi berdasar SNI 2323-2008. Jurnal Industri Hasil Perkebunan 12(1): 34–42.
- Aryani, N. L. P. N. A., Yulianti, N. L., & Arda, G. 2018. Characteristics of Cocoa Beans on Small Capacity Fermentation Results Based on Different Types of Containers and Different Fermentation Lengths. Jurnal BETA (Biosistem dan Teknik Pertanian) 6(1): 17–24.
- Badan Pusat Statistik. 2019. Statistik Kakao Indonesia 2018. Jakarta. Badan Pusat Statistik.
- Badan Pusat Statistik. 2025. Produksi perkebunan rakyat menurut jenis tanaman di Provinsi Nusa Tenggara Barat. <https://ntb.bps.go.id>
- Camu, N., De Winter, T., Addo, S. K., Takrama, J. S., Bernaert, H., & De Vuyst, L. 2008. Fermentation of Cocoa Beans: Influence of Microbial Activities and Polyphenol Concentrations on The Flavour of Chocolate. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88: 2288–2297. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3349>
- Celso, G., Chagas, A., Ferreira, N. R., & Lopes, A. S. 2021. The microbiota diversity identified during the cocoa fermentation and the benefits of the starter cultures use: An overview. International Journal of Food Science & Technology 56: 544–552. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14740>
- Chandra, Y. R., & Maulida, I. D. 2025. Evaluasi teknologi fermentasi kakao dan potensi penerapan pada skala komunal di pedesaan. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Seri IV 2(2): 329–346.
- Dadie, T., Koffi, K. P. B., Ban-koffi, L., Kedjebo, K. D., & Guehi, T. S. 2010. Performance of different fermentation methods and the effect of their duration on the quality of raw cocoa beans. International Journal of Food Science & Technology 45(12): 2508–2514. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02424.x>
- Deb, K., Das, S., Medda, P. S., Sit, A. K., & Apshara, E. 2025. Evaluation of seven *Theobroma cacao* clones grown in Terai region of India for nutritional composition and bioactive compounds. Scientific reports, 15 (35949): 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-02406-z>
- Febrianto, N.A., & Zhu, F. 2020. Changes in the composition of methylxanthines, polyphenols, and volatiles and sensory profiles of cocoa beans from the sul 1 genotype affected by fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry. <https://pubs.acs.org/action/showCitFormats?doi=10.1021/acs.jafc.0c02909&ref=pdf>
- Fitriani, L., Widyastuti, S., & Yasa, I.W.S. 2024. Pengaruh lama fermentasi dan penambahan ragi tape terhadap Mutu biji kakao (*Theobroma cacao* L.) kering oven. Edufood 2(3): 49–60.

- Gonibala, M., Rawung, H., & Ludong, M. M. 2019. Kajian fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan fermentor tipe kotak dinding ganda dengan aerasi. *COCOS* 10(3). <https://doi.org/10.35791/cocos.v1i1.22508>
- Gusriani, I., & Koto, H. 2022. Mikroba yang terlibat selama fermentasi kakao menggunakan kotak fermentasi sederhana. *Seminar Nasional Pertanian Pesisir* 1(1): 185–194.
- Gutiérrez-Ríos, H. G., Suárez-Quiroz, M. L., Hernández-Estrada, Z. J., Castellanos-Onorio, O. P., Alonso-Villegas, R., Rayas-Duarte, P., Cano-Sarmiento, C., Figueroa-Hernández, C. Y., & González-Rios, O. 2022. Yeasts as Producers of Flavor Precursors during Cocoa Bean Fermentation and Their Relevance as Starter Cultures: A Review. *Fermentation* 8(7): 1-18. <https://doi.org/10.3390/fermentation8070331>
- Hartuti, S., Juanda, & Khathir, S. 2020. Upaya peningkatan kualitas biji kakao (*Theobroma cacao* L.) tahap penanganan pascapanen (ulasan). *Jurnal Industri Hasil Perkebunan* 15(2): 38-52.
- Ho, V. T. T., Zhao, J., & Fleet, G. 2015. The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 205: 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.031>
- Indarti, E., Widayat, H. P., & Zuhri, N. 2011. Effect of fermentation container and thickness of bean mass during fermentation process of cocoa bean. *Proceedings of The Annual International Conference Syiah Kuala University* 1(1): 64–69.
- Junus, M., Widodo, A. S., Suprpto, W., & Zamrudy, W. 2014. Peranan Aerasi dan Silika Serta Lama Pemeraman Terhadap Kandungan Unsur Hara Pupuk Cair Lumpur Organik Unit Gas Bio. *Jurnal Ternak Tropika* 15(1): 1–12.
- Karinawantika, E. I. 2015. Karakteristik Fisik dan Kimia Biji Kakao Hasil Fermentasi Dalam Wadah Karung Plastik di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. *In Digital Repository Univeritas Jember* (Vol. 3, Issue 3).
- Khaerunnisa, K., Rosniati, R., & Kalsum, K. 2023. Physical and Chemical Characteristics of Sulawesi Cocoa Beans 2 (*Theobroma cacao* L.) Fermented and Unfermented Result. *Warta AKAB* 47(2). <https://doi.org/10.55075/wa.v47i2.205>
- Korcari, D., Fanton, A., Ricci, G., Rabitti, N. S., Laureati, M., Hogenboom, J., Pellegino, L., Emide, D., Barbiroli, A., & Fortina, M. G. 2023. Fine Cocoa Fermentation with Selected Lactic Acid Bacteria: Fermentation Performance and Impact on Chocolate Composition and Sensory Properties. *Foods* 12(2): 1-15. <https://doi.org/10.3390/foods12020340>
- Kustyawati, M. E., & Setyani, S. 2008. *Fermentasi kakao*. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Laxiana, I., & Sugiarto, R. 2019. Fermentasi biji kakao rakyat menggunakan kotak modifikasi dengan variasi lama pemeraman buah. *JITIPARI (Jurnal Ilmiah Teknologi dan Industri Pangan UNISRI)* 3(2): 159-165. <https://doi.org/10.33061/jitipari.v3i2.2699>
- Lima, C. O. D. C., Vaz, A. B. M., Castro, G. M. De, Lobo, F., Solar, R., Rodrigues, C., Roberto, L., Pinto, M., Vandenberghe, L., Pereira, G., Guimar, R., Paula, A., Uetanabaro, T., & Soccol, C. R. 2021. Integrating microbial metagenomics and physicochemical parameters and a new perspective on starter culture for fine cocoa fermentation. *Food Microbiology* 93: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103608>
- Liszkowska, W., & Berlowska, J. 2021. Yeast Fermentation at Low Temperatures: Adaptation to Changing Environmental Conditions and Formation of Volatile Compounds. *Molecules* 26(1035): 1–21.
- Mohtar, S. N. M. 2025. Fermentasi Biji Kakao Kering Tanpa Fermentasi dengan Memanfaatkan Mikroba Indigenus dan Sumber Karbon dari Nira Aren. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Teknologi Pertanian* 2(1): 36–49.
- Mulyawan *et al.* 2019. Pengaruh Teknik Pengemasan Dan Jenis Kemasan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 22: 3–3.

- Muñoz, C. D.-. 2022. Functional yeast starter cultures for cocoa fermentation. *Journal of Applied Microbiology* 133(1): 39–66. <https://doi.org/10.1111/jam.15312>
- Myk, O. &. 2023. *Kakao Indonesia: Produksi, Tantangan dan Peluang*. Balai Pengelola Hasil Perakitan Dan Modernisasi Pertanian. <https://pengelolahasil.brmp.pertanian.go.id/berita/kakao-indonesia-produksi-tantangan-dan-peluang>
- Nasrillah, H. 2018. Pengaruh lama fermentasi dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* terhadap mutu biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Skripsi*, Universitas Mataram.
- Nasser, W., & Niamke, S. L. 2017. Lactic acid bacteria involved in cocoa beans fermentation from Ivory Coast: Species diversity and citrate lyase production. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.05.008>
- Nengsi, S., Wahyudi, V. A., & Warkoyo. 2025. Pengaruh perbedaan jenis wadah fermentasi terhadap keberhasilan fermentasi dan kualitas biji kakao: Review. *Agointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 19(3). <https://doi.org/10.21107/agointek.v19i3.25366>
- Pereira, G. V. De M., Magalhães, K. T., Almeida, E. G. De, Coelho, I. Da S., & 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(2): 121-133. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.018>
- Pertanian, K. 2012. *Pedoman teknis penanganan pasca panen kakao*. Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Rahayu, E. S., Triyadi, R., Khusna, R. N. B., Djaafar, T. F., Utami, T., Marwati, T., & Hatmi, R. U. 2021. Indigenous Yeast, Lactic Acid Bacteria, and Acetic Acid Bacteria from Cocoa Bean Fermentation in Indonesia Can Inhibit Fungal-Growth-Producing Mycotoxins. *MDPI: Fermentation* 12(192): 1-12.
- Rasadi, Y. 2015. Karakteristik fisik dan kimia Biji Kakao hasil Fermentasi Variasi Wadah kotak Kayu, Krat Plastik dan Daun Pisang di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. *Skripsi*, Jember: Universitas Jember.
- Roos, J. De, Veken, D. Van der, & Vuyst, L. De. 2019. The Interior Surfaces of Wooden Barrels Are an Additional Microbial Inoculation Source for Lambic Beer Production. *Food Microbiology* 85(1): 1–18.
- Sarbu, I., & Csutak, O. 2019. *The microbiology of cocoa fermentation*. In A. M. Gumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Caffeinated and cocoa based beverages* (Vol. 8, pp. 423–446). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815864-7.00013-1>
- Schwan, R. F. 1998. Cocoa Fermentations Conducted with a Defined Microbial Cocktail Inoculum. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1477–1483. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.4.1477-1483.1998>
- Schwan, R. F., & Fleet, G. H. (Eds.). 2015. *Cocoa and coffee fermentations*. CRC Press.
- 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*. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>
- Sigalingging, H. A., Putri, S. H., & Iflah, T. 2020. Perubahan fisik dan kimia biji kakao selama fermentasi (pH Tumpukan Biji, Kadar Air, Indeks Fermentasi, Kadar Abu dan Uji Gade Biji). *Jurnal Industri Pertanian* 2(2): 158–165. <http://jurnal.unpad.ac.id/justin/article/view/24113>
- Sionek, B., Szydłowska, A., Trzaskowska, M., & Kołożyn-Krajewska, D. 2024. The Impact of Physicochemical Conditions on Lactic Acid Bacteria Survival in Food Products. *Fermentation* 10(6): 1–17. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060298>

- Sucipto, C. W. V., & Handoko, Y. A. 2022. Analisis perbandingan kualitas biji kakao dengan berbagai wadah fermentasi menggunakan kultur campur. *Teknotan* 16(3): 182. <https://doi.org/10.24198/jt.vol16n3.8>
- Vuyst, L. De, & Weckx, S. 2016. The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology* 121(1): 5–17. <https://doi.org/10.1111/jam.13045>
- Widyotomo, S., & Mulato, S. 2008. *Teknologi fermentasi dan diversifikasi produk kakao*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Yumas, M. 2021. Fermentasi Singkat Biji Kakao Menggunakan Kultur Campuran Jenis Bionka. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan* 16(2): 59-69. <https://doi.org/10.33104/jihp.v16i2.7>