

PENGARUH PENAMBAHAN INOKULUM *Saccharomyces cerevisiae* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK CUKA FERMENTASI DARI CAIRAN PULPA HASIL SAMPING FERMENTASI BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

Anak Agung Sagung Inten Mahasari Putri¹, G.P. Ganda Putra², Wayan Arnata²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

Email: gunggeginten@gmail.com¹

Email koresponden: gandaputra@unud.ac.id²

ABSTRACT

This aims to this study was to (1) determine the effect of addition inoculum *Saccharomyces cerevisiae* and fermentation period on the characteristics of vinegar fermentation from liquid waste of cacao beans fermentation, and (2) to determine the accurate of addition innoculum *Saccharomyces cerevisiae* and fermentation period which one produces the best characteristic fermentation from liquid waste of cacao beans fermentation. The experiments was designed by a Split Plot design with the addition of inoculum *Saccharomyces cerevisiae* (S) into the main plot consisting of 3 plots 10%, 15%, and 20% (v/v). Fermentation period (H) is a subplots consisting of 6 levels were 0, 5, 10, 15, 20, 25 days. The fermentation period was affected significantly ($P < 0,01$) on levels of acetic acid, total acid, alcohol content, total sugar and total dissolved solids from a liquid pulp vinegar fermentation from liquid waste of cacao beans fermentation, while the addition of inoculum *Saccharomyces cerevisiae* and interaction did not affect ($P > 0,05$). The best characteristics of fermentation vinegar was found on the addition of an inoculum of 10% and fermentation period for 25 days with the, acetic acid content, total of acid, alcohol content, total sugar and total of soluble solid were 2,86 (% v/v), 1,16 meq NaOH / g, 0,00%, 1,29%, dan 6,02 °Brix, respectively.

Keyword : *vinegar fermentation, cacao, watery sweating, fermentation period, additional of inoculum.*

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* Linn) atau lazim pula disebut tanaman coklat, merupakan komoditas perkebunan yang terus dipacu perkembangannya, terutama untuk meningkatkan ekspor non migas. Pengolahan kakao pada esensinya adalah usaha untuk memproses buah kakao menjadi biji kakao kering yang memenuhi standar mutu dan dapat memunculkan karakteristik khas kakao, terutama cita rasa. Tahapan pengolahan yang dianggap paling dominan mempengaruhi mutu hasil biji kakao kering adalah fermentasi (Alamsyah, 1991). Fermentasi biji kakao bertujuan untuk menghancurkan pulpa dan mengusahakankondisi untuk terjadinya reaksi biokimia dalam keping biji yang berperan bagi pembentukan prekursor cita rasa dan warna coklat. Pulpa yang telah hancur akan mudah lepas dari biji, membentuk cairan pulpa (*watery sweatings*) yang menetes keluar tumpukan biji dan biji kakao menjadi bersih dan cepat kering (Haryadi dan Supriyanto, 1991). Cairan pulpa yang dihasilkan selama proses fermentasi adalah 15-20% dari berat biji kakao yang difermentasi (Ganda-Putra dkk., 2008). Kandungan asam asetat dalam cairan pulpa setelah fermentasi adalah 1,6 % (Case, 2004). Potensi cairan pulpa yang cukup besar tersebut, selama ini tidak diolah dan hanya dibuang begitu saja ditempat

pengolahan dan bisa menimbulkan dampak yang buruk bagi lingkungan. Limbah cairan pulpa hasil fermentasi tersebut dapat di distilasi untuk memproduksi cuka fermentasi, namun asam asetatnya masih rendah yaitu sebesar 0,49 % (Wiji,2015).

Prinsip pembuatan cuka fermentasi adalah melalui proses fermentasi 2 tahap, yaitu tahap pertama fermentasi alkohol dan tahap kedua fermentasi asam asetat. Fermentasi alkohol melibatkan aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* yang mengubah gula-gula sederhana menjadi alkohol dalam kondisi anaerob. Tahap kedua fermentasi asam asetat melibatkan aktivitas bakteri *Acetobacter aceti* yang mengubah alkohol dengan kadar tertentu menjadi sejumlah asam asetat dalam kondisi aerob (Anon, 2009). Lama fermentasi berpengaruh terhadap karakteristik cuka fermentasi, karena semakin lama fermentasi kadar alkohol akan meningkat. Namun bila fermentasi terlalu lama nutrisi dalam substrat akan habis dan khamir *Saccaromyces cerevisiae* tidak lagi dapat memfermentasi bahan.

Menurut Aridona (2015), terjadinya peningkatan kadar asam asetat selama proses fermentasi sampai hari ke-6 (2,30%) yang tidak berbeda dengan kadar asam asetat hari ke 7, 8, 9, dan 10 pada cairan pulpa kakao. Menurut Zubaidah (2010), perlakuan dari kombinasi penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan inokulum *Acetobacter aceti* sebesar 15% dengan lama fermentasi alkohol selama 10 hari dan lama fermentasi asam asetat selama 16 hari mampu menghasilkan cuka salak dengan kadar total asam sebesar 5,54% pada kondisi fermentasi alkohol secara anaerob. Proses pemanfaatan pulpa kakao belum banyak diketahui oleh masyarakat secara umum, sehingga sering terjadi permasalahan limbah pada saat proses pengolahan awal kakao. Penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan *Acetobacter aceti* dengan lama fermentasi 25 hari belum pernah dilakukan pada pembuatan cuka fermentasi dari kakao.

Atas dasar hal-hal tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan inokulum dan lama fermentasi yang tepat untuk menghasilkan karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao, serta untuk menghasilkan produk cuka fermentasi yang terbaik yang tentunya akan sangat bermanfaat dan mempunyai nilai tambah bagi komoditas perkebunan kakao.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Kegiatan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengendalian Mutu, Laboratorium Analisis Pangan, Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Penelitian ini dimulai pada bulan Juni 2015 – Agustus 2015.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya : wadah fermentasi, timbangan analitik (SHIMADZU), *spektrofotometer (thermoscientific)*, *vortex (thermolyne)*, kertas saring Whatman No. 1, biuret, *water bath*, piknometer (IWAKI), oven, aluminium foil, tisu, botol sampel, lemari pendingin, hand refraktometer (ATAGO), autoclave, batang pengaduk, jarum oose, magnetic stirer, dan alat-alat gelas. Alat-alat yang digunakan untuk mikrobanya adalah Tabung reaksi, Cawan Petri, Erlenmeyer, Pipet mikro, Tip 100 µl, Tip 1000 µl, Laminer Air Flow, Inkubator, Kapas.

Bahan utama pada penelitian ini adalah cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao selama 3 hari yang didapat dari sentra-sentra produksi kakao Desa Angkah, Kecamatan Selemadeg Barat, Kabupaten Tabanan, sedangkan bahan-bahan kimia yang digunakan diantaranya : NaOH, HCl, pp, arsenomolibdat, Nelson, aquades, asam oksalat, biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* FNCC-3049 dan *Acetobacter aceti* RNCC-0016 dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, medium Malt Extract Agar, Nutrien Broth, Glucose Yeast Pepton, saline (NaCl).

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Petak Terbagi (Split Plot). Perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* (S) menjadi petak utama yang terdiri atas 3 petak yaitu 10%, 15%, dan 20% (v/v). Perlakuan lama fermentasi (H) merupakan anak perlakuan yang terdiri dari 6 level yaitu 0, 5, 10, 15, 20, 25 hari. Percobaan ini diulang sebanyak dua kali sehingga mendapatkan 36 unit percobaan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi dan dilanjutkan dengan uji Duncan 5%. Karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao terbitk didapatkan dengan menggunakan uji efektivitas (De Garmo dkk., 1984).

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* FNCC-3049

Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* FNCC-3049 disegarkan dengan cara diambil sebanyak 1 jarum oose kemudian diinokulasikan dalam 5 ml media cair *Glucose Yeast Pepton* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Isolat yang tumbuh tersebut kemudian dikonfirmasi dengan mengamati bentuk morfologi isolat tersebut. Isolat yang telah tumbuh dalam media cair *Glucose Yeast Pepton* diinokulasikan kedalam 10 ml media cair *Glucose Yeast Pepton*. Isolat yang telah tumbuh dalam media cair tersebut diinokulasikan ke dalam 100 ml media cair *Glucose Yeast Pepton* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. 100 ml media cair *Glucose Yeast Pepton* ini kemudian ditambahkan saline (NaCl) dan dicentrifuse pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit, sehingga dihasilkan massa sel, supernatan yang dihasilkan kemudian dibuang. 100 ml kultur cair tersebut diinokulasikan ke dalam

1000 ml cairan pulpa dan ditambahkan gula 12,5% (b/v) dan diamonium hidrogen fosfat 0,2% (b/v). Campuran tersebut kemudian diaduk rata dan ditambahkan massa sel. Cairan pulpa yang dijadikan inokulum tersebut diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam.

Pembuatan Inokulum *Acetobacter aceti* RNCC-0016

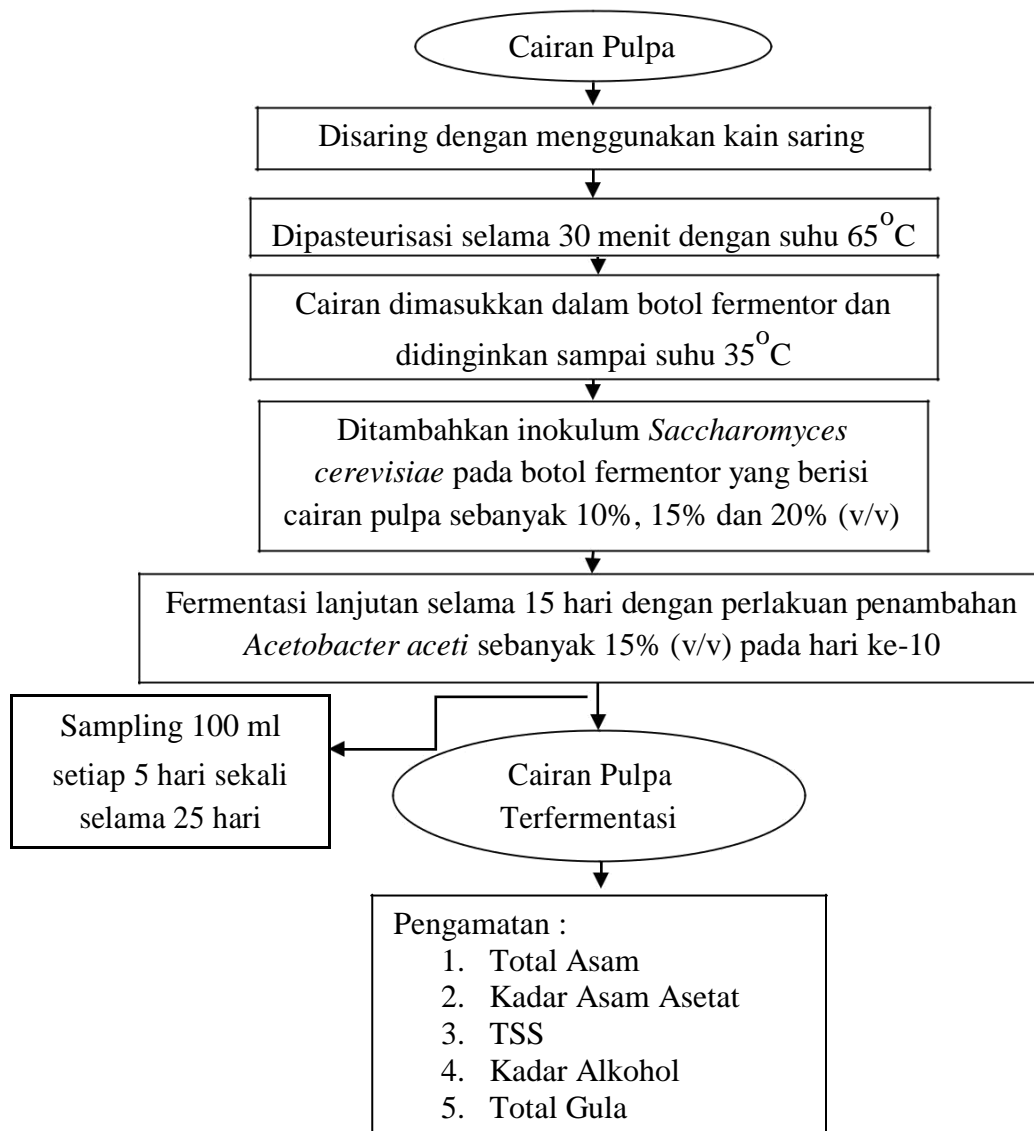
Inokulum *Acetobacter aceti* RNCC-0016 disegarkan dengan cara diambil sebanyak 1 jarum ose kemudian diinokulasikan dalam 5 ml media cair *Nutrien Broth* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Isolat yang tumbuh tersebut kemudian dikonfirmasi dengan mengamati bentuk morfologi isolat tersebut. Isolat yang telah tumbuh dalam media cair *Nutrien Broth* diinokulasikan kedalam 10 ml media cair *Nutrien Broth*. Isolat yang telah tumbuh dalam media cair tersebut diinokulasikan ke dalam 100 ml media cair *Nutrien Broth* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. 100 ml media cair *Nutrien Broth* ini kemudian ditambahkan saline (NaCl) dan dicentrifuse pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit, sehingga dihasilkan massa sel, supernatan yang dihasilkan kemudian dibuang. 100 ml kultur cair tersebut diinokulasikan ke dalam 1000 ml cairan pulpa beralkohol. Cairan pulpa yang dijadikan inokulum tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 36 jam.

Fermentasi Alkohol

Cairan pulpa kakao dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Cairan tersebut kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam botol fermentor dan didinginkan sampai suhu 35°C untuk mengkondisikan medium bagi khamir. Selanjutnya ditambahkan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dengan masing-masing konsentrasi 10%, 15%, dan 20% (v/v) kemudian dilakukan fermentasi pada suhu ruang selama 10 hari dalam kondisi anaerob. Di hari ke- 10 fermentasi alkohol ditambahkan inokulum *Acetobacter aceti* pada cairan pulpa yang sudah berubah menjadi alkohol untuk menghasilkan asam asetat.

Fermentasi Asam Asetat

Inokulum *Acetobacter aceti* ditambahkan sebanyak 15% (v/v) pada cairan pulpa yang difermentasi pada hari ke- 10. Kemudian difermentasi selama 15 hari pada suhu ruang dalam kondisi aerob dengan menggunakan aerator. Cairan pulpa kakao tersebut kemudian dianalisis total asam, kadar asam asetat, total gula, total padatan terlarut dan kadar alkoholnya pada hari ke 15, 20 dan 25. Proses fermentasi dihentikan pada hari ke- 25 dengan cara dipasteurisasi pada suhu 65°C dan kemudian disaring. Skema pelaksanaan penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir pelaksanaan penelitian

Variabel Yang Diamati

Variabel yang diamati yaitu total asam (James, 1995), kadar asam asetat (SNI 01-3711-1995), kadar alkohol (SNI 01-4371-1966), total gula metode nelson somogyi (Sudarmadji dkk., 1984) dan total padatan terlarut (Wartini dkk., 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Asam Asetat

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), tetapi perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar asam asetat cuka fermentasi dari cairan

pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata kadar asam asetat cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata kadar asam asetat cuka fermentasi dengan perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan perlakuan lama fermentasi (%).

Penambahan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	1,47	1,77	2,01	2,31	2,74	2,86	2,19a
15	1,46	1,78	1,96	2,32	2,57	2,73	2,13a
20	1,48	1,72	2,03	2,14	2,39	2,57	2,05a
Rata-rata	1,47f	1,75e	2,00d	2,25c	2,57b	2,72a	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 1 di atas, nilai rata-rata asam asetat cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao pada perlakuan lama fermentasi terjadi peningkatan kadar asam asetat sampai hari ke- 25. Dari tabel diatas menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin tinggi kadar asam asetat pada cairan pulpa biji kakao. Sreeramulu dkk., (2000) dalam Afifah (2010) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme sukrosa, menghasilkan asam-asam organik seperti asetat dan asam glukonat, sehingga konsentrasi asam asetat akan semakin meningkat jika waktu fermentasi semakin lama. Kandungan kadar asam asetat pada cuka fermentasi yang selanjutnya dibuat menjadi cuka makan, diklasifikasikan menjadi cuka meja dan cuka dapur. Perbedaannya didasarkan atas kandungan asam asetat, yaitu cuka meja kadar asam asetat 4-12,5% dan cuka dapur kadar asam asetat minimal 12,5% (SNI 01-3711-1995).

Total Asam

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), tetapi perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap total asam cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata total asam cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata total asam cuka fermentasi dengan perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan perlakuan lama fermentasi (meq NaOH/g)

Penambahan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	0,60	0,72	0,82	0,94	1,11	1,16	0,89a
15	0,59	0,72	0,80	0,94	1,04	1,11	0,86a
20	0,60	0,70	0,83	0,87	0,97	1,05	0,83a
Rata-rata	0,59f	0,71e	0,81d	0,91c	1,04b	1,10a	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 2 di atas, nilai rata-rata total asam cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao pada perlakuan lama fermentasi mengalami kenaikan dari hari ke- 0 sampai hari ke- 25. Kenaikan kadar total asam saat fermentasi ini disebabkan pada kondisi fermentasi alkohol yang anaerob karena kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* dalam menghasilkan alkohol lebih maksimum dibandingkan dengan kondisi fermentasi alkohol yang aerob sehingga pembentukan asam asetat juga tinggi. Menurut Lu dkk. (1999), semakin tinggi konsentrasi alkohol pada medium untuk fermentasi asam asetat maka jumlah asam asetat yang dihasilkan juga semakin tinggi. Selain itu peningkatan asam yang semakin tinggi diduga karena bakteri dalam cairan pulpa yang difermentasi telah mengalami fase pertumbuhan logaritmik, bersamaan dengan itu bakteri yang mensintesis alkohol menjadi asam semakin banyak sehingga total asam yang dihasilkan juga semakin tinggi. Semakin lama waktu fermentasi maka *Acetobacter aceti* akan lebih aktif untuk mengubah alkohol menjadi asam asetat sehingga tingkat keasaman akan semakin tinggi, dalam pembuatan cuka melibatkan proses fermentasi alkohol dan fermentasi asam asetat secara berkesinambungan. *Acetobacter aceti* masih toleran terhadap konsentrasi alkohol awal 6% dan masih bekerja secara optimal. Akan tetapi jika konsentrasi alkohol awal diatas 6%, aktivitas *Acetobacter aceti* akan menurun dan mati (Hardoyo, 2007). Secara mikrobiologis bila alkohol kontak langsung dengan udara dan dibiarkan selama waktu tertentu akan berubah menjadi asam. Asam cuka dihasilkan oleh kegiatan *Acetobacter aceti*. Bakteri tersebut bersifat aerob dimana untuk mendapatkan energi, mikroba menggunakan glukosa atau zat organik lainnya sebagai substrat untuk dioksidasi menjadi karbondioksida dan air (Waluyo, 1984). Menurut Mappiratu dan Bakhri, (2013) tahap awal oksidasi alkohol akan dihasilkan asetatdehid dan tahap selanjutnya menjadi asam cuka atau asam asetat.

Kadar Alkohol

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), tetapi perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar alkohol cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata kadar alkohol cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata kadar alkohol cuka fermentasi dengan perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan perlakuan lama fermentasi (%).

Penambahan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	0,88	2,73	1,45	0,91	0,26	0,00	1,03a
15	0,95	2,18	1,33	0,97	0,79	0,98	1,20a
20	0,68	2,60	2,00	0,96	1,29	0,00	1,25a
Rata-rata	0,83c	2,50a	1,59b	0,94c	0,78c	0,32d	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 3 di atas, nilai rata-rata kadar alkohol cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao pada perlakuan lama fermentasi pada hari ke- 5 mencapai titik optimum. Ini dikarenakan pada fermentasi anaerob gula dipecah oleh *Saccharomyces cerevisiae* sehingga terbentuk alkohol dan CO₂. Peningkatan kadar alkohol disebabkan oleh, selama proses fermentasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* memproduksi alkohol secara anaerob. Gas yang dihasilkan pada proses fermentasi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghambat aktivitas dari *Saccharomyces cerevisiae* itu sendiri sehingga kadar alkoholnya menurun. Menurut Datar dkk. (2004), Dengan adanya produksi gas selama proses fermentasi maka pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* akan berhenti meskipun *Saccharomyces cerevisiae* masih dalam keadaan hidup. Dalam penelitian Yumas (2013), penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 9% dengan waktu fermentasi 5 hari merupakan kondisi optimum dalam menghasilkan etanol pada fermentasi cairan pulpa kakao. Haumasse (2009), menyatakan bahwa penurunan kadar alkohol terjadi karena pada saat fermentasi berlangsung, kandungan alkohol yang telah dioksidasi oleh *Acetobacter aceti* akan menghasilkan asam asetat dan H₂O. Terjadinya penurunan kadar etanol secara keseluruhan untuk semua perlakuan disebabkan karena khamir telah mengalami fase perlambatan pertumbuhan, disebabkan berkurangnya nutrisi esensial untuk pertumbuhan mikroorganisme pengurai glukosa. Kadar glukosa yang semakin

berkurang dan terjadi pembentukan produk lanjutan dari proses fermentasi tersebut. Produk lanjutan yang dihasilkan dari proses fermentasi setelah lima hari menuju ke fermentasi sepuluh hari adalah berupa asam asetat (CH₃COOH) yang terbentuk dari etanol hasil produk fermentasi lima hari yang mengalami reaksi lanjut yaitu reaksi pengubahan etanol menjadi asam asetat oleh mikroba bukan berasal dari penambahan sebagai inokulum akan tetapi sebagai akibat dari fermentasi proses anaerob yang tidak sempurna, yang membuat sedikit proses aerob sehingga memungkinkan tumbuhnya *Acetobacter aceti* yang dapat mengkonversi alkohol menjadi asam asetat. Kemungkinan lain adalah setelah proses fermentasi optimum terjadi, pada saat itu pula jenis mikroba *Acetobacter aceti* mulai aktif melakukan aktivitasnya yaitu bekerja sebagai pengubah alkohol menjadi asam asetat yang ditandai rasa masam.

Total Gula

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata (P<0,01), tetapi perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata (P>0,05) terhadap total gula cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata total gula cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai rata-rata total gula cuka fermentasi dengan perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan perlakuan lama fermentasi (%)

Penambahan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	6,93	6,10	6,13	4,75	3,38	1,29	4,76a
15	6,61	6,49	5,90	4,20	3,05	1,31	4,60a
20	7,09	6,78	5,06	4,69	2,49	1,44	4,59a
Rata-rata	6,87a	6,45a	5,69b	4,54c	2,97d	1,34e	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 4 di atas, nilai rata-rata total gula cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao pada perlakuan lama fermentasi, nilai rata-rata kadar total gula tertinggi terdapat pada hari ke- 0, sedangkan nilai rata-rata kadar total gula terendah terdapat pada hari ke- 25. Rendahnya kadar total gula diduga karena gula yang berkurang selama waktu fermentasi disebabkan dirombaknya gula menjadi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan asam oleh *Acetobacter aceti* di dalam cairan pulpa kakao yang difermentasi. Selain itu rendahnya total gula juga disebabkan karena gula lebih banyak digunakan oleh khamir pada fermentasi pertama sebagai sumber karbon, sehingga

pada fermentasi asam asetat gula yang dihasilkan hanya sedikit untuk nutrisi bakteri. Menurut Dauly (1992), pada fermentasi asam asetat, sumber karbon (glukosa) dioksidasi menjadi CO₂ dan H₂O.

Total Padatan Terlarut (TPT)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh nyata (P<0,05), tetapi perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap total padatan terlarut cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata total padatan terlarut cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai rata-rata total padatan terlarut cuka fermentasi dengan perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan perlakuan lama fermentasi (°Brix).

Penambahan Inokulum <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	7,48	6,43	7,17	5,84	5,80	6,02	6,45a
15	6,78	6,43	6,71	5,70	5,59	4,69	5,98a
20	7,48	6,45	7,21	5,79	5,15	4,69	6,12a
Rata-rata	7,24a	6,43b	7,03a	5,77c	5,51d	5,13e	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 5 diatas, nilai total padatan terlarut pada perlakuan lama fermentasi mengalami kenaikan dan penurunan secara signifikan, Tinggi rendahnya kadar total padatan terlarut ini diduga karena inokulum *Saccharomyces cerevisiae* tidak dapat merubah karbohidrat dan gula yang terkandung didalam cairan pulpa sehingga mempengaruhi kualitas total padatan terlarut. Selain itu tingginya total padatan terlarut diduga disebabkan penambahan gula pada saat pembuatan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* sebagai substrat.

Semakin banyak penambahan gula maka akan berpengaruh terhadap nilai total padatan terlarut, Menurut Sintasari (2014), tingginya padatan terlarut disebabkan karena asam-asam organik yang terlarut menjadi salah satu penyebab tingginya padatan terlarut. Rendahnya total padatan terlarut diduga karena selama proses fermentasi berlangsung, gula yang merupakan komponen padatan yang dominan dalam medium dimetabolisme oleh khamir menjadi alkohol dan CO₂ kemudian dimanfaatkan oleh bakteri asam asetat sebagai sumber karbon sehingga total padatan terlarut menjadi rendah. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Sartika (2010), penurunan total padatan terlarut selama penyimpanan

disebabkan gula yang terkandung akan mengalami perubahan menjadi alkohol, aldehida dan asam amino. Sisa-sisa asam organik, sukrosa maupun laktosa yang terlarut dalam air inilah yang akan dihitung sebagai total padatan terlarut (Sintasari, 2014).

Hasil Uji Efektivitas

Uji efektivitas bertujuan untuk menentukan perlakuan terbaik dalam menghasilkan rendemen dan karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Pengujian ini dilakukan karena perlakuan terbaik dari masing-masing variabel yang diamati berbeda-beda. Bobot variabel masing-masing variabel pengamatan perlu ditetapkan terlebih dahulu sebelum melakukan uji efektivitas. Bobot variabel hasil kuisisioner untuk variabel kadar asam asetat, total asam, total padatan terlarut, total gula dan kadar alkohol berturut-turut : 1,00; 0,80; 0,48; 0,36 dan 0,36. Penetapan bobot variabel tersebut didasarkan atas kontribusi masing-masing variabel terhadap karakteristik cuka fermentasi. Asam asetat mendapat bobot variabel maksimal didasarkan atas tujuan produk yang dihasilkan adalah cuka fermentasi, selanjutnya persentase total asam menunjukkan potensi dari cairan pulpa sebagai kadar asam asetat, terakhir adalah total padatan terlarut, alkohol, dan total gula nilainya kecil karena tidak dikehendaki terdapat pada cuka fermentasi. Nilai terbaik dan terjelek dari masing-masing variabel untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 8, Tabel 3. Hasil pengujian uji efektivitas dapat dilihat pada Tabel 4.6

Hasil uji efektivitas terhadap alternatif-alternatif perlakuan diperoleh bahwa indeks efektivitas tertinggi adalah sebesar 0,80. Berdasarkan indeks efektivitas tersebut maka alternatif perlakuan yang ditetapkan sebagai perlakuan terbaik untuk menghasilkan cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao adalah perlakuan S10H25 yaitu perlakuan penambahan inokulum sebesar 10% dan lama fermentasi selama 25 hari.

Tabel 6. Hasil Pengujian Efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik cuka fermentasi

Variabel		Kadar As, Asetat	Total Asam	Kadar Alkohol	Tot. Gula	TSS	Jumlah
	(BV)	1,00	0,80	0,36	0,36	0,48	3,00
	(BN)	0,33	0,27	0,12	0,12	0,16	1,00
S10H0	Ne	0,01	0,01	0,80	0,95	1,00	
	Nh	0,00	0,00	0,10	0,11	0,16	0,37
S10H5	Ne	0,15	0,15	0,00	0,73	0,57	
	Nh	0,05	0,04	0,00	0,09	0,09	0,27
S10H10	Ne	0,30	0,30	0,72	0,76	0,86	
	Nh	0,10	0,08	0,09	0,09	0,14	0,50
S10H15	Ne	0,56	0,56	0,79	0,49	0,41	
	Nh	0,19	0,15	0,09	0,06	0,07	0,55
S10H20	Ne	0,90	0,89	0,98	0,29	0,41	
	Nh	0,30	0,24	0,12	0,04	0,07	0,76
S10H25	Ne	1,00	1,00	1,00	0,00	0,47	
	Nh	0,33	0,27	0,12	0,00	0,08	0,80
S15H0	Ne	0,00	0,00	0,77	0,86	0,71	
	Nh	0,00	0,00	0,09	0,10	0,11	0,31
S15H5	Ne	0,15	0,15	0,38	0,83	0,57	
	Nh	0,05	0,04	0,05	0,10	0,09	0,33
S15H10	Ne	0,27	0,27	0,77	0,68	0,68	
	Nh	0,09	0,07	0,09	0,08	0,11	0,44
S15H15	Ne	0,57	0,57	0,76	0,38	0,35	
	Nh	0,19	0,15	0,09	0,05	0,06	0,53
S15H20	Ne	0,74	0,74	0,84	0,23	0,32	
	Nh	0,25	0,20	0,10	0,03	0,05	0,63
S15H25	Ne	0,89	0,89	0,75	0,00	0,00	
	Nh	0,30	0,24	0,09	0,00	0,00	0,62
S20H0	Ne	0,01	0,00	0,88	1,00	1,00	
	Nh	0,00	0,00	0,11	0,12	0,16	0,39
S20H5	Ne	0,11	0,11	0,13	0,91	0,58	
	Nh	0,04	0,03	0,02	0,11	0,09	0,29
S20H10	Ne	0,32	0,31	0,46	0,52	0,88	
	Nh	0,11	0,08	0,06	0,06	0,14	0,45
S20H15	Ne	0,42	0,42	0,76	0,46	0,39	
	Nh	0,14	0,11	0,09	0,05	0,06	0,46
S20H20	Ne	0,58	0,58	0,78	0,12	0,15	
	Nh	0,19	0,15	0,09	0,01	0,02	0,48
S20H25	Ne	0,74	0,73	1,00	0,01	0,00	
	Nh	0,25	0,20	0,12	0,00	0,00	0,56

BV = bobot variabel

BN = bobot normal

Ne = nilai efektifitas

Nh = nilai hasil (Ne x BN)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Perlakuan lama fermentasi sangat berpengaruh nyata terhadap kadar asam asetat, total asam, kadar alkohol, total gula dan total padatan terlarut. Sedangkan perlakuan penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh terhadap kadar asam asetat, total asam, kadar alkohol, total gula dan total padatan terlarut cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao.
2. Perlakuan penambahan inokulum 10% dengan lama fermentasi 25 hari dapat menghasilkan karakteristik cuka fermentasi terbaik dengan kadar asam asetat, total asam, kadar alkohol, total gula dan total padatan terlarut berturut-turut adalah 2,86 (% v/v), 1,16 meq NaOH / g, 0,00%, 1,29%, dan 6,02 °Brix.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perlakuan fermentasi terhadap cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dengan menambahkan faktor-faktor lain sebagai perlakuan seperti suhu yang digunakan dalam fermentasi, proses aerasi untuk mendapatkan kadar asam asetat yang lebih tinggi dalam memenuhi SNI cuka fermentasi sebesar 4%-12,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N. 2010. Analisis kondisi dan potensi lama fermentasi medium kombucha (teh. kopi. rosela) dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Skripsi. Universitas Islam Negeri. Malang.
- Alamsyah, T.S. 1991. Peranan fermentasi dalam pengolahan biji kakao kering. Suatu Tinjauan. Berita Perkebunan. 1 (2) : 97-103.
- Anonimous. 2009. What is Vinegar. <http://www.versatilevinegar.org/>. Diakses 10 September 2015
- Aridona, P.. M. 2015. Pengaruh lama fermentasi alami cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao terhadap rendemen dan karakteristik cuka fermentasi. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri 3 (3) : 82-94
- Daulay, D dan A. Rahman 1992. Teknologi Fermentasi Sayuran dan Buah-Buahan. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- De Garmo, E.P., Sullivan. W.G., and J.R. Canada. 1984. Engineering Economy (7th ed.). Macmillan Publishing Company. New York.
- Ganda-Putra, G.P., Harijono, S. Kumalaningsih dan Aulani'am. 2008. Optimasi kondisi depolimerisasi pulp biji kakao oleh enzim poligalakturonase endojinus. Jurnal Teknik Industri 9 (1): 24-34 (Terakreditasi).

- Hanafiah, K.A. 1991. Teori dan Aplikasi Rancangan Percobaan Edisi ketiga. Palembang : Rajawali Pers.
- Haryadi dan M. Supriyanto. 1991. Pengolahan Kakao Menjadi Bahan Pangan. Pusat Antar Universitas. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Haumasse, M. 2009. Pemanfaatan Pulpa Kakao Untuk Memproduksi Asam Asetat dengan Menggunakan Ragi Roti dan Aerasi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ismi, F.R. 2015. Pemanfaatan salak (*Salacca zalacca*) sebagai bahan alternatif pembuatan cuka buah dengan penambahan konsentrasi *acetobacter aceti* yang berbeda. Program Studi Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sartika, R. (2010). Pengaruh Suhu dan Kelembaban Udara Terhadap Shelf-Life Dan Karakteristik Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Selama Penyimpanan. Bogor: Fakultas Pertanian. IPB.
- Sintasari, R. A. (2014). Pengaruh penambahan konsentrasi susu krim dan sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik sari beras merah. Jurnal Pangan dan Agroindustri 2 (3) : 65-75.
- SNI 01-3711-1995. Standar Nasional Indonesia (SNI) Cuka Makan. Badan Standardisasi Nasional (BSN). Jakarta.
- SNI 01-4371-1966. Standar Nasional Indonesia (SNI) Cuka Fermentasi. Badan Standardisasi Nasional (BSN). Jakarta.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1984. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian Edisi keempat. Liberty. Yogyakarta.
- Wartini, N. M., Wrasati, L. P., dan A. A. M. D. Anggreni. 2014. Petunjuk Praktikum Pengetahuan Bahan Pangan. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Bukit Jimbaran.
- Wiji Astuti, N. K. 2015. Pengaruh suhu dan waktu distilasi terhadap rendemen dan karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri 3 (3) : 123-132
- Yumas, M., dan Rosniati. 2014. Pengaruh konsentrasi starter dan lama fermentasi pulp kakao terhadap konsentrasi etanol. Jurnal Biopropal Industri 5 (1): 13-22.
- Zubaidah, E. 2010. Kajian perbedaan kondisi fermentasi alkohol dan konsentrasi inokulum pada pembuatan cuka salak (*Salacca zalacca*). Jurnal Teknologi Pertanian 11 (2).