

**FRODUK FERMENTASI BUAH
(ANGGUR, CIDER DAN VINEGAR)**

I. MINUMAN ANGGUR

PENDAHULUAN

Minuman anggur atau Wine pada dasarnya merupakan minuman hasil fermentasi buah-buahan. Tetapi sebagian besar masyarakat konsumen baik di negara-negara lainnya menetapkan secara ketat definisi *Wine*, merupakan minuman hasil fermentasi sari buah anggur. Minuman anggur yang dibuat dari buah-buahan lain selain buah anggur *fruit wine*.

Hanya varitas anggur tertentu yang dapat menghasilkan minuman anggur bermutu tinggi, hanya beberapa negara saja di antara negara-negara penghasil anggur yang sekaligus mempunyai industri *wine* yang penting dan terkenal.

Faktor yang paling menentukan dalam produksi wine adalah iklim dimana buah anggur tumbuh. Karena keadaan tanah dan iklimnya yang sesuai, beberapa wilayah di dunia menghasilkan buah anggur yang bermutu baik untuk memproduksi wine, yaitu wilayah Bordeaux dan Burgundy di Perancis, Rhineland di Jerman, Tokay di Hongaria, California dan beberapa wilayah di Spanyol, Switzerland dan Italy.

Karakteristik dan mutu *wine* ditentukan oleh komposisi bahan baku, proses fermentasi, dan perubahan-perubahan yang terjadi baik alami atau disengaja dalam periode setelah fermentasi selesai.

KOMPOSISI BUAH ANGGUR

Buah anggur yang telah dihancurkan disebut musts, yang terdiri dari 85-95 persen sari buah, 5-12 persen kulit dan 0-4 persen biji. Komposisi musts adalah seperti pada table . 1 dibawah ini.

Tabel 1 Komposisi Musts (Amerine, et al., 1980)

	Komponen	Gram/100 ml
1.	Air	70-85
2.	Karbohidrat	15-25
	Glukosa	8-25
	Fruktosa	7-12
	Pentosa	0.08-0.20
	Pektin	0.01-0.10
	Inositol	0.02-0.08
3.	Asam organik	0.3-0.08
	Tartarat	0.2-1.0
	Malat	0.1-0.8
	Sitrat	0.1-0.05
	Asetat	0.00-0.02
4.	Senyawa-senyawa nitrogen	0.03-0.17
5.	Mineral	0.3-0.5

Sumber : Amucine et al (1980)

Glukosa dan fruktosa merupakan karbohidrat utama dalam *musts*. Rasio kedua jenis gula ini adalah *musts* dari buah yang matang penuh biasanya adalah 1: . Tetapi beberapa peneliti mengemukakan bahwa rasio glukosa/fruktosa bervariasi tergantung pada varietas, yaitu antara 0.17 – 1.45 atau 0.85-1.04 untuk buah matang dan antara 0.53 – 0.76 untuk buah ranum. Jadi selama proses pematangan buah anggur rasio glukosa/fruktosa mengalami penurunan. Sedangkan sukrosa sedikit mengalami kenaikan. *Varietas Vitis vinifera* mengandung sukrosa 0.019-0.18 persen. Rasio glukosa/fruktosa ini sangat penting bagi industri *wine*. Karena tingkat kemanisan fruktosa hampir dua kali glukosa, maka untuk menghasilkan *sweet table wine* lebih disukai varietas buah anggur dengan kandungan fruktosa yang tinggi. Disamping itu agar supaya kandungan fruktosa dalam *wine* tetap tinggi, lebih disukai galur khamir yang lambat memfermentasi fruktosa.

Kandungan pektin buah anggur matang bervariasi antara 0.02-0.6 persen, termasuk bahan-bahan yang mengendap oleh alkohol seperti gum dan araban. Variasi kandungan pektin ini tergantung pada varietas buah anggur, yaitu seperti pada table .2 dibawah ini

Tabel .2 Kandungan pektin (gr/L) Beberapa varitas buah anggur
(Amerine, et al., 1980)

Varitas	Total pektin	Gram/100 ml		Gum/ araban
		Bebas	Ester	
Merlot	1.77	0.07	0.19	1.51
Gemillon	4.43	0.02	0.14	4.27
Cabernet franc	1.22	0.08	0.37	0.77

Sumber : Amucine et al (1980)

Selama proses fermentasi, 30-90 persen pektin akan mengendap baik kerana aktifitas pektolitik sel-sel khamir maupun karena kandungan alkohol yang terbentuk. Sebelum proses fermentasi, kandungan pektin dalam *musts* mengalami demetoksilasi akibat aktifitas enzim pektin yang terdapat secara alami. Pengendapan dan demetoksilasi pektin menghasilkan *wine* dengan pektin yang rendah.

Asam-asam organik utama dalam buah anggur adalah asam L (+) tartarat dan L (-) malat. Keasaman total di hitung sebagai asam tartarat bervariasi tergantung pada musim dan varitas, yaitu antara 0.3-1.5 gram per 100 ml. *Musta* buah anggur dengan kandungan asam tartarat yang tinggi mempunyai pH yang lebih rendah, karena asam tartarat merupakan asam yang relative kuat. Rasio tartarat/malat bervariasi antara 0.75-6.1

Kandungan nitrogen total dalam *musts* bervariasi antar 100-2000 mg/L, biasanya sekitar 600 mg/L. Dari jumlah tersebut, 100-400 mg/L merupakan amino nitrogen.

Disamping komponen-komponen utama diatas, komponen lain yang penting peranannya dalam proses fermentasi *wine* adalah pigmen. Data kuantitatif dalam proses fermentasi *wine* adalah pigmen. Data kualitatif mengenai kandungan pigmen *musts* sangat terbatas. Sejumlah kecil klorofil, karoten dan xanthofil telah diketahui terdapat dalam *musts* buah anggur.

Pada umumnya varitas-varitas Amerika mengandung pigmen diglukosida malvidin, sedangkan varitas *Vitis vinifera* terutama mengandung monoglukosida malvidin sebagai pigmen berwarna merah, yang terdiri dari 43 persen malvidin monoglukosida, 32 persen delphinidin monoglukosida, 10 persen petunidin monoglukosida dan 5 persen peonidin monoglukosida.

Sejumlah enzim terdapat dalam *musts*, yaitu antara lain enzim polifenoloksidase, peroksidase, pektinase, metylesterase, poligalakturonase dan oksidase. Sebagian besar enzim

terdapat dalam kulit buah. Jika musts dipusingkang (sentrifuse), aktifitas enzim-enzim tersebut berkurang.

Oksidasi enzimatik merupakan faktor penting pada kebanyakan jenis-jenis *wine*, terutama jika dibuat dari buah anggur yang berjamur. Peroksidase dapat rusak dengan panas, tetapi tahan terhadap SO₂ dan bentonit. pH yang rendah dapat membantu penghambatan peroksidase. Jika musts diberi perlakuan dengan polivinylpirrolidon, peroksidase menjadi sangat tahan terhadap factor-faktort penghambat.

Polifenoloksidase merupakan enzim yang bertanggung jawab terhadap sensitivitas yang bebas dari bertanggung jawab terhadap sensitivitas *musts* yang bebas dari infeksi botrytis untuk teroksidasi. Reaksi pencoklatan (*browning*) yang terjadi pada musts dapat disebabkan oleh enzim lacease, yaitu enzim fenoloksidase yang berasal dari *Brotytis cineria* yang mencari buah anggur. Aktifitas enzim polifenoloksidase dan lacease ini dapat dihambat oleh SO₂.

JENIS-JENIS WINE

Diantara sekian banyak jenis-jenis *wine*, berikut ini hanya akan diuraikan jenis-jenis wne secara umum. Secara garis besar wine dikelompokkan ke dalam 5 kelas, yaitu Red table Wine, White table Wine, Appetizer wine, Dessert wine dan Sparking wine.

Sebagian besar jenis-jenis wine merupakan still wine, yaitu jenis wine dimana gas CO₂ yang terbentuk selama proses fermentasi, dikeluarkan. Sedangkan Sparkling wine mengandung CO₂ dalam konsentrasi tertentu yang terbentuk melalui proses fermentasi kedua atau melalui proses karbonasi.

Dry wine adalah jenis *wine* yang mengandung sedikit atau tidak mengandung gula sama sekali (*unfermented sugar*). Sedangkan *Sweet wine* masih mengandung gula yang tidak terfermentasi atau sengaja ditambahkan setelah proses fermentasi selesai.

Fortified *wine* adalah jenis *wine* yang ditambah distilat wine (*Wine spirit atau brandy*), sehingga mengandung alcohol sekitar 19-21 persen. Table *wine* adalah jenis *wine* yang kandungan alcoholnya rendah (9-14 persen), sedikit atau tanpa gula. Sedangkan dessert wine adalah fortified *wine* yang mengandung gula (*sweet wine*).

Appartizer wine adalah jenis *wine* dengan kandungan gula yang bervariasi antara dry wine sampai *semisweet wine*. Kandungan alcoholnya berkisar antara 15-20 persen.

FERMENTASI WINE

Secara garis besar tahap-tahap produksi wine adalah seperti pada Gambar 1. Buah anggur dipetik pada tingkat kematangan yang optimum, agar supaya diperoleh *musts* dengan flavor, kandungan gula dan keasaman yang optimum.

Buah-buah anggur dihancurkan dengan hati-hati agar supaya biji tangkai yang mengandung komponen dengan rasa pahit (tannin, tidak ikut hancur. Sebelumm disaring ke dalam *musts* ditambahkan sulfite atau sulfur dioksida (SO₂). Penambahan bahan pengawet ini bertujuan menekan pertumbuhan dan aktifitas berbagai mikroorganisme termasuk khamir dan bakteri yang terdapat secara alami pada buah anggur. Sebagian besar mikroba pembusuk bersifat sensitive terhadap SO₂. Sedangkan khamir *wine* (*wine yeast*) tidak dipengaruhi.

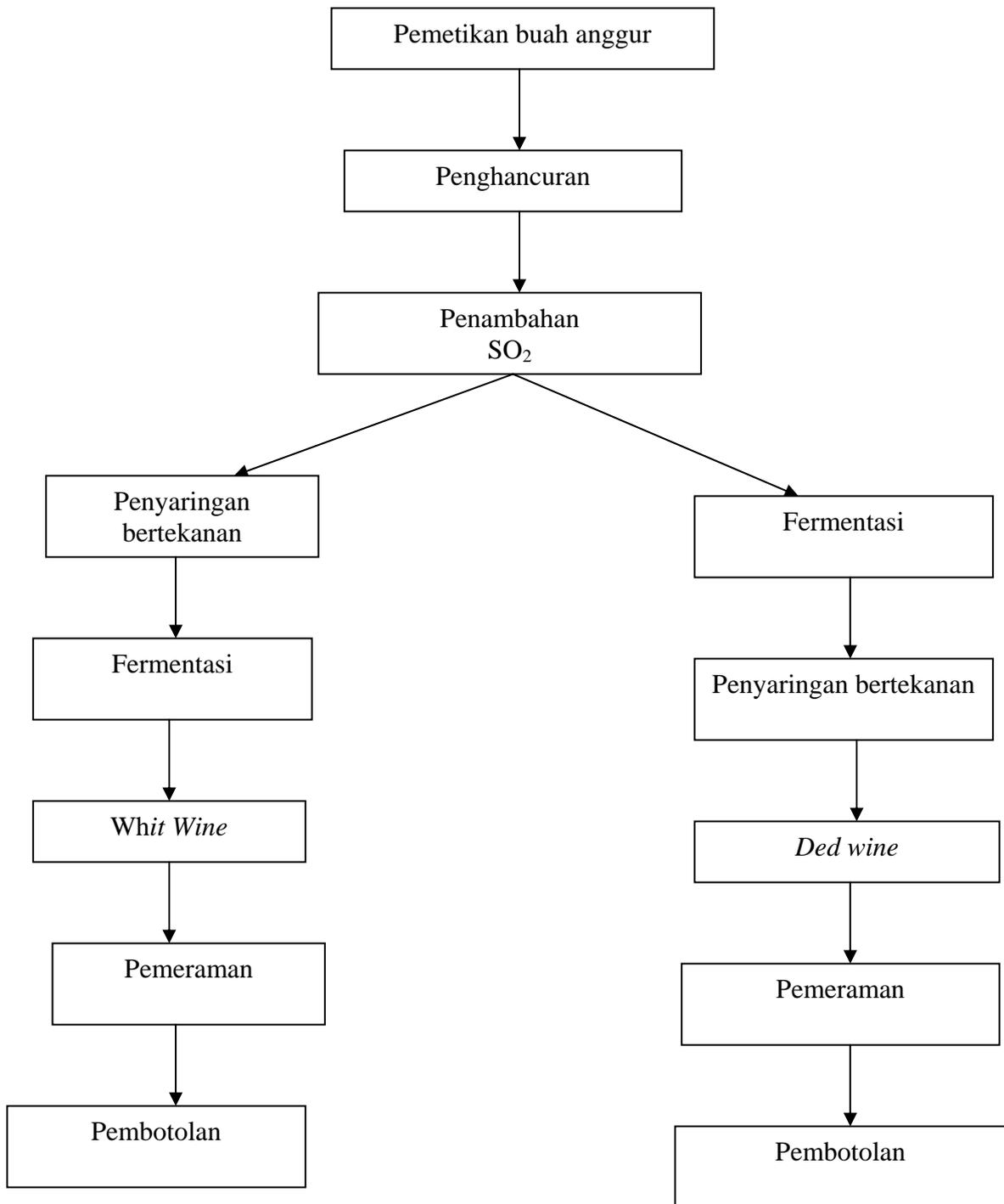
Untuk memproduksi *red wine*, fermentasi *musts* dilakukan lengkap dengan kulit, tangkai dan biji. Sehingga pigmen merah yang terdapat pada bagian-bagian buah tersebut akan terekstraksi selama proses fermentasi. Cara ini adalah memanaskan *musts* pada suhu sekitar 40-44°C selama 8-16 jam, kemudian didinginkan dan disaring dengan tekanan. Cairan yang diperoleh selanjutnya difermentasi. Selain dari kedua cara ini *wine* yang dihasilkan tidak berwarna merah, tetapi merah muda dan dipasarkan sebagai *rose wine*. Selama fermentasi kandungan tannin dalam kulit buah juga terektraksi, sehingga *red wine* mengandung tannin lebih tinggi daripada *white wine* dan *rose wine*.

Inokulum

Sekitar 2-5 persen inokulum khamir yang khusus untuk fermentasi wine, yaitu galur *Saccharomyces cerevisiae var. ellsoideus*, diinokulasikan ke dalam musts. Sel khamir ini berukuran lebih besar dan lebih oval dibandingkan dengan sel khamir untuk fermentasi bir.

Karena fermentasi biasanya dimulai dengan menambahkan 2-3 gallon kultur starter untuk setiap 100 gallon *musts*, maka perlu dilakukan beberapa tahap propagasi sampai diperoleh volume inokulum yang diinginkan. Progasi sel khamir *wine* biasanya dilakukan dengan menggunakan sari buah anggur steril sebagai subsrat.

Dewasa ini telah banyak tersedia secara komersial sel-sel khamir wine dalam bentuk *active dry yeast* dengan daya tahan atau kestabilan 6-12 bulan. Disamping itu juga tersedia *comperesses yeast* dengan kestabilan 3-4 minggu.



Gambar . 1 Diagram Alir Proses Produksi Wine (Miller dan Listky, 1976).

Sumber karbon

Jenis gula utama terdapat dalam musts adalah glukosa dan fruktosa. Sebagian besar khamir untuk wine memfermentasi glukosa lebih cepat dari fruktosa. Tetapi *S. elegans*, memfermentasi fruktosa lebih cepat daripada glukosa. Galur ini digunakan dalam industri sauterne wine, yaitu sejenis *white wine* dengan rasa sedikit manis yang berasal dari distrik Sauternes, Bordeaux, Perancis.

Fermentasi karbohidrat yang secara alami terdapat dalam buah anggur akan cepat menghasilkan alkohol sampai sekitar 11-12 persen. Dalam iklim dingin, terutama di Amerika Serikat bagian timur dimana buah anggur *varitas Vitis labrusca* banyak ditanam untuk industri wine, wine yang dihasilkan kadang-kadang ditambah gula (amelioration). Sebaliknya apabila cuaca menyebabkan buah anggur terlalu cepat masak (mature), maka untuk memproduksi wine dengan komposisi normal, perlu penambahan air.

Alkohol

Etanol yang diproduksi oleh sel-sel khamir selama proses fermentasi akan menghambat aktifitas dan pertumbuhan sel. Jika suhu fermentasi meningkat, derajat pengahambatan juga meningkat. Suhu fermentasi yang lebih rendah akan menghasilkan etanol yang lebih tinggi, karena disamping fermentasi berlangsung lebih sempurna, hilangnya etanol karena penguapan akibat suhu yang lebih tinggi dapat diperkecil.

Karbondioksida

Pada tekanan CO₂ sekitar 72 atmosfer pertumbuhan sel-sel khamir akan terhambat, dan pada tekanan 30 atmosfer produksi etanol terhenti sama sekali. Pengaruh tekanan CO₂ ini sangat penting dalam pembotolan, tangki wine atau jika kecepatan fermentasi diatur dengan tekanan. Sekitar 0.1-0.5 gram CO₂ per liter terlarut dalam *table wine*. Konsentrasi CO₂ sebanyak 12 gr/L akan menyebabkan tekanan sebesar 4.0, 4.8, 5.8, 6.6 dan 7.5 atmosfer pada suhu 0.5, 10, 15 dan 30°C. Pada produk akhir sparkling wine lebih disukai jika terdapat tekanan CO₂ sebesar 6-8 atmosfer.

Suhu fermentasi

Kebanyakan sel khamir untuk wine akan tumbuh baik suhu 27-30°C, tetapi juga sel khamir wine yang tumbuh suhu yang rendah dan dapat memfermentasi musts pada suhu 7°C atau lebih rendah. Diantara galur-galur khamir wine, waktu rata-rata yang dibutuhkan untuk

memproduksi 5 gram etanol dari 1 liter sari buah anggur adalah 23 hari pada suhu 0°C, 8 hari pada suhu 6°C dan 3.5 pada suhu 12°C

Proses fermentasi yang berlangsung lambat dan lama suhu yang rendah akan menghasilkan *wine* dengan flavor yang lebih pahit daripada proses fermentasi cepat pada suhu yang lebih tinggi. Tetapi jika suhu terlalu tinggi dapat menghasilkan khamir *wine* dan merupakan kondisi yang sesuai bagi mikroorganisme lain. Misalnya bakteri *Lactobacillus* akan tumbuh dan menimbulkan kerusakan pada *wine*.

Suhu awal untuk produksi *white wine* adalah 12-25°C, dan selama fermentasi berlangsung suhu tidak boleh melebihi 23°C. Pada suhu optimum (10-21.1°C) fermentasi *white wine* akan berlangsung selama 7-14 hari. Fermentasi *red wine* dilakukan pada suhu yang lebih tinggi agar tannin dan pigmen dapat terekstraksi dari kulit buah anggur. Pada suhu optimum (23.9-26.7°C) proses fermentasi *red wine* akan berlangsung selama 3-5 hari.

Selama fermentasi berlangsung akan timbul panas. Karena itu untuk mempertahankan suhu optimum fermentasi, tangki fermentasi perlu dilengkapi dengan sistem pendingin yang sesuai baik untuk mengatasi pengaruh suhu lingkungan maupun pengaruh panas yang timbul selama fermentasi berlangsung.

Sulfur-dioksida (SO₂)

Seperti telah diuraikan, penambahan SO₂ bertujuan untuk menghambat berbagai jenis mikroba yang terdapat secara alami pada buah anggur, terutama *Lactobacillus*.

Starter khamir dapat beradaptasi untuk tumbuh pada konsentrasi SO₂ lebih dari 200 ppm. Dalam industri *wine* jumlah SO₂ yang ditambah ke dalam musts adalah 50-100 ppm (85-170 gram per ton buah anggur). Perlakuan ini dapat menghilangkan mikroba alami tersebut sampai 99.9 persen. Karena SO₂ bebas bersifat sebagai antiseptik, maka daya perlindungannya akan berkurang jika dalam *musts* terdapat dalam konsentrasi tinggi senyawa-senyawa seperti aldehida, keton dan jenis-jenis gula dimana SO₂ dapat membentuk bisulfit. Efisiensi antimicrobial SO₂ juga dipengaruhi oleh suhu, pH dan jenis mikroorganisme.

Tannin

Jika tannin dilarutkan dalam air akan terbentuk larutan yang mempunyai rasa sepat, dan jika direaksikan dengan ion ferri akan terbentuk warna biru kehitaman atau hijau. Tannin akan diendapkan oleh protein.

Sekitar 3-6 persen kulit buah anggur merah adalah tannin yang membantuk menstabilkan warna merah pada *wine*. Sifat-sifat antiseptik tannin sangat bervariasi. Sel-sel khamir alami sangat sensitive terhadap tannin, sedangkan starter khamir *wine* lebih tahan.

Nutrien

Fermentasi *musts* yang baik membutuhkan nitrogen, mineral dan nutrient-nutrien lain dalam jumlah yang cukup. Untuk pertumbuhannya, sel-sel khamir tidak membutuhkan penambahan asam-asam amino dari luar, kecuali dalam kondisi tertentu dimana kadar nitrogen dalam *musts* tidak mencukupi.

Buah anggur mengandung mineral dalam konsentrasi yang cukup, tetapi jika terdapat berlebihan seperti tembaga atau besi, dapat menyebabkan pengambatan. Jika sejumlah vitamin ditambahkan ke dalam media, pertumbuhan sel khamir akan meningkat. Semua species khamir membutuhkan penambahan biotin dari luar. Buah anggur varitas putih umumnya mengandung biotin lebih sedikit daripada varitas merah, tetapi jumlah ini ditambah dengan vitamin-vitamin lain masih cukup untuk memberikan kondisi fermentasi dengan kecepatan normal. Kecepatan fermentasi sari buah dipengaruhi oleh kandungan biotin dan nitrogen total buah anggur, jika keduanya terdapat dalam dsari buah. Tetapi fermentasi tersebut tidak dipengaruhi jika biotin atau salah satu vitamin B, terdapat sendirian.

PENYIMPANAN DAN PEMERAMAN

Setelah fermentasi primer atau fermentasi aktif selesai dimana kandungan gula hamper seluruhnya terfermentasi, sedangkan sel-sel khamir, sejumlah tannin, protein, pektin dan tartar mengendap, selanjutnya *wine* dipisahkan dari endapan-endapan tersebut (termasuk kulit, biji dan potongan-potongan tangkal dalam fermentasi *red wine*)

Tahap-tahap proses setelah difermentasi primer disebut prosedur *cellar*, termasuk fermentasi sekunder, penjernihan, penstabilna dan pembotolan. Setelah dipisahkan dari endapan, *wine* yang diperoleh dimasukkan ke dalam tangki dengan CO₂ yang rendah untuk fermentasi sekunder selama 7-11 hari pada suhu 21.1-29.4°C. Dalam produksi *dry wine*, maka pada tahap ini sisa-sisa gula akan fermentasi. Untuk memperoleh *wine* yang jernih, ke dalam tangki ditambahkan *clarification* agent seperti bentonit atau karbon aktif. Kemudian endapan didasar tangki dipisahkan.

Sebelum pemeraman *wine* jernih yang diperoleh dapat dipasteurisasi terlebih dahulu untuk mengendapan protein. Tetapi pasteurisasi ini biasanya tidak dilakukan. *Wine* dinginkan

dan dibiarkan selama beberapa hari, disaring dan pisahkan ke dalam tangki kayu atau semen yang dilapisi plastic untuk pemeraman (*aging*). Untuk pemeraman ini tangki diisi penuh dan ditutup rapat agar supaya tidak terjadi kontak dengan udara. Selama pemeraman *wine* dipisahkan secara periodik dari endapan yang terkumpul di bagian bawah tangki.

Pemeraman dapat berlangsung selama beberapa bulan atau beberapa tahun yang akan menyebabkan perubahan sifat fisik dan flavor *wine*. Pemeraman akan memberikan aroma atau bouquet yang merupakan salah satu karakteristik *wine*. Komponen aroma dan rasa yang terpenting adalah ester-ester dan alcohol. Selama pemeraman dapat terjadi fermentasi asam malat oleh bakteri *Lactobacillus* atau *Microoccus*, yang akan menghasilkan asam laktat dan CO₂ serta penurunan keasaman. Setelah pemeraman, *wine* disaring dan dimasukkan ke dalam botol. Beberapa jenis *wine* dipasteurisasi setelah pemeraman. Biasanya dibatal botol .

Wine dengan kandungan asam-asam volatile yang tinggi merupakan tanda bahwa telah terjadi kegagalan dalam proses fermentasi. Di Amerika Serikat batas kandungan asam volatili adalah 0.14 gram per 100 ml (sebagai asam asetat) untuk *red wine*, dan 0.12 gram per 100 ml untuk *white wine*. Komposisi *wine* yang telah jadi sangat bervariasi. Komposisi rata-rata *wine*, adalah seperti pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3 Komposisi Rata-rata *Table Wine* (Miller dan Litsky, 1976).

Komponen	Persentase (%)
Total solid	2-3
Karbohidrat	0.03-0.5
Asam-asam	0.5-1
Abu	0.15-0.3
Tannin	Trace
Asam Amino	Trace
Senyawa aroma	Trace
Alkohol	6-9 (% berat) 8-13 (% vol).

KERUSAKAN “WINE “

Kerusakan *wine* dapat terjadi baik secara nonmikrobial maupun mikrobial. Meskipun mikrobial. Kerusakan-kerusakan *wine* termasuk yang disebabkan oleh logamnya atau garamnya, enzim dan bahan-bahan yang digunakan dalam proses penjernihan *wine*. Fe

miasalnya, dapat menyebabkan terbentuknya endapan putih besi pospat pada *white wine* yang dikenal sebagai casse. Timah dan tembaga dapat menyebabkan timbulnya kekeruhan pada *wine*. Gelatin yang digunakan dalam proses penjernihan juga dapat menimbulkan kekeruhan. Enzim-enzim pengoksidasi seperti peroksidase dari kapang tertentu dapat menyebabkan *white wine* berubah menjadi coklat, dan warna merah *red wine* mengendap.

Mikroorganisme penyebab kerusakan wine terutama adalah sel-sel khamir liar (wild yeast), kapang dan bakteri dari genus *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan mungkin *Micrococcus* dan *Pediococcus*.

Beberapa factor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam wine, adalah sebagai berikut :

- (1) Keasaman (pH). Pada pH yang rendah kecil kemungkinan terjadi kerusakan wine. pH minimum untuk pertumbuhan mikroba bervariasi tergantung pada mikroba, jenis *wine* dan kadar alkohol. Kapang, khamir dan bakteri asam asetat tidak dapat dicegah oleh pH wine yang normal. Sebagian besar bakteri asam laktat mempunyai toleransi pada keasaman rendah sampai pH 3.3 – 3.5, yaitu pH yang lebih rendah dari pH kebanyakan wine(sebagian *table wine* California mempunyai pH 3.5-4.0).
- (2) Kandungan gula. *Dry wine* yang rendah kandungan gulanya (sekitar 0.1 persen), jarang mengalami kerusakan akibat bakteri. Kadar gula sekitar 0.5-1.0 persen atau lebih merupakan kondisi yang sesuai bagi mikroba perusak.
- (3) Konsentrasi alkohol. Toleransi mikroba perusak terhadap alkohol, bervariasi. Bakteri asam asetat dapat dihambat pada konsentrasi alkohol 14-15 persen (v/v). Bakteri-bakteri kokus dihambat pada konsentrasi alkohol sekitar 12 persen, *Leuconostoc* pada konsentrasi alkohol lebih dari 14 persen, heterofermentatif *Lactobacillus* sekitar 18 persen, kecuali *L. trichodes* yang dapat tumbuh pada kadar alkohol lebih dari 20 persen dan homofermentatif *Lactobacillus* sekitar 10 persen.
- (4) Konsentrasi senyawa faktor pertumbuhan. Spesies *Acetobacter* dapat mensintesa sendiri vitamin-vitamin yang dibutuhkannya, tetapi bakteri asam laktat membutuhkan penambahan vitamin dari luar. Sumber utama senyawa ini didalam wine adalah sel-sel khamir (*wine yeast*), yang mengeluarkan senyawa – senyawa faktor pertumbuhan tersebut pada saat autolisis. Makin banyak jumlah senyawa ini makin besar kemungkinan ketusakan *wine* oleh bakteri asam laktat.
- (5) Konsentrasi tannin. Tannin yang ditambahkan bersama-sama dengan gelatin dalam proses penjernihan dapat menghambat bakteri, tetapi jumlah yang ditambahkan biasanya tidak cukup untuk sekaligus berfungsi sebagai inhibitor dalam *wine*.

- (6) Konsentrasi sulfur dioxide (SO₂). Makin tinggi konsentrasi SO₂ yang ditambahkan, makin besar daya penghambatan terhadap mikroba perusak. Biasanya jumlah SO₂ yang ditambahkan ke dalam musts adalah sekitar 75-200 ppm. Efektivitas penghambatan tergantung pada jenis mikroba dan daya penghambatan tersebut akan meningkat dengan menurunnya pH dan kandungan gula.
- (7) Suhu penyimpanan. Kerusakan wine dapat terjadi dengan cepat pada suhu 20-35°C dan akan menurun bila suhu mendekati suhu beku.
- (8) Udara. Mikroorganisme aerobik seperti kapang, lapisan film khamir dan *Acetobacter* tidak dapat tumbuh bila tidak terdapat udara (oksigen), tetapi bakteri asam laktat tumbuh baik dalam keadaan anaerobik.

Kerusakan oleh Mikroba Aerobik

Lapisan film khamir yang dapat mengoksidasi alkohol dan asam-asam organik dapat tumbuh pada permukaan musts dan wine yang kontak dengan udara dan akan membentuk *wine flowers*. Timbulnya film khamir ini dapat dihindari dengan cara mengaduk musts secara periodik dan menjada agar wine tidak kontak dengan udara.

Dengan adanya udara, bakteri-bakteri asam asetat seperti *Acetobacter aceti* dan *A. oxydans*, akan mengoksidasi alkohol dalam *musts* atau *wine* menjadi asam asetat (Acetifikasi). Bakteri ini juga dapat mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat yang menyebabkan rasa asam manis pada *musts*.

Berbagai jenis kapang terutama *Mucor*, *Penicillium* dan *Aspergillus*, dapat tumbuh pada berbagai alat yang digunakan dalam produksi *wine* seperti tangki fermentasi, pipa-pipa penghubung, penutup, alat pengukur dan alat-alat lain termasuk dinding-dinding pabrik. Karena itu diperlukan pencucian dan disinfektasi yang memadai terhadap alat-alat tersebut.

Kerusakan oleh Mikroba Fakultatif

Sel-sel khamir liar termasuk semua khamir kecuali khamir yang ditambahkan sebagai starter, dapat menyebabkan fermentasi berlangsung tidak normal sehingga menghasilkan wine dengan kandungan alkohol yang rendah, asam-asam volatil yang tinggi dan flavor yang tidak disenangi. Disamping itu sel-sel khamir liar tersebut akan menyebabkan kekeruhan pada wine yang dihasilkan. Sel-sel khamir liar ini yang terutama berasal dari buah anggur yang digunakan, dapat ditekan atau dihilangkan dengan cara menggunakan starter khamir wine

yang aktif, sulfitisasi atau pasteurisasi *musts* belum fermentasi dan pengontrolan suhu yang ketat selama fermentasi berlangsung.

Bakteri asam laktat merupakan penyebab utama kerusakan bakteri *musts wine*. Pendugaan jenis bakteri perusak *wine* sering menemui kesulitan, karena jenis bakteri yang berbeda dapat menyebabkan jenis kerusakan yang sama, dan bakteri yang sama pada kondisi yang berbeda dapat menyebabkan jenis kerusakan yang berbeda. Jenis kerusakan oleh bakteri yang umumnya terjadi adalah terbentuknya asam dari gula, glukosa dan fruktosa dalam *wine* yang terutama disebabkan oleh species-species *Lactobacillus* heterofermentatif. Timbulnya kekeruhan dan kerusakan warna *wine* juga merupakan jenis-jenis kerusakan oleh bakteri.

Jika fermentasi fruktosa menghasilkan mannitol, yaitu senyawa yang mempunyai rasa pahit, maka fermentasi ini disebut mannitic. Rasa pahit juga dapat disebabkan karena terjadi fermentasi gliserol dalam *wine*. Timbulnya gas dalam *wine* dapat disebabkan oleh beberapa penyebab antara lain pembentukan CO₂ oleh bakteri asam laktat heterofermentatif yang disebut *pousse*.

Keasaman *wine* dapat diturunkan oleh bakteri-bakteri perusak melalui oksidasi asam malat, asam tartarat oleh *Acebacter*, atau melalui fermentasi asam malat dan tartarat oleh species *Lactobacillus*, *Leuconostoc* atau *Pediococcus*.

Setiap bakteri dan sel khamir yang tumbuh dalam *wine* akan menimbulkan kekeruhan, dan setiaio bakteri asetat atau laktat heterofermentatif akan meningkatkan asam-asam volatil dalam *wine*. Fermentasi gula biasanya akan meningkatkan keasaman karena terbentuknya asam-asam organik yang tidak dapat menguap oleh bakteri laktat homofermentatif, atau terbentuknya asam-asam organik tidak menguap dan asam organik menguap (volatile) oleh laktat heterofermentatif. Oksidasi atau fermentative lebih lanjut terhadap asam-asam organik yang tidak menguap dapat menurunkan konsentrasi asam-asam organik tersebut dalam *musts* atau *wine*.

II. SARI BUAH BERALKOHOL (*FRUIT WINE/CIDER BUAH*)

Seperti halnya buah anggur, semua jenis buah-buahan akan menghasilkan wine jika difermentasi. Cara yang digunakan untuk memproduksi minuman beralkohol dari sari buah sama dengan cara produksi *wine* dari buah anggur. Perbedaannya ialah ekstraksi gula dan bahan-bahan terlarut dari buah-buahan lain lebih sulit daripada dari anggur, dan kandungan gula dalam sari buah kebanyakan jenis buah-buahan lebih rendah daripada buah anggur, tetapi kandungan asam-asam organiknya lebih tinggi.

Di Amerika Serikat sari buah apel yang tidak difermentasi disebut cider. Produk fermentasi dengan kadar alkohol 0.5-8.0 persen disebut *hard cider* atau *applejack*. Sedangkan di Inggris sari buah yang difermentasi disebut *cider*. Sari buah apel yang difermentasi dengan kadar alkohol lebih besar dari 8.5 persen disebut *apple wine* (Ayres et al., 1980).

Buah apel yang baik untuk difermentasi menjadi cider adalah apel dengan kandungan gula tannin yang tinggi. Jenis apel ini mengandung sekitar 10 persen fruktosa, 2 persen sukrosa, 1,5 persen glukosa 0.2-0.9 persen malat dan 0.1-0.5 persen tannin.

Tahap-tahap produksi cider adalah seperti pada gambar 2 di bawah ini. Sebelum inokulasi dan fermentasi, sari buah biasanya diberi perlakuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang tidak dikehendaki, antara lain dengan pasteurisasi pada suhu 85°C selama 30 detik, atau sterilisasi melalui penyaringan (filter sterilization) Tetapi control mikroorganisme sari buah umumnya dilakukan dengan cara menambahkan SO₂. Jumlah SO₂ yang ditambahkan tergantung pada pH sari buah, oksigen terlarut dan konsentrasi senyawa yang mengikat SO₂ dalam sari buah.

Setelah ditambahkan SO₂, sari buah dibiarkan satu malam. Sari buah harus mengandung paling sedikit 30 ppm SO₂ pada pH 3.5, dan pada pH yang lebih tinggi kebutuhan SO₂ juga lebih tinggi.

Sari buah diinokulasi dengan galur *Saccharomyces uvarum*. Galur yang digunakan sebaiknya merupakan kultur murni, Galur yang sebaiknya merupakan kultur murni, stabil dan mempunyai daya flokulasi yang baik, tahan terhadap SO₂ dan tidak mampu memproduksi metabolit-metabolit yang tidak diinginkan seperti H₂S dan diasetil. Sel kahmir juga harus mampu mendegradasi pektin (*deesterified pectin*) menjadi asam galakturonat, jika tidak maka pektin dalam sari buah akan tetap tidak berubah selama fermentasi.

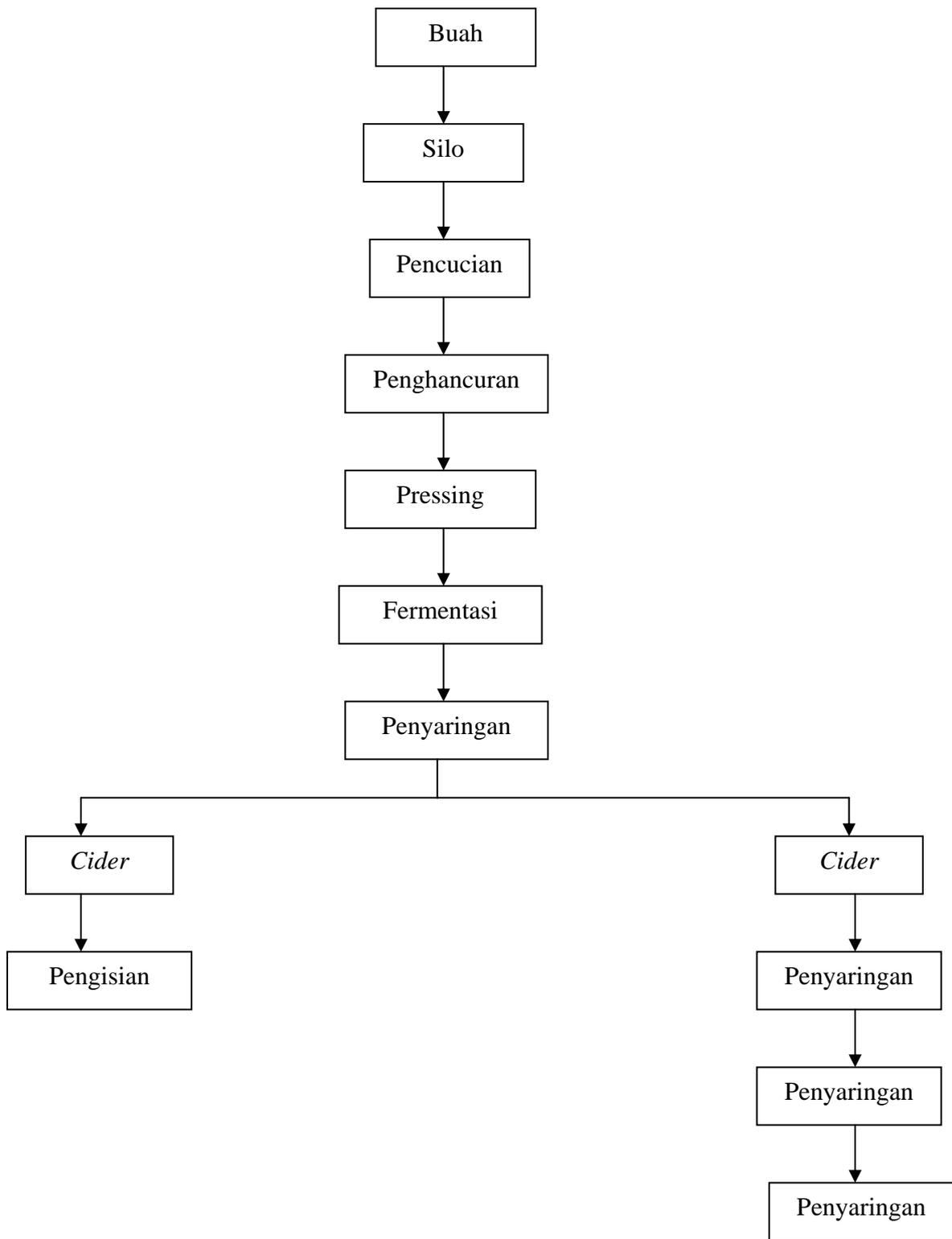
Disamping memproduksi etanol CO₂, sel khamir juga memproduksi senyawa-senyawa aromatic, asam-asam organic dan alkohol tinggi termasuk butyl, hexil dan propylakohol (rata-rata total 200-250 ppm).

Pada suhu 15-25°C fermentasi membutuhkan waktu sampai beberapa minggu. Fermentasi dihentikan jika berat jenis telah mencapai sekitar 1.0002 dari berat jenis awal sekitar 1.037-1.082. Selama atau setelah fermentasi khamir, bakteri asam laktat melakukan fermentasi kedua (fermentasi malolaktat).

Selama fermentasi malolaktat dikarboksilat akan berubah menjadi asam laktat monokarboksilat, yang akan menurunkan keasaman cider sampai 50 persen. Disamping itu bakteri asam laktat juga akan memecah (katabolisme) asam-asam lain yang terdapat dalam cider seperti asam sitrat, quinat, shikamat, caffeat dan asam chlorogenat. Dari gula yang tersedia asam laktat juga akan memproduksi asam laktat dan asam asetat. Penurunan keasaman akibat fermentasi kedua ini lebih disukai karena cider akan mempunyai flavor yang baik.

Suatu hasil penelitian mengenai pengaruh suhu selama fermentasi menunjukkan bahwa pada suhu 24.4 °C, 30.0°C dan 36.7°C, kadar alcohol dalam cider yang dihasilkan berturut-turut adalah 17.3, 14.95 dan 6.2 persen (v/v). Hal ini berarti bahwa fermentasi pada suhu yang terendah diantara ketiga suhu diatas akan memberikan hasil yang terbaik.

Hard cider dengan kandungan alcohol yang tinggi dapat dibuat melalui proses pembekuan. Hard cider yang dihasilkan melalui proses fermentasi, disaring dan dibekukan. Cider kental dan kristal es yang terbentuk dan dipisahkan dengan cara ditiriskan. Kandungan alcohol akhir adalah sekitar 18-20 persen (v/v). Setelah diperam *hard cider* kental ini akan mempunyai flavor yang menyenangkan dan sesuai untuk digunakan sebagai *dessert wine*.

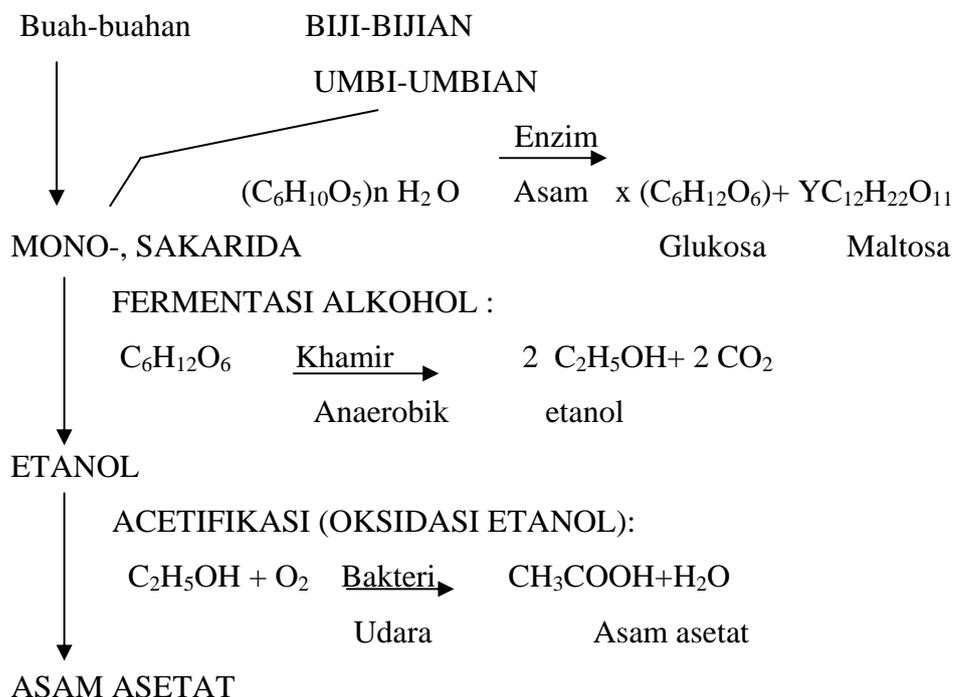


Gambar .2 Diagram Alir Proses produksi cider (Ayres et al., 1980).

III. VINEGAR

PENDAHULUAN

Vinegar adalah larutan encer asam asetat yang dihasilkan melalui 2 tahap proses fermentasi, yaitu proses fermentasi gula menjadi etanol oleh khamir, kemudian dilanjutkan dengan proses oksidasi etanol menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Secara garis besar bagan produksi vinegar adalah seperti pada Gambar .1 berikut ini.



Gambar .1 Bagan produksi vinegar (Wood, 1985)

Karena adanya hubungan yang erat antara alcohol yang erat antara alcohol dan vinegar, maka diduga bahwa kedua jenis produksi ini ditemukan dalam periode waktu yang kira-kira sama. Salah satu kesulitan dalam menentukan saat dikenalnya vinegar sebagai produk adalah tidak adanya definisi yang tepat yang dapat membedakan antara istilah *wine*, *old sine*, *wine* asam dan vinegar.

Produksi asam asetat dari larutan mengandung alcohol telah dikenal sejak sama yaitu sama lamanya dengan produksi minuman anggur (*wine*). Bangsa Romawi dan Yunani menggunakan vinegar encer sebagai minuman penegar dan dihasilkan dengan cara membiarak minuman anggur di tempat terbuka. Produksi vinegar secara industri yang pertama kali, dilakukan dengan menggunakan bejana datar yang terbuka. Proses produksi vinegar

dengan cara ini berlangsung lambat, dimana lapisan film bakteri mengapung diatas permukaan minuman anggur yang digunakan sebagai bahan baku. Sejak abad ke 19, fermentasi permukaan telah dikembangkan sehingga dapat berlangsung lebih cepat, antara lain proses generator trickling yang sampai saat ini masih digunakan. Kemudian sejak tahun 1949. telah dikembangkan teknik produksi vinegar melalui proses fermentasi terendam (*Submerged fermentation*).

PENGUNAAN VINEGAR DALAM MAKANAN

Vinegar banyak digunakan dalam industri pengolahan makanan, industri farmasi dan industri kimia. Dalam industri pengolahan makanan, vinegar terutama digunakan sebagai bahan penimbul flavor dan bahan pengawet. Beberapa jenis makanan yang ditambah vinegar dalam konsentrasi tertentu antara lain adalah tomat, sambal, acar dan sayur asin. Acar (pikel) dalam vinegar merupakan salah satu contoh pengawetan makanan secara tradisional.

Daya pengawet vinegar terutama disebabkan karena kandungan asam asetatnya. Sebanyak 0.1 persen asam asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembentukan spora penyebab keracunan makanan, dan 0,3 persen asam asetat dapat mencegah pertumbuhan kapang penghasil mikotoksin. Pengaruh asam asetat biasanya diperkuat oleh adanya garam (NaCl) dan bahan padat lainnya, yang akan menurunkan *water activity* (a_w) bahan makanan sampai dibawah optimum untuk pertumbuhan mikroba pembusuk dan penyebab keracunan makanan.

Aktifitas antimikroba asam asetat tidak hanya karena pengaruhnya terhadap pH bahan makanan. Hal ini dapat dijelaskan yaitu jika asam asetat digunakan sebagai bahan pengasaman (acidulan) dalam suatu medium sintetik, maka pertumbuhan *Salmonella sp.* Akan dihambat pada pH dibawah 5.4. Tetapi jika digunakan asam hidroklorat (HCL), penghambat pertumbuhan baru terjadi pada pH 4.05

Mekanisme antimikroba asam asetat diperkirakan sama dengan asam-asam organik yang digunakan dalam pengawetan makanan. Aktifitas antimikroba tersebut berhubungan dengan molekul lipofilik yang tidak terionisasi dan mampu menembus membrane sel mikroba, sehingga merusak system transport membrane sel bersangkutan. Di dalam sel, molekul tersebut berdisosiasi untuk meningkatkan keasaman dan menghasilkan anion sampai pada tingkat yang bersifat toksik. Dengan mekanisme seperti ini, maka harga pKa suatu asam menunjukkan kisaran pH dimana asam bersangkutan efektif sebagai pengawet. Asam asetat mempunyai harga pKa= 4.75. Jumlah molekul yang tidak berdisosiasi pada berbagai pH seperti pada Tabel .1 dibawah ini.

Tabel .1 Pengaruh pH terdapat Disosiasi Asam Asetat (Wood, B.J.B., 1985).

Ph	Asam asetat yang tidak berdisosiasi (%)
7.0	0.6
6.5	1.7
6.0	5.3
5.5	15.2
5.0	35.7
4.5	64.3
4.0	84.8
3.5	94.7
3.0	98.3

Acar biasanga mengandung asam asetat dalam jumlah yang cukup untuk mengatasi pengaruh buffer yang terdapat pada bahan baku dan menurunkan pH sampai kurang dari 3.5 dimana lebih dari 95 persen asam asetat berada dalam bentuk tidak berdisosiasi. *British Food Manufacturing Industries Research Association*. Mengemukakan bahwa diperlukan minimu 3.6 persen asam asetat yang dihitung sebagai persentase komponen volatiol dalam bahan, dan telah merumuskan prosedur empiris untuk menentukan konsentrasi asam asetat untuk menghasilkan acar dan berbagai jenis saus, dengan memperhitungkan pengaruh pengawetan dari bahan padat lainnya, yaitu :

$$A = \frac{3.6}{100} \times VC$$

dimana, A= konsentrasi asam asetat dalam bahan (%)

VC = konsentrasi komponen volatile (%), yaitu persen kehilangan berat contoh yang dikeringkan pada suhu 700C selama 5 jam dibawah tekanan 1-2 inHg

Bell dan Etchell (1952), dalam penelitian mengenai acar ketimum memberikan rumus ayang akan menghasilkan perhitungan kandungan asam asetat yang sedikit lebih tinggi, yaitu :

$$A = \frac{80 - S}{20}$$

dimana, A= konsentrasi asam asetat dalam bahan (%)

S = konsentrasi gula (sukrosa) dlaam bahan (%)

Produk yang dibuat berdasarkan kedua rumus diatas akan mempunyai daya tahan simpan yang cukup lama, tetapi mempunyai flavor asam yang agak keras. Walaupun pada beberapa jenis acae flavor yang keras ini disukai, pada umumnya lebih disukai acar yang flavornya tidak terlalu keras.

Disamping penggunaannya sebagai bahan penimbul flavor dan bahan pengawet, vinegar yang diencerkan telah digunakan sebagai minuman penyegar oleh bangsa Romawi. Vinegar yang diberi flavor bunga, buah dan madu, dan diencerkan dengan air telah digunakan sebagai minuman di Inggris sejak abad ke-17. Campuran *vinegar cider* dengan madu dari raspberry masih diprosuksi dan dipasarkan di Inggris sampai saat ini.

BAHAN BAKU

Pada mulanya bahan baku yang digunakan untuk memproduksi vinegar diperoleh dari industri minuman beralkohol, yang merupakan bagian minuman yang mengalami kegagalan dalam proses atau tidak memenuhi syarat untuk dipasarkan. Tetapi dengan berkembangnya pengetahuan dan teknologi dalam industri minuman beralkohol, kegagalan proses jarang terjadi. Kerana itu industri vinegar memproduksi sendiri larutan mengandung alkohol yang disebut *mash* yang diperlukan untuk memproduksi vinegar.

Vinegar dapat dibuat dari berbagai jenis bahan yang menghasilkan larutan atau sari (juice) yang mengandung gula, terutama jenis gula yang dapat difermentasi. Bahan-bahan diantara lain adalah buah-buahan dan molasses. Disamping itu bahan-bahan ini antara lain adalah buah-buahan dan molasses. Disamping itu bahan-bahan yang mengandung pati seperti pati menjadi gula-gula sederhana.

Untuk menghasilkan vinegar dengan konsentrasi asam asetat yang diinginkan, substrat dengan kandungan gula yang rendah dapat ditambah dengan gula dari bahan lain atau dipekatkan melalui proses penguapan.

Kebutuhan Nutrien

Sebagian besar bahan baku alami yang biasa digunakan untuk memproduksi vinegar, tidak memerlukan nutrient tambahan karena telah mengandung semua jenis nutrient tambahan karena telah mengandung semua jenis nutrient dalam jumlah yang cukup untuk pertumbuhan dan metabolisme bakteri asam asetat. Kecuali misalnya *cider apel*, yaitu sari buah apel yang telah mengalami fermentasi alkohol, kandungan nitrogennya sangat rendah sehingga memerlukan penambahan nitrogen dari sumber lain sebelum dapat digunakan sebagai bahan baku untuk memproduksi vinegar.

Disamping itu untuk memproduksi jenis-jenis vinegar tertentu misalnya vinegar spirit, biasanya diperlukan beberapa nutrient tambahan. Pada umumnya nutrient tambahan yang diperlukan adalah glukosa, ammonium, fosfat anorganik, sulfur, kalsium, magnesium dan beberapa vitamin.

Secara teoritis 1 gram glukosa dapat menghasilkan 0,067 gram asetat, tetapi dalam praktek paling sedikit dibutuhkan 2 persen (v/v) gula untuk setiap 1 persen (w/v) asam asetat sebanyak 12 gr/100 ml, bakteri asam asetat membutuhkan 500-1000 gr glukosa per 1000 liter *mash* (larutan mengandung alkohol) dan masih diperlukan penambahan mineral sebanyak 300 gr/100 liter yang terdiri dari kalium, natrium, magnesium, kalsium, ammonium fosfat, sulfat dan garam chloride. Beberapa unsur kumulatif seperti besi, mangan, kobalt, tembaga, vanadium dan seng juga diperlukan.

Jumlah nutrient seperti diuraikan diatas diperlukan dalam proses produksi vinegar melalui proses fermentasi terendam (*submerged*). Untuk proses fermentasi permukaan dengan system aliran lambat (*trickling process*), jumlah nutrient yang diperlukan hanya sepertiganya.

Dewasa ini telah banyak tersedia secara komersial sejenis produk yang merupakan campuran dari berbagai nutrient yang diperlukan untuk memproduksi vinegar misalnya *Acetozym*, *Aceto-pep* dan *Yeast Extract*. Jumlah *Yeast extract* yang diperlukan ditambahkan tidak lebih dari 200 gram per 1000 liter *mash*.

Air untuk Produksi Vinegar

Air yang digunakan dalam pembuatan *mash* harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu jernih, tidak berwarma, tidak berbau, bebas kontaminasi dan tanpa endapan atau partikel tersuspensi. Air juga bebas chlorine, ozon dan senyawa kimia lainnya yang dapat mengganggu pertumbuhan dan aktifitas metabolisme bakteri.

Persiapan Bahan Baku

Prosedur dalam mempersiapkan larutan gula untuk fermentasi alkohol tergantung pada sifat bahan baku yang digunakan. Pada dasarnya terdapat 3 jenis bahan baku yang digunakan, yaitu bahan dengan kadar gula tinggi dan bahan dengan kadar pati yang tinggi.

(1). Bahan berkadar gula rendah

Buah-buahan merupakan bahan yang umumnya mengandung gula yang rendah. Sebelum digunakan sebagai bahan baku untuk memproduksi vinegar, sari buah yang diekstrak dari

buah-buahan perlu dipekatkan terlebih dahulu atau ditambahkan gula (sukrosa) sampai kandungan gulanya mencapai 10-25 persen (w/v).

Ekstraksi saribuah dari kebanyakan buah-buahan meliputi tahap penghancuran buah dan pemerasan dengan tekanan tinggi. Sebelum pemerasan, ke dalam hancuran daging buah dapat ditambahkan enzim petktinolitik, karena pektin yang terdegradasi sebagai akibat aktifitas enzim pektinolitik dapat mempermudah pemerasan hancuran buah, sehingga meningkatkan volume sari buah yang dapat diperoleh. Dalam proses pembuatan vinegar dari buah pisang, dan pemisahan cairan baru dilakukan setelah fermentasi alkohol selesai.

(2) Bahan berkadar gula tinggi

Beberapa jenis bahan baker gula tinggi yang dapat digunakan untuk memproduksi vinegar adalah molasses, sirup jagung dan madu. Karena kandungan gulanya yang tinggi, bahan-bahan ini perlu diencerkan terlebih dahulu sampai kandungan gulanya mencapai 10-25 persen (w/v).

Untuk mengurangi resiko infeksi, larutan medium diasamkan dengan asam sulfat sampai mencapai pH 4.5-5.0, dan kemudian dipasteurisasi. Ke dalam medium juga dapat ditambahkan nutrisi dalam bentuk ammonium sulfat.

(3) Bahan berkadar pati tinggi

Bahan dengan kandungan pati yang tinggi seperti sereal dan umbi-umbian memerlukan tahap proses yang merubah pati menjadi gula-gula sederhana yang dapat difermentasi. Proses ini yang dikenal sebagai proses sakarifikasi, dapat dilakukan dengan menggunakan asam, enzim dalam bentuk *malt* atau mikrona penghasil enzim pemecah pati.

Di Jepang, kapang *Aspergillus oryzae* ditumbuhkan pada beras yang dimasak dengan uap untuk menghasilkan koji. Pada tahap fermentasi alkohol, koji sebagai sumber enzim amilolitik dicampur dengan beras yang juga dimasak dengan uap dengan perbandingan 1:3. Jenis kapang lain yang dapat digunakan sebagai *Saccharifying agent* adalah *Rhizopus* sp dan *Mucor* sp.

Jenis Vinegar

Vinegar diberi nama berdasarkan bahan baku yang digunakan. Misalnya vinegar *wine*, adalah vinegar yang dibuat dari minuman anggur. Vinegar *cider* dibuat dari sebuah apel. Vinegar beras dibuat dari pati beras yang telah mengalami proses sakarifikasi dan vinegar *malt* yaitu vinegar yang dibuat dari pati yang mengalami proses konversi oleh *malt*.

Produk yang dikenal sebagai *Spirit vinegar* di Inggris dan *Distilled Vinegar* di Amerika Serikat, adalah vinegar yang menggunakan etanol yang dimurnikan sebagai bahan baku atau substrat. Vinegar jenis ini mengandung asam asetat 13-15 persen (w/v), dan banyak digunakan dalam industri pengolahan makanan bahkan mungkin merupakan jenis vinegar yang paling banyak diproduksi saat ini.

Di Inggris, larutan alkohol murni yang diperbolehkan untuk digunakan sebagai bahan baku dalam memproduksi spirit vinegar adalah alkohol hasil proses fermentasi. Sedangkan di Amerika Serikat sering digunakan alkohol murni hasil proses kimia.

PROSES FERMENTASI

Vinegar dapat dihasilkan melalui proses fermentasi spontan, dimana mikroba yang aktif merupakan bagian dari mikroflora alami yang terdapat pada berbagai jenis tanaman yang digunakan sebagai bahan baku. Substrat atau bahan dengan kandungan gula sebanyak 120 persen atau lebih yang dibiarkan terbuka terhadap lingkungan sekitarnya akan mengalami proses fermentasi alkohol yang dilanjutkan dengan fermentasi asam asetat. Kemudian wadah yang digunakan pada fermentasi sebelumnya digunakan sebagai sumber mikroba untuk melakukan fermentasi berikutnya.

Pada setiap tahap dalam fermentasi spontan ini, terjadi persaingan antara berbagai mikroorganisme, sehingga tidak dapat menghasilkan vinegar dengan konsentrasi asam asetat yang diinginkan karena proses fermentasi alkohol dan asam asetat tidak berlangsung dalam kondisi optimum. Disamping itu vinegar yang dihasilkan kadang-kadang memiliki sifat, rasa dan bau yang kurang disukai. Karena itu proses fermentasi spontan untuk memproduksi vinegar telah ditanggalkan.

Fermentasi Alkohol

Sel khamir yang biasa digunakan dalam fermentasi alkohol adalah galur-galur dari spesies *Saccharomyces cerevisiae*. Jika digunakan serum susu (whey) sebagai substrat, perlu digunakan khamir seperti *Kluyveromyces fragilis* dan *Candida pseudotropicalis*, yang mampu memfermentasi laktosa.

Sel khamir dalam suasana anaerobik akan memfermentasi glukosa menjadi etanol terutama melalui lintasan Embden-Meyerhof. Hasil akhir proses fermentasi alkohol melalui lintasan ini adalah 92 gram etanol, 88 gram CO₂ dan energi (ATP) untuk setiap 180 gram glukosa. Sehingga secara teoritis, setiap 1 gram glukosa akan menghasilkan 0.51 gram etanol dan 0.49 gram CO₂. Tetapi dalam prakteknya, jumlah etanol yang dapat diperoleh tidak

lebih dari 90-95 persen dari perhitungan teoritis. Hal ini disebabkan karena nutrient yang tersedia dalam medium juga digunakan untuk pembentukan biomassa dan pemeliharaan sel. Disamping itu pada fermentasi ini juga terjadi reaksi-reaksi samping yang biasanya menghasilkan gliserol dan asam suksinat. Reaksi samping ini diperkirakan mengkonsumsi substrat sebanyak 4-5 persen.

Selama fermentasi alcohol berlangsung, diperlukan sedikit oksigen yaitu sekitar 0.05-0.10 mmHg tekanan O_2 , yang diperlukan oleh khamir untuk biosintesa lemak-lemak tidak jenuh dan lipid. Jumlah oksigen yang lebih tinggi dapat merangsang pertumbuhan sel khamir, sehingga produktivitas produksi etanol menjadi lebih rendah (*Pasteur Effect*).

Tergantung pada spesiesnya sel khamir mampu menggunakan berbagai jenis substrat. Pada umumnya sel khamir dapat tumbuh dan memproduksi etanol secara efisien pada pH 3.5-6.0, dan pada suhu memproduksi etanol pada pH 3.5-6.0, dan pada suhu 28-35°C. Peningkatan suhu sampai 40°C. dapat mempertinggi kecepatan awal produksi etanol, tetapi produktivitas fermentasi secara keseluruhan menurun karena meningkatnya pengaruh penghambatan oleh etanol terhadap pertumbuhan sel khamir.

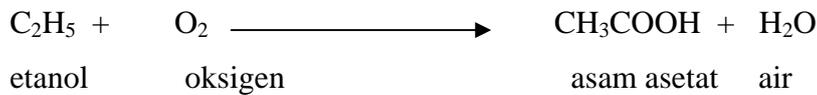
Pertumbuhan sel khamir sangat sensitive terhadap pengaruh penghambatan oleh etanol. Pada konsentrasi etanol 1-2 persen (w/v). pertumbuhan sel khamir mulai terhambat dan pada konsentrasi etanol 10 persen (w/v). pertumbuhannya menjadi sangat rendah.

Proses fermentasi alcohol hampir tidak pernah bebas dari kontaminasi, kecuali bila dilakukan sanitasi yang memadai baik terhadap lingkungan maupun alat dan peralatan yang digunakan. Untuk menghindari kontaminasi oleh bakteri asam asetat pada saat fermentasi alcohol sedang berlangsung, tahap fermentasi alcohol dan tahap fermentasi asam asetat harus dilakukan dalam ruangan yang terpisah. Apabila terjadi proses asetikasi pada saat fermentasi alcohol sedang berlangsung, maka pertumbuhan sel khamir akan terhambat dan produksi alcohol terhenti pada saat kandungan gula yang belum terfermentasi masih cukup tinggi.

Tahap fermentasi alcohol untuk memproduksi vinegar dapat dilakukan tanpa memerlukan pengaturan suhu, terutama bila dilakukan dalam skala kecil dan suhu lingkungan sesuai untuk pertumbuhan dan aktifitas sel khamir. Jalannya proses fermentasi dapat dimonitor dengan cara mengamati kecepatan pengeluaran CO_2 , atau akan lebih baik lagi bila dilakukan pengukuran berat jenis dan kandungan alcohol dalam *mash* selama fermentasi.

Fermentasi Asam Asetat (Asetifikasi)

Asetifikasi adalah proses oksidasi etanol oleh bakteri menjadi asam asetat dan air. Secara kimia proses oksidasi tersebut adalah,



Berdasarkan persamaan stoichiometri diatas, 1 liter etanol akan menghasilkan 1.036 kg asam asetat dan 0.313 kg air. 1 liter etanol (12%, w/v) akan menghasilkan 1 liter asam asetat (12.4%, w/v), atau kira-kira 1 persen etanol (v/v) akan menghasilkan 1 persen asam asetat (w/v). Perhitungan ini dapat digunakan sebagai dasar untuk memperkirakan konsentrasi asam asetat dalam vinegar yang dapat dicapai melalui proses fermentasi yang dilakukan, dan perkiraan tersebut dapat lebih diandalkan pada konsentrasi etanol 9.2 persen (v/v).

Hubungan kuantitatif antara etanol dan asam asetat secara tidak langsung menunjukkan bahwa jumlah konsentrasi etanol (% v/v) dan konsentrasi asam asetat (% w/v), yang disebut konsentrasi Total (=KT), adalah konstan selama fermentasi berlangsung. Konsentrasi Total merupakan salah satu variable penting yang menentukan keberhasilan proses fermentasi untuk memproduksi vinegar.

Bakteri asam asetat

Golongan bakteri yang mengoksidasi etanol menjadi asam asetat disebut sebagai bakteri asam asetat, dan diklasifikasikan ke dalam 2 genus yaitu *Glukonobacter* dan *Acetobacter*. Perbedaan diantara kedua genus ini ialah bahwa genus *Glukonobacter* mengoksidasi etanol hanya menjadi asam asetat, sedangkan genus *Acetobacter* pada tahap awal etanol menjadi asam asetat dan kemudian mengoksidasi asam asetat menjadi CO₂ dan H₂O (overoxidize). Pendapat lain mengatakan bahwa genus *Glukonobacter* disamping tidak dapat mengoksidasi asam asetat, juga hanya memproduksi asam asetat dari glukosa, tidak dari etanol.

Bakteri asam asetat yang dewasa ini banyak digunakan untuk memproduksi vinegar secara komersial ialah beberapa galur dari *species Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* dan *Acetobacter peroxidans*.

Spesies *Glukonobacter oxydans* dan beberapa subspeciesnya, juga digunakan secara komersial. Bakteri asam asetat sangat beragam dan mudah mengalami perubahan. Karena itu

bagi industri vinegar yang penting adalah galur bakteri asam asetat yang memiliki sifa-sifat sebagai berikut :

- (1) Toleran terhadap konsentrasi asam asetat yang tinggi
- (2) Tidak mengoksidasi asam asetat (overoxidation)
- (3) Memproduksi asam asetat dengan laju produksi yang tinggi
- (4) Membutuhkan nutrient dalam jumlah kecil
- (5) Tahan terhadap infeksi.