



## Identifikasi Jamur dan Bakteri Pada Plup Proses Fermentasi Biji Kakao

<sup>1</sup>Jenifa Arisa Tandi, <sup>2\*</sup>I Nengah Kundera, <sup>3</sup>Yulia Windarsih, <sup>4</sup>Lestari M.P Alibasyah, <sup>5</sup>Abdul Ashari, <sup>6</sup>I Made Budiarsa

<sup>1,2,3,4,5,6</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

\*Corresponding Author e-mail: [nengahkundera@gmail.com](mailto:nengahkundera@gmail.com)

Received: July 2025; Revised: August 2025; Accepted: September 2025; Published: September 2025

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis jamur dan bakteri yang berperan pada proses fermentasi biji kakao. Jenis penelitian ini menggunakan metode eksploratif laboratorium. Sampel pada penelitian ini adalah jamur dan bakteri selama proses fermentasi biji kakao yang telah difermentasikan selama kurang lebih 3-5 hari. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, timbangan digital, kotak plastik bening, autoklaf, gunting, mikro pipet, sendok, kertas label, *petri dish*, inkubator, kaca penutup, bunsen, erlenmeyer, jarum ose, batang pengaduk, mikroskop, gelas beaker, gelas ukur, timbangan, *hot plate*, tabung reaksi, lampu spritu, *colony counter*, aluminium foil, kamera, alat tulis sedangkan Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini, yaitu sampel limbah fermentasi biji cacao yang telah ditumbuhi jamur dan bakteri, medium *Nutrient Agar* (NA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Bacillus Agar Base*, aquades, kristal violet, pewarna eosin, *iodine*, alkohol, safranin. Tahapan prosedur penelitian ini ada 5 yaitu pengambilan dan pembuatan sampel, pembuatan media dan pengenceran sampel, penanaman sampel pada medium umum dan medium selektif, pewarnaan gram, dan uji biokimia. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ditemukan keterlibatan jenis jamur *Saccharomyces cerevisiae* dan *Mucor Sp*, serta bakteri *Bacillus Sp*. dalam plup proses fermentasi biji kakao.

**Kata Kunci:** Jamur; bakteri; plup biji kakao; identifikasi

**Abstract:** This study aims to identify the types of fungi and bacteria that play a role in the fermentation process of cocoa beans. This type of research uses an exploratory laboratory method. The samples in this study were fungi and bacteria during the fermentation process of cocoa beans that had been fermented for approximately 3-5 days. The tools used in this study were digital scales, clear plastic boxes, autoclaves, scissors, micropipettes, spoons, label paper, Petri dishes, incubators, glass covers, Bunsen burners, Erlenmeyer flasks, inoculation needles, stirring rods, microscopes, beakers, measuring cups, scales, hot plates, test tubes, spirit lamp, colony counter, aluminum foil, camera, and writing instruments. The materials used in this study were fermented cocoa bean waste samples colonized by fungi and bacteria, Nutrient Agar (NA) medium, Triple Sugar Iron Agar (TSIA) medium, Bacillus Agar Base, distilled water, crystal violet, eosin dye, iodine, alcohol, and safranin. There are five stages in this research procedure, namely sample collection and preparation, media preparation and sample dilution, sample cultivation on general and selective media, Gram staining, and biochemical testing. The results of this study show that the fungi *Saccharomyces cerevisiae* and *Mucor Sp*, as well as the bacteria *Bacillus Sp*, are involved in the fermentation process of cacao beans.

**Keywords:** Fungi; bacteria; plup cocoa beans; identification

**How to Cite:** Tandi, J. A., Kundera, I. N., Windarsih, Y., Alibasyah, L. M., Ashari, A., & Budiarsa, I. M. (2025). Identifikasi Jamur dan Bakteri Pada Plup Proses Fermentasi Biji Kakao. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(3), 2096–2104. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i3.17537>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i3.17537>

Copyright© 2025, Tandi et al

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) License.



### PENDAHULUAN

Mikroorganisme merupakan komponen fundamental dalam ekosistem karena hampir dapat ditemukan di setiap habitat, mulai dari tanah, air, hingga lingkungan ekstrem. Kehidupan mereka berlangsung dalam suatu komunitas yang kompleks, melibatkan interaksi antarmikroba maupun dengan organisme lain, baik dalam hubungan simbiotik yang menguntungkan maupun sebagai agen perusak. Secara umum, mikroorganisme terbagi menjadi beberapa kelompok, di antaranya jamur dan bakteri. Jamur merupakan organisme eukariotik bersifat heterotrof karena tidak memiliki klorofil, dapat hidup dalam bentuk uniseluler seperti ragi (*yeast*) maupun

multiseluler seperti kapang (*mold*), serta berkembang biak melalui spora (Madigan *et al.*, 2019). Sementara itu, bakteri termasuk organisme prokariotik bersel tunggal yang tidak memiliki membran inti, dengan peran yang beragam mulai dari agen menguntungkan dalam industri pangan hingga sebagai penyebab penyakit dan pembusukan (Febriza *et al.*, 2021).

Salah satu contoh peranan penting mikroorganisme dalam kehidupan sehari-hari adalah pada proses fermentasi biji kakao, yang merupakan tahapan pascapanen paling krusial dalam menentukan mutu akhir produk. Aktivitas mikroba, terutama jamur dan bakteri, berfungsi memecah senyawa kompleks menjadi prekursor pembentuk aroma dan cita rasa khas cokelat. Fermentasi juga mempercepat proses pengeringan dan membantu melepaskan lapisan pulp yang menyelimuti biji (Senna, 2020). Apabila fermentasi berlangsung optimal, kualitas biji kakao akan meningkat dengan karakteristik rasa dan aroma yang kompleks. Namun, fermentasi yang tidak terkendali berisiko memicu pertumbuhan mikroba perusak yang menurunkan mutu, bahkan dapat menghasilkan senyawa toksik (Korcari *et al.*, 2023).

Dalam skala industri, fermentasi kakao memiliki signifikansi besar karena kualitas biji menentukan nilai ekonomi produk cokelat yang memiliki pasar global sangat luas. Di Indonesia, khususnya di Sulawesi Tengah, kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan unggulan yang memberi kontribusi nyata terhadap perekonomian daerah. Meskipun demikian, petani kakao masih menghadapi berbagai kendala, terutama terkait produktivitas dan mutu biji. Faktor pengelolaan pascapanen, dengan fermentasi sebagai titik kunci, sering kali menjadi penentu utama keberhasilan (Farhanandi & Indah, 2022).

Sejumlah penelitian terdahulu menegaskan pentingnya fermentasi kakao, tetapi kajian mengenai identifikasi mikroorganisme yang berperan dalam proses tersebut masih relatif terbatas. Padahal, pemetaan keragaman mikroba sangat penting untuk mengetahui fungsi spesifiknya, serta membuka peluang pemanfaatan sebagai starter kultur. Penggunaan starter mikroba dapat mempercepat fermentasi, menekan kontaminasi, sekaligus meningkatkan konsistensi cita rasa dan mutu biji kakao (Misbakh *et al.*, 2022).

Berdasarkan kondisi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk identifikasi jenis jamur dan bakteri yang terlibat dalam fermentasi spontan biji kakao. Informasi yang diperoleh diharapkan dapat menjadi dasar bagi pemanfaatan mikroorganisme sebagai kultur starter untuk memperbaiki mutu fermentasi, sekaligus meningkatkan kualitas biji kakao. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan memberikan kontribusi ilmiah mengenai keragaman mikroba dalam proses fermentasi, menjadi acuan pengendalian kontaminasi, serta mendukung pengembangan teknologi pascapanen kakao yang lebih efektif, berkelanjutan, dan berdaya saing tinggi.

## METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksploratif laboratorium. Penelitian eksploratif laboratorium adalah salah satu pendekatan penelitian yang digunakan untuk meneliti sesuatu (yang menarik perhatian) yang belum diketahui, belum dipahami, atau belum dikenali dengan baik, pada penelitian ini dilakukan mengidentifikasi jenis jamur dan bakteri yang membantu proses fermentasi biji kakao. Penelitian eksploratif bersifat mendasar dan bertujuan untuk memperoleh keterangan, informasi, data mengenai hal-hal yang belum diketahui (Firmanto *et al.*, 2018). Penelitian ini dilakukan pada bulan juni 2025, dilakukan di laboratorium Program studi Pendidikan Biologi Universitas Tadulako. Sampel pada penelitian ini adalah jamur dan

bakteri selama proses fermentasi biji kakao yang telah difermentasi selama kurang lebih 3-5 hari.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan digital, kotak plastik bening, autoklaf, gunting, mikropipet, sendok, kertas label, *petri dish*, inkubator, kaca penutup, bunsen, erlenmeyer, jarum ose, batang pengaduk, mikroskop, gelas beaker, gelas ukur, timbangan, *hot plate*, tabung reaksi, lampu spritus, *colony counter*, aluminium foil, kamera, dan alat tulis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel limbah fermentasi biji kakao yang telah ditumbuhi jamur dan bakteri, medium *Nutrient Agar (NA)*, *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *Bacillus Agar Base (BAB)*, *aquades*, *kristal violet*, pewarna *eosin*, *iodine*, alkohol, dan *safranin*.

Proses identifikasi jamur dan bakteri pada Pulp proses fermentasi biji kakao dilakukan melalui beberapa tahap yaitu;

### **1. Pengambilan dan Pembuatan Sampel**

Sampel diambil dari perkebunan kakao di Desa Kilo, Dusun Kameasi, Kecamatan Poso Pesisir Utara. Biji kakao berasal dari buah matang dengan kulit berwarna kuning. Sebanyak 10 buah dipetik, dibelah, lalu bijinya dipisahkan dan difermentasi secara steril dalam wadah plastik transparan pada suhu ruang selama 2–5 hari. Kemudian pada tahap Sterilisasi, alat dan bahan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah proses selesai, autoklaf didinginkan hingga tekanan normal sebelum alat dan media steril dikeluarkan.

### **2. Pembuatan Media dan Pengenceran Sampel**

Medium pertumbuhan ditimbang sesuai kebutuhan, dilarutkan dalam *aquades* dalam erlenmeyer, kemudian dihomogenkan dan ditutup dengan aluminium foil. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, didinginkan, lalu dituang secara aseptik ke dalam cawan petri hingga memadat sebelum diinkubasi. Sebanyak 1 ml sampel air fermentasi biji kakao dimasukkan ke dalam 90 ml larutan NaCl steril pada tabung pertama ( $10^{-1}$ ), kemudian diencerkan secara bertingkat hingga  $10^{-5}$  dengan metode pengenceran berulang (Cappuccino, 2014).

### **3. Penanaman Sampel Pada Medium Umum dan Medium Selektif**

Medium Umum *Nutrien Agar (NA)* yaitu sampel hasil pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-3}$  diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi NA steril, masing-masing sebanyak 10 ml, lalu dihomogenkan dengan gerakan angka delapan. Inkubasi dilakukan pada suhu 35 °C selama 24 jam (Cappuccino, 2014). Koloni yang telah tumbuh pada medium NA, kemudian dihitung menggunakan *colony counter*, koloni yang telah tumbuh ditandai dengan adanya gumpalan berwarna putih pada media agar. Medium Selektif *Bacillus Agar Base (BAB)*, masing-masing sampel yang telah ditumbuhkan dalam media *Nutrient Agar (NA)* diambil sebanyak 1 ose, lalu digoreskan secara aseptik di atas permukaan *Bacillus Agar Base (BAB)* pada cawan petri, kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Medium Selektif *Potato Dextrose Agar (PDA)*, masing-masing sampel yang telah ditumbuhkan dalam media *Nutrient Agar (NA)* diambil sebanyak 1 ose, lalu digoreskan secara aseptik diatas permukaan *Potato Dextrose Agar (PDA)* pada cawan petri, Kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C.

### **4. Pewarnaan Gram**

Kaca objek dibersihkan dengan alkohol dan difiksasi melalui pemanasan. Satu ose bakteri diambil secara aseptik, kemudian dibuat apusan dan difiksasi kembali. Apusan ditetesi *crystal violet* selama 2 menit, dicuci, kemudian ditetesi *iodine* selama 2 menit. Selanjutnya dilakukan dekolorisasi menggunakan alkohol 96% selama 30 detik, dibilas, lalu diberi *safranin* selama 2 menit. Preparat dikeringkan dan diamati

menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x. Pewarnaan ini bertujuan untuk membedakan bakteri *Gram positif* dan *Gram negatif*.

### 5. Uji Biokimia.

Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi karakteristik bakteri melalui reaksi metaboliknya. Medium TSIA ditimbang sesuai kebutuhan, dilarutkan dalam 10 ml aquades, dipanaskan hingga homogen, lalu dituangkan ke dalam tabung. Sebagian koloni diinokulasikan dengan tusukan pada bagian butt dan goresan zig-zag pada bagian slant. Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Perubahan warna diamati untuk menentukan kemampuan fermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa, serta produksi gas H<sub>2</sub>S. Selanjutnya, uji lanjutan dilakukan menggunakan sistem *Microbact System* untuk konfirmasi identifikasi. Uji *Microbact System* dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri murni ke dalam strip berisi substrat biokimia, kemudian diinkubasi pada suhu 35–37 °C selama 18–24 jam. Perubahan warna pada setiap sumur diamati, dicatat, dan dikonversi menjadi kode numerik untuk identifikasi bakteri melalui database *Microbact*.

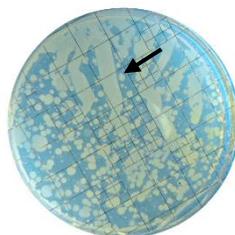
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Perhitungan Koloni pada jumlah nilai *Standar Plate Count* (SPC) dengan total koloni bakteri yang tumbuh pada *Nutrient Agar* (NA) dengan tingkat pengenceran 10<sup>-1</sup> sampai pada pengenceran 10<sup>-3</sup>.

**Table 1.** Hasil perhitungan nilai *Standar Plate Count* (SPC) koloni bakteri

Sampel Bakteri pada Proses Fermentasi Biji Kakao	Jumlah Koloni Mikroba/Tingkat Pengenceran			Nilai SPC
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Pengamatan Hari ke-2	230	180	130	180x10 <sup>-2</sup>
Pengamatan hari ke-3	240	185	170	185x10 <sup>-2</sup>
Pengamatan hari ke-4	250	220	180	220x10 <sup>-2</sup>
Pengamatan hari ke-5	275	230	100	230x10 <sup>-2</sup>

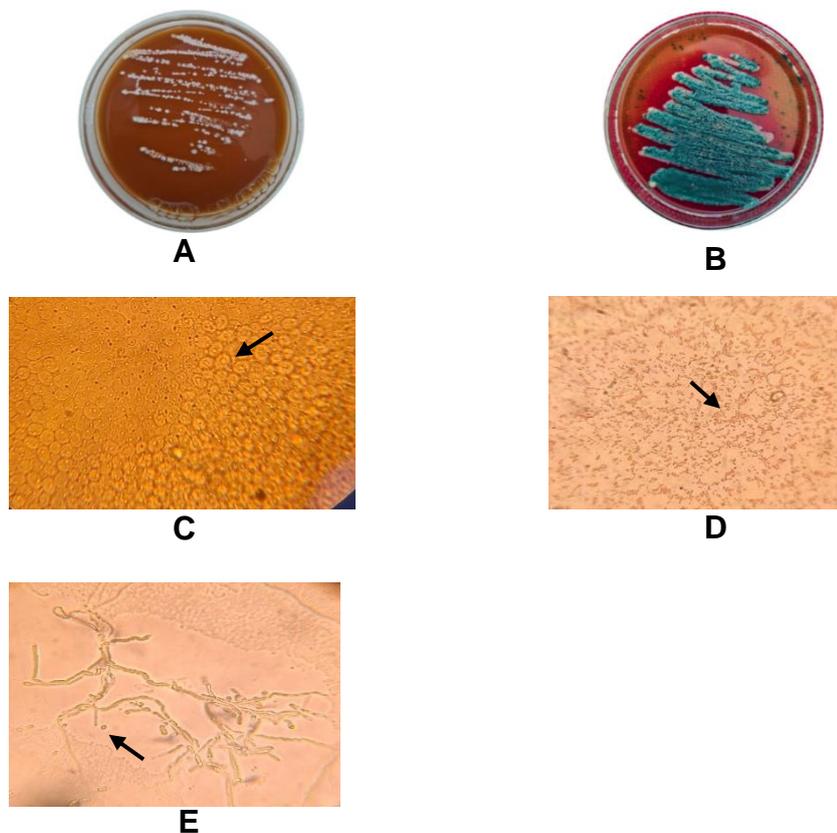
Berdasarkan hasil perhitungan koloni bakteri menunjukkan adanya perbedaan jumlah total koloni bakteri pada tingkat pengenceran 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-3</sup> dari bakteri yang terdapat pada proses fermentasi biji kakao yang diperoleh dari beberapa hari fermentasi. Menurut (Fardiaz,1993) menyatakan bahwa cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300. Jumlah koloni bakteri pada medium *Nutrient Agar*, Maka didapatkan jumlah *Standar Plate Count* (SPC pada pengamatan hari kedua sebesar 180x10<sup>-2</sup> CFU/ml pada pengenceran 10<sup>-2</sup>, pengamatan hari ketiga 185x10<sup>-2</sup> CFU/ml pada pengenceran 10<sup>-2</sup>, pengamatan hari keempat sebesar 220x10<sup>-2</sup> CFU/ml pada pengenceran 10<sup>-2</sup>, pada hari kelima 235x10<sup>-2</sup> CFU/ml pada pengenceran 10<sup>-2</sup>. Adapun pertumbuhan koloni pada medium *Nutrient agar* (NA) di tunjukkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Koloni bakteri yang tumbuh pada medium *Nutrient agar* (NA)

Berdasarkan hasil perhitungan koloni bakteri yang tumbuh pada medium *Nutrient Agar* (NA) dengan menggunakan *Standar Plate Count* (SPC) diperoleh jumlah SPC pada pengamatan hari ke-2 sebesar  $180 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ , pengamatan hari ketiga  $180 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ , pengamatan hari keempat sebesar  $220 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ , pada hari kelima  $235 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ . Setelah dilakukan perhitungan menggunakan metode SPC diketahui bahwa sampel yang memiliki koloni bakteri terbanyak adalah pada pengamatan hari ke 5 yaitu  $235 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ . Sedangkan sampel yang memiliki koloni paling sedikit adalah pada sampel hari kedua sebesar  $180 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ , pengamatan hari ketiga  $185 \times 10^{-2}$  CFU/ml pada pengenceran  $10^{-2}$ . Pada hari kedua dan ketiga, jumlah koloni bakteri yang teramati masih rendah karena sebagian besar sel berada pada fase adaptasi (*lag phase*), yaitu tahap di mana sel menyesuaikan sistem metabolisme sebelum memasuki fase pembelahan aktif. Pada hari keempat dan kelima terjadi kenaikan jumlah koloni karena ketersediaan substrat (etanol, asam organik) dan kondisi fermentasi (peningkatan suhu, penurunan pH, serta adanya aerasi dari proses pembalikan) mendukung pertumbuhan bakteri lebih optimal, sehingga jumlah koloni yang terbentuk mencapai nilai tertinggi (Ho *et al.*, 2014).

Koloni bakteri yang telah tumbuh pada medium NA kemudian ditumbuhkan di medium selektif yaitu *Bacillus Agar Base* (BAB), *Potato Dextrose Agar* (PDA) menunjukkan adanya pertumbuhan jamur dan bakteri yang memiliki warna, bentuk, dan karakteristik yang berbeda-beda pada setiap mediumnya. Adapun koloni yang tumbuh pada setiap mediumnya dapat dilihat pada gambar berikut ini.



**Gambar 2.** (A) Koloni jamur yang tumbuh pada media PDA; (B) Koloni Bakteri yang tumbuh pada media BAB; (C) Sel *Saccharomyces cerevisiae*; (D) Sel *Bacillus Sp.*; (E) Sel *Mucor Sp.*

Gambar 2 memperlihatkan bahwa koloni jamur yang ditumbuhkan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) adapun karakteristik berdasarkan pengamatan koloni adalah berbentuk koloni bulat, berwarna putih, permukaan koloni tidak teratur, serta tepian koloninya. Hasil pengamatan secara mikroskopik dapat diketahui bahwa jenis jamurnya adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan *Mucor Sp.* dengan ciri-ciri berbentuk bulat atau oval dengan selnya kadang tersebar dan berkelompok.

*Saccharomyces cerevisiae* ditemukan pada awal proses fermentasi suhu 25-40°C dan PH 3-7. Dengan ciri-ciri berdasarkan morfologinya berwarna krem atau putih, biasanya berbentuk bulat, tepi utuh, dan elevasinya menonjol, temuan ini sejalan dengan hasil penelitian (Teng-Sin *et al.*, 2016). Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* memiliki bentuk sel bulat hingga oval dengan susunan yang dapat tersebar maupun berkelompok. Banyak sel memperlihatkan tonjolan kecil (*budding*), yaitu cara reproduksi aseksual khas yeast. Proses ini dimulai ketika sel matang membentuk tunas pada salah satu sisinya. Inti sel membelah secara mitosis, kemudian salah satu nukleus berpindah ke dalam tunas. Setelah mengalami pertumbuhan, tunas akan memisahkan diri dari sel induk dan berkembang menjadi individu baru yang identik secara genetik dengan sel asalnya (Zörgö *et al.*, 2013)

Jenis jamur lain yang ditemukan pada proses fermentasi biji kakao adalah *Mucor Sp.* diidentifikasi menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000x, jenis jamur ini tidak termasuk mikroorganisme utama yang berperan dalam proses fermentasi. *Mucor Sp.* bisa berperan pada tahap akhir fermentasi atau sebagai jamur kontaminan, jika diamati secara morfologi jamur ini memiliki bentuk koloni berwarna kapas dengan ukuran 1 cm menjulang ke atas dengan warna awal putih dan kemudian berubah menjadi keabu-abuan selanjutnya berubah warna menjadi hitam. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Wangge, 2020) yang mengatakan bahwa *Mucor sp.* memiliki koloni berwarna putih dan akhirnya berwarna kelabu, berwarna kuning dan halus, hifa tidak berserat kadang-kadang membentuk cabang, sporangiospora tumbuh pada seluruh bagian miselium, kolumela berbentuk bulat, dan tidak membentuk stolon.

*Mucor Sp.* berkembang biak dengan Spora kemudian berkecambah dan membentuk hifa (benang jamur) yang tumbuh menjalar di permukaan biji. Seiring waktu, hifa ini membentuk *sporangiofor*, yaitu tangkai tegak yang ujungnya mengembang menjadi sporangium. Di dalam sporangium inilah terbentuk spora-spora baru secara aseksual. Setelah matang, sporangium pecah dan melepaskan spora ke lingkungan, memungkinkan siklus ini berulang kembali (Putu *et al.*, 2018).

Bakteri yang teridentifikasi pada proses fermentasi biji kakao adalah *Bacillus sp.* dapat dilihat pada gambar 3 dan 5. ditemukan pada hari ke 4 dan 5 pada proses fermentasi dengan suhu 30-50 °C dan pH 5-8 pada suhu ruang. Pada pengamatan koloni bakteri berbentuk bundar, permukaan koloni tidak teratur dengan tepian licin dan berwarna hijau metalik. Pada pewarnaan gram bakteri terlihat berwarna keunguan berbentuk batang. Saat dilakukan pengujian biokimia menggunakan TSIA tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S dan tidak adanya gas. Bakteri ini mampu memfermentasi glukosa dan laktosa terlihat dengan bentuknya warna merah dan kuning pada tabung.

Pertumbuhan *Bacillus sp.* selama proses fermentasi biji kakao dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang terus berubah. Salah satu faktor utama yang menentukan adalah suhu. *Bacillus sp.* tergolong bakteri *mesofilik* hingga *termofilik*, dengan kisaran suhu optimal antara 35°C hingga 50°C. Peningkatan suhu selama fermentasi, yang disebabkan oleh aktivitas mikroba lain seperti khamir dan bakteri asam laktat, menciptakan kondisi yang ideal bagi perkembangan *Bacillus sp.* Selain itu, pH

lingkungan juga berperan penting. Bakteri ini dapat berkembang pada pH netral hingga sedikit asam (sekitar pH 5,5–7,0), kondisi yang umum terjadi pada tahap pertengahan fermentasi ketika senyawa asam mulai berkurang. (De Vuyst & Weckx, 2016)

*Bacillus sp.* merupakan salah satu mikroorganisme yang berperan pada proses fermentasi kakao khususnya pada tahap akhir proses fermentasi biji kakao, yang berperan meningkatkan suhu dan menciptakan aroma juga menghasilkan enzim *pektinolis* untuk degradasi pulp saat gula habis (Nielsen *et al.*, 2010) Nutrisi dari pulp dan biji kakao seperti gula dan asam amino menjadi sumber energi dan nitrogen yang dibutuhkan. *Bacillus sp.* biasanya mulai tumbuh setelah populasi khamir dan bakteri asam laktat menurun, dan bakteri ini juga mampu menghasilkan senyawa antimikroba seperti bakteriosin yang bisa menghambat mikroba lain.

**Table 2.** Hasil uji biokimia bakteri dengan menggunakan *microbact system*

Sampel	Hasil											
	Gel	Mal	Ino	Sor	Rha	Suc	Lac	Ara	Ado	Raf	Sal	Arg
Sampel H4	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Sampel H5	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-

Pengujian Biokimia menggunakan kit *Microbact System*, menunjukkan bahwa kemampuan metabolisme yang khas pada bakteri *Bacillus sp.* Hasil dari pengujian ini diketahui bahwa bakteri *Bacillus Sp* sampel hari ke 4 dan 5 dapat menghasilkan senyawa latin, Sorbitol, Sucrose, Lactose, Arabinose, Adonitol, dan Salicin. Tetapi tidak dapat memfermentasi senyawa manitol, Rhamnose, Raffinose, Arginine Dihydrolase. Namun pada sampel hari ke 5 bakteri *Bacillus sp* tidak mampu untuk memfermentasi Inositol.

Secara umum bakteri ini mampu memfermentasikan Sorbitol, Sucrose, Lactose, Arabinose, yang berperan pada penyediaan energi serta mendukung pertumbuhannya pada substrat kaya gula seperti pulp kakao. Hal ini mengindikasikan fleksibilitas metabolik *Bacillus* dalam memanfaatkan substrat yang terdapat pada pulp kakao sebagai sumber energi. Kemampuan ini berperan penting dalam mempercepat degradasi pulp serta mendukung pertumbuhan mikroba lain seperti *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri asam laktat, yang kemudian bersama-sama membentuk profil asam organik, alkohol, serta senyawa volatil penentu cita rasa coklat (Ardhana & Fleet, 2011).

Pada pengamatan lain Inositol, malonate, rhamnose, raffinose, dan arginine menunjukkan hasil negatif. Hal ini menandakan bahwa *Bacillus sp.* tidak memiliki enzim spesifik yang diperlukan untuk memfermentasi atau mendegradasi senyawa tersebut, misalnya enzim  $\alpha$ -galaktosidase untuk pemecahan raffinose atau jalur metabolisme untuk deaminasi arginin. Keterbatasan ini bersifat spesifik strain, sehingga tidak semua jenis gula dapat digunakan oleh *Bacillus* dalam fermentasi. Meski demikian, aktivitas enzimatik seperti gelatinase (Gel+) yang positif sangat penting dalam pemecahan protein pulp, sehingga mempercepat penetrasi oksigen dan memicu kondisi fermentasi yang optimal (Nielsen *et al.*, 2010).

Berdasarkan literatur buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* volume 3, spesies yang termasuk dalam genus *Bacillus* menunjukkan pola metabolisme yang beragam terhadap berbagai senyawa karbohidrat dan senyawa organik lainnya. Sebagai contoh, *Bacillus subtilis* diketahui mampu memanfaatkan beberapa substrat seperti laktosa, sukrosa, arabinosa, adonitol, dan salisin. Namun, kemampuan dalam

memetabolisme inositol tidak bersifat seragam, karena hanya strain tertentu saja yang memiliki kemampuan tersebut. Hal ini disebabkan oleh perbedaan genetik yang memengaruhi produksi enzim seperti inositol dehidrogenase, yang diperlukan dalam proses metabolisme inositol.

Berdasarkan rangkaian hasil identifikasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diperoleh dari proses fermentasi tapai singkong memiliki karakteristik yang sesuai dengan *Bacillus sp.* Hal ini dibuktikan melalui beberapa tahapan identifikasi, antara lain: koloni bakteri yang berwarna hijau metalik dengan bentuk bulat dan permukaan tidak beraturan pada media selektif Bacillus Agar Base, hasil pewarnaan Gram yang menunjukkan bakteri Gram positif berbentuk batang serta uji biokimia dengan *Microbact System* yang menunjukkan aktivitas enzimatik, seperti produksi gelatinase, dan kemampuan fermentasi terhadap beberapa jenis karbohidrat

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa hasil identifikasi jamur dan bakteri pada fermentasi biji kakao menunjukkan adanya keterlibatan jenis jamur *Saccharomyces cerevisiae* dan *Mucor sp.*, serta bakteri *Bacillus sp.* dalam proses fermentasi biji kakao. Dengan demikian, kombinasi aktivitas mikroorganisme ini berperan besar dalam meningkatkan mutu dan kualitas akhir biji kakao yang difermentasi.

## REKOMENDASI

Peneliti merekomendasikan bahwa perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk memanfaatkan jamur dan bakteri yang telah ditemukan sebagai starter dalam upaya perbaikan kualitas biji kakao

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas kasih dan anugerah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Penulis dengan tulus mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada orang tua dan saudara-saudara penulis, orang-orang hebat yang selalu ada di belakang penulis selama hidup dan menjalani studi, yang menjadi penyemangat, pemberi nasehat, serta kasih sayang di tengah kerasnya dunia dan selalu memberikan motivasi terbaik. Penulis juga menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, serta motivasi selama proses penelitian berlangsung, serta kepada seluruh pihak yang telah membantu dan berkontribusi dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ardhana, M. M., & Fleet, G. H. (2011). The Microbial Ecology Of Cocoa Bean Fermentations In Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1–2), 87–99. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00081-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00081-3)
- Arya Bima Senna. (2020). Pengolahan Pascapanen pada Tanaman Kakao untuk Meningkatkan Mutu Biji Kakao: Review. *Jurnal Triton*, 11(2), 51–57. <https://doi.org/10.47687/jt.v11i2.111>
- Bergey, D. H., & Boone, D. R. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed., Vol. 3). Springer. DOI: 10.1007/b92997
- De Vuyst, L., & 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>
- Farhanandi, B. W., & Indah, N. K. (2022). Karakteristik Morfologi dan Anatomi

- Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) yang Tumbuh pada Ketinggian Berbeda. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 310–325. <https://doi.org/10.26740/enterabio.v11n2.p310-325>
- Febriza, M. A., Adrian, Q. J., & Sucipto, A. (2021). Penerapan Ar Dalam Media Pembelajaran Klasifikasi Bakteri. *Jurnal BIOEDUIN: Program Studi Pendidikan Biologi*, 11(1), 10–18. <https://doi.org/10.15575/bioeduin.v11i1.12076>
- Firmanto, D., Jundillah, M. L., & widagdo, K. A. (2018). Penelitian Deskriptif, Ekploratori, dan Eksplanatori. 13.
- Fitriyana, N. I., & Suwasono, S. (2015). *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous This Research Have Focused On Isolation And Identification Of Lactic Acid Bacteria ( LAB ) With Potential Antifungal Which Candidate As Biopreservative Microorganisms . LAB produce bioactive compound*. 9(1), 33–41. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v9i1.2122>
- Ho, V. T. T., Zhao, J., & Fleet, G. (2014). Yeasts Are Essential For Cocoa Bean Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 72–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.014>
- Korcari, D., Fanton, A., Ricci, G., Rabitti, N. S., Laureati, M., Hogenboom, J., Pellegrino, L., Emide, D., Barbiroli, A., & Fortina, M. G. (2023). Fine Cocoa Fermentation with Selected Lactic Acid Bacteria: *Composition and Sensory Properties*. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods12020340>
- Misbakh, N. C., Cempaka, L., David, W., & Asiah, N. (2022). Studi Meta-analisis: Pengaruh Penambahan Kultur Starter pada Profil Fermentasi, Mikroorganisme, dan Metabolit Hasil Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Agro Industri Perkebunan*, 10(2), 77–96. <https://doi.org/10.25181/jaip.v10i2.2545>
- Nielsen, D. S., Teniola, O. D., Ban-Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T. S., & Holzapfel, W. H. (2007). The Microbiology Of Ghanaian Cocoa Fermentations Analysed Using Culture-Dependent And Culture-Independent Methods. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 168–186. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.010>
- Putu, N., Ristiari, N., Srie, K., Julyasih, M., Ayu, I., Suryanti, P., & Biologi, J. (2018). *Isolasi Dan Identifikasi Jamur Mikroskopis Pada Rizosfer Tanaman Jeruk Siam (Citrus nobilis Lour .) Di Kecamatan Kintamani , Bali*. 6(1), 10–19. <https://doi.org/10.23887/jjpb.v6i1.21921>
- Ooi, T. S., Sepiah, M., & Khairul Bariah, S. (2016). Diversity of Yeast Species Identified During Spontaneous Shallow Box Frmentation of Cocoa Beans in Malaysia. *Internasional journal of innovative science, engineering& technology*, 3 (10), 379-385. Retrieved from [http://ijiset.com/vol3/v3s10/IJISSET\\_V3\\_I10\\_57.pdf](http://ijiset.com/vol3/v3s10/IJISSET_V3_I10_57.pdf)
- Wangge, E. S. A. (2020). Isolasi Dan Identifikasi Jamur Penghasil Mikotoksin Pada Biji Kakao Kering Yang Dihasilkan Di Flores-Lembata. *Agrica*, 6(1), 23–32. <https://doi.org/10.37478/agr.v6i1.423>