

## Pengaruh Penambahan Ragi NKL dan Waktu Fermentasi terhadap Populasi Mikroorganisme selama Fermentasi Biji Kakao

### *Effect of NKL Yeast Addition and Fermentation Time on Microorganism Populations during Cocoa Bean Fermentation*

Mulono Apriyanto<sup>1\*</sup>, Priambada<sup>2</sup>, Mohammad Imam Sufiyanto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Indragiri

<sup>2</sup>Program Studi Teknik Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, INSTIPER Yogya

<sup>3</sup>Program Studi IPA, Fakultas Tarbiyah, IAIN Madura

\*email: mulonoapriyanto71@gmail.com

*Submitted: 22 Desember 2022 Revised: 2 Januari 2023 Accepted: 3 Januari 2023*

#### ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ragi NKL dan waktu fermentasi terhadap perubahan warna keping biji kakao yang dihasilkan selama fermentasi. Penelitian menggunakan perlakuan pertama (A0) tanpa inokulasi (kontrol), perlakuan kedua (A1) dengan penambahan ragi NKL 2% diberikan pada awal fermentasi, perlakuan ketiga (A2) penambahan NKL 0,5% awal fermentasi kemudian ditambahkan 0,5% pada 24 jam selanjutnya, dan 1% NKL ragi pada 48 jam sebagai persentase berat ragi/berat biji kakao segar. Fermentasi dilakukan selama 120 jam. Populasi mikrobia diukur menggunakan metode *pour plate*, perubahan warna keping biji menggunakan *Cut Test*. Penelitian menghasilkan populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. aceti* tertinggi diantara ketiga perlakuan pada fermentasi 24, 48 dan 72 jam. Keping biji warna coklat (A0), (A1) dan (A2) terbanyak pada perlakuan (A2) yaitu 97,01%.

**Kata kunci:** Fermentasi, Ragi NKL, *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti*

#### ABSTRACT

*The purpose of this study was to determine the effect of NKL yeast addition and fermentation time on discoloration to cocoa bean ping produced during fermentation. The study used the first treatment (A0) without inoculation (control), the second treatment (A1) with the addition of 2% NKL yeast given at the beginning of fermentation, the third treatment (A2) the addition of NKL 0.5% initial fermentation then added 0.5% in the next 24 hours, and 1% NKL yeast at 48 hours as a percentage of yeast weight / weight of fresh cocoa beans. Fermentation is carried out for 120 hours. Microbial populations were measured using the pour plate method, discoloration of seed chips using the Cut Test. The study resulted in the highest populations of *S. cerevisiae*, *L. lactis* and *A. aceti* among the three treatments at 24, 48 and 72-hour fermentation. The most brown (A0), (A1) and (A2) seed chips in the treatment (A2) were 97.01%.*

**Keywords:** Fermentation, Ragi NKL, *S. cerevisiae*, *L. lactis*, and *A. aceti*

## PENDAHULUAN

Sulawesi (63,8%), Sumatera (16,3%), Jawa (5,3%), Nusa Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat, dan Bali (4,0%), Kalimantan (2,6%), Maluku, dan Papua adalah beberapa provinsi memiliki perkebunan kakao (Hartono, 2020). Pada tahun 2019 produksi biji kakao Indonesia turun drastis menjadi 340.000 ton dari 557.000 ton di 2018, kemudian di 2020 lagi turun menjadi 240.000 ton, kemudian jumlah produksi di 2019 naik sedikit menjadi 425,00 ton (Hartono, 2020). Biji kakao yang dihasilkan petani tidak terfermentasi mengakibatkan rendahnya produktivitas saat dijual. Biji kakao segar ditingkat petani terdiri 2 proses penanganan yaitu terfermentasi dan tidak terfermentasi (Aprilia & Apriyanto, 2021, Hartuti *et al.*, 2018).

Flavor khas kakao terbentuk saat fermentasi menjadikan fermentasi sebagai factor terpenting dalam pembentukan prekursor flavor (Hartuti *et al.*, 2018; Parra *et al.*, 2018). Senyawa prekursor flavor akan terbentuk seiring proses mikrobial meombak biomassa pada biji kakao saat fermentasi. Sebelum dilakukan fermentasi maka biji kakao memiliki cita rasa sepat (*astrigent*) dan pahit (*bitter*) dan tanpa ditandai oleh aroma coklat yang spesifik (khas) (Misnawi *et al.*, 2017).

Proses fermentasi terjadi dibagian luar dengan metabolisme mikrobial dan bagian dalam biji merupakan proses enzimatik mendegradasi protein (Apriyanto & Novitasari, 2021; Camila *et al.*, 2019). Tahap fermentasi dibagian luar biji terjadi pada bagian *pulp* dan tahap ini merupakan tahap terjadinya perombakan massa *pulp* secara alami oleh mikrobial kontaminan dari lingkungan tempat fermentasi. Mikrobial kontaminan antara lain *yeast*, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat yang berperan terjadinya fermentasi (Maigua, 2020; Sobotta, 2019).

Kegagalan fermentasi dapat disebabkan seperti 1). rendahnya populasi mikrobial sehingga menurunkan keberhasilan suksesi mikrobial yang terlibat dalam fermentasi (Masriany *et al.*, 2020), 2). lama fermentasi mempengaruhi populasi dan proses perubahan selama fermentasi.

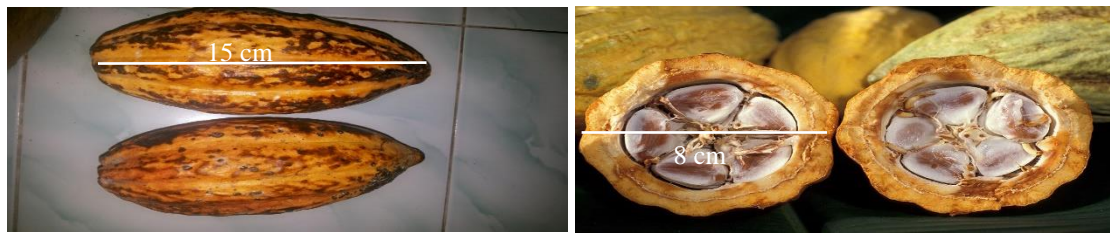
Sebuah penelitian telah menunjukkan bahwa keping biji kakao yang dihasilkan selama fermentasi biji kakao mengandung berbagai macam mikroba, termasuk ragi dan bakteri asam laktat (Rahmadi *et al.*, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ragi NKL dan waktu fermentasi terhadap perubahan warna keping cokelat biji kakao.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2022 sampai dengan November 2022 di Laboratorium Teknologi Pangan, Universitas Islam Indragiri.

### Alat dan Bahan

Buah kakao jenis lindak (*bulk cacao*) diperoleh dari Desa Pekan Kamis, Kecamatan Batang Tuaka, Indragiri Hilir dengan karakteristik yang dimiliki seperti pada gambar 1 Ragi NKL didapat dari pasar tradisional di Kota Tembilahan Indragiri Hilir dalam bentuk butiran.

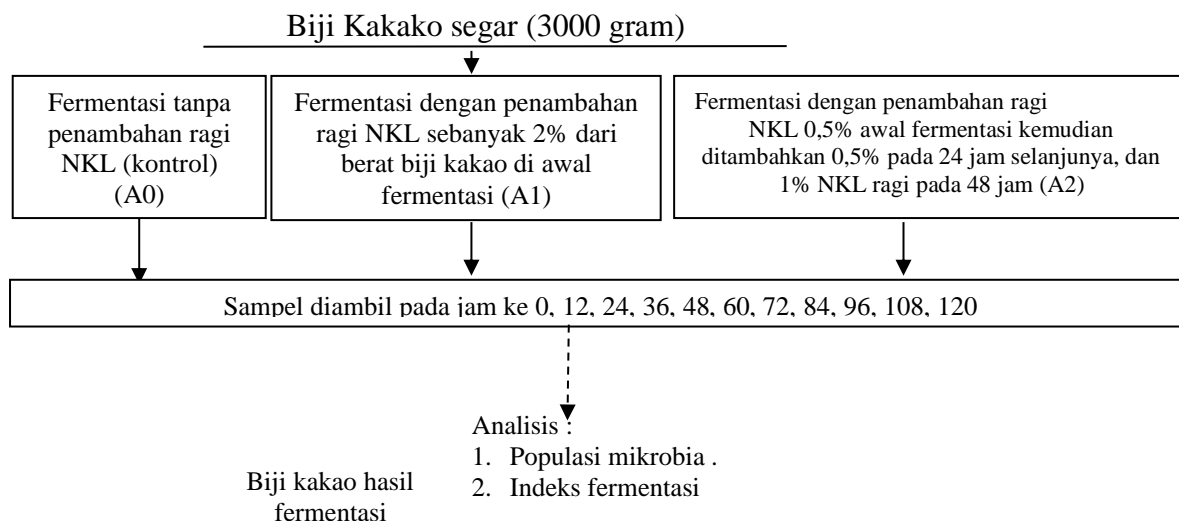


**Gambar 1.** Buah kakao masak optimal yang digunakan untuk penelitian

Buah kakao yang matang secara optimal dapat ditandai sebagai buah telah berubah warna sepenuhnya, dari hijau menjadi kuning saat matang, atau dari yang saat mentah. Kakao mengeluarkan suara jika dikocok atau dikocok dan mulai mengering dan mengering. Bahan kimia yang digunakan kategori *Pro Analyst (PA-Grade)*. Fermentasi biji kakao kering menggunakan botol reagen duran tutup biru 250ml. MRS *broth (Oxid)*, agar-agar, NaCl, CaCO<sub>3</sub>, 90% etanol dan Pb asetat sebagai reagen.

**Tahapan penelitian dan pengambilan sampel**

Cara fermentasi biji kakao mengacu penelitian [Apriyanto, \(2016\)](#) yaitu pertama (A0) tanpa inokulasi (kontrol), perlakuan kedua (A1) dengan penambahan ragi NKL 2% diberikan pada awal fermentasi, perlakuan ketiga (A2) ragi NKL 0,5% dengan interval awal fermentasi , 0,5% NKL ragi pada awal 24 jam dan 1% NKL ragi pada 48 jam sebagai persentase berat ragi/berat biji kakao segar. Tahapan penelitian terlihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Variasi teknik fermentasi dan evaluasi hasil fermentasi

Setiap variasi teknik fermentasi menggunakan biji kakao sebanyak 3000 gram selanjutnya difermentasi selama 120 pada kotak fermentasi. Setiap 24 jam diambil 100 butir biji kakao hasil fermentasi, selanjutnya diukur populasi mikrobianya dan perubahan warna keping bijinya.

### Parameter Analisis

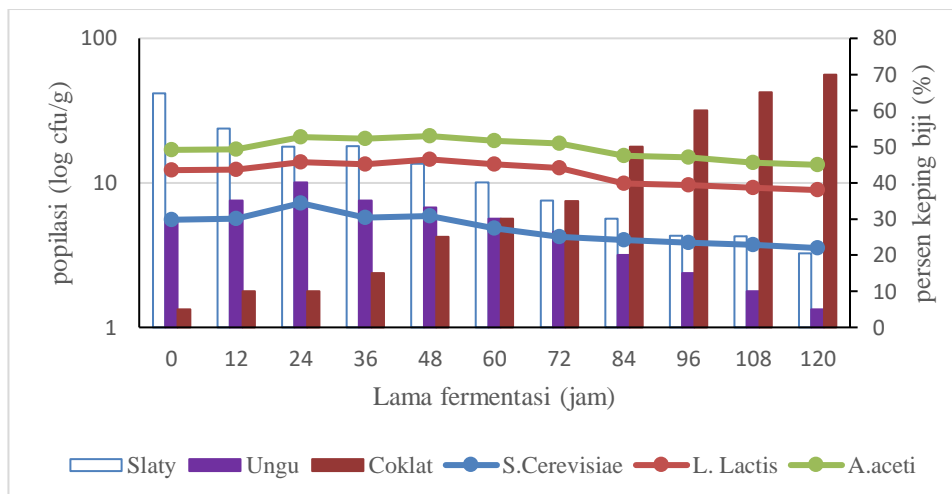
Parameter yang diamati adalah populasi mikrobia menggunakan pour plate (Kustyawati *et al.*, 2012), perubahan warna keping biji *Cut Test* (Mulato *et al.*, 2005).

Penelitian menggunakan rancangan percobaan acak lengkap, data yang didapat uji statistik menggunakan *one way anova* dengan signifikansi 95% jika berbeda dilakukan uji lanjut menggunakan uji LSD (*least Significant different*) menggunakan program SPSS 17.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Populasi Mikrobia (*S. cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. aceti*)

Selama fermentasi *pulp* yang melapisi luar biji kakao yang kaya kandungan gula diubah menjadi *etanol* oleh *yeast* yang diikuti oleh aktivitas, bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat.



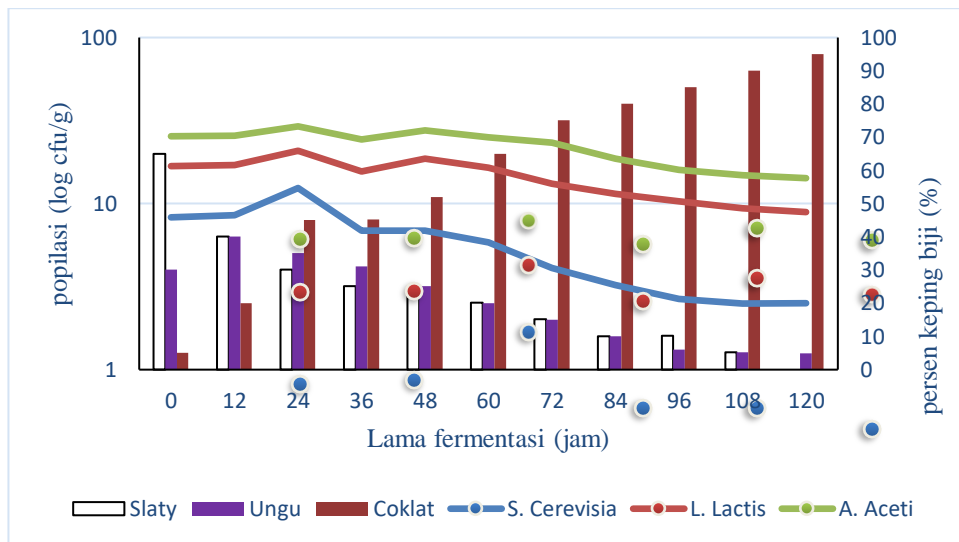
**Gambar 3.** Hubungan populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* terhadap persen keping biji selama fermentasi hasil perlakuan kontrol.

*S. cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. aceti* naik 7,24 log (cfu/g) setelah 24 jam fermentasi dan 6,71 log setelah 48 jam dalam percobaan 72 jam. Ada kemungkinan bahwa pengaturan suhu sekitar akan optimal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae*. Santos *et al.*, (2021), Putra & Wartini (2019) dan Vuys & Leroy, (2020) menyatakan pergeseran populasi terdeteksi pada *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* sebagai respon terhadap perlakuan kontrol untuk fermentasi *pulp* biji kakao, menunjukkan bahwa suhu optimal dan kondisi pH aktivitas enzim *polygalaturonase* (PG) akan mengakibatkan depolimerisasi *pulp* biji kakao.

Berdasarkan gambar 3 diawali *S. cerevisiae* di awal fermentasi dengan populasi tertinggi pada perlakuan A1 dimana pertumbuhannya didukung oleh kondisi lingkungan dengan oksigen terbatas dan tersedianya gula dalam *pulp* yang memadahi pH lingkungan rendah, kandungan asam sitrat *pulp* relatif tinggi sejalan penelitian (Maigua, 2020) mengevaluasi fermentasi biji kakao *unfermented* dengan tetes tebu, *yeast* dan bakteri asam asetat.

Fermentasi spontan dipengaruhi oleh mikroba kontaminan dari lingkungan sesaat biji kakao dikeluarkan dari podnya. Mikroba yang tumbuh dan berkembang biak selama fermentasi biji kakao adalah *S. cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. aceti*. Hal ini dikuatkan oleh pendapat Afoakwa *et al.*, (2014) dan Beckett, (2019).

Populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* pada awal fermentasi dalam perlakuan ragi NKL penelitian ini adalah 8,28, 8,58, dan 8,57 log (cfu/g) (Gambar 4). Setelah 24 jam fermentasi, populasi organisme ini meningkat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.

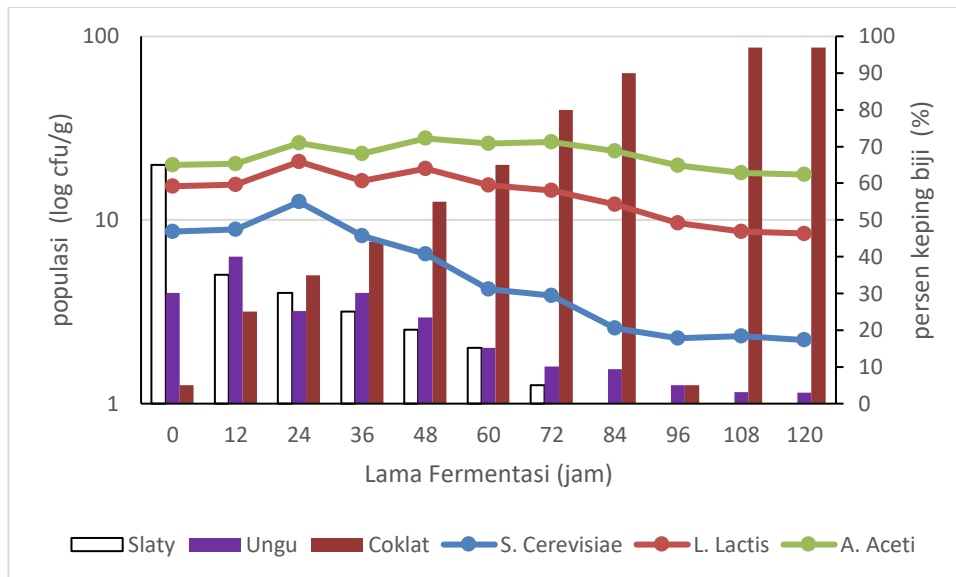


**Gambar 4.** Hubungan populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* dengan persen keripik biji selama fermentasi sebagai hasil penambahan ragi NKL 2% pada awal fermentasi.

Setelah 24 jam fermentasi, lingkungan tidak lagi cocok untuk *S. cerevisiae*, dan perannya digantikan oleh *L. lactis* dan *A. aceti*. Jumlah gula dalam substrat relatif rendah, aerasi meningkat, dan konsentrasi etanol tinggi. Kustyawati *et al.* (2012) mengevaluasi penambahan *S. cerevisiae* (FNCC 3056), *L. lactis* (FNCC 0086), dan *A. aceti* (FNCC 0016) dalam proses fermentasi biji kakao segar varietas lindak. Peningkatan populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* setuju dengan hasil mereka.

Temuan penelitian ini juga konsisten dengan temuan Afoakwa *et al.* (2016), yang menyelidiki peningkatan proses fermentasi dengan menambahkan molase, ragi, bakteri asam laktat, dan bakteri asam asetat. *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* mengalami peningkatan log berurutan sebesar 6,54, 12,53, dan 8,73 setelah 48 jam fermentasi. Populasi organisme ini meningkat sebesar 12,55, 8,23, dan 5,53 log pada 24 jam.

Perubahan populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. Aceti* selama fermentasi dipengaruhi oleh jumlah bahan yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhannya (Kustyawati *et al.*, 2012). Di awal fermentasi sampai jam ke 24 populasi *S. Cerevisiae* mengalami peningkatan hal ini karena kandungan gula pada *pulp* masih tinggi selanjutnya mengalami penurunan seiring meningkatnya kandungan alkohol hasil metabolisme *S. Cerevisiae*.



**Gambar 5.** Hubungan populasi *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* terhadap persen keping biji selama fermentasi hasil perlakuan penambahan ragi NKL secara bertahap selama 48 jam, dimulai dengan penambahan 0,5 persen di awal, 0,5 persen pada jam ke-24, dan 1% pada jam ke-48.

Selanjutnya peran *S. Cerevisiae* digantikan oleh *L. Lactis* hal ini ditunjukkan dengan peningkatan populasi *L. Lactis* hingga jam ke 48 fermentasi selanjutnya *L. Lactis* menunjukkan penurunan seiring jumlah asam laktat meningkat (Afoakwa *et al.*, 2014; Racine *et al.*, 2019). Populasi *A. Aceti* meningkat dimulai dari 48 jam hingga terjadi peningkatan jumlah asam asetat sebagai hasil metabolisme *A. Aceti*. *S. cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. Aceti* diakhir fermentasi mulai habis (Poveda *et al.*, 2020).

*S. cerevisiae* mengubah lebih banyak gula *pulp* menjadi etanol di bawah perlakuan A2, menghasilkan peningkatan produksi etanol. *A. aceti* secara bersamaan mengubah etanol menjadi asam asetat, menghasilkan peningkatan suhu fermentasi. *S. cerevisiae* dan *L. lactis* mungkin bertarung dengan Perlakuan A1 untuk mencegah suhu kematian biji (Putra *et al.*, 2019).

### Perubahan warna keping biji selama fermentasi (Cut Test)

Menurut percobaan yang tercantum di bawah ini, penambahan ragi NKL mempengaruhi pertumbuhan populasi mikroba dan suhu fermentasi. Menambahkan *S. cerevisiae*, *L. lactis*, dan *A. aceti* ke fermentasi biji kakao segar dapat meningkatkan suhu fermentasi, sehingga mempercepat proses fermentasi (Putra *et al.*, 2019; Kusuma *et al.*, 2020). Oleh karena itu, diharapkan penambahan ragi NKL akan mempercepat konversi gula menjadi asam asetat, sehingga mempercepat suhu kematian benih (Andriani *et al.*, 2020).

Proporsi keping biji kakao dengan warna slaty secara substansial berbeda antara perlakuan kontrol dan penambahan inokulum untuk fermentasi biji kakao. Perawatan kontrol adalah pengobatan terkontrol, menambahkan 2% NKL di awal dan penambahan ragi NKL secara bertahap selama 48 jam. Hal ini sejalan dengan penelitian Vuyst *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa perubahan warna biji kakao pada akhir fermentasi menjadi coklat.

**Tabel 1.** Hasil analisis Anova warna keping biji pada perlakuan kontrol, A1 dan A2 setelah 120 jam fermentasi

Parameter	Perlakuan		
	kontrol	A1	A2
Warna keping biji (%) :			
Slaty	40,15 ± 0,20b	22,19 ± 0,56a	17,78 ± 0,15a
Ungu kecoklatan	25,49 ± 0,43a	20,25 ± 0,86a	17,70 ± 0,83a
Coklat	34,36 ± 0,15a	57,56 ± 0,80a	64,52 ± 0,39a
<i>S. cerevisiae</i> (log cfu/g)	4,93 ± 0,35a	5,86 ± 0,95a	5,66 ± 0,05a
<i>L. lactis</i> (log cfu/g)	6,90 ± 0,37a	8,6 ± 0,46b	8,55 ± 0,66b
<i>A. aceti</i> (log cfu/g)	5,57 ± 0,27a	7,78 ± 0,48b	4,67 ± 0,81b

Warna ungu kecoklatan dari serpihan biji kakao kering sebagian besar tidak terpengaruh oleh perbedaan dalam prosedur fermentasi. Proporsi biji coklat, A1, dan A2, rata-rata, masing-masing adalah 34,36 persen, 57,56 persen, dan 64,52 persen.  $P \leq 0,05$  menunjukkan bahwa  $p=0,01$  tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan.

Hasil penelitian sejalan dengan penelitian (Margono *et al.*, 2020) penambahan inokulum mikrobial dapat meningkatkan presentase keping biji berwarna coklat, hal ini diduga penambahan ragi meningkatkan jumlah mikrobia pembantu fermentasi.

Penambahan ragi NKL pada biji kakao dapat mempercepat reaksi gula terhadap asam asetat sehingga mempercepat pencapaian suhu kematian benih (Kustiyawati *et al.*, 2012; Ramli *et al.*, 2012). Setelah kematian biji, proses reaksi enzimatik pada keripik biji berlangsung seperti proses hidrolisis polifenol dapat mengubah warna. Jika terjadi oksidasi senyawa tanin yang mengakibatkan terbentuknya warna coklat pada biji merupakan tanda bahwa biji sedang mengalami tekanan (Aunillah *et al.*, 2021; Djaafar *et al.*, 2019; Hinneh *et al.*, 2019; Rojas & Guevara, 2021; Sobotta, 2019).

## SIMPULAN

Presentase keping biji berwarna slaty diakhir fermentasi dari perlakuan kontrol, A1 dan A2 berturut turut 40,15%, 22,19% dan 17,78% menunjukkan bahwa penambahan ragi NKL dapat menurunkan presentase keping biji slaty. Presentase keping biji berwarna ungu kecoklatan diakhir fermentasi dari perlakuan kontrol, A1 dan A2 berturut turut 25,49%, 20,25% dan 17,70% menunjukkan bahwa penambahan ragi NKL dapat menurunkan presentase keping biji ungu kecoklatan. Presentase keping biji berwarna coklat diakhir fermentasi dari perlakuan kontrol, A1 dan A2 berturut turut 34,36%, 57,56% dan 64,52% menunjukkan bahwa penambahan ragi NKL dapat meningkatkan presentase keping biji coklat.

Populasi *S. Cerevisiae* seluruh perlakuan tidak menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan. *S. Cerevisiae* pada perlakuan kontrol, A1 dan A2 berturut-turut 4,9 (log cfu/g), 5,86 (log cfu/g) dan 5,66 (log cfu/g). Populasi *S. Cerevisiae* tertinggi ada di perlakuan A1 hal ini dikarenakan penambahan ragi NKL di awal fermentasi. Populasi *L. lactis* perlakuan A1 dan A2 menunjukkan berbeda nyata terhadap perlakuan control. *L. lactis* pada perlakuan kontrol, A1 dan A2 berturut-turut 6,9 (log cfu/g), 8,6 (log cfu/g) dan 8,55 (log cfu/g). Populasi *L. lactis* tertinggi ada di perlakuan A1 hal ini dikarenakan

penambahan ragi NKL di awal fermentasi meningkatkan jumlah etanol yang dimanfaatkan oleh *L. lactis*. Populasi *A. aceti* perlakuan A1 dan A2 menunjukkan berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol. *A. aceti* pada perlakuan kontrol, A1 dan A2 berturut-turut 5,57 (log cfu/g), 7,78 (log cfu/g) dan 4,67 (log cfu/g). Populasi *A. aceti* tertinggi ada di perlakuan A1 hal ini dikarenakan penambahan ragi NKL di awal fermentasi memberikan dampak *S. Cerevisiae*, *L. lactis* dan *A. aceti*, persaingan dalam melaksanakan fermentasi.

### SANWACANA

Ucapan terima kasih terutama ditunjukkan kepada pemberi dana penelitian atau donatur. Ucapan terima kasih dapat juga disampaikan kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O., Budu, A. S., Mensah-Brown, H., Takrama, J. F., & Akomanyi, E. (2014). Changes in Biochemical and Physico-chemical Qualities during Drying of Pulp Preconditioned and Fermented Cocoa (*Theobroma cacao*) Beans. *Journal of Nutritional Health & Food Science*, 2(3), 1–8. <https://dx.doi.org/10.15226/jnhfs.2014.00121>
- Andriani, N., Yenrina, R., & Nazir, N. (2020). Physicochemical, Fatty Acid and Sensory Profile of Cocoa Butter Produced from Fermented and Non-Fermented Cocoa Butter. *Asian Journal of Applied Research for Community Development and Empowerment*, 4(3), 6–14. <https://doi.org/10.29165/ajarcde.v4i3.88>
- Aprilia, V., & Apriyanto, M. (2021). *Bab I Pendahuluan*. books.google.com.
- Apriyanto, M. (2016). *Fermentasi Biji Kakao Kering Terkendali Menggunakan Inokulum Mikrobial*. Disertasi. Universitas Gadjah Mada.
- Apriyanto, M., & Novitasari, R. (2021). During Fermentation, Microbiology and Biochemistry of the Cocoa Bean. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 5(4), 688–691.
- Aunillah, A., Purwanto, E. H., Wardiana, E. & Iflah, T. (2021). The effect of fermentation process, extraction methods and solvents on yield, total polyphenol, and antioxidant levels of cocoa beans. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 828(1), 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/828/1/012038>.
- Beckett, S. T. (2019). *The science of chocolate*. Royal Society of Chemistry.
- Camila D. S. V., R. M. C.-F., Muynarsk, E. de S. M., Pereira, G. V. de M., & Varize, L. D. L. and L. C. B. (2019). Biotechnological applications of nonconventional yeasts. In *Yeasts in biotechnology* (p. 107674).
- Djaafar, T. F., Palupi, L. O., Marwati, T., Utami, T., & Rahayu E. S. (2019). Characteristic of Chocolate Candy Produced from Fermented Cocoa Bean with *Lactobacillus plantarum* HL-15 Starter Culture for Inhibition Growth of Mycotoxin-Producing Fungi. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9, 128–134. DOI : 10.17265/2161-6264/2019.02.006
- Hartono. (2020). Kabupaten Indragiri Hilir Dalam Angka 2020. In *BPS Kabupaten Indragiri Hilir*.
- Hartuti, S., Bintoro, N., Nugroho, J., Karyadi, W., & Pranoto, Y. (2018). Fermentasi



- Isothermal Biji Kakao (*Theobroma cacao*. L) dengan Sistem Aerasi Terkendali. *Agritech*, 38(4), 364–374. <https://doi.org/10.22146/agritech.35412>.
- Hinne, M., E. A. M., Walle, D. de, AmeliaTzompa-Sosa, D., Winne, A. De, Simonis, J., Messens, K., Durme, J. Van, Afoakwa, E. O., Cooman, L. De, & Dewettinck, K. (2019). Pod storage with roasting: A tool to diversifying the flavor profiles of dark chocolates produced from ‘bulk’ cocoa beans? (part I: aroma profiling of chocolates). *Food Research International*, 119, 84–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.057>.
- Kustyawati, M. E., Setyani, S., Erna, M., & Setyani, S. (2012). Pengaruh penambahan inokulum campuran terhadap perubahan kimia dan mikrobiologi selama fermentasi coklat. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 13(2), 73–84. <https://dx.doi.org/10.23960./jtihp.v13i2.73%20-%2084>
- Kusuma, G., Komang, A., & Desak, I. (2020). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fermented Rice Drink Sebagai Minuman Probiotik Dengan Isolat *Lactobacillus* sp. F213. *Jurnal Itepa*, 9(2), 181 – 192.
- Maigua, I. R. S. (2020). *Estudio de los principales componentes químicos no volátiles asociados a la calidad del cacao “Nacional” de Ecuador, como herramienta en la certificación de origen*. Doctoral dissertation, Universidad Politécnica de Cartagena.
- Margono, W., Masuku, M. A., Albaar, N., & Tjokrodiningrat, T. S. (2020). The Effect of Cocoa Paste Percentage of Fermented Cocoa Beans on the Sensory Characteristic of Chocolate Bars. *5th International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources (FANRes 2019)*, 227–280. <https://doi.org/10.2991/aer.k.200325.055>.
- Masriany, M., Sari, A., & Devi, A.. (2020). Diversitas senyawa volatil dari berbagai jenis tanaman dan potensinya sebagai pengendali hama yang ramah lingkungan. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 6(1). <https://doi.org/10.24252/psb.v6i1.16949>.
- Misnawi, M., Tunjungsari, A. B., Febrianto, N., Adiandri, R. S., Fahrizal, F. & Fahrurrozi, F. (2017). Improvement of Small Scale Cocoa Fermentation Using *Lactobacillus fermentum* Starter Culture. *Pelita Perkebunan*, 33(3), 203–210. <https://doi.org/10.22302/icri.jur.pelitaperkebunan.v33i3.295>
- Mulato, Widyotomo, Misnawi, & Suharyanto. (2005). *Petunjuk Teknis Pengolahan Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Parra, P., Negrete, T., Laguno, J., & Vega, N. (2018). Determination of the degree of fermentation of cocoa through different techniques of artificial vision. *Innovation in Education and Inclusion : Proceedings of the 16th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology, 2019*.
- Poveda, O. R., Pereira, L. B, Zeppa, G., & Stévigny, C. (2020). Cocoa bean shell—a by-product with nutritional properties and biofunctional potential. *Nutrients*, 12(4), 1123. <https://doi.org/10.3390/nu12041123>.
- Putra, G. P. G., & Wartini, N. M. (2019). The Change of Characteristics and Antioxidant Activity of Cocoa Vinegar During Fermentation of Pulp Liquids by Adding Tape Yeast. *American Journal of Agriculture and Forestry*, 7(6), 270–276.
- Putra, G. P. G., Wartini, N. M., & Luh Putu Trisna Darmayanti. (2019). Characteristics of cocoa vinegar from pulp liquids fermentation by various methods. In *AIP Conference Proceedings*, 2155. AIP Publishing LLC.
- Racine, K. C., Wiersema, B. D., Griffin, L. E., Essenmacher, L. A., Lee, A. H., Hopfer, H., Lambert, J. D., & And, A. C. S. A. P. N. (2019). Flavanol polymerization is a superior predictor of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity compared to flavanol or total

- polyphenol concentrations in cocoas prepared by variations in controlled fermentation and roasting of the same raw cocoa beans. *Antioxidants*, 8(12), 635.
- Rahmadi, A., Yunus, Y., Ulfah, M., Candra, K. ., & Suwasono, S. (2020). Microorganism population, theobromine, antioxidant, and FTIR analysis of Samarinda cocoa bean fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti*. *Food Research*, 4(6), 1912–1920.
- Ramli, N., Omar, S. R., Jin, F. Y., & Thien, L. S. (2012). Physico-chemical properties of chocolate of *Lactobacillus plantarum* from fermented cocoa beans. *Annals. Food Science and Technology*, 13(1), 75–81.
- Rojas, K., & Guevara, M. C. H.-A. A. (2021). Transformaciones bioquímicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) durante un proceso de fermentación controlada. *Agronomía Costarricense*, 45(1), 53–65.
- Santos, C. M. dos, Silva, A. B. C. e, & ... (2021). Biotechnological starter potential for cocoa fermentation from cabruca systems. *Brazilian Journal of ...*
- Sobotta, F. (2019). *Precursors of chocolate aroma – flavour profile comparisons of traditionally fermented cocoa and cocoa beans from fermentation-like incubation by means of HS-SPME-GC-MS-O*. Doctoral dissertation, hschule für angewandte Wissenschaften Hamburg.
- Vuyst, L. De, & Leroy, F. (2020). Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 432–452.