

Produksi Asam Asetat dari Pulp Kopi Robusta Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Acetobacter aceti*

Acetic Acid Production from Robusta Coffee Pulp using *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti*

SITI MUTIA ZAHRANI¹, TITI CANDRA SUNARTI², ANJA MERYANDINI^{3,4*}

¹Program Studi Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

³Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

⁴Biotech Center, Collaborative Reseach Center, IPB University, Drama, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 24 Agustus 2024/Diterima dalam Bentuk Revisi 31 Januari 2025/Disetujui 5 Maret 2025

The type of coffee commonly grown by Indonesian farmers is robusta coffee (*Coffea robusta*). The processing of robusta coffee has so far focused on producing coffee beans with good flavor, leaving behind coffee pulp waste that needs to be utilized. This study aims to utilize coffee pulp waste to produce vinegar through a fermentation process using *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti*. Vinegar production begins by rejuvenating *A. aceti* in YPG media and creating a growth curve. The fermentation of coffee pulp into vinegar involves two fermentation stages: alcoholic fermentation and acetic acid fermentation. Observation of the culture at the end of fermentation includes pH value, total acetic acid content, sugar content, and substrate utilization efficiency in product formation. The growth curve of *A. aceti* reaches the log phase at the 6th to 8th hour with a μ_{max} of 0.45 hours⁻¹. Vinegar from coffee pulp has the highest total acetic acid in 10 days of alcoholic fermentation and 7 days of acetic acid fermentation, which is 2.37%, with a pH value of 3.02, a Yp/s value of 0.995, and a $\Delta S/S$ value of 0.69. The amount of acetic acid obtained does not fulfill the requirements of SNI 01-4371-1996.

Key words: alcohol, fermentation, growth curve, sugar content

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara keempat penghasil kopi terbesar di dunia setelah Brazil, Vietnam, dan Kolombia, dimana produksi perkebunan kopi di Indonesia mencapai 774,96 ribu ton pada tahun 2022 (Maulana 2022; BPS 2023). Jenis kopi yang umum dibudidayakan oleh petani di Indonesia adalah jenis kopi robusta dan kopi arabika. Jenis kopi robusta mendominasi produksi perkebunan kopi di Indonesia, dimana pada tahun 2013-2022 produksi kopi robusta mencapai 73% atau 508,33 ribu ton sementara kopi arabika hanya diproduksi sebanyak 27% atau 187,98 ribu ton (BPS 2023). Kopi robusta memiliki karakteristik tanaman yang mudah ditanam dan tidak terlalu peka terhadap perubahan kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Selain itu kopi robusta memiliki rasa seperti coklat, lebih pahit,

sedikit asam, dan memiliki bau manis yang khas. Karakteristik tersebut membuat jenis kopi robusta banyak dibudidayakan di Indonesia dan memiliki prospek yang bagus untuk dikembangkan (Budi *et al.* 2020; Widyasari *et al.* 2023).

Pengembangan produk kopi robusta saat ini, umumnya masih berfokus untuk menghasilkan biji kopi dengan cita rasa yang baik. Pengolahan yang hanya berfokus pada biji tersebut menyebabkan terjadinya penumpukan limbah pulp kopi yang merupakan bagian terbuang pada proses pengolahan biji kopi. Persentase limbah pulp kopi diperkirakan mencapai 48% dari total produksi kopi (Zuhra *et al.* 2018). Limbah pulp kopi mengandung 35% karbohidrat, 10% protein, 30,8% serat, 10,7% mineral dan 45,8% gula total. Selain itu, limbah pulp kopi juga mengandung kafein dan senyawa polifenol seperti asam klorogenat, flavonol, antosianidin, katekin, rutin, tannin, dan asam ferulat yang dapat berperan sebagai antioksidan (Muzaifa *et al.* 2019).

*Penulis Korespondensi:

E-mail: ameryandini@apps.ipb.ac.id

Cuka (asam asetat) merupakan senyawa organik yang mengandung gugus asam karboksilat yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan (Wusnah *et al.* 2018). Cuka juga dikenal sebagai bahan tambahan pangan yang digunakan sebagai penyedap, selain itu cuka juga digunakan sebagai pengawet, penggumpal, penambah cita rasa, dan dapat memperbaiki tekstur makanan (Riyani 2018; Rachmawati *et al.* 2020). Pembuatan cuka dari bahan organik seperti pulp kopi melibatkan proses fermentasi alkohol dan asam asetat. Proses fermentasi alkohol dilakukan dengan bantuan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat menghasilkan alkohol dan proses fermentasi asam asetat oleh *Acetobacter aceti* yang mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat (Ester *et al.* 2021).

S. cerevisiae adalah jenis khamir yang umum digunakan dalam proses fermentasi pangan karena cukup mudah ditemukan dalam bentuk kemasan dengan harga yang relatif murah. *S. cerevisiae* memiliki kemampuan untuk memecah senyawa organik kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana dalam pembentukan energi tanpa melibatkan oksigen dan menghasilkan produk sampingan berupa alkohol dan karbon dioksida (Onesiforus *et al.* 2021). *A. aceti* merupakan golongan bakteri asam asetat (BAA) yang diketahui memiliki kemampuan tinggi dalam mengoksidasi alkohol, aldehida, dan gula alkohol pada kondisi aerobik. Bakteri *A. aceti* mampu mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat melalui dua reaksi katalitik yang berurutan, yaitu oksidasi alkohol menjadi asetaldehida yang dikatalisis oleh alkohol dehidrogenase (ADH), kemudian asetaldehid yang dihasilkan dioksidasi menjadi asam asetat oleh aldehida dehidrogenase (ALDH) (Gomes *et al.* 2018).

Pengolahan limbah pulp kopi menjadi asam asetat atau cuka merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk menangani limbah pulp kopi, sehingga penelitian ini bertujuan memanfaatkan limbah pulp kopi menjadi produk berupa asam asetat (cuka) melalui proses fermentasi menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri asam asetat *Acetobacter aceti*.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri. Pembuatan kurva tumbuh diawali dengan peremajaan kultur isolat. Peremajaan dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose biakan kultur murni *A. aceti* ke dalam media padat YPG (*Yeast Peptone Glucose*). Kemudian media diinkubasi selama 18 jam pada suhu ruang (Apriyanto *et al.* 2016). Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri kemudian dilanjutkan dengan

mengkulturkan bakteri *A. aceti* yang berusia 18 jam sebanyak 1 ose ke dalam tabung berisikan media YPG cair steril sebanyak 7 ml, kemudian diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 20 rpm pada suhu ruang. Pengukuran *Optical Density* (OD) dilakukan pada panjang gelombang 600 nm. Kultur bakteri yang sudah diukur nilai ODnya mencapai 0,6 kemudian diinokulasikan sebanyak 1% ke dalam Erlenmeyer berisi 100 ml media YPG cair steril dan diinkubasi di shaker pada suhu ruang. Pembuatan kurva dilakukan dengan pengamatan setiap 3 jam selama 24 jam dengan metode Total Plate Count (TPC) pada media YPGA dan pengukuran nilai OD (Sharah *et al.* 2015).

Preparasi Sampel. Sampel pulp kopi diambil dari perkebunan kopi robusta Patani *Coffee* dan dicuci bersih, kemudian sampel pulp kopi ditimbang sebanyak 150 g dan dihaluskan menggunakan blender dengan penambahan air minum dalam kemasan (AMDK) dengan perbandingan 1:2 (b/v). Sampel disaring dan dipindahkan ke dalam Erlenmeyer berukuran 500 ml. Selanjutnya filtrat ditambahkan sukrosa 10% (b/v) dan diammonium hidrogen fosfat ((NH₄)₂HPO₄) steril 0,2% (b/v), sampel dihomogenkan dan dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 15 menit. Kontrol yang digunakan adalah sampel tanpa penambahan ragi dan *A. aceti*.

Fermentasi. Filtrat yang sudah dipasteurisasi diberikan ragi sebanyak 1% (b/v), kemudian difermentasi selama 5 hari dan 10 hari pada suhu ruang dengan keadaan anaerob. Filtrat yang sudah difermentasi selama 5 dan 10 hari ditambahkan inokulum *A. aceti* sebanyak 10% (v/v), kemudian difermentasikan kembali selama 7 hari dalam keadaan aerob pada suhu ruang untuk menghasilkan asam asetat (Idayanti dan Rosida 2022).

Pengukuran pH. Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter digital setelah cuka selesai difermentasi.

Pengukuran Total Asam Asetat. Pengukuran kadar asam asetat dilakukan dengan menggunakan metode titrasi. Larutan standar yang digunakan adalah NaOH 0,1M (Febriani dan Azizati 2018). Sampel cuka sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan akuades ke dalam labu ukur hingga mencapai tanda batas lalu dihomogenkan. Sampel yang sudah diencerkan diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Sampel ditetesi indikator fenolftalein (PP) sebanyak 2-3 tetes, selanjutnya sampel dititrasi menggunakan NaOH 0,1M sampai terjadi perubahan warna sampel menjadi merah muda. Total kadar asam asetat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Total asam asetat} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times M_{\text{NaOH}} \times \text{Mr}_{\text{asetat}}}{\text{Volume sampel} \times 1.000} \times F_p \times 100$$

Pengukuran Kadar Gula Total. Pengukuran kadar gula total dilakukan dengan menambahkan larutan fenol 5% sebanyak 0,5 ml ke dalam tabung reaksi berisi 1 ml supernatan sampel dan divortex. Selanjutnya ditambahkan H_2SO_4 pekat ke dalam tabung reaksi sebanyak 2,5 ml dan divortex kembali sampai homogen, kemudian sampel didinginkan. Setelah dingin, sampel kembali divortex dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Gula total (mg/ml) sampel ditentukan dengan persamaan matematik dari kurva regresi linear standar gula total yang sudah dibuat sebelumnya (Dubois *et al.* 1956).

Pengukuran Kadar Gula Pereduksi. Pengukuran kadar gula pereduksi dilakukan dengan menambahkan pereaksi DNS sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisikan 1 ml supernatan sampel dan divortex. Kemudian sampel diinkubasi pada suhu $100^\circ C$ selama 15 menit dan didinginkan. Sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kadar gula pereduksi (mg/ml) sampel ditentukan dengan persamaan matematik dari kurva regresi linear standar gula pereduksi yang sudah dibuat sebelumnya (Miller 1959).

Efisiensi Penggunaan Substrat dan Pembentukan Produk. Efisiensi penggunaan substrat dan pembentukan produk dinyatakan sebagai YP/S dimana P adalah produk (asam asetat) dan S adalah substrat (gula). YP/S dihitung sebagai rasio antara jumlah produk yang dihasilkan (ΔP) dan jumlah substrat yang dikonsumsi (ΔS). Efisiensi konsumsi substrat oleh mikroorganisme dalam menghasilkan produk selama proses fermentasi dinyatakan dalam $\Delta S/S$ (Pramono *et al.* 2003).

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad \Delta P = [P]_{akhir} - [P]_{awal} \quad \Delta S = [S]_{awal} - [S]_{akhir}$$

HASIL

Kurva Pertumbuhan *Acetobacter aceti*. Pembuatan kurva pertumbuhan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dilakukan untuk mengetahui jumlah sel/ml yang dihasilkan. Fase logaritma (log) bakteri terjadi pada jam ke-6 hingga jam ke-8 dengan jumlah log sel sebesar 7,36 CFU/ml pada jam ke-6 dan log sel sebesar 8,26 CFU/ml pada jam ke-8 (Gambar 1). Laju pertumbuhan spesifik maksimum (μ_{max}) *A. aceti* pada fase log yaitu sebesar $0,45 \text{ jam}^{-1}$.

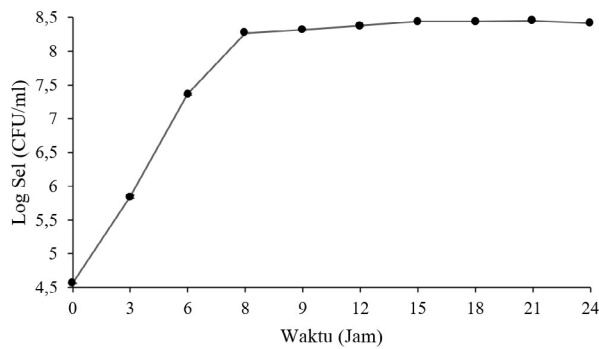
Karakteristik Filtrat Hasil Fermentasi. Filtrat hasil fermentasi menunjukkan penurunan nilai pH dan peningkatan total asam asetat pada masing-masing kombinasi (Gambar 2 dan 3). Nilai pH dan kadar asam asetat terbaik diperoleh pada fermentasi alkohol 10 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari dengan nilai pH sebesar 3,02 dan total kadar asam

asetat sebesar 2,37% (Tabel 1). Kadar gula total dan kadar gula pereduksi mengalami penurunan seiring dengan lama waktu fermentasi. Penurunan kadar gula secara signifikan terjadi pada hari ke-10 fermentasi alkohol. Kadar gula total turun dari 565,86 mg/ml pada hari ke-0 menjadi 25,11 mg/ml pada hari ke-10, sedangkan kadar gula pereduksinya turun dari 162,65 mg/ml pada hari ke-0 menjadi 4,69 mg/ml pada hari ke-10 (Tabel 1). Penurunan kadar gula yang signifikan menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* berhasil mengubah gula yang terdapat pada substrat menjadi alkohol. Substrat fermentasi terdiri dari pulp kopi robusta yang memiliki kandungan gula monomer seperti glukosa, xilosa, fruktosa, dan galaktosa, serta sukrosa yang ditambahkan pada awal proses fermentasi. *S. cerevisiae* memiliki enzim invertase dan zymase yang dapat mengubah gula baik dalam bentuk monosakarida dan disakarida menjadi alkohol. Apabila gula yang terdapat pada substrat merupakan gula disakarida seperti sukrosa, maka enzim invertase pada *S. cerevisiae* akan menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida, kemudian enzim zymase akan mengubah monosakarida yang dihasilkan menjadi alkohol dan CO_2 .

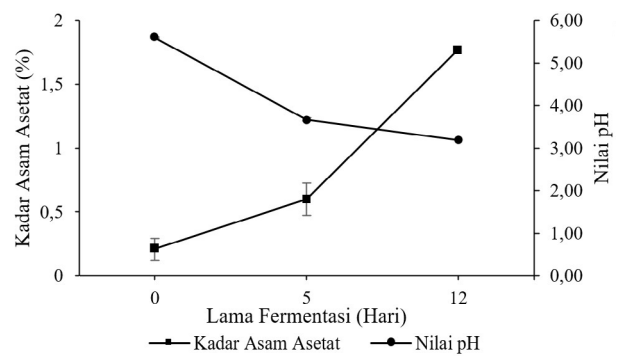
Efisiensi Penggunaan Substrat dan Pembentukan Produk. *Yield product* ($Y_{p/s}$) menunjukkan banyaknya substrat yang digunakan oleh mikroorganisme pada proses fermentasi untuk membentuk produk. Nilai $Y_{p/s}$ tertinggi diperoleh pada kombinasi fermentasi alkohol 10 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari (A2C) yaitu sebesar 0,995 (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa kombinasi A2C memiliki efisiensi penggunaan substrat untuk membentuk produk terbaik dibandingkan yang lainnya. Nilai $\Delta S/S$ menunjukkan efisiensi konsumsi substrat oleh *S. cerevisiae* dan *A. aceti* selama proses fermentasi pulp kopi. *S. cerevisiae* dan *A. aceti* mengonsumsi substrat berupa gula secara efisien dari awal hingga akhir proses fermentasi, dengan nilai $\Delta S/S$ pada akhir proses fermentasi yaitu sebesar 0,98 yang artinya 98% gula dikonsumsi oleh *S. cerevisiae* dan *A. aceti* selama proses fermentasi cuka pulp kopi berlangsung.

PEMBAHASAN

Pertumbuhan adalah sifat dari mikroorganisme yang paling penting dalam proses fermentasi. Terdapat empat fase utama dalam pertumbuhan bakteri yaitu fase lag (fase adaptasi), fase log (fase pertumbuhan cepat), fase stasioner (fase statis) dan fase kematian. Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada suatu waktu tertentu (Saraswati *et al.* 2021). Kurva pertumbuhan *A. aceti* (Gambar 1) menunjukkan bahwa fase lag terjadi pada jam ke-0



Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri Acetobacter aceti pada media YPG yang diinkubasi pada suhu ruang



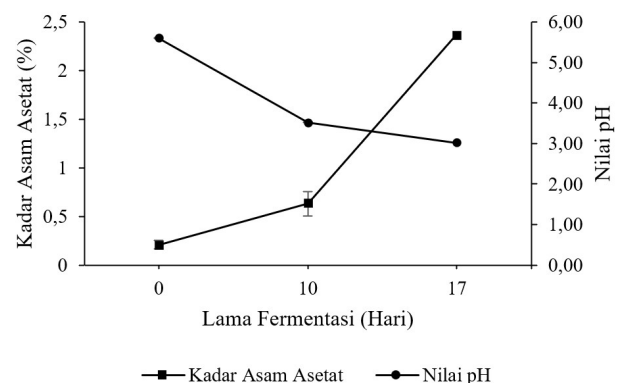
Gambar 2. Grafik nilai pH dan total kadar asam asetat hasil fermentasi alkohol 5 hari dan asam asetat 7 hari

Tabel 1 Karakteristik filtrat hasil fermentasi dengan *A. aceti* dan *S. cerevisiae* yang diinkubasi pada suhu ruang

Perlakuan	Keterangan	Nilai pH	Total kadar asam (%)	Kadar gula total (mg/ml)	Kadar gula pereduksi (mg/ml)
A0	Kontrol	5,60±0,35	0,21±0,04	565,86 ± 4,28	162,65±3,24
A1	Fermentasi alkohol 5 hari	3,67±0,01	0,60±0,08	38,92 ± 0,40	7,77±0,48
A2	Fermentasi alkohol 10 hari	3,52±0,01	0,63±0,04	25,11 ± 0,35	4,69±0,36
A1C	Fermentasi alkohol 5 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari	3,19±0,03	1,77±0,12	17,23 ± 0,56	3,49±0,34
A2C	Fermentasi alkohol 10 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari	3,02±0,01	2,37±0,12	7,63 ± 0,44	1,85±0,23

Tabel 2. Efisiensi penggunaan substrat dan pembentukan produk fermentasi asam asetat

Perlakuan	Keterangan	$\Delta S/S$	$Y_{P/S}$
A1	Fermentasi alkohol 5 hari	0,93	0,007
A2	Fermentasi alkohol 10 hari	0,96	0,007
A1C	Fermentasi alkohol 5 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari	0,55	0,539
A2C	Fermentasi alkohol 10 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari	0,69	0,995
A1 + A1C	Fermentasi alkohol 5 hari + fermentasi kombinasi alkohol 5 hari dan asam asetat 7 hari	0,97	-
A2 + A2C	Fermentasi alkohol 10 hari + fermentasi kombinasi alkohol 10 hari dan asam asetat 7 hari	0,98	-



Gambar 3. Grafik nilai pH dan total kadar asam asetat hasil fermentasi alkohol 10 hari dan asam asetat 7 hari

sampai jam ke-6. Lama fase lag ditentukan oleh jenis mikroorganisme, umur sel mikroorganisme, jumlah inokulum yang digunakan dan kondisi media yang digunakan (Jayus *et al.* 2019). Fase berikutnya, yaitu fase logaritma (log) terjadi pada jam ke-6 sampai jam ke-8. Fase logaritmik adalah fase pertumbuhan optimal bakteri yang ditandai dengan adanya pertumbuhan yang sangat cepat. Pada fase log, bakteri mampu melakukan pembelahan sel dengan kecepatan maksimum dan bakteri berada dalam kondisi fisiologis yang optimal dengan aktivitas metabolit yang tinggi (Wulandari *et al.* 2022). Fase selanjutnya, yaitu fase stasioner dimulai pada jam ke-9 sampai jam ke-21 dan fase kematian terjadi pada jam ke-24. Fase stasioner ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang relatif tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan sel yang mati, sedangkan

fase kematian terjadi karena ketersediaan nutrisi esensial dalam media sudah berkurang (Wulandari *et al.* 2022).

Pembuatan kurva pertumbuhan sangat penting untuk menentukan waktu optimal pertumbuhan *A. aceti* sebelum ditambahkan ke dalam substrat pulp kopi untuk fermentasi asam asetat. Penambahan *A. aceti* ke dalam substrat fermentasi dilakukan saat bakteri berada pada fase logaritmanya, karena pada fase tersebut *A. aceti* mengalami peningkatan jumlah sel dan memiliki aktivitas yang besar sehingga proses fermentasi dapat berjalan secara optimal. *A. aceti* diinkubasi selama 8 jam sebelum diinokulasikan ke dalam substrat fermentasi pulp kopi, jumlah log sel yang diinokulasikan pada jam ke-8 yaitu sebesar 8,26 CFU/ml (Gambar 1). Sesuai dengan pernyataan

Zubaidah *et al.* (2015); Muller *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa penambahan starter *A. aceti* sebanyak 10^8 CFU/ml merupakan jumlah terbaik untuk memulai pembuatan produk fermentasi. Selain itu, penambahan *A. aceti* pada waktu pertumbuhan maksimumnya akan menghasilkan produk metabolit secara maksimal.

Pengukuran pH dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pembentukan asam asetat selama proses fermentasi. Nilai pH pada proses fermentasi cuka pulp kopi menunjukkan adanya penurunan. Hal tersebut menandakan bahwa proses fermentasi pulp kopi dengan *S. cerevisiae* dan *A. aceti* menghasilkan asam yang menurunkan pH. Menurut Andayani *et al.* (2019); Idayanti dan Rosida (2022), penurunan nilai pH pada proses fermentasi disebabkan oleh adanya perombakan alkohol menjadi asam asetat. Pada proses perombakan tersebut terjadi pelepasan ion H^+ dari asam asetat yang diperoleh selama proses fermentasi berlangsung. Selama proses fermentasi cuka pulp kopi, *S. cerevisiae* akan mengubah gula menjadi asam piruvat melalui jalur glikolisis atau jalur EMP (Embden-Meyerhoff-Parnas). Setelah proses glikolisis, tahap berikutnya yaitu perubahan asam piruvat menjadi asetaldehida oleh enzim piruvat dekarboksilase dan kemudian asetaldehida tersebut akan direduksi menjadi etanol dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase (ADH) (Miskah *et al.* 2016). Alkohol yang dihasilkan selanjutnya akan dioksidasi oleh *A. aceti* menjadi asetaldehida dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase (ADH), kemudian asetaldehida yang dihasilkan segera dioksidasi menjadi asam asetat oleh aldehida dehidrogenase (ALDH), selama proses oksidasi tersebut terjadi pelepasan ion H^+ yang menyebabkan nilai pH menurun (Gomes *et al.* 2018).

Total asam asetat menunjukkan kenaikan selama proses fermentasi pulp kopi, dengan konsentrasi tertinggi adalah 2,37% (Tabel 1) dengan yield product (YP/S) sebesar 0,99 (Tabel 2) yang berarti bahwa hampir seluruh substrat yang dikonsumsi oleh *A. aceti* berhasil dikonversi menjadi asam asetat. Berdasarkan ketentuan SNI 01-4371-1996 cuka fermentasi sekurang kurangnya harus memiliki kadar asam asetat sebesar 4% (Said dan Darma 2021). Kadar asam asetat yang diperoleh belum memenuhi ketentuan SNI 01-4371-1996, hal tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti banyaknya jumlah inokulum yang ditambahkan, bahan baku yang digunakan, dan lama waktu fermentasi (Laily *et al.* 2019; Said dan Darma 2021). Nurismanto *et al.* (2014) menyatakan bahwa waktu fermentasi yang pendek akan menghasilkan kadar asam asetat yang lebih sedikit karena substrat belum sepenuhnya terdegradasi, selain itu banyaknya jumlah inokulum *A. aceti* yang ditambahkan sangat berpengaruh terhadap kadar asam asetat yang

diperoleh. Semakin banyak jumlah inokulum *A. aceti* yang ditambahkan maka semakin tinggi kadar asam asetat yang diperoleh.

Said dan Darma (2021); Masriatini (2016) menyatakan bahwa jumlah minimum starter *A. aceti* yang ditambahkan ke dalam substrat fermentasi untuk menghasilkan kadar asam asetat sebesar 4% yaitu sebanyak 10% dari total larutan dan lama waktu fermentasi optimum untuk menghasilkan cuka yang sesuai dengan standar yaitu selama 7 hari. Namun, pada fermentasi asam asetat dari pulp kopi robusta penambahan inokulum sebanyak 10% dan lama waktu fermentasi selama 7 hari belum dapat menghasilkan asam asetat yang memenuhi ketentuan SNI 01-4371-1996. Selain itu, faktor-faktor seperti suhu, pH, kadar alkohol, dan asam asetat yang terdapat pada substrat fermentasi juga dapat mempengaruhi hasil akhir fermentasi. *A. aceti* dapat tumbuh secara optimal pada suhu 25-30°C dengan nilai pH optimal untuk pertumbuhannya adalah 5,0-6,5, tetapi *A. aceti* masih dapat tumbuh dengan baik pada nilai pH yang lebih rendah karena *A. aceti* memiliki batas toleransi optimum pH mencapai 3,0-4,0. Kadar alkohol dan asam asetat yang terdapat pada substrat juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dari *A. aceti*, bakteri tersebut memiliki toleransi optimum alkohol mencapai 11-13%, sedangkan toleransi optimum terhadap asam asetat yaitu 5-8% (Andayani *et al.* 2019; Gomes *et al.* 2018; Kusmawati 2015; Qiu *et al.* 2021). Kondisi substrat fermentasi yang tidak sesuai akan mempengaruhi asam asetat yang diperoleh selama proses fermentasi berlangsung.

Karakteristik kadar gula pada cuka pulp kopi dilakukan dengan mengukur kadar gula total dan kadar gula pereduksinya. Kadar gula total merupakan nilai gula total yang menunjukkan karbohidrat yang terdapat dalam substrat, baik gula pereduksi dan gula non-pereduksi, termasuk di dalamnya monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida (Dewi *et al.* 2017). Gula pereduksi merupakan golongan karbohidrat yang mampu mereduksi senyawa penerima elektron, selain itu terdapat gugus aldehid atau keton bebas yang terletak pada bagian ujung molekul gula. Gula pereduksi adalah semua monosakarida yang didalamnya termasuk glukosa, xilosa, fruktosa, dan galaktosa, serta disakarida yaitu laktosa dan maltosa (Wardhana *et al.* 2022). Pulp kopi robusta memiliki kandungan gula monomer seperti glukosa, xilosa, fruktosa, dan galaktosa, serta oligosakarida seperti selobiosa, selooligosakarida, dan galaktooligosakarida (Putri 2022). Jenis-jenis gula yang terdapat dalam pulp kopi robusta berperan penting dalam pembentukan cita rasa pada cuka pulp kopi yang dihasilkan, tidak hanya memberikan rasa manis tetapi juga berkontribusi pada aroma.

Kadar gula total dan kadar gula pereduksi pada cuka pulp kopi robusta mengalami penurunan dari awal hingga akhir proses fermentasi. Penurunan kadar gula tersebut menunjukkan bahwa substrat gula dikonsumsi oleh mikroorganisme selama proses fermentasi pulp kopi. Penurunan kadar gula yang signifikan selama proses fermentasi alkohol menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* berhasil memecah karbohidrat pada substrat menjadi monosakarida yang kemudian diubah menjadi alkohol. Karbohidrat yang sudah diubah menjadi monosakarida dimanfaatkan oleh *S. cerevisiae* sebagai sumber karbon utama dalam pertumbuhan sel sehingga kandungan gula menurun (Pohan *et al.* 2019). Penurunan kadar gula pada proses fermentasi asam asetat relatif lebih rendah karena *A. aceti* hanya mengkonsumsi sedikit gula dan cenderung lebih aktif mengubah alkohol menjadi asam asetat (Pohan *et al.* 2019). Hal tersebut juga sesuai dengan pernyataan Zubaidah *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa mikroorganisme akan lebih banyak menggunakan gula sebagai sumber karbon pada fermentasi anaerobik dibandingkan dengan fermentasi aerobik.

Kandungan gula pada substrat fermentasi pulp kopi robusta juga dapat mempengaruhi kadar asam asetat yang diperoleh. Pada tahap awal fermentasi, *S. cerevisiae* akan mengkonversi gula menjadi etanol. Setelah kadar etanol pada substrat fermentasi menjadi tinggi maka etanol akan dioksidasi oleh *A. aceti* menjadi asam asetat, dengan demikian kadar asam asetat yang diperoleh pada fermentasi pulp kopi juga ditentukan oleh kandungan gula, semakin banyak gula yang digunakan maka semakin banyak pula gula yang akan dikonversi menjadi asam asetat (Said dan Darma 2021). Namun demikian, pada substrat dengan kandungan gula yang terlalu tinggi, kinerja *S. cerevisiae* dalam merombak gula pun akan semakin besar sehingga kadar etanol yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* juga akan semakin tinggi. Umumnya toleransi khamir seperti *S. cerevisiae* dan terhadap etanol hanya sekitar 11-14% (v/v), pada kondisi substrat dengan kadar etanol yang lebih tinggi *S. cerevisiae* tidak lagi dapat tumbuh dengan baik dan mengalami kematian sehingga proses fermentasi tidak berjalan secara optimum (Silfia dan Agustini 2014). Faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar asam asetat yang diperoleh adalah kemungkinan adanya kontaminasi selama proses fermentasi berlangsung. Dalam penelitian ini pasteurisasi dilakukan di awal dengan metode *low temperature long time* (LTLT) dengan tujuan untuk mencegah terjadinya kontaminasi selama proses fermentasi berlangsung. Apabila terjadi kontaminasi mikroorganisme lain pada substrat fermentasi maka pertumbuhan dari *S. cerevisiae* dan *A. aceti* yang digunakan menjadi terhambat sehingga proses fermentasi tidak berjalan secara optimal (Putri

et al. 2021). Pembuatan cuka pulp kopi robusta melalui proses fermentasi dengan penambahan *S. cerevisiae* dan *A. aceti* memperoleh total asam asetat terbaik sebesar 2,37% dan pH 3,02 pada fermentasi alkohol 10 hari dan fermentasi asam asetat 7 hari. Total asam tersebut masih belum memenuhi ketentuan SNI 01-4371-1996.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani N, Nurhayati D, Saing MD. 2019. Optimalisasi lama fermentasi dengan penambahan konsentrasi *Acetobacter aceti* pada pembuatan cuka buah apel rhome beauty menggunakan alat fermentor. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Hasil Pengabdian Masyarakat Dan Penelitian Pranata Laboratorium*. Jember: Pendidikan Politeknik Negeri Jember. p 313-320.
- Apriyanto M, Sutardi S, Harmayani E, Supriyanto S. 2016. Perbaikan proses fermentasi biji kakao non fermentasi dengan penambahan biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus lactis*, dan *Acetobacter aceti*. *Agritech* 36:410-415.
- Azizah N, Al-Baarri AN, Mulyani S. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkhohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioethanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 1:72-77.
- Budi D, Mushollaeni W, Yusianto, Rahmawati A. 2020. Karakterisasi kopi bubuk (*Coffea canephora*) tulungrejo terfermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Agroindustri* 10: 129-138. DOI:10.31186/j.agroind.10.2.129-138
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2023. Statistik Kopi Indonesia 2022 Edisi Tahun 2023. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Dewi KN, Wrasati LP, Arnata IW. 2017. Karakterisasi gula cair dari ampas padat produk brem di perusahaan Fa. Udiyana pada perlakuan konsentrasi H₂SO₄ dan waktu hidrolisis. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri* 5:24-34.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356. DOI:10.1021/ac60111a017
- Ester SR, Mukarlina, Rahmawati. 2021. Aktivitas bakteri asam asetat dalam proses pembuatan cuka daging pisang mas (*Musa acuminata* L.). *Jurnal Protobiont* 10:22-25.
- Febriani DR, Azizati Z. 2018. Pembuatan cuka alami buah salak dan pisang kepok beserta kulitnya teknik fermentasi. *Walisongo Journal of Chemistry* 1:72-77. DOI:10.21580/wjc.v2i2.3105
- Gomes RJ, Borges MDF, Rosa MDF, Castro-Gomez RJH, Spinosa WA. 2018. Acetic acid bacterian in the food industry: systematics, characteristics and applications. *Food Technology & Biotechnology* 52:139-151. DOI:10.17113/ftb.56.02.18.5593
- Idayanti F, Rosida DF. 2022. Karakteristik fisikokimia cuka buah kersen, belimbing, dan anggur dengan penambahan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti*. *AGRITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian* 9:365-384.
- Jayus J, Rosydawati EH, Purnomo BH. 2019. Akselerasi produksi moromi menggunakan inokulum *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 dan *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008. *Jurnal Agroteknologi* 13:148-155.
- Kusmawati W. 2015. Derajat keasaman (pH) vinegar dalam media limbah fermentasi biji kakao akibat penambahan konsentrasi *Acetobacter aceti* dan waktu inkubasi. *El-Hayah* 5:129-133.
- Laily I, Santi WH, Veira NP. 2019. Pengaruh kultur campuran dalam fermentasi alkohol terhadap sifat fisikokimia dan sensoris cuka belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 7:9-18.
- Masriatini R. 2016. Penambahan induk cuka pada pembuatan asam asetat dari bonggol pisang uli (Musa X Paradisiacal Triploid Aab). *Jurnal Redoks* 1:65-72.
- Maulana I. 2022. Pemberdayaan petani kopi melalui optimalisasi pengolahan hasil kopi di Desa Wonodadi, Plantungan, Kabupaten Kendal. *Indonesian Engagement Journal* 3:1-12.
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31:426-428. DOI:10.1021/ac60147a030

- Miskah S, Istiqomah N, Malami S. 2016. Pengaruh konsentrasi asam pada proses hidrolisis dan waktu fermentasi pembuatan bioethanol dari buah sukun (*Artocarpus altilis*). *Jurnal Teknik Kimia* 3:45-57.
- Muller CP, Masden M, Sophanodora P, Gram L. 2002. Fermentation and microflora of plaasom, a thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *Journal of Food Microbiology* 3:61-70.
- Muzaifa M, Hasni D, Arpi N, Sulaiman MI, Limbong MS. 2019. Kajian pengaruh perlakuan pulp dan lama penyeduhan terhadap mutu kimia teh cascara. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas* 23:137-142.
- Nurismanto R, Mulyani T, Tias DIN. 2014. Pembuatan asam cuka pisang kepok (*Musaparadisiaca* L.) dengan kajian lama fermentasi dan konsentrasi inokulum (*Acetobacter aceti*). *Jurnal Rekapangan* 8:149-155.
- Onesiforus BY, Rinihapsari E, Yarangga FTD, Pradistya R. 2021. Perbandingan kemampuan fermentasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* dari berbagai media kultur. *BIOMA* 17:65-73. DOI:10.21009/Bioma17(2).3
- Pohan A, Maliza NO, Sulaiman MI, Yunita D. 2019. Initial study of vinegar production made from low quality rice using a batch type fermenter. *Jurnal Bioleuser* 3:1-4.
- Putri E. 2022. Potensi aktinomiset selulolitik dan xilanolitik untuk degradasi kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre A. Froehner) dalam upaya peningkatan perolehan senyawa polifenol [Tesis]. Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor.
- Putri SNY, Syaharani WF, Utami CVB, Safitri DR, Arum ZN, Prihastari ZS, Sari AR. 2021. Pengaruh mikroorganisme, bahan baku, dan waktu inkubasi pada karakter nata: review. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* 14: 62-74. DOI:10.20961/jthp.v14i1.47654
- Pramono YB, Harmayani E, Utami T. 2003. Kinetika pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus* sp. pada media MRS cair. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 14: 46-50.
- Qiu X, Zhang Y, Hong H. 2021. Classification of acetic acid bacteria and their acid resistant mechanism. *AMB Express* 11:1-15. DOI:10.1186/s13568-021-01189-6
- Rachmawati N, Nurlaili FA, Wijatniko BD. 2020. Pengaruh waktu fermentasi dan penambahan konsentrasi inokulum (*Acetobacter aceti*) terhadap kualitas asam cuka dari buah kersen (*Muntingia calabura* L.). *Indonesian Journal of Halal Science* 1: 24-29.
- Riyani C. 2018. Pengaruh penambahan ragi roti dan ragi tape pada pengolahan cuka kelapa dengan metode lambat (slow methods). *Agrisains: Jurnal Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Hasnur* 4: 6-20.
- Said FR, Darma GCE. 2021. Formulasi sediaan cuka buah kopi menggunakan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dan bakteri (*Acetobacter aceti*). *Jurnal Riset Farmasi* 1:38-45. DOI:10.29313/jrf.v1i1.46
- Saraswati PW, Nocianitri KA, Arihantana MIH. 2021. Pola pertumbuhan *Lactobacillus* sp. F213 selama fermentasi pada sari buah terung belanda (*Solanum betacum* Cav.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 10:621-633.
- Sharah A, Karnila R, Desmelati. 2015. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat yang diisolasi dari ikan peda kembung (*Rastrelliger* sp.). *Jurnal Online Mahasiswa* 2:1-8.
- Silfia, Agustini S. 2014. Pengaruh penambahan gula terhadap kualitas vinegar dari air kelapa. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri* 25:117-124.
- Wardhana DI, Assadam A, Nalawati AN, Murwanti R. 2022. Produksi gula pereduksi dari kulit kopi robusta dengan metode hidrolisis asam. *AGROINTEK: Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 16:164-170.
- Widyasari A, Warkoyo, Mujianto. 2023. Pengaruh ukuran biji kopi robusta pada kualitas citarasa kopi. *Jurnal Agro Industri Perkebunan* 11: 1-14. DOI:10.25181/jaip.v11i1.2602
- Wulandari E, Putranto WS, Gumilar, Suryaningsih L, Pratama A, Anggaini TK. 2022. Kecepatan pertumbuhan spesifik bakteri asam laktat dengan ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai studi awal produksi flavored yogurt. *Jurnal Agripet* 22 (1): 72-78.
- Wusnah, Meriatna, Lestari R. 2018. Pembuatan asam asetat dari air cucian kopi robusta dan arabika dengan proses fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 7:61-72.
- Zubaidah E, Austin, Sriherfyna FH. 2015. Studi aktivitas antioksidan cuka salak dari berbagai varietas buah salak (*Salacca zalacca*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 16:89-96.
- Zuhra NH, Hasni D, Muzaifa M. 2018. Pengolahan pulp kopi menjadi minuman sari buah dengan penambahan buah terong belanda dan konsentrasi gula yang berbeda. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas* 22:158-164.