

Received 15<sup>th</sup> December 2020Accepted 28<sup>th</sup> January 2021Published 11<sup>th</sup> March 2021

Open Access

DOI: 10.35472/v5i1.377

## Efek Biokonversi Pulp Kakao menjadi Bioetanol Sebagai Sumber Energi Alternatif melalui Fermentasi *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Fermentor Wadah Plastik dan *Stainless Steel*

Desi Riana Saputri<sup>\*a</sup>, Fenzy Putri Liewenti<sup>b</sup>, Stanislaus Dimas Indra P<sup>c</sup><sup>a</sup> Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Sumatera, Lampung, Indonesia, 35365<sup>b</sup> Propan Raya Industrial Coating Chemicals<sup>c</sup> Hempel Indonesia<sup>\*</sup> Corresponding E-mail: [riana.saputri@tk.itera.ac.id](mailto:riana.saputri@tk.itera.ac.id)

**Abstract:** Cocoa beans from Indonesian farmers are not optimal to utilize and has low quality because they have not done fermentation processing. The aim of this study was to process cocoa beans through fermentation by using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* by developing cocoa-pulp byproduct that can be converted to be alcohol. Fermentation process had done in two type of containers such as plastic and *stainless steel* material. It was observed to know the presence of oligodynamic effect from *stainless steel* material. The results showed that cacao pulp can be fermented by using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* in sensory test method with hyphae growth and strong aromatic from alcohol observation. *Stainless steel* material in fermentor tub did not give the oligodynamic effect for *Aspergillus niger* fungus and *Saccharomyces cerevisiae* growth. The Fermentation process produced 0.66 mL of alcohol from one kilogram fresh cocoa beans. The maximum bioethanol product is that happened in 4<sup>th</sup> day fermentation process about 5.30 %.

**Keywords :** *Aspergillus niger*, fermentation, cocoo bean, fermentation, oligodynamic, *Saccharomyces cerevisiae*

**Abstrak:** Biji kakao dari petani Indonesia belum dimanfaatkan secara optimal dan memiliki kualitasnya yang rendah karena pada tahap pengolahannya tidak dilakukan fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengolah biji kakao melalui fermentasi dengan *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* dengan mengembangkan hasil samping dari buah kakao berupa pulp yang dapat dikonversi menjadi alkohol. Proses fermentasi dilakukan dalam dua jenis bak fermentasi yaitu plastik dan *stainless steel*. Hal ini dilakukan untuk mengamati keberadaan efek oligodinamik dari *stainless steel*. Penelitian ini menunjukkan bahwa pulp kakao dapat difermentasi dengan menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan uji sensori dengan pengamatan pertumbuhan dari hifa dan aroma alkohol yang kuat. Bahan bak fermentor *stainless steel* tidak memberikan efek oligodinamik terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Proses fermentasi ini telah menghasilkan alkohol sebanyak 0,66 mL dari 1 kilogram biji kakao segar. Hasil maksimal bioetanol yang diperoleh terjadi saat hari ke 4 pada proses fermentasi sebesar 5,30 %.

**Kata kunci:** *Aspergillus niger*, biji kakao, bioetanol, oligodinamik, *Saccharomyces cerevisiae*

### Pendahuluan

Kakao adalah salah satu komoditas ekspor yang dapat berkontribusi untuk meningkatkan devisa Indonesia. Indonesia merupakan salah satu negara dari 3 negara pemasok utama kakao dunia setelah Pantai Gading (38,3%) dan Ghana (20,20%) dengan persentase sebesar 13,6% [1]. Buah kakao masih terbatas pada pemanfaatan bijinya sedangkan bagian kulit buah dan pulp belum banyak

dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar. Buah kakao terdiri dari kulit buah (73,8%), masenta (2%), dan biji (24,2%) [2]. Biji kakao yang diekspor oleh Indonesia berada di kelas 3 dan 4 yang artinya belum memiliki kualitas terlalu baik dikarenakan pengelolaan biji kakao yang masih tradisional karena belum banyak diolah dengan proses fermentasi. Hal ini mengindikasikan bahwa harga jual biji kakao produksi Indonesia sangat rendah dan dikenai diskon sebesar 10%-



15% dari harga pasar [3]. Proses fermentasi akan memengaruhi kualitas biji kakao. Keberadaan mikroba, kelompok khamir dan kelompok bakteri akan memengaruhi proses tersebut [4]. Kulit buah, plasenta, pulp, dan biji merupakan bagian dari buah kakao. Pulp mengandung air (80–90%), gula (10-15%), asam sitrat (0,4-0,8%) dan pektin (1%) serta komponen lainnya [5].

Pulp kakao merupakan hasil samping dari biji kakao yang biasanya dibuang begitu saja. Padahal pulp kakao sangat berpotensi untuk dijadikan bahan dasar alternatif dalam memproduksi bioetanol dikarenakan kandungan gula yang dimilikinya. Untuk mengkonversi pulp kakao tersebut dapat menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccaromyces cervisiae* yang diisolasi digunakan untuk menghidrolisis pektin menjadi gula sederhana, sedangkan *Saccaromyces cervisiae* akan digunakan dalam proses fermentasi gula sederhana menjadi bioetanol. Berdasarkan uraian tersebut maka pulp kakao dapat berpotensi untuk menjadi produk yang memiliki nilai ekonomi lebih tinggi jika dapat dikonversikan menjadi bioetanol. Penelitian ini untuk memproduksi bioetanol dari bahan baku pulp kakao dengan menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccaromyces cervisiae*.

## Metode

### Pembiakan *Aspergillus niger*

Sebanyak 9,75 gram *Potato Dextrose Agar (PDA)* dilarutkan dalam aquades sampai volumenya menjadi 250 mL. Selanjutnya, proses sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf selama  $\pm 15$  menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . PDA yang telah steril, dalam keadaan panas dituangkan dalam tabung reaksi dengan posisi tabung reaksi dimiringkan dan dibiarkan hingga PDA menjadi padat. Setelah itu, Inokulasi *Aspergillus niger* dilakukan pada PDA. Jarum ose yang digunakan harus disterilisasi dengan alkohol 70 % dan dibakar dengan pembakar bunsen. Tabung reaksi yang berisi isolat *Aspergillus niger* dibuka tutupnya, lalu diambil sedikit dengan menggunakan jarum ose dan digoreskan secara zig-zag pada media PDA yang telah memadat. Ujung kedua tabung reaksi dibakar dengan pembakar bunsen lalu ditutup dengan kapas. Kemudian dimasukkan dalam inkubator yang suhunya dikondisikan  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ , selama 7 hari sebelum dipanen dan diaplikasikan ke substrat.

### Pembiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Sebanyak 1 mL sirup jagung dimasukkan dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 9 mL akuades. 0,5 gram *Saccharomyces cerevisiae* ditambahkan ke dalam tabung

reaksi tersebut. Ujung tabung ditutup dengan kapas dan ditambahkan ke dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 3 hari.

## Fermentasi biji kakao

### 1. Variasi Mikroba Pada Fermentasi Biji Kakao

Buah kakao yang digunakan sebanyak  $\pm 120$  gram disterilisasi dengan autoklaf dan dibagi menjadi 4 bagian masing-masing sebesar 30 gram yang dimasukkan dalam 4 erlemeyer A, B, C, dan D. Substrat dalam erlenmeyer A difermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*, erlemeyer B difermentasi dengan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Aspergillus niger*, erlemeyer C difermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* yang telah ditumbuhkan dalam media sirup jagung selama 3 hari, dan erlemeyer D difermentasi dengan *Aspergillus niger*. Selanjutnya, keempat erlenmeyer tersebut dibiarkan pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama tiga hari. Pengamatan dilakukan secara kualitatif berdasarkan penampakan fisik dan bau yang ditimbulkan.

### 2. Variasi Jenis Bahan Fermentor yang digunakan pada Fermentasi Biji Kakao

Sebanyak 8 kg biji kakao segar disterilisasi dengan autoklaf dan dibagi menjadi dua bagian yaitu sebanyak 4 kg difermentasi dalam fermentor yang terbuat dari plastik dan sebanyak 4 kg substrat difermentasi dalam fermentor yang terbuat dari *stainless steel*. Masing-masing fermentor diberi termometer dan diamati suhu fermentasinya. Pengambilan sampel pulp kakao hasil fermentasi untuk masing-masing bak dilakukan pada hari ke-3, ke-4 dan ke-7.

## Hasil dan Pembahasan

Empat jenis variasi fermentasi (**Gambar 1**) telah dilakukan pada penelitian ini yaitu fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* (A), fermentasi dengan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Aspergillus niger* (B), fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam media sirup jagung (C) dan fermentasi dengan *Aspergillus niger* (D). Penelitian ini telah mengamati kondisi yang sesuai dalam proses fermentasi untuk produksi alkohol. Uji kandungan alkohol dilakukan secara kuantitatif yaitu dengan mengamati penampakan fisik substrat dan mencium aroma substrat. Uji sensori ini didasarkan pada:

1. Penampakan substrat yaitu diamati pertumbuhan hifa yang paling banyak, hifa yang paling banyak mengindikasikan kondisi fermentasi yang cukup baik.

2. Aroma substrat yaitu diamati bau yang intensitasnya paling tinggi, intensitas bau yang paling tinggi mengindikasikan kandungan alkohol yang paling tinggi.

Berdasarkan hasil pengamatan dengan uji sensori telah diperoleh fakta bahwa pada hari ketiga pertumbuhan hifa paling banyak adalah pada substrat yang difermentasikan dengan *Aspergillus niger*, lalu diikuti substrat yang diberi campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Aspergillus niger*, substrat yang diberi *Saccharomyces cerevisiae*, dan yang paling sedikit hifanya adalah substrat yang diberi *Saccharomyces cerevisiae* yang telah ditumbuhkan dalam media sirup jagung.



**Gambar. 1.** substrat dengan *Saccharomyces cerevisiae* (A), campuran *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* (B), *Saccharomyces cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam media sirup jagung (C), *Aspergillus niger* (D).

*Aspergillus niger* menunjukkan pertumbuhan hifa yang paling banyak, hal ini dapat dijelaskan karena pada kondisi erlemeyer tersebut terdapat rongga udara yang cukup besar. Meskipun telah ditutup dengan aluminium foil, untuk membatasi oksigen dalam sistem, namun rongga udara yang cukup besar tersebut memungkinkan adanya oksigen yang terperangkap cukup banyak, telah dilaporkan bahwa *Aspergillus niger* merupakan jenis jamur aerob [6] yang berarti pertumbuhannya tergantung pada suplai oksigen, sementara *Saccharomyces cerevisiae*, merupakan golongan anaerob fakultatif [7] sehingga pada awal pertumbuhan, hifa *Aspergillus niger* tumbuh lebih cepat dibandingkan *Saccharomyces cerevisiae*. Dari pengamatan tersebut diperoleh data bahwa pencampuran *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* secara bersamaan tidak menimbulkan efek negatif (keduanya tidak saling berkompetisi), sehingga sangat mungkin dilakukan fermentasi dengan campuran kedua jenis jamur ini.

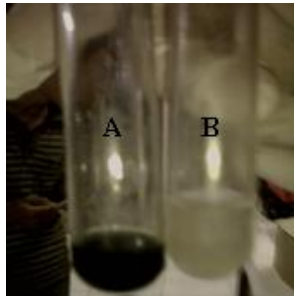
Fermentasi dengan *Aspergillus niger* saja tidak dipilih untuk diaplikasikan, meskipun bila dilihat dari pertumbuhan hifa menunjukkan pertumbuhan yang paling optimal. Fermentasi dengan *Aspergillus niger* tidak menghasilkan alkohol, hal ini dapat diamati dari aroma yang dihasilkan pada substrat yang diberi *Aspergillus niger* tidak memberikan aroma dengan intensitas kuat. Zakpa et al (2009) telah melaporkan bahwa *Aspergillus niger* hanya berperan dalam proses sakarifikasi, yaitu mengubah amilopektin dan selulosa (polisakarida secara umum) menjadi gula, kemudian fermentasi gula menjadi alkohol merupakan kinerja dari *Saccharomyces cerevisiae*. Dari pengamatan dengan indra pembau diperoleh data bahwa setelah fermentasi selama tiga hari, substrat yang aromanya paling kuat adalah substrat yang difermentasikan dengan campuran *Aspergillus niger* dan ragi, diikuti dengan substrat yang difermentasikan dengan ragi, substrat yang difermentasikan dengan ragi yang ditumbuhkan dalam media sirup jagung, lalu yang paling lemah aromanya adalah substrat yang difermentasikan dengan *Aspergillus niger*.

Dari pengamatan dengan uji sensori ini diputuskan bahwa fermentasi yang paling optimal untuk diaplikasikan adalah campuran *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*, karena dilihat dari pertumbuhan hifa yang cukup cepat, serta aroma alkohol yang intensitasnya paling kuat. Selain itu, fermentasi dengan campuran *Aspergillus niger* dan ragi, memiliki nilai aplikasi ke masyarakat yang lebih baik bila dibandingkan dengan fermentasi menggunakan isolat *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

Fermentasi dengan campuran *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* kemudian diaplikasikan untuk fermentasi biji kakao yang lebih banyak. Fermentasi ini dilakukan dalam dua wadah berbeda, yaitu wadah fermentasi yang terbuat dari *stainless steel*. Ini bertujuan untuk mengamati efek oligodinamik dalam proses fermentasi ini. Dari hasil pengamatan suhu selama proses fermentasi diperoleh data bahwa suhu fermentasi kedua wadah tidak berbeda secara signifikan. Suhu fermentasi kedua wadah adalah  $(31 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ . Data suhu ini mengindikasikan bahwa bahan *stainless steel* tidak memberikan efek oligodinamik. Hal ini didasari juga dari kenyataan bahwa dalam industri pembuatan *beer* dalam fermentasi dilakukan dalam tabung *stainless steel*.

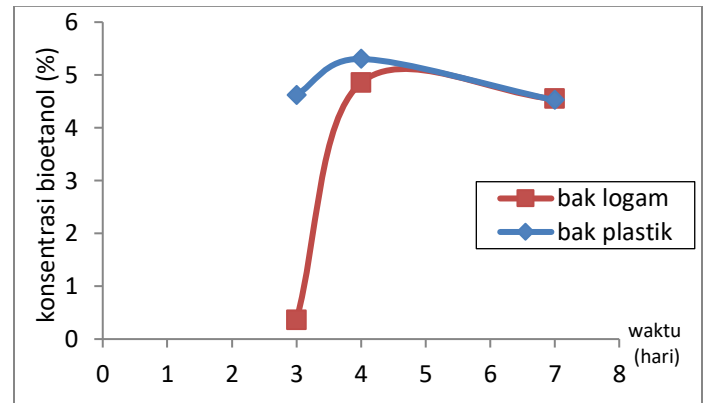
Linsley dan Trevor (2009) telah melakukan pengukuran kandungan alkohol pada pulp kakao yang difermentasi dengan wadah plastik memiliki kandungan alkohol yang

presentasinya lebih tinggi daripada yang difermentasikan dengan wadah *stainless steel*. Hal ini disebabkan bukan karena efek oligodinamik dari *stainless steel*, tetapi diduga karena kran yang digunakan sebagai media sampling terbuat dari kuningan [9]. Kuningan merupakan *alloy non ferrous* yang terbuat dari tembaga dan seng. Kontak langsung antara pulp kakao hasil fermentasi dengan kuningan menyebabkan sebagian kecil tembaga dalam dalam alloy terionisasi menjadi  $\text{Cu}^{2+}$ , meskipun kecil kandungan ion tembaga ini dapat berpengaruh cukup besar, sehingga dapat menghambat pertumbuhan jamur (efek oligodinamik). Ionisasi sebagian alloy ini ditandai dengan warna pulp kakao yang berubah menjadi kehitaman, seperti pada **Gambar 2**.



**Gambar 2.** (A) sampel dari wadah *stainless steel* hari ke-7, (B) sampel dari wadah plastik hari ke-7.

Pada **Gambar 3** secara umum kandungan alkohol hasil fermentasi dari kedua jenis bak fermentasi turun pada hari ke-7, kandungan alkohol tertinggi diperoleh dari masing-masing bak adalah pada hari ke-4, yaitu sebesar 4,85 % dan 5,30 % untuk bak dari *stainless steel* dan bak dari plastik secara berurutan. Pada hari ke-7 ini kandungan alkohol turun, diduga karena *Saccharomyces cerevisiae* telah melewati fase statis, menuju fase kematian. Diperkirakan fase statis dari *Saccharomyces cerevisiae* dimulai pada hari ke-4 hingga hari ke-6, setelah hari ke-6 merupakan fase menuju kematian yang ditandai dengan turunnya kandungan alkohol pada hari ke-7. Fase menuju kematian ini mengakibatkan koloni *Saccharomyces cerevisiae* turun jumlahnya sehingga produksi alkoholnya juga turun, hal tersebut sesuai dengan kurva pertumbuhan kultur mikrobial [2].



**Gambar 3.** Kurva kandungan bioetanol berdasarkan waktu fermentasi

Dari total 8 Kg biji kakao segar, diperoleh pulp kakao hasil fermentasi sebanyak  $\pm 100$  mL, dimana kandungan etanol tertinggi yang terdapat pulp tersebut adalah 5,30 % dan diperoleh etanol sebanyak 0,66 mL/ Kg biji kakao basah. Rendahnya kadar etanol yang diproduksi tersebut diindikasikan bahwa ketika proses pengambilan sampel ada sebagian oksigen yang masuk sehingga memungkinkan mengkonversi alkohol menjadi asam asetat yang ditandai dengan bau masam pada sampel.

### Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu pulp kakao dapat difermentasi dengan menggunakan *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* berdasarkan pengamatan dengan menggunakan uji sensori dengan melihat pertumbuhan hifa yang cukup cepat, serta aroma alkohol yang intensitasnya paling kuat. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu bioetanol dengan jumlah sebesar 0,66mL/Kg biji kakao basah. Proses produksi bioetanol dengan penggunaan wadah dari bahan *stainless steel* yang ternyata tidak memberikan efek oligodinamik terhadap pertumbuhan kedua jamur tersebut. Hasil maksimal bioetanol yang diperoleh terjadi pada hari ke-4 proses fermentasi sebesar 5,30 %.

### Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan yang berkaitan dengan penelitian ini.

## Ucapan Terimakasih

Ucapan Terima kasih diberikan kepada hibah Penelitian Mahasiswa berpotensi kepada pengabdian masyarakat Universitas Gajah Mada.

## Daftar Pustaka

- [1] International Cocoa Organization, "Quarterly bulletin of cocoa statistics," London, UK, 35(2), 2013.
- [2] T. Supriyanto, dan Wahyudi, "Proses produksi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan operasi kotinyu pada kondisi vakum," Universitas Diponegoro. Semarang, 2010.
- [3] Suryani, Dinie, Zulfebriansyah, "Komoditas kakao: potret dan peluang pembiayaan," *Economic Review*: 210, Desember 2007.
- [4] Susijahadi, "Beberapa penggunaan isolat khamir pada fermentasi biji kakao," 1998.
- [5] <http://epetani.deptan.go.id>, diakses 14 Desember 2020.
- [6] A. Budiman, dan S. Setyawan, "Pengaruh konsentrasi substrat, lama inkubasi dan pH dalam proses isolasi enzim Xylanase dengan menggunakan media jerami padi." Universitas Diponegoro. Semarang, 2006.
- [7] B.A.D. Kartika, D. Guritno, D. Purwadi, dan Ismoyowati, "Petunjuk evaluasi produk industri hasil pertanian," PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta, 1992.
- [8] H. D. Zakpaa, E. E Mak-Mensah dan F.S. Johnson, "Production of bio-ethanol from corncobs using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous saccharification and fermentation," Department of Biochemistry and Biotechnology, School of , KNUST, Kumasi, Ghana, 2009.
- [9] Linsley, Trevor, *Basic Electrical Installation Network*. 3<sup>rd</sup> ed. Elsevier Ltd. England, 2009.