

KAJIAN PERBEDAAN KONDISI FERMENTASI ALKOHOL DAN
KONSENTRASI INOKULUM PADA PEMBUATAN CUKA SALAK
(*Salacca zalacca*)

*Study on Different Fermentation Condition and Inoculum Concentration in
Snake Fruit Vinegar (Salacca zalacca) Production*

Elok Zubaidah

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fak. Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya
Jl. Veteran – Malang
Email: elzoeba@yahoo.com

ABSTRAK

The objective of producing snake fruit vinegar was to obtain high quality vinegar and improve the effectiveness of first material. This research was aimed to know the effect of alcohol fermentation condition (aerobic and anaerobic) and the effect of inoculation concentration with the Backslop method to the physical, chemical, and sensory characteristics of snake fruit vinegar.

This research use Factorial Randomized Block Design with 2 factors, snake fruit vinegar concentration (10%; 15%; 20% b/v) and different fermentation condition (aerobic and anaerobic) with 3 replications. The result of this research showed that fermentation condition during alcohol fermentation and different inoculum concentration gave the significant effect on total acid content and the other parameters. Meanwhile the interaction of both factors did not give significant effect. Anaerobic condition during alcohol fermentation gave the best result

Keywords: *snake fruit vinegar, aerobic, anaerobic, Backslop method, alcohol fermentation*

PENDAHULUAN

Kabupaten Malang merupakan salah satu daerah penghasil salak. Jenis salak yang dihasilkan ialah varietas Suwaru. Produksi salak Suwaru cukup tinggi, sebagai contoh pada tahun 2002 produksinya mencapai 550.000 kuintal (Anonim, 2003). Varietas Suwaru jenis Budeng kurang disukai oleh konsumen karena memiliki rasa yang kelat. Salah satu alternatif untuk proses pengolahan salak adalah diolah menjadi cuka salak. Salak yang mengandung komponen tanin diyakini dapat memberi efek fungsional bagi kesehatan, sehingga pengolahan komoditi ini menjadi salah satu produk pangan fungsional, selain memberikan manfaat positif bagi kesehatan sekaligus juga meningkatkan nilai ekonomi komoditi.

Prinsip pembuatan cuka buah yaitu fermentasi alkohol dan asam asetat. Proses pertama melibatkan aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* yang mengubah gula-gula sederhana menjadi alkohol dalam kondisi anaerob, sedangkan proses kedua melibatkan aktivitas bakteri *Acetobacter acetii* yang mengubah alkohol dengan kadar tertentu menjadi sejumlah asam asetat dalam kondisi aerob (Anonymous, 2009a). Menurut Daulay dan Rahman (1992), kriteria mutu cuka yang utama adalah kandungan asam asetatnya. Di Amerika Serikat, konsentrasi asam asetat minimal yang berlaku adalah 4% (b/v).

Beberapa organisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* dapat hidup, baik dalam kondisi lingkungan cukup oksigen maupun kurang oksigen.

gen. Dalam keadaan cukup oksigen, *Saccharomyces cerevisiae* akan melakukan respirasi biasa. Akan tetapi, jika dalam keadaan lingkungan yang kurang oksigen, *Saccharomyces cerevisiae* akan melakukan proses fermentasi (Anonymous, 2009b).

Backslop adalah salah satu metode fermentasi terkontrol yang menggunakan sejumlah konsentrasi tertentu hasil dari produk fermentasi sebelumnya (cuka) yang diinokulasikan pada sejumlah bahan baku (Anonymous, 2009b). Pada metode fermentasi *Backslop* belum diketahui secara pasti konsentrasi penambahan hasil fermentasi sebelumnya yang paling optimum untuk menghasilkan mutu cuka salak yang terbaik.

Berdasarkan pernyataan tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kondisi fermentasi (aerob dan anaerob) dan konsentrasi inokulum cuka salak yang paling optimum untuk menghasilkan mutu cuka salak yang terbaik

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan adalah salak Suwaru jenis Budeng diperoleh dari Desa Suwaru, Kecamatan Gondang Legi, Kabupaten Malang, Isolat *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter acetii*, pepton, ekstrak khamir, media NA, NB dan media PDA merek "Oxoid", NaOH 1 N, asam oksalat, indikator pp 1%, pereaksi anthrone, glukosa anhidrat, $K_2Cr_2O_7$, K_2CO_3 , bubuk kaolin, larutan garam asam, gelatin, Na-indigotindisulfat, dan $KMnO_4$.

Metode Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok Faktorial dengan 2 faktor, diulang 3 kali, yaitu kondisi fermentasi (aerob dan anaerob) serta konsentrasi inokulum cuka salak (10, 15, dan 20%). Pengamatan dilakukan terhadap *wine* salak (kadar alkohol) dan cuka salak, yang meliputi kadar alkohol (Gas Kromatografi AOAC, 1990), total mikroba *starter*, analisis total gula (AOAC, 1990), analisis total padatan terlarut

(AOAC, 1990), analisis pH (AOAC, 1990), dan analisis total asam (AOAC, 1990)

Pembuatan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae*

Biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* yang berumur 24 jam diinokulasikan dalam 120 ml media aktivasi dengan menggunakan jarum ose. Kultur dalam media cair aktivasi tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur dalam media cair aktivasi ditambahkan ke dalam 1200 ml campuran sari buah salak dan aquades dengan perbandingan 1:1, diamonium hidrogen fosfat 0,2% (b/v), dan sukrosa 12,5% (b/v), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media cair tersebut digunakan sebagai inokulum.

Pembuatan Inokulum *Acetobacter acetii*

Sebanyak 13 gram media NB dilarutkan dalam 1 liter akuades panas dan selanjutnya dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Biakan murni *Acetobacter acetii* yang berumur 48 jam sebanyak 2 ose diinokulasikan dalam 10 ml media cair aktivasi secara aseptis kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 10 ml kultur dalam media cair aktivasi tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 100 ml media cair aktivasi secara aseptis, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam 1000 ml sari buah salak beralkohol, diinkubasi selama 36 jam pada 37°C dan digunakan sebagai inokulum.

Fermentasi Alkohol

Buah salak dikupas dan ditimbang. Kemudian ditambahkan air dengan perbandingan salak : air adalah 1:2, kemudian dihancurkan dengan *blender* hingga diperoleh bubur buah.

Bubur buah disaring dengan kain saring hingga diperoleh sari salak kemudian dianalisis kadar total gula. Kemudian ditambahkan sukrosa 12,5% (b/v), diamonium hidrogen fosfat 0,2% (b/v), dan Na-bisulfit 200 mg/l. Sari buah salak dianalisis kadar total gula, pH, TPT, dan kadar total asam.

Sari buah dipasteurisasi dalam panci pada suhu 65°C selama 30 menit untuk mematikan mikroba awal, kemudian dimasukkan botol fermentor dan didinginkan sampai suhu 35°C untuk mengkondisikan medium bagi khamir. Selanjutnya ditambahkan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* untuk masing-masing konsentrasi dan dilakukan fermentasi pada suhu kamar selama 10 hari dalam kondisi yang berbeda yaitu aerob dan anaerob sehingga dihasilkan sari salak beralkohol (*wine*). *Wine* salak yang telah dihasilkan dianalisis kadar alkoholnya.

Fermentasi Asam Asetat

Inokulum cuka salak ditambahkan sebanyak 10, 15, dan 20% (v/v) pada *wine* salak kemudian difermentasi selama 16 hari pada suhu kamar dalam kondisi aerob dengan kecepatan aerasi 0,07 vvm. Pasteurisasi dilakukan pada suhu 65°C selama 30 menit untuk menghentikan fermentasi asam asetat, kemudian disaring dengan kertas saring. Cuka salak yang dihasilkan dianalisis total asam, pH, total gula, TPT, dan kadar alkohol. Perlakuan terbaik dibandingkan dengan cuka apel yang beredar di pasaran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Sari Salak

Karakteristik kimia sari salak yang dapat dilihat pada Tabel 1. Kadar gula sari buah salak sebesar 5,14% masih terlalu rendah sebagai bahan dasar fermentasi alkohol. Menurut Dauly dan Rahman (1992), bahan baku pembuatan cuka dari sari buah perlu dipekatkan terlebih dahulu atau ditambahkan gula (sukrosa) sampai kandungan gulanya mencapai 10–25% (b/v). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan penambahan sukrosa pada sari

salak hingga kandungan gulanya mencapai jumlah yang memadai untuk pembentukan alkohol.

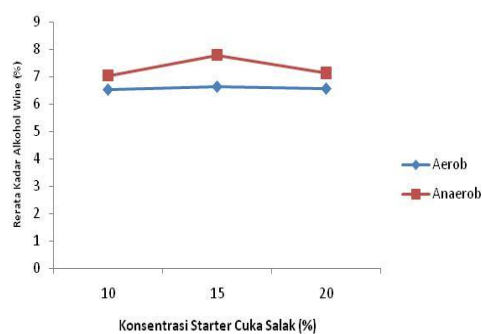
Tabel 1. Karakteristik kimia sari salak

Parameter	Nilai
Total Gula Sebelum	5,14%
Penambahan Gula 12,5%	
Total Gula Setelah	16,30%
Penambahan Gula 12,5%	
Total Asam	0,32%
pH	4,46
Total Padatan Terlarut (TPT)	19,00°Brix

Kadar total asam sari salak yang diperoleh sebesar 0,32%. Keasaman buah ditentukan oleh kandungan asam organik. Kondisi pH sari salak sebesar 4,46 sudah memenuhi syarat pertumbuhan khamir untuk melakukan fermentasi alkohol. Hal ini didukung oleh pernyataan Wood *et al* (1998) bahwa khamir dapat tumbuh pada kisaran pH 4–4,5. TPT sari salak yang diperoleh sebesar 19,00°Brix. Kondisi ini sudah cukup memadai untuk berlangsungnya fermentasi alkohol karena menurut Brian *et al.* (1998) konsentrasi medium dalam fermentasi *wine* berkisar 20°Brix.

Kadar Alkohol *Wine* Salak

Kadar alkohol *wine* salak dapat dilihat pada Gambar 1. Rerata kadar alkohol yang tinggi menunjukkan kondisi yang terbaik adalah kondisi fermentasi anaerob. Hal ini disebabkan pada kondisi anaerob, khamir mengubah gula menjadi alkohol dan CO₂.

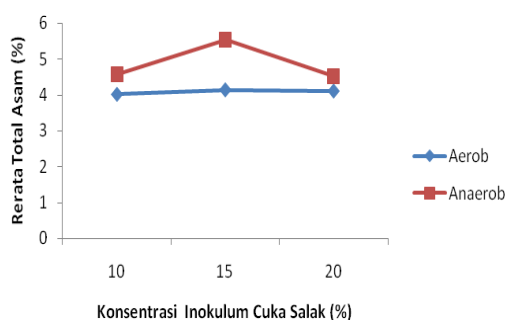


Gambar 1. Kadar alkohol *wine* salak hasil fermentasi alkohol

Gambar 1 juga menunjukkan kadar alkohol terendah yaitu pada kondisi aerob. Hal ini diduga pada kondisi aerob *Saccharomyces cerevisiae* akan melakukan respirasi yang akan menghasilkan CO_2 dan H_2O . Selain itu diduga dalam keadaan aerob *Saccharomyces cerevisiae* selain menghasilkan sel-sel baru, sebagian khamir juga dapat merombak gula menjadi alkohol.

Kadar Total Asam Cuka Salak

Kadar total asam cuka salak disajikan pada Gambar 2. Gambar 2 menunjukkan rerata kadar total asam yang dihasilkan pada kondisi fermentasi anaerob lebih tinggi bila dibandingkan dengan rerata kadar total asam pada kondisi fermentasi aerob. Pada kondisi fermentasi anaerob, kadar total asam meningkat pada penambahan konsentrasi inokulum cuka salak 15% dan mengalami penurunan pada penambahan konsentrasi inokulum cuka salak 20%.



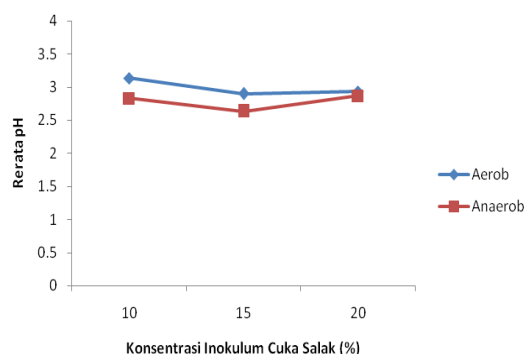
Gambar 2. Kadar total asam cuka salak akibat perlakuan perbedaan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum cuka salak

Kenaikan kadar total asam cuka salak saat fermentasi sari salak disebabkan pada kondisi fermentasi alkohol yang anaerob kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* dalam menghasilkan alkohol lebih maksimum dibandingkan dengan kondisi fermentasi alkohol yang aerob sehingga pembentukan asam asetat juga tinggi. Pada perlakuan konsentrasi inokulum cuka salak 15% total asam berada pada kondisi tertinggi. Hal ini diduga karena pada

konsentrasi tersebut pertumbuhan *Acetobacter acetii* untuk memecah substrat alkohol menjadi asam berada pada konsentrasi yang optimum. Menurut Lu *et al.* (1999), semakin tinggi konsentrasi alkohol pada medium untuk fermentasi asetat maka jumlah asam asetat yang dihasilkan juga semakin tinggi.

Nilai pH Cuka Salak

Nilai pH cuka salak disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Nilai pH cuka salak akibat perlakuan perbedaan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum cuka salak

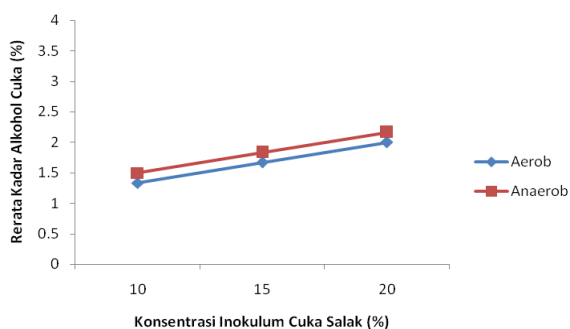
Rerata pH cuka salak terendah diperoleh dengan perlakuan fermentasi anaerob. Pada kondisi fermentasi anaerob kadar total asam yang dihasilkan lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan fermentasi aerob. Hal ini disebabkan saat fermentasi alkohol secara anaerob, *Saccharomyces cerevisiae* lebih mudah memecah gula menjadi alkohol sehingga kadar alkohol yang dihasilkan juga tinggi.

Kadar alkohol yang tinggi tersebut kemudian difermentasi oleh bakteri *Acetobacter acetii* menjadi asam asetat sehingga asam asetat yang dihasilkan juga tinggi. Peningkatan asam asetat ini juga akan menurunkan pH akhir produk cuka salak. Menurut Naidu (2000), asam asetat yang terlalu akan berdisosiasi untuk melepas-

kan proton-proton bebas yang menurunkan pH larutan.

Kadar Alkohol Cuka Salak

Kadar alkohol cuka salak disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kadar alkohol cuka salak akibat perlakuan perbedaan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum cuka salak

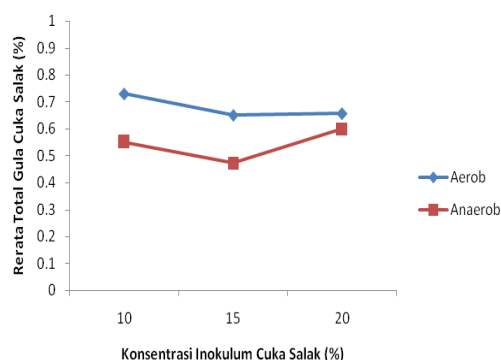
Kadar alkohol cuka salak yang terendah terdapat pada perlakuan inokulasi cuka salak dengan konsentrasi inokulum 10%. Hasil ini berbeda dengan inokulasi cuka salak dengan konsentrasi inokulum 15 dan 20%. Hal ini diduga dipengaruhi oleh ketersediaan kadar alkohol awal sebagai substrat untuk pembentukan asam asetat. Apabila kadar alkohol substrat sesuai untuk pertumbuhan *Acetobacter acetii*, maka substrat beralkohol sebagian besar akan dioksidasi menjadi asam asetat oleh *Acetobacter acetii* dan yang lainnya menjadi alkohol sisa.

Selama proses fermentasi asetat, *Acetobacter acetii* merombak alkohol menjadi asam asetat sehingga jumlah alkohol awal akan berkurang karena menurut Daulay dan Rahman (1992) disebutkan bahwa alkohol merupakan medium bakteri asam asetat untuk hidup dan diubah menjadi asam asetat. Hotmaka and Ebner (1995) menyatakan bahwa kadar alkohol yang baik digunakan sebagai substrat dalam fermentasi asam asetat sebesar 5–7%.

Kadar Total Gula Cuka Salak

Rerata kadar total gula terendah terdapat pada perlakuan fermentasi ana-

erob. Hal ini diduga karena pada kondisi fermentasi anaerob, alkohol yang dihasilkan lebih tinggi daripada perlakuan kondisi fermentasi aerob. Pada perlakuan kondisi fermentasi anaerob gula, lebih banyak digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon sehingga gula yang tersisa semakin sedikit. Menurut Rahman (1992), pada fermentasi asam asetat, sumber karbon (biasanya glukosa) dioksidasi menjadi CO_2 dan H_2O .



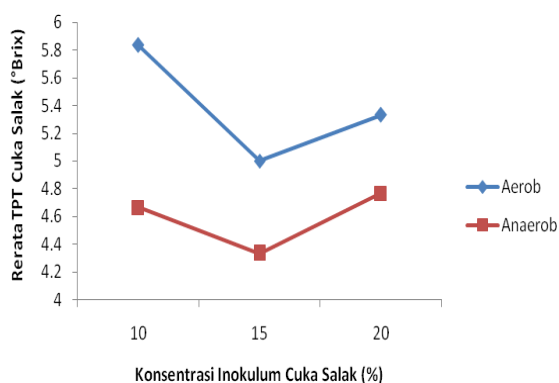
Gambar 5. Kadar total gula cuka salak akibat perlakuan perbedaan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum cuka salak

Kadar total gula cuka salak berbanding terbalik dengan kadar total asam cuka salak. Semakin tinggi total gula maka total asam akan semakin rendah dan sebaliknya semakin rendah total gula maka total asam cuka salak juga semakin tinggi.

Total Padatan Terlarut Cuka Salak

Rerata total padatan terlarut dapat dilihat pada Gambar 6. Rerata total padatan terlarut terendah terdapat pada perlakuan kondisi fermentasi anaerob pada saat fermentasi alkohol. Penurunan total padatan terlarut selama fermentasi diduga disebabkan selama proses fermentasi berlangsung, gula yang merupakan komponen padatan terlarut yang dominan dalam medium disamping pigmen, vitamin, dan mineral, dimetabolisme oleh khamir menjadi alkohol dan CO_2 kemudian

dimanfaatkan oleh bakteri asam asetat sebagai sumber karbon. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Reed and Nagodawithana (1991) bahwa selama proses fermentasi khamir dan bakteri berlangsung, terjadi penurunan total padatan terlarut.



Gambar 6. Total padatan terlarut cuka salak akibat perlakuan perbedaan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum cuka salak

Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik untuk hasil penelitian ini dilakukan pada produk dengan menggunakan metode Indeks Efektivitas (De Garmo *et al.*, 1984). Pembobotan dilakukan berdasarkan tingkat kepentingan dari tiap parameter terhadap produk. Berdasarkan kriteria pemilihan perlakuan terbaik diperoleh cuka salak dengan kombinasi perlakuan terbaik yaitu 15% dengan fermentasi anaerob (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis uji sebaran t antara cuka salak perlakuan terbaik dengan cuka apel komersial

Parameter	Cuka Salak	Cuka Apel Komersial
Kadar Total Asam (%)	5,54*	4,88
pH	2,63**	3,03
Total Gula (%)	0,47*	1,20
Total Padatan Terlarut (°Brix)	4,33**	3,60
Kadar Alkohol (%)	1,83*	0,67

*=berbeda nyata, **=berbeda sangat nyata

Selanjutnya perlakuan terbaik hasil penelitian dibandingkan dengan produk

serupa yang telah ada di pasaran yaitu cuka apel. Hasil analisis dengan menggunakan uji sebaran t untuk membandingkan cuka salak perlakuan terbaik dengan cuka apel dapat dilihat pada Tabel 2.

KESIMPULAN

Interaksi antara kedua perlakuan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum memberikan pengaruh yang nyata pada parameter total asam. Perlakuan terbaik diperoleh dari kombinasi konsentrasi inokulum cuka salak 15% dengan kondisi fermentasi alkohol secara anaerob dengan karakteristik total asam sebesar 5,54%, pH 2,63, total gula 0,47%, total padatan terlarut 4,33°Brix, dan kadar alkohol 1,83%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. Potensi Kabupaten Malang. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0303/14/-otonomi/181128.htm>. Tanggal akses 20 Mei 2009
- Anonymous. 2009a. What is Vinegar. <http://www.versatilevinegar.org/>. Tanggal akses 20 Mei 2009
- Anonymous. 2009b. Saccharomyces cerevisiae. http://www.nationmaster.com/encyclopedia/Saccharomyces_cerevisiae. Tanggal akses 15 Mei 2009
- Anonim. 2009. Fermentasi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*: The Crabtree Effect. <http://generasibiologi.blogspot.com/2009/05/artikel-biologi.html>. Tanggal akses 1 Juni 2009
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC
- Brian, W. 1998. Microbiology of Fermented Foods. Volume I Second Edition. Blackie Academic and Professional, London

- Daulay, D dan A. Rahman 1992. Teknologi Fermentasi Sayuran dan Buah-Buahan. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor
- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan, and C.R Canada. 1984. Engineering Economy 7th ed. Mac Millan Publishing Company, New York
- Hotmaka, O and H. Ebner. 1995. *Vinegar by Submerge Oxidative Fermentation*. Ind. Eng. Chem. 51:1279-1280
- Lu, S., Lee, and H. Chen. 1999. A Thermotolerant and high acetic acid-producing bacterium *Acetobacter* sp. 114-2. Journal of Applied Microbiology 86(1): 55-62
- Naidu, A. S. 2000. Natural Food Antimicrobia Systems. CRC Press, USA
- Rahman, A. 1992. Teknologi Fermentasi. Penerbit Arcan, Jakarta
- Reed, G and T. W. Nagodawithana. 1991. Yeast Technology. Van Nostrand Reinhold Publisher, New York.
- Wood, B.J.B. 1998. Microbiology of Fermented Foods, First Edition. Blackie Academic and Professional, London