

## PENGARUH LAJU ALIRAN UDARA DAN LAMA FERMENTASI CAIRAN PULPA HASIL SAMPING FERMENTASI BIJI KAKAO TERHADAP KARAKTERISTIK CUKA FERMENTASI

Ni Made Mega Suasti Rahayu<sup>1</sup>, G.P. Ganda Putra<sup>2</sup>, Ni Putu Suwariani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

<sup>2</sup>Dosen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

Email: megasuastirahayu@gmail.com<sup>1</sup>

Email koresponden: gandaputra@unud.ac.id<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Vinegar fermentation is a liquid product which containing of acetic acid, and obtained from ingredients that containing of carbohydrate and alcohol. The aims of this study were to determine the effect of air flow rate and time of fermentation on the characteristics of vinegar fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation, and to determine the best treatment which can produces vinegar fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation. The experiments in this study using a Completely Randomized Design (CRD) with two factors. The first factor is the rate of air flow which consists of three levels: 0.50 vvm<sup>-1</sup>, 1.00 vvm<sup>-1</sup>, and 1.50 vvm<sup>-1</sup>. The second factor is time of fermentation that consists of four levels: 10, 15, 20 and 25 days. The results showed that the treatment of air flow rate and interaction of both treatments was affected significantly ( $P < 0.01$ ) on levels of acetic acid content, total sugar and pH levels, but did not effected ( $P > 0.05$ ) on the alcohol content and total suspended solid. Time of fermentation treatment, showed a significant effect ( $P < 0.05$ ) on level of acetic acid content, but did not effected ( $P > 0.05$ ) on the alcohol content and affected significantly ( $P < 0.01$ ) on sugar content, pH, and total suspended solid of vinegar fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation. The best treatment is by using air flow rate, amount 0.50 vvm<sup>-1</sup> and fermentation for 25 days, which can produce vinegar fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation that containing 2.64 % (v/v) of acetic acid, 3.30 of pH, 4.30 °brix of total suspended solid, 0.29 % (v/v) of total sugars and 0.00 % (v/v) of alcohol content.

Key words: *vinegar fermentation, the air flow rate, fermentation period*

### PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L) adalah salah satu komoditas andalan perkebunan yang banyak ditanam dan dikembangkan di berbagai wilayah Indonesia. Kualitas biji kakao dapat ditingkatkan dengan memperhatikan proses penanganan pasca panen. Fermentasi merupakan salah satu tahapan pasca panen yang dilakukan untuk meningkatkan kualitas biji kakao (Ditjen Perkebunan, 2012). Cairan pulpa hasil fermentasi biji kakao seringkali dianggap limbah yang jarang dimanfaatkan dan dibuang langsung ke lingkungan sehingga menyebabkan pencemaran.

Menurut Case (2004), cairan pulpa hasil fermentasi biji kakao mengandung 1,6 % asam asetat, asam sitrat 0,5 %, dengan pH 6,5 dan etil alkohol 0,5%. Selama fermentasi dapat dihasilkan cairan pulpa 15-20 % dari berat biji kakao yang difermentasi (Ganda-Putra *et al.*, 2008). Besarnya potensi cairan pulpa yang keluar selama proses fermentasi, serta adanya kandungan asam asetat dan etil alkohol, membuat cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dimanfaatkan untuk diolah lebih lanjut menjadi cuka fermentasi. Cuka fermentasi merupakan produk cair yang mengandung asam asetat. Menurut Lehninger (1982), produksi asam cuka melalui dua tahap, pada tahap pertama, sukrosa mengalami reduksi menjadi glukosa, kemudian glukosa menjadi etanol melalui jalur fermentasi (fermentasi alkohol). Tahap berikutnya yaitu fermentasi asam asetat, terjadi oksidasi dari etanol menjadi asetaldehida dan oksidasi kedua oleh asetaldehida dehidrogenase menjadi asam cuka, perubahan tersebut juga melibatkan bakteri *Acetobacter aceti*. Berdasarkan penelitian Putri *et al.*, (2016), mengenai pembuatan cuka fermentasi dari cairan pulpa kakao diketahui bahwa asam asetat tertinggi

diperoleh dari penambahan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* 10% dengan penambahan *Acetobacter aceti* 15% dan lama fermentasi 25 hari, yaitu sebesar 2,86% (b/b). Berdasarkan hasil tersebut, kadar asam asetat yang terbentuk masih tergolong rendah dan tidak memenuhi standar yang disyaratkan oleh SNI 01-4371-1996 yaitu minimal sebesar 4%. Mikroba yang umum terlibat dalam pembentukan asam asetat adalah bakteri *Acetobacter aceti*. Sel ini bersifat aerob obligat, bakteri aerob obligat adalah bakteri yang memerlukan oksigen bebas dalam proses respirasi. Proses aerasi dalam fermentasi asam asetat dilakukan untuk memenuhi kebutuhan mikroba akan oksigen.

Hasil penelitian Susilowati dan Wati (2001) pada pembuatan cuka dari air kelapa menunjukkan perlakuan penggunaan laju udara  $3,47 \text{ vvm}^{-1}$  dan lama fermentasi 24 jam, diperoleh kadar asam asetat sebesar 3,125% (b/b), dengan menggunakan laju udara  $5,02 \text{ vvm}^{-1}$ , diperoleh kadar asam asetat sebesar 3,744% (b/b) dalam waktu 12 jam, namun terjadi penurunan menjadi 2,496% (b/b) setelah fermentasi selama 18 jam. Lama fermentasi termasuk faktor yang menentukan tinggi rendahnya asam asetat yang terbentuk. Hasil penelitian Aridona *et al.* (2015) mengenai pengaruh lama fermentasi alami secara aerob cairan pulpa kakao terhadap karakteristik cuka fermentasi, dilakukan fermentasi aerob dengan menggunakan aerator berupa pompa air aquarium dengan laju udara  $0,50 \text{ vvm}^{-1}$  selama 10 hari, menghasilkan kadar asam asetat tertinggi sebanyak 2,30 % (b/b) dari lama fermentasi 6 hari.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, kadar asam asetat yang terbentuk masih tergolong rendah dan tidak memenuhi standar cuka fermentasi yang disyaratkan oleh SNI 01-4371-1996 yaitu minimal 4%. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan laju aliran udara dan lama fermentasi pada proses fermentasi cuka dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Sehingga, dapat diketahui laju aliran udara dan waktu fermentasi yang optimum untuk pembentukan cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh laju aliran udara dan lama fermentasi cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao terhadap karakteristik cuka fermentasi dan mengetahui perlakuan laju aliran udara dan lama fermentasi terbaik, dalam menghasilkan cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengendalian Mutu, serta Laboratorium Analisis Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dari Maret – Mei 2017.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao selama 1 – 3 hari yang diperoleh dari Desa Angkah, Kecamatan Selemadeg Barat, Kabupaten Tabanan, etanol 96%, biakan murni *Acetobacter aceti* RNCC-0016 dari Universitas Gadjah Mada, medium *Malt Extract Agar*, *Nutrien Broth*, aquades, NaOH 0,1 N (Merck), asam oksalat (Merck), *phenolphthalein* (J.T. Baker), HCl 4 N, D (+)-*Glucose*, reagensia Nelson: *Natrium carbonat anhydrous* (Merck), *Natrium sulfat anhydrous* (Merck),

*Natrium bicarbonat* (Merck), garam *Rochelle* (Merck),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Merck) dan reagensia arseno molibdat: *Ammonium Molybdate* (J.T. Baker), *Sulfuric acid* (Merck),  $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Merck).

Peralatan yang digunakan diantaranya wadah fermentasi berupa toples plastik kapasitas 5 liter, aerator berupa pompa air aquarium (*Luckiness aquarium air pump L88*), kain kasa, selang plastik, tali nilon, gunting, kertas label, timbangan analitik (*Shimadzu*), kertas saring, biuret, *water bath* (Thermology), pH meter (Ditech), piknometer, labu ukur (Iwaki), *aluminium foil*, tisu, botol sampel, lemari pendingin, *hand refraktometer*, *spektrofotometer* (*Genesys 10S UV-VIS*), *autoclave* (Hirayama), sentrifuse (Centurion Scientific), kompor elektrik (Maspion), batang pengaduk, jarum ose, *magnetic stirrer*, pipet tetes, pipet volume, pipet micro (Socorex), tabung reaksi (Iwaki), cawan petri, erlenmeyer (Iwaki), *Laminar Air Flow* (*Biowizard*), *Inkubator* (Mettler), plastik dan kapas.

### Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama yaitu laju aliran udara yang terdiri dari 3 taraf, yaitu: S1 ( $0,50 \text{ vvm}^{-1}$ ), S2 ( $1,00 \text{ vvm}^{-1}$ ) dan S3 ( $1,50 \text{ vvm}^{-1}$ ). Faktor kedua yaitu lama fermentasi yang terdiri dari 4 taraf: H10 (10 hari), H15 (15 hari), H20 (20 hari) dan H25 (25 hari). Dilakukan 2 kali ulangan, untuk masing-masing kombinasi perlakuan sehingga diperoleh 24 unit percobaan.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Persiapan Bahan dan Penetapan Laju Aliran Udara

Cairan pulpa hasil fermentasi biji kakao dipasteurisasi selama 30 menit pada suhu  $65^\circ\text{C}$ , kemudian didinginkan. Total cairan pulpa yang digunakan sebanyak 26,7 liter. Sebanyak 22,2 liter cairan pulpa digunakan untuk proses fermentasi, sedangkan 4,5 liter digunakan untuk media pembuatan stater inokulum *Acetobacter aceti*. Laju aliran udara ditetapkan dengan menghitung volume udara yang keluar dari aerator, dibagi dengan volume bioreaktor yang digunakan sebagai wadah fermentasi (Anon., 2017). Volume satu lubang udara aerator adalah 2,5 liter/menit, dan volume bioreaktor yang digunakan berkapasitas 5 liter.

#### Pembuatan Inokulum *Acetobacter aceti* (Cappuccino and Sherman, 1992 dengan modifikasi)

Kultur *Acetobacter aceti* di *refresh* dengan cara diinokulasi ke dalam *Nutrient Broth* (NB) steril sebanyak 5 ml, kemudian diinkubasi pada suhu  $35^\circ\text{C}$  selama 48 jam di dalam inkubator. Setelah itu, *enrichment* dilakukan dengan cara menuangkan isolat hasil *refresh* ke tabung reaksi baru yang berisi media NB sebanyak 5 ml, sehingga volume total menjadi 10 ml, diinkubasi kembali pada suhu  $35^\circ\text{C}$  selama 48 jam. *Enrichment* dilakukan kembali, dari isolat yang volumenya 10 ml, diperbanyak menjadi volume 100 ml dan diinkubasi kembali pada suhu  $35^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Kultur hasil *enrichment* divorteks. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung falcon steril dan diisentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm pada suhu  $25^\circ\text{C}$  selama 10 menit. Hasil kultur tersebut diinokulasi ke dalam 1500 ml cairan pulpa, dan selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $35^\circ\text{C}$ .

#### Fermentasi Cairan Pulpa Kakao (Adrista, 2016 dengan modifikasi)

Wadah fermentasi diisi Cairan sebanyak 4 liter, yang terdiri dari 7,5 % (300 ml) etanol dan 92,5 % (3,700 ml) cairan pulpa. Setelah itu, ditambahkan 15% (600 ml) inokulum *Acetobacter aceti* dan

difermentasi secara aerob selama 25 hari pada suhu ruang antara 20 - 25°C, kemudian disaring. Cuka fermentasi yang diperoleh dianalisis kadar asam asetat, pH, total padatan terlarut, total gula dan kadar alkoholnya pada hari ke 10, 15, 20, dan 25. Teknik pengambilan sampel adalah dengan mengambil masing-masing 100 ml cuka fermentasi pada wadah fermentasi menggunakan botol kaca.

#### **Penentuan Kadar Asam Asetat (SNI 01-3711-1995)**

Kadar asam asetat ditentukan dengan menggunakan prinsip titrasi asam basa. Pengukuran total asam dilakukan menurut James (1995). Selanjutnya, perhitungan total asam dari cuka fermentasi dihitung sebagai persen asam asetat sesuai dengan SNI 01-3711-1995, dengan rumus:

$$\text{Kadar Asam Asetat \% (b/b)} = \frac{\text{Total Asam (mEq NaOH/g)} \times \text{BM Asam Asetat (60,05)}}{1000} \times 100$$

#### **Penentuan pH (Apriyanto *et al.*, 1988)**

Penentuan derajat keasaman (pH) dilakukan menurut Apriyanto *et al.* (1988) dengan menggunakan pH-meter. pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan buffer posphat pH 4 dan pH 7. Selanjutnya, pH meter dicelupkan ke dalam sampel. Pembacaan dapat dilakukan saat pH-meter menunjukkan angka konstan.

#### **Penentuan Total Padatan Terlarut (Wartini *et al.*, 2014)**

*Hand refraktometer* digunakan untuk menganalisis total padatan terlarut pada cuka fermentasi. Caranya, sebanyak 2-3 tetes cuka fermentasi diteteskan pada *hand refraktometer* kemudian lihat angka total padatan terlarut yang ditunjukkan.

#### **Penentuan Total Gula (Sudarmadji *at al.*, 1984)**

Total gula dapat ditentukan berdasarkan OD larutan sampel dan dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar larutan glukosa. Penyiapan kurva standar bertujuan untuk menentukan nilai regresi linear yang menjadi dasar untuk perhitungan total gula pada sampel dengan rumus:  $y = ax + b$ .

#### **Penentuan Kadar Alkohol (SNI 01-4371-1966)**

Kadar alkohol dihitung dengan pengukuran bobot jenis yaitu berat piknometer dan distilat cuka fermentasi ( $w_3$ ) dikurang berat piknometer kosong ( $w_1$ ) dibagi berat piknometer dan aquades ( $w_2$ ) dikurang berat piknometer kosong ( $w_1$ ). Selanjutnya, persentase alkohol diperoleh menggunakan tabel persentase etanol (*Perry's Chemical Engineers*) pada suhu 25°C. Perhitungan bobot jenis dirumuskan sebagai berikut:

$$\text{Bobot Jenis (g)} = \frac{w_3 - w_1}{w_2 - w_1}$$

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh kedua faktor dan interaksinya. Apabila terdapat pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Uji indeks efektivitas digunakan untuk menentukan perlakuan terbaik yang menghasilkan cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Uji indeks efektivitas dilakukan menurut De Garmo *et al.* (1984).

Langkah-langkah uji indeks efektivitas dilakukan dengan cara, variabel diurutkan menurut prioritas dan kontribusi terhadap hasil oleh para ahli. Penilaian dilakukan oleh 5 pakar yang terdiri dari Akademisi dibidang fermentasi dan Akademisi dibidang analisis keputusan. Masing-masing variabel ditentukan

bobotnya (BV) sesuai kontribusinya, yang dikuantifikasikan antara 0-1. Selanjutnya, ditentukan bobot normal (BN) masing-masing variabel dengan membagi bobot tiap variabel (BV) dengan jumlah semua bobot variabel. Nilai efektivitas (Ne) masing-masing variabel, ditentukan dengan rumus:

$$NE = \frac{(\text{Nilai Perlakuan} - \text{Nilai Terjelek})}{(\text{Nilai Terbaik} - \text{Nilai Terjelek})}$$

Variabel dengan nilai rata-rata yang semakin besar semakin baik, maka rata-rata tertinggi merupakan nilai terbaik sedangkan yang terendah merupakan nilai terjelek. Sebaliknya, untuk variabel dengan rata-rata semakin kecil semakin baik, maka rata-rata terendah merupakan nilai terbaik, sedangkan tertinggi merupakan nilai terjelek. Selanjutnya, ditentukan nilai hasil (Nh) masing-masing variabel yang diperoleh dari perkalian antara BN dengan Ne-nya. Nh semua variabel untuk masing-masing alternatif perlakuan dijumlahkan. Alternatif perlakuan yang mendapatkan jumlah Nh tertinggi, dipilih sebagai perlakuan terbaik

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Asam Asetat (% b/b)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan laju aliran udara dan interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ), dan perlakuan lama fermentasi berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai rata-rata kadar asam asetat pada cuka fermentasi. Nilai rata-rata kadar asam asetat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata kadar asam asetat cuka fermentasi (% b/b)

Laju Aliran Udara ( $\text{vvm}^{-1}$ )	Lama Fermentasi (Hari)			
	10	15	20	25
0,50	1,74 <sup>f</sup>	2,07 <sup>c</sup>	2,28 <sup>b</sup>	2,64 <sup>a</sup>
1,00	2,16 <sup>c</sup>	2,00 <sup>c</sup>	1,96 <sup>d</sup>	1,55 <sup>g</sup>
1,50	1,74 <sup>e</sup>	1,80 <sup>e</sup>	1,45 <sup>h</sup>	0,92 <sup>i</sup>

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

Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa perlakuan laju aliran udara  $0,50 \text{ vvm}^{-1}$ , hingga fermentasi hari ke-25 masih terjadi pembentukan asam asetat, hasil ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Aridona *et al.* (2015) mengenai fermentasi alami secara aerob pada pembuatan cuka fermentasi dari cairan pulpa kakao, yang menghasilkan asam asetat sebesar 2,30% (b/b) pada fermentasi hari ke-6, dari lama fermentasi 10 hari. Ditahapan awal fermentasi, pada hari ke-0, asam asetat yang telah terbentuk sebesar 1,11 % (b/b). Penggunaan laju aliran udara  $1,00 \text{ vvm}^{-1}$  dan  $1,50 \text{ vvm}^{-1}$  menunjukkan bahwa laju aliran udara yang terlalu tinggi menyebabkan pembentukan asam asetat yang lambat dan cenderung menurun seiring lama berlangsungnya proses fermentasi.

Waluyo (1984) menyatakan bahwa ketersediaan oksigen sangat penting dalam proses pemecahan alkohol menjadi asam asetat. Adanya proses aerasi yang baik, maka proses oksidasi dan dismutasi pada pembentukan asam asetat juga akan berlangsung dengan baik. Sehingga selama proses fermentasi berlangsung, peningkatan kadar asam asetat menjadi lebih optimum. Adanya penurunan kadar asam asetat, disebabkan karena laju aliran udara yang terlalu tinggi menyebabkan asam asetat yang telah terbentuk

teroksidasi lebih lanjut menjadi H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub>. Daulay dan Rahman (1992) menyatakan bahwa pembentukan asam asetat terjadi melalui proses oksidasi alkohol oleh semua spesies *Asetobacter*, dan dengan kecukupan oksigen, selanjutnya asam asetat tersebut akan dioksidasi lanjut menjadi H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub>.

### pH

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan laju aliran udara dan lama fermentasi serta interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap pH cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata pH pada produk cuka fermentasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata pH cuka fermentasi

Laju Aliran Udara (vvm <sup>-1</sup> )	Lama Fermentasi (Hari)			
	10	15	20	25
0,50	4,15 <sup>a</sup>	3,85 <sup>c</sup>	3,55 <sup>c</sup>	3,30 <sup>f</sup>
1,00	4,14 <sup>a</sup>	3,99 <sup>b</sup>	3,53 <sup>e</sup>	3,80 <sup>c</sup>
1,50	4,22 <sup>a</sup>	4,19 <sup>a</sup>	3,70 <sup>d</sup>	4,20 <sup>a</sup>

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

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa pH terendah diperoleh dari perlakuan laju aliran udara 0,50 vvm<sup>-1</sup> dengan waktu fermentasi 25 hari. Perlakuan laju aliran udara 0,50 vvm<sup>-1</sup> menghasilkan rata-rata pH yang semakin menurun hingga waktu fermentasi di hari ke-25. Ditahapan awal fermentasi pada hari ke-0, pH larutan sebesar 4,25. Pada perlakuan laju aliran udara sebesar 1,00 dan 1,50 vvm<sup>-1</sup> pH cenderung menurun hingga hari ke-20, namun kembali meningkat di hari ke-25. Adanya penurunan nilai pH selama proses fermentasi, menandakan adanya peningkatan kadar asam asetat pada produk cuka fermentasi.

Adanya penurunan nilai pH seiring dengan lamanya proses fermentasi, disebabkan karena aliran udara untuk oksidasi pada proses metabolisme *Acetobacter aceti*. Proses metabolisme ini menyebabkan terbentuknya asam-asam organik sehingga kondisi produk menjadi asam dan menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH (Haumasse, 2009). Peningkatan nilai pH dikarenakan udara yang dialirkan untuk proses oksidasi terlalu tinggi dan menyebabkan etanol sebagai substrat bagi *Acetobacter aceti* lebih cepat menguap, sehingga *Acetobacter aceti* mengoksidasi asam asetat lebih lanjut menjadi H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub>, dan menurunkan tingkat keasaman pada larutan sehingga pH meningkat.

### Total Padatan Terlarut (°Brix)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ), dan perlakuan laju aliran udara serta interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap total padatan terlarut (TPT) cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata TPT pada produk cuka fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Ditahapan awal fermentasi pada hari ke-0, TPT pada bahan sebesar 8,2 °Brix. Nilai rata-rata total padatan terlarut pada cuka fermentasi cenderung menurun hingga fermentasi hari ke-25. Pada perlakuan lama fermentasi 10 hari, 15 hari, 20 hari dan 25 hari, rata-rata total padatan terlarut berturut-turut adalah: 6,14; 5,90; 5,03; dan 4,69. Hal tersebut menunjukkan, semakin lama waktu fermentasi, total padatan terlarut pada produk akan semakin menurun. Adanya penurunan total padatan terlarut juga telah diperoleh sebelumnya pada penelitian Haumasse (2009) mengenai pembuatan cuka dengan penambahan ragi roti, yang

menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi maka total padatan terlarut substrat semakin rendah. Semakin menurunnya total padatan terlarut seiring dengan lamanya proses fermentasi berlangsung, diduga disebabkan karena gula yang merupakan komponen padatan yang dominan dalam medium dimanfaatkan oleh bakteri asam asetat sebagai sumber karbon sehingga total padatan terlarut menjadi rendah (Sintasari *et al.*, 2014).

Tabel 3. Nilai rata-rata TPT cuka fermentasi ( $^{\circ}$ Brix)

Laju Aliran Udara ( $\text{vvm}^{-1}$ )	Lama Fermentasi (Hari)				Rata-rata
	10	15	20	25	
0,50	6,18	5,59	5,20	4,30	5,41 <sup>a</sup>
1,00	6,20	6,20	5,23	5,10	5,68 <sup>a</sup>
1,50	6,05	5,55	4,68	4,68	5,24 <sup>a</sup>
Rata-rata	6,14 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>	5,03 <sup>b</sup>	4,69 <sup>b</sup>	

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

### Total Gula (% b/b)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan laju aliran udara dan lama fermentasi serta interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap total gula cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata kandungan total gula pada produk cuka fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai rata-rata total gula cuka fermentasi (% b/b)

Laju Aliran Udara ( $\text{vvm}^{-1}$ )	Lama Fermentasi (Hari)			
	10	15	20	25
0,50	0,89 <sup>d</sup>	0,83 <sup>e</sup>	0,79 <sup>f</sup>	0,40 <sup>i</sup>
1,00	1,32 <sup>a</sup>	1,22 <sup>b</sup>	1,13 <sup>b</sup>	1,00 <sup>c</sup>
1,50	0,50 <sup>g</sup>	0,45 <sup>h</sup>	0,36 <sup>j</sup>	0,29 <sup>k</sup>

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

Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa terjadi penurunan total gula secara bertahap dari awal fermentasi hingga fermentasi hari ke-25. Ditahapan awal fermentasi pada hari ke-0, total gula pada bahan sebesar 1,90 % (b/b) dan semakin menurun seiring lama fermentasi. Selama proses fermentasi, mikroba akan memecah gula untuk melangsungkan hidupnya dan menghasilkan senyawa metabolit berupa asam-asam organik (Januaresti, 2016). Pada fermentasi asam asetat, sumber karbon (biasanya glukosa) juga dioksidasi menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ . Hal demikian menyebabkan kadar gula makin rendah dengan makin lama waktu fermentasi (Daulay dan Rahman, 1992).

### Kadar Alkohol (% b/b)

Berdasarkan hasil penetapan kadar alkohol cuka fermentasi, diperoleh hasil bahwa perlakuan laju aliran udara dan lama fermentasi serta interaksi keduanya berpengaruh tidak nyata terhadap kadar alkohol pada cuka fermentasi. Ditahapan awal fermentasi pada hari ke-0, kadar alkohol yang terkandung pada produk sebesar 4,50 % b/b. Setelah proses fermentasi berlangsung, alkohol sudah tidak terdeteksi pada fermentasi hari ke-10. Hal tersebut diduga karena bakteri telah memanfaatkan etanol pada tahapan awal fermentasi serta laju aliran udara yang terlalu tinggi, sehingga 7,5% alkohol yang ditambahkan sebagai nutrisi bagi mikroba, lebih cepat teroksidasi. Pada fermentasi asam asetat, terjadi reaksi aerob, yaitu perubahan alkohol menjadi asam asetat dan air oleh bakteri *Acetobacter aceti* (Salle, 1974). Pada penelitian

Dasa *et al.* (2017) mengenai pembuatan cuka fermentasi dari cairan pulpa kakao dengan konsentrasi penambahan inokulum yang berbeda, dengan penambahan *Acetobacter aceti* 15% dan lama fermentasi 25 hari, kadar alkohol sudah tidak terdeteksi setelah fermentasi 10 hari. Secara teoritis 1 gram etanol akan dioksidasi menjadi 1,3 gram asam asetat Adam (1997). Namun, pada kenyataannya tidak mungkin semua etanol dalam media dapat diubah menjadi asam asetat, karena etanol juga digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan sel dan juga menguap selama fermentasi (Luwihana *et al.*, 2010).

### Hasil Uji Indeks Efektivitas

Penentuan perlakuan terbaik untuk menghasilkan cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao ditentukan berdasarkan uji indeks efektivitas (De Garmo *et al.*, 1984). Nilai variabel yang diamati adalah kadar asam asetat, pH, total padatan terlarut dan total gula. Berdasarkan uji indeks efektivitas, NH tertinggi yaitu sebesar 0,98 diperoleh dari alternatif perlakuan S1H25 yaitu laju aliran udara  $0,50 \text{ vvm}^{-1}$  dan lama fermentasi 25 hari, yang menghasilkan cuka fermentasi dengan kadar asam asetat sebesar 2,64 % (b/b), pH 3,30, total padatan terlarut 4,30 °Brix serta total gula 0,40 % (b/b). Hasil perhitungan uji indeks efektivitas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengujian indeks efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik produk cuka fermentasi

Kombinasi perlakuan	Variabel				Jumlah	
	Kadar asam asetat	pH	TPT	Total gula		
	(BV)	1	0,65	0,45	0,40	2,5
	(BN)	0,4	0,26	0,18	0,16	1
<b>S1H10</b>	Ne	0,48	0,11	0,01	0,41	0,29
	Nh	0,19	0,03	0,00	0,07	
<b>S1H15</b>	Ne	0,67	0,42	0,13	0,48	0,48
	Nh	0,27	0,11	0,02	0,08	
<b>S1H20</b>	Ne	0,79	0,74	0,53	0,51	0,68
	Nh	0,32	0,19	0,09	0,08	
<b>S1H25</b>	Ne	1,00	1,00	1,00	0,89	<b>0,98</b>
	Nh	0,40	0,26	0,18	0,14	
<b>S2H10</b>	Ne	0,72	0,12	0,00	0,00	0,32
	Nh	0,29	0,03	0,00	0,00	
<b>S2H15</b>	Ne	0,63	0,27	0,00	0,10	0,34
	Nh	0,25	0,07	0,00	0,02	
<b>S2H20</b>	Ne	0,61	0,76	0,51	0,19	0,56
	Nh	0,24	0,20	0,09	0,03	
<b>S2H25</b>	Ne	0,37	0,47	0,58	0,31	0,42
	Nh	0,15	0,12	0,10	0,05	
<b>S3H10</b>	Ne	0,48	0,03	0,08	0,79	0,34
	Nh	0,19	0,01	0,01	0,13	
<b>S3H15</b>	Ne	0,51	0,07	0,34	0,85	0,42
	Nh	0,20	0,02	0,06	0,14	
<b>S3H20</b>	Ne	0,31	0,58	0,80	0,93	0,57
	Nh	0,12	0,15	0,14	0,15	
<b>S3H25</b>	Ne	0,00	0,00	0,80	1,00	0,30
	Nh	0,00	0,00	0,14	0,16	

Keterangan: BV = bobot variabel; BN = bobot normal; Ne = nilai efektivitas; Nh = nilai hasil (Ne x BN)



## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Perlakuan laju aliran udara berpengaruh sangat nyata terhadap kadar asam asetat, pH, dan total gula, berpengaruh tidak nyata terhadap kadar alkohol serta total padatan terlarut pada cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Perlakuan lama fermentasi, berpengaruh nyata terhadap kadar asam asetat dan berpengaruh sangat nyata terhadap pH, total padatan terlarut serta kadar total gula, dan berpengaruh tidak nyata terhadap kadar alkohol pada produk cuka fermentasi. Interaksi antar kedua perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap kadar alkohol dan total padatan terlarut, dan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar asam asetat, pH, dan total gula pada produk cuka fermentasi. Perlakuan terbaik diperoleh dari penggunaan laju aliran udara  $0,50 \text{ vvm}^{-1}$  dan lama fermentasi 25 hari yang menghasilkan cuka kakao dengan kadar asam asetat sebesar 2,64 (% b/b), pH 3,30, TPT 4,30 °Brix, total gula 0,40 (% b/b), dan kadar alkohol sebesar 0,00 (% b/b)

### Saran

Penelitian lebih lanjut mengenai proses fermentasi cairan pulpa dari hasil samping fermentasi biji kakao perlu dilakukan. Salah satunya dengan mempertimbangkan faktor lain sebagai perlakuan tambahan, yaitu faktor suhu, penggunaan mikroba jenis lain serta dengan menambahkan rentang waktu fermentasi, untuk mengetahui perlakuan aerasi yang menghasilkan cuka fermentasi dengan kadar asam asetat tertinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R. 1985. Microbiology of Fermented Food Vol 1. Elsevier Applied Science Publisher, Ltd. New York.
- Adrista, G.G., N.M. Wartini dan W. Arnata. 2016. Pengaruh Penambahan Etanol Dan Lama Fermentasi Lanjutan Cairan Pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao terhadap Karakteristik Cuka Kakao. Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri. 4(4):1-11.
- Anonimus. 2017. Vessel Volumes Per Minute vvm Means The Volume of Gas. [https://www.coursehero.com/registerForm.php?reg\\_only=1&get\\_doc=7329025](https://www.coursehero.com/registerForm.php?reg_only=1&get_doc=7329025). Diakses tanggal 20 Februari 2017.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L.P. Pitasari, S. Yasni dan S. Budiyanto. 1988. Penuntun Praktek Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Aridona, P.M., N.M. Wartini dan I W. Arnata. 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):85-92.
- Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1992. Microbiology A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California.
- Case, C.L. 2004. The Microbiology of Chocolate. <https://accounts.smccd.edu/case/chocolate.html>. Diakses tanggal 01 Januari 2017.
- Dasa, Y.D.B., G.P. Ganda-Putra dan I B.W. Gunam. 2017. Karakteristik Cuka dari Cairan Pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Perlakuan Penambahan Inokulum *Acetobacter Aceti* dan Lama Fermentasi. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 5(2): 1-9.
- 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 J.R. Canada. 1984. *Engineering Economy* (7<sup>th</sup> ed). Macmillan Publishing Company, New York.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2012. *Pedoman Teknis Penanganan Pascapanen Kakao*. Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta.
- 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.
- Haumasse, M. 2009. Pemanfaatan Pulpa Kakao untuk Memproduksi Asam Asetat dengan Menggunakan Ragi Roti dan Aerasi. Tesis S2. Tidak dipublikasikan. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- James, C.S. 1995. *Analytical Chemistry of Foods*. Blackie Academic & Professional, London.
- Kwartiningsih, E. dan L.N.S. Mulyati. 2005. Fermentasi Buah Nanas Menjadi *Vinegar*. *Ekuilibrium*. 4(1): 8-12.
- Lehninger. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Erlangga.
- Luwihana, S., K.R. Kuswanto, E.S. Rahayu dan S. Sudarmadji. 2010. Fermentasi Asam Asetat Dengan Sel Amobil *Acetobacter pasteurianus* INT-7 dengan Variasi pH Awal Dan Kadar Etanol. *Agritech*. 30(2): 123-132.
- Nurismanto, R., T. Mulyani dan D.I.N. Tias. 2014. Pembuatan Asam Cuka Pisang Kepok (*Musaparadisiaca L.*) dengan Kajian Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Inokulum (*Acetobacteracetii*). *Jurnal Rekapangan*. 8(2):149-155.
- Putri, A.G.S.I.M., G.P. Ganda-Putra dan W. Arnata. 2016. Pengaruh Penambahan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Cuka Fermentasi dari Cairan Pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 4(3):71-84.
- Salle, A.J. 1974. *Fundamental Principles of Bacteriology*. Tata Mc Graw Hill, New Delhi.
- Sintasari, R.A., J. Kusnadi dan D.W. Ningtyas. 2014. Pengaruh Penambahan Konsentrasi Susu Skim 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., B. Haryono dan Suhardi. 1989. *Analisis Bahan Pangan dan Hasil Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Susilowati, A., dan P. A. Wati. 2001. Kajian Awal Pembuatan "Vinegar" dari Air Kelapa dan Limbah Cair Pembuatan "Nata de Coco" dengan Metode "Quick Process". *Biosmart*. 3(2):13-17.
- Waluyo, S. 1984. *Beberapa Aspek Tentang Pengolahan Vinegar*. Dewaruci Press, Jakarta.
- Wartini, N.M., L.P. Wrasati dan A.A.M.D. Anggreni. 2014. *Petunjuk Praktikum Pengetahuan Bahan Pangan*. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Bukit Jimbaran.