AKTIVITAS FERMENTASI ALKOHOLIK CAIRAN BUAH

Agus Purwanto

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Widya Mandala Madiun

ABSTRACT

Virtually any juice of fruit can be processed into alcoholic beverage. Fruit juice contains much sugar, organic acids, and mineral that are used as raw material in wine production. The purpose of this experiment was to determine the activity of alcoholic fermentation of three different kinds of fruit juice after the addition of yeast.

The research was carried out using Saccharomyces cerevisae to ferment fruit juice of apple, banana, and pineapple. The experiment was commenced with yeast culture preparation in order to determine yeast growth and alcohol production during cultivation test. Alcoholic fermentation activity was elucidated based on the percentage of alcohol production by measuring the specific gravity (spg), while the yeast growth was analyzed using spectrophotometer.

In cultivation test the result shows that banana fruit juice gave the highgest alcohol production (6,89%), apple fruit juice (4,81%) and pineapple fruit juice (3,88%).

Key words: alcoholic fermentation, fruit juice, Sachharomyces cerevisae.

A. Pendahuluan

Fermentasi alkoholik merupakan suatu fenomena yang terikat dengan aktivitas penting khamir dalam cairan fermentasi (buah-buahan, getah tumbuhan, dan biji-bijian). Fermentasi alkohol terutama dilakukan oleh khamir, khususnya strain spesies Saccharomyces cerevisae, dan kebanyakan etanol diperoleh secara alamiah atau dihasilkan dalam industri fermentasi berasal dari pemecahan secara anaerobik glukosa dan heksosa oleh organisme tersebut (Gottschalk, 1979).

Alkohol merupakan hasil fermentasi larutan gula oleh khamir, misalnya melase, cairan buah, nira dan sebagainya. Di samping itu dapat pula dari bahan yang mengandung pati atau selulosa, tetapi sebelum difermentasi bahan tersebut dihidrolisa atau disakharifikasi lebih dahulu menjadi gula sederhana (Soetarto et al., 1997). Untuk mengetahui

aktivitas fermentasi yang terjadi dapat dilihat berdasarkan pembentukan gas ${\rm CO}_2$, sisa gula, hasil alkohol secara kualitatif dan kuantitatif, jumlah dan prosentase sel khamir (Soetarto et al., 1997).

Menurut Rahayu dan Sudarmadii (1989) cairan buah banyak digunakan sebagai bahan dasar pembuatan minuman beralkohol, karena memiliki komposisi sebagai berikut: 1) air (70-80%), 2) karbohidrat (15%-25%), terdiri dari glukosa (8-13%) dan fruktosa (7-12%) dengan perbandingan 1:1, 3) asam organik (0.3-1.5%), yang mempengaruhi pH cairan fermentasi, 4) komponen nitrogen (0.03-0.17%), berupa asam amino, peptida, protein, amonium, dan senyawa nitrogen, 5) mineral (0.3-0.5%), sebagai katalisator reaksi perubahan gula menjadi alkohol, dan 6) senyawa lain, seperti polifenol (0.01-0.10%) untuk menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan.

Kandungan karbohidrat dalam cairan buah adalah gula-gula yang Jarut, sedangkan karbohidrat pada biji-bijian merupakan pati (polisakarida yang tidak larut). Bahan baku cairan buah biasanya merupakan larutan asam yang kuat, mengandung 10-25% gulagula yang terlarut. Keasamannya dan kandungan gula yang tinggi mengakibatkan mediumnya tidak sesuai untuk pertumbuhan bakteri tetapi sangat cocok untuk pertumbuhan khamir dan jamur (Anonim, 2003).

B. Permasalahan

Bagaimanakah aktivitas fermentasi alkoholik dari ke tiga cairan buah (apel, pisang, dan nanas)?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mempelajari perbedaan aktivitas fermentasi alkoholik dengan perbedaan macam cairan buah (apel, pisang, dan nanas).

D. Tinjauan Pustaka

1. Fermentasi Alkoholik Cairan Buah

Negara-negara di Afrika, Asia, dan Amerika Latin banyak memproduksi minuman fermentasi alkoholik dari buah. Minuman fermentasi tersebut terbuat dari pisang, anggur, dan buah-buahan yang lain. Minuman fermentasi anggur mempunyai arti ekonomi yang paling penting untuk produksi alkohol dari cairan buah. Dikarenakan komersialisasi produk bagi industri, penelitian untuk pengembangan minuman fermentasi anggur mendapat perhatian yang cukup besar dan hasilnya terdokumentasi secara rinci (Anonim, 2003).

Fermentasi alkoholik merupakan suatu fenomena yang terikat dengan aktivitas penting khamir dalam cairan fermentasi (buah-buahan, getah tumbuhan, dan biji-bijian). Proses fermentasi tersebut diatur oleh kemampuan enzimatik khamir. Kandungan gula pada anggur (glukosa dan fruktosa) menghasilkan etil alkohol, karbon dioksida dan produk-produk yang lain (Taboaz et al., 2002).

2. Khamir Saccharomyces cerevisiae

Khamir merupakan fungi uniseluler yang melakukan reproduksi secara aseksual melalui pembentukan tunas atau pembelahan, khususnya genus Saccharomyces yang penting dalam fermentasi makanan (Walker, 1988). Khamir tersebar secara luas di alam, mereka terdapat di kebun-kebun buah dan kebun anggur, udara, tanah dan saluran pencernaan hewan.

Meskipun terdapat diversitas yang luas dari khamir (sekitar 500 species), hanya sedikit yang secara umum berhubungan dengan produksi makanan terfermentasi. Jenis Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir yang kebanyakan digunakan dalam makanan dan minuman fermentasi yang berasal dari buah-buahan dan sayuran. Semua strain jenis ini melakukan fermentasi glukosa dan banyak yang melakukan fermentasi karbohidrat yang berasal dari tanaman, misalnya sukrosa, maltosa dan rafinosa (Flikweert, 1999).

Khamir Saccharomyces cerevisiae sangat dikenal karena karakteristik sifat fisiologiknya yang melakukan fermentasi secara cepat gula menjadi etanol dan karbon dioksida (Chen & Chiger, 1985).

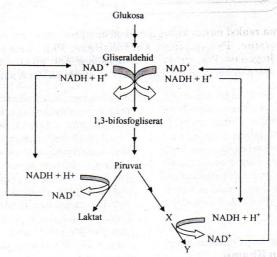
3. Fermentasi Alkoholik

Proses seluler memindahkan energi yang terikat pada glukosa menjadi ikatan kimia dalam adenosin trifosfat (ATP). Energi dalam ATP selanjutnya dapat digunakan untuk melakukan kerja seluler. Fermentasi adalah suatu proses anaerobik (tanpa oksigen), sedangkan respirasi seluler bersifat aerobik (menggunakan oksigen). Semua organisme hidup, meliputi bakteri, protista, tumbuhan, dan hewan menghasilkan ATP dalam proses fermentasi atau respirasi seluler dan kemudian menggunakan ATP dalam aktivitas metabolismenya (Prescott et al., 1999).

Tidak adanya O₂, NADH biasanya tidak dioksidasi melalui rantai transpor elektron disebabkan tidak adanya akseptor elektron eksternal yang tersedia. Kemudian NADH yang dihasilkan dalam jalur glikolisis selama oksidasi gliseraldehid-3-fosfat menjadi 1,3-bifosfogliserat harus masih dioksidasi kembali menjadi NAD+. Jika NAD+ tidak diregenerasi, oksidasi gliseraldehid-3-fosfat akan berhenti dan glikolisis akan berhenti (Gambar 1). Banyak mikroorganisme mengatasi permasalahan ini dengan ca-

ra memperlambat atau menghentikan aktivitas piruvat dehidrogenase dan menggunakan piruvat atau salah satu derivatnya sebagai akseptor elektron dan hidrogen dalam reoksidasi NADH. Hal ini akan menimbulkan dihasilkannya beberapa ATP. Proses penghasilan energi seperti ini, yang mana molekul organik berfungsi baik sebagai donor dan akseptor, disebut fermentasi (Prescott et al., 1999).

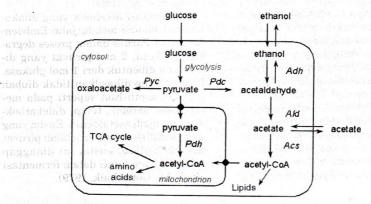
Fermentasi alkoholik yang dilakukan oleh khamir melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas dalam proses degradasi glukosa, 2 mol piruvat yang dihasilkan dibentuk dari 1 mol glukosa. Piruvat yang dihasilkan tidak diubah menjadi asetil-KoA seperti pada metabolisme aerobik, tetapi didekarboksilasi menjadi asetaldehid. Ensim yang mengkatalisis reaksi ini adalah piruvat dekarboksilase, ensim ini dianggap sebagai ensim kunci dalam fermentasi alkoholik (Gottschalk, 1979).



Gambar 1. Reoksidasi NADH selama fermentasi. NADH dari glikolisis direoksidasi yang digunakan untuk mereduksi piruvat atau derivat piruvat (X). Hasil lain adalah laktat atau produk tereduksi Y.

Dalam S. cerevisiae, jalur utama yang terlibat dalam tahap awal katabolisme glukosa adalah jalur Embden-Meyerhof-Parnas (Jalur EMP atau glikolisis). Jalur ini terangkai dengan perubahan glukosa menjadi piruvat bagi pembentukan 2 ATP melalui fosforilasi tingkat substrat. Piruvat yang merupakan produk akhir glikolisis adalah senyawa antara

penting dalam metabolisme karbohidrat (Pronk et al., 1996). Dikarenakan piruvat terletak pada titik percabangan antara respirasi dan metabolisme karbon fermentatif, aliran distribusi pada tingkat piruvat merupakan faktor yang sangat penting bagi pembentukan produk samping (produk ikutan/tambahan) oleh S. cerevisiae (Gambar 2).



Gambar 2. Skema reaksi ensim kunci metabolisme piruvat dalam *Saccharomyces cerevisiae*. Pyc, piruvat karboksilase; Pdh, komplek piruvat-dehidrogenase; Pdc, piruvat dekarboksilase; Adh, alkohol dehidrogenase; Ald, asetaldehid dehidrogenase; Acs, asetil-koensim A sinthetase.

Dalam proses fermentasi alkoholik oleh khamir, piruvat yang dihasilkan selama glikolisis tidak diubah menjadi asetil-KoA seperti dalam metabolisme aerobik, tetapi didekarboksilasi menjadi asetaldehid. Enzim yang mengkatalisis reaksi ini adalah piruvat dekarboksilase yang dianggap sebagai enzim kunci dalam fermentasi alkoholik (Gottschalk, 1979).

4. Kondisi yang Diperlukan bagi Pertumbuhan Khamir

Menurut Nagodawithana et al., (1974), secara normal fermentasi dibagi menjadi dua bagian, pertama proses

aerobik yang dilakukan pada awal fermentasi menyebabkan koloni khamir mengganda setiap 4 jam (biasanya 24-48 jam). Sedangkan bagian ke dua berlangsung secara anaerobik (tanpa oksigen), aktivitas khamir lebih lambat dan khamir terfokus pada pengubahan gula menjadi alkohol dibandingkan untuk peningkatan jumlah sel khamir. Proses ini dapat berlangsung beberapa hari sampai beberapa minggu tergantung pada jenis khamir dan resep yang digunakan.

Kebanyakan khamir membutuhkan oksigen yang melimpah bagi pertumbuhannya, oleh karena itu dengan mengendalikan persediaan oksigen pertumbuhannya dapat dikontrol. Selain kebutuhan oksigen, khamir memerlukan substrat dasar misalnya gula. Beberapa khamir dapat melakukan fermentasi gula menjadi alkohol dan karbon dioksida dalam keadaan tanpa oksigen tetapi membutuhkan oksigen bagi pertumbuhannya. Mereka menghasilkan alkohol dan karbon dioksida dari gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa (Nagodawithana et al., 1974).

Beberapa pengalaman penelitian menunjukkan bahwa udara atau oksigen penting dalam penghasilan minuman anggur. Oksigen memainkan peran utama sebagai akseptor elektron akhir dalam rantai respirasi. Oksigen juga berperan sebagai faktor pertumbuhan khamir. Oksigen kelihatannya terlibat dalam sintesis asam oleat dan ergosterol vang menstimulasi pertumbuhan khamir dalam kondisi anaerobik (Nagodawithana et al., 1974). Menurut Rosenfeld et al., (2003), pertumbuhan anaerobik khamir Saccharomyces cerevisiae secara normal membutuhkan tambahan molekul oksigen yang digunakan untuk mensintesis sterol dan asam-asam lemak tak jenuh (UFAs).

Dalam fermentasi pembuatan anggur, 20% oksigen jenuh dalam cairan anggur menghasilkan produksi maksimal sel-sel khamir (Markham, 1969). Di atas kadar 20%, peningkatan massa sel rendah, dan di bawah kadar tersebut penghasilan sel khamir secara langsung berkaitan dengan kadar oksigen yang tersedia. Kemungkinan sel-sel khamir mempunyai kemampuan menahan pengaruh oksigen dalam selnya dan kemudian menggunakannya dalam kondisi anaerobik. Jumlah etanol yang dihasilkan selama fermentasi tidak tergantung jumlah oksigen yang tersedia dalam cairan buah.

Proses fermentasi juga dipengaruhi oleh faktor pembatas yang lain, yaitu temperatur. Lebih tinggi dari 27°C akan mematikan sel-sel khamir dan lebih rendah dari 15°C mengakibatkan aktivitas khamir sangat kecil (Nagodawithana et al., 1974).

Khamir aktif dalam interval temperatur yang sangat luas antara 0°-50° C, dengan temperatur optimum antara 20°-30° C. Jamur dan khamir biasanya toleran asam dan oleh karena itu berhubungan dengan pembusukan makanan asam. Khamir dapat tumbuh dalam interval pH 4 - 4.5 dan jamur dapat tumbuh dari pH 2 - 8.5, tetapi lebih menyukai pH yang asam (Berry & Brown, 1987).

Dalam hubungannya dengan kebutuhan air, khamir terletak antara bakteri dan jamur. Bakteri memiliki kebutuhan air tertinggi, sementara jamur memiliki kebutuhan air terendah. Khamir secara normal membutuhkan aktivitas air minimum 0.85 atau kelembaban relatif 88% (Berry & Brown, 1987).

E. Cara Penelitian

1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi, Universitas Widya Mandala Madiun, penelitian dimulai bulan Februari s/d April 2006.

Alat dan Bahan Penelitian Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian meluputi: labu godok, extract juicer, erlenmeyer, gelas beker, tabung Durham, jarum inokulasi, bunsen, entkas, tabung gelas, pH stik, piknometer, desikator, timbangan elektrik, oven.

b. Bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian terdiri dari : biakan murni Saccharomyces cerevisae umur 2-4 hari, buah-buahan masak (apel, pisang, nanas), (NH4)₂HPO₄, ekstrak taoge, gula pasir, akuades.

c. Pembuatan Starter

Starter adalah populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. Mikroba pada starter tumbuh dengan cepat dan fermentasi segera terjadi.

Media starter identik dengan media fermentasi. Media ini diinokulasi dengan biakan murni dari agar miring yang masih segar (umur 6 hari). Starter baru dapat digunakan 6 hari setelah diinokulasi dengan biakan murni. Starter yang telah berumur 9 hari (dihitung setelah diinokulasi dengan biakan murni) tidak dianjurkan digunakan lagi karena kondisi fisiologis mikroba tidak optimum bagi fermentasi. Volume starter disesuaikan dengan volume media fermentasi yang akan disiapkan. Dianjurkan volume starter tidak kurang dari 5% volume media yang akan difermentasi menjadi alkohol.

Larutan starter dibuat dengan cara sebagai berikut: inokulasi secara aseptik 100 ml medium fermentasi dengan satu tabung biakan murni Saccharomyces cerevisae, selanjutnya diinkubasikan selama 24-48 jam. Starter dianggap telah aktif fermentasinya apabila telah timbul gelembung gas CO₂ dalam tabung Durham.

d. Cara Kerja Penelitian

Buah-buahan dicuci bersih selanjutnya diperas dengan extract juicer untuk diambil cairan buahnya. Cairan buah disaring dan dimasak dalam panci email sampai mendidih selama 10 menit. Tambahkan gula pasir 5-10% (b/v), jumlahnya tergantung manis tidaknya buah. Tambahkan (NH₄)₂HPO₄ sebanyak 0,025% atau ekstrak taoge sebanyak 2,5% dari volume cairan yang akan difermentasikan.

Setelah dingin pH diatur antara 4,5 –5,0. Masukkan ke dalam labu godok dan masukkan sebagian (10%) ke dalam erlenmeyer untuk pembuatan starter. Masukkan starter ke dalam larutan dalam labu godok secara aseptik dan tutup dengan kapas. Selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam. Selama masa inkubasi 3, 6, 12, dan 24 jam, untuk mengetahui aktivitas fermentasi dilakukan pengukuran kadar alkohol dan pertumbuhan sel khamir.

3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan mengamati aktivitas fermentasi alkoholik dari ke tiga bahan baku cairan buah (apel, pisang dan nanas) melalui pengamatan kadar alkohol dan pertumbuhan sel khamir, setiap perlakuan dilakukan pengukuran ulangan sebanyak 3 kali.

4. Pengukuran Aktivitas Fermentasi Alkoholik

a. Pengukuran Kadar Alkohol

Pengujian kadar alkohol dilakukan dengan cara mengukur "specific gravity" (spg) cairan distilasi dari campuran asli produk fermentasi yang dihasilkan. Pengukuran "specific gravity" (spg) secara langsung campuran asli produk yang dihasilkan tidak dapat dilakukan dikarenakan kandungan gula dan senyawa-senyawa yang lain dapat mengganggu pengukuran "spg". Distilasi menghilangkan semua senyawa pengganggu, yang tersisa hanyalah alkohol murni dan air murni dalam distilat (Anonim, 2005).

Pengukuran persentase alkohol dilakukan sebagai berikut:

 Menyetel peralatan distilasi, menggunakan labu godok 250 ml. Setelah itu menyiapkan sekitar 60 ml sampel cairan fermentasi dalam gelas beker kering. Dengan menggunakan labu

- ukur menyiapkan dengan tepat 50 ml sampel dan pasang dalam alat distilasi. Mendidihkan dengan hatihati larutan sampel untuk menghindari terjadinya buih yang berlebihan, distilasi campuran alkohol-air sampai dapat dikumpulkan dengan tepat 50 ml distilat;
- 2) Sementara dilakukan distilasi, piknometer dikalibrasi. Kemudian piknometer dibilas dengan air suling untuk memastikan kebersihan gelas. Setelah itu timbangan elektrik dikalibrasi dan dipastikan keseimbangan "zero" pada timbangan sebelum digunakan untuk pengukuran;
- Mengisi piknometer dengan air distilasi dan menutup secara hati-hati untuk menghindari terjadinya gelembung gas. Kemudian membersihkan air yang tersisa di luar gelas dan mengeringkannya dengan kertas tisu. Setelah itu menimbang piknometer dan air untuk mendapatkan nilai W2;
- 4) Langkah berikutnya mengosongkan piknometer, tambah dengan sedikit aseton dan kocok untuk mengabsorsi air, kemudian buang. Selanjutnya mengeringkan tabung piknometer dengan pemanasan oven dan berikutnya memasukkannya ke dalam desikator untuk menjamin benar-benar telah kering, kemudian menimbang piknometer yang telah kering (W1). Berat air ditentukan: W2 W1 = W;
- 5) Mengukur densitas ("spesific gravity") distilat:
 Murnikan distilat ke dalam gelas beker kering. Aduk distilat supaya homogen sebelum mengisi ke piknometer. Mengisi piknometer kering dengan distilat. Mengeringkan permukaan luar piknometer dan timbang (W3). Berat distilat: W3 W1 = L, Hitung "specific gravity": spg = L/W. Dengan menggunakan tabel konversi, ditentukan nilai spg yang didapatkan dan selanjutnya dapat diketahui persentase alkohol.

Tabel 1. Penentuan Persentase Alkohol: "Specific gravity"

Larutan Cair Alkohol

spg	% alc						
0,9906	4.5	0,9849	9.0	0,9799	13.5	0,9752	18.0
0,9899	5.0	0,9843	9.5	0,9793	14.0	0,9747	18.5
0,9893	5.5	0,9837	10.0	0,9788	14.5	0,9742	19.0
0,9886	6.0	0,9832	10.5	0,9783	15.0	0,9737	19.5
0,9880	6.5	0,9826	11.0	0,9778	15.5	0,9732	20.0
0,9873	7.0	0,9820	11.5	0,9773	16.0	0,9727	20.5
0,9867	7.5	0,9815	12.0	0,9768	16.5	0,9722	21.0
0,9861	8.0	0,9810	12.5	0,9763	17.0	0,9717	21.5
0,9855	8.5	0,9804	13.0	0,9758	17.5	0,9712	22.0

b. Penentuan Pertumbuhan Sel Khamir

Pertumbuhan khamir selama uji kultivasi dipantau dengan pengukuran absorbansi (A_{600}) dengan menggunakan spektrofotometer dan sebagai blanko digunakan medium fermentasi cairan buah steril. Pertumbuhan biomassa sel

khamir ditentukan dengan melihat nilai absorbansinya (OD) selama waktu fermentasi (3, 6, 12, dan 24 jam).

F. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas fermentasi alkoholik dari ke tiga cairan buah (nanas, apel, dan pisang) melalui pengukuran kadar alkohol sebagai produk fermentasi dan pertumbuhan sel khamir.

1. Kadar Alkohol

Rerata pengukuran kadar alkohol selama fermentasi pada waktu inkubasi 12 jam paling tinggi dihasilkan pada cairan buah pisang, diikuti cairan buah apel, dan terendah didapatkan pada cairan buah nanas (Tabel 2 dan Gambar 3).

Tabel 2. Kadar alkohol cairan buah selama fermentasi

Waktu	Kadar alkohol (%)					
fermentasi (jam)	Cairan buah nanas	Cairan buah apel	Cairan buah pisang			
3	0.13	0.14	0.16			
6	1.46	1.64	2.46			
12	3.88	4.81	6.89			
24	2.05	3.53	4.40			

Kecenderungan besarnya kadar alkohol yang paling tinggi pada cairan buah pisang (6.89%), kemudian diikuti cairan buah apel (4.81%) dan terendah cairan buah nanas (3.88%) kemungkinan disebabkan perbedaan komposisi kandungan gizi dan fitonutrien yang terdapat pada cairan buah (Tabel 3).

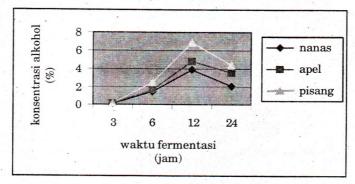
Sumber karbohidrat dalam medium cair fermentasi diperlukan untuk menghasilkan energi bagi semua kegiatan seluler. Besarnya konsentrasi alkohol tertinggi pada cairan buah pisang (6.89%) sesuai dengan besarnya kandungan karbohidrat yang terkandung dalam buah pisang (25.5 g), diikuti buah apel yang mengandung 14.9 g karbohidrat menghasilkan kadar alkohol 4,8%, dan buah nanas dengan kandungan 13.7 g karbohidrat menghasilkan kadar alkohol 3,88% (Wirakusumah, 2005).

Tabel 3. Daftar komposisi gizi buah apel, nanas, dan pisang

Jenis buah	Kal (kal)	Prot (g)	Lemak (g)	KH (g)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Nilai vit.A (SI)	B1 .	С	Air
Apel	58	0.3	0.4	14.9	6	10	0.3	90	0.04	5	84.1
Nanas	52	0.4	0.2	13.7	16	11	0.3	130	0.08	24	85.3
Pisang	99	1.2	0.2	25.8	8	. 28	0.5	146	0.08	3	72.0

Tingginya kadar alkohol pada cairan buah pisang kemungkinan juga disebabkan besarnya konsentrasi glukosa yang tersedia bagi aktivitas metabolisme sel khamir, sehingga berpengaruh terhadap produk fermentasi yang dihasilkan. Hal ini mungkin juga disebabkan glukosa yang terkandung dalam cairan buah pisang paling sesuai dengan kebutuhan metabolisme fermentasi alkoholik. Selain itu konsentrasi substrat (glukosa) yang terkandung pada

cairan buah pisang terdapat dalam konsentrasi yang paling baik untuk menunjang kecepatan reaksi enzimatis (Nagodawithana *et al.*, 1974).



Gambar 3. Kadar alkohol cairan buah selama fermentasi

Hasil penelitian D'amore et al., (1988) menunjukkan bahwa terbatasnya nutrisi merupakan faktor utama yang bertanggung jawab bagi penurunan dan aktivitas fermentasi dalam sel khamir. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini yang ditunjukkan dengan adanya nilai tertinggi kadar alkohol pada cairan buah pisang yang mempunyai kandungan karbohidrat tertinggi.

Lebih lanjut mikronutrien Mg telah diidentifikasi sebagai komponen aktif yang berperan dalam penghilangan toksisitas alkohol selama fermentasi sel khamir (D'amore et al., 1988). Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini sesuai dengan pernyataan tersebut, yaitu adanya kandungan Mg pada buah pisang (Wirakusumah, 2005) berpengaruh terhadap besarnya kadar alkohol yang dihasilkan.

4.2. Hasil Uji Kultivasi Sel Khamir

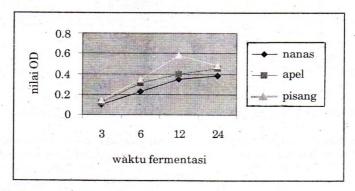
Hasil uji pertumbuhan sel khamir selama uji kultivasi yang dipantau dengan pengukuran absorbansi (A_{600})

secara spektrofotometrik menunjukkan bahwa terjadi kenaikan kerapatan optis (OD) dalam medium cair fermentasi sampai waktu pengamatan 12 jam (Tabel 4). Adanya peningkatan kerapatan optis (OD₆₀₀) dalam medium cair fermentasi menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel khamir yang diikuti dengan penghasilan alkohol ke dalam medium cair fermentasi. Grafik pertumbuhan yang dihasilkan dari ke tiga cairan buah tersebut menunjukkan korelasi linier antara aktivitas fermentasi yang ditunjukkan dengan produksi alkohol dengan pertumbuhan massa sel khamir (A_{600}) .

Lambatnya laju produksi alkohol (cairan buah nanas dan apel) dan penurunan penghasilan alkohol (cairan buah pisang) pada masa inkubasi 24 jam, kemungkinan akumulasi alkohol intraseluler dalam sel sudah mencapai ambang batas toleransi terhadap toksisitas alkohol (Nagodawithana & Steinkraus, 1976).

Waktu	Nilai aborbansi (OD)						
fermentasi (jam)			Cairan buah pisang				
3	0.10	0.12	0.14				
6	0.23	0.31	0.35				
12	0.35	0.40	0.58				
24	0.38	0.45	0.48				

Tabel 4. Nilai absorbansi (OD) massa sel khamir selama uji kultivasi



Gambar 4. Pertumbuhan sel khamir selama fermentasi

Adanya pengaruh toksisitas alkohol tersebut menyebabkan hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian massa sel khamir. Menurut (Nagodawithana & Steinkraus, 1976) pada konsentrasi alkohol intraseluler yang tinggi akan diikuti oleh inaktivasi ensim alkohol dehidrogenase (ADH) dan viabilitas sel khamir hilang.

Laporan penelitian Wang et al., (2004) memberikan informasi bahwa hambatan oleh alkohol didapatkan setelah konsentrasi sel-sel khamir mencapai nilai maksimum dalam proses fermentasi pembuatan "sochu" (fermentasi beras).

Penelitian yang dilakukan selama lebih 20 tahun, sejumlah besar penelitian yang memfokuskan pada penyerapan gula dan pemanfaatannya oleh khamir telah dipublikasikan. Hasil penelitian menyatakan bahwa laju penghasilan alkohol oleh khamir utamanya dibatasi oleh laju penyerapan gula, khususnya penyerapan fruktosa. Secara umum, baik glukosa dan fruktosa digunakan secara bersamaan, glukosa digunakan lebih cepat dibandingkan fruktosa oleh sel khamir, dan nampaknya Saccharomyces cerevisae bersifat glukofilik (Wang et al., 2004).

G. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

 Adanya perbedaan komposisi kandungan gizi dan fitonutrien dari cairan buah (nanas, apel, dan pisang) berpengaruh terhadap aktivitas fermen-

- tasi alkoholik melalui pengukuran kadar alkohol dan pertumbuhan sel khamir.
- Aktivitas fermentasi alkoholik melalui pengukuran kadar alkohol pada

masa inkubasi 12 jam, hasil tertinggi dicapai pada cairan buah pisang (6,89%), kemudian diikuti oleh cairan buah apel (4,81%), dan terendah cairan buah nanas (3.88%).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. http://www.fao.org/docrep/x0560E/x0560e09.htm.
- Anonim.2005.http://physics.gallaudet.edu/classes/GALCOHOL.HTML
- Berry, D.R. and C. Brown.1987. Physiology of yeast growth in *Yeast Biotechnology*, Allen & mp, Umwim, Boston, Massachusetts.
- Chen S.L. and Chiger M. 1985. Production of bakers' yeast. In: Moo-Young, M. (ed), Comprehensive Biotechnology Vol. 3, Pergamon press, Oxford: 429-461.
- D'amore, T, C.J. Panchal, and G.G. Stewart. 1988. Intracellular ethanol accumulation in Saccharomyces cerevisae during fermentation. Appl. Environ. Microbiol., 54: 110-114.
- Flikweert, M.T. 1999. Physiological roles of pyruvate decarboxylase in Saccharomyces cerevisiae. PhD thesis, Delft University of Technology, Delft. ISBN 90-9013020-9.
- Gottschalk, G. 1979. Bacterial Metabolism, second eds, Springer-Verlag, New York, Inc.
- Markham, E. 1969. The role of oxygen in brewery fermentations. Wallersteein Lab. Commun. 32 (107): 5-12.
- Nagodawithana, T.W., C. Castellano, and K.H. Steinkraus. 1974. Effect of dissolved oxygen, temperature, initial cell count, and sugar concentration on the viability of Saccharomyces cerevisae in rapid fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 28:383-391.
- Narita, V. 2005. Saccharomyces cerevisiae. Superjamur yang Memiliki Sejarah Luar Biasa. http://www.kompas.com/kompas-cetak/0509/21/ilpeng/2063264.htm.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. & Klein, D.A. 1999. Microbiology. Fourth Edition, McGraw-Hill Companies-Inc.

- Pronk J.T., Steensma H.Y. and Van Dijken J.P. 1996. Pyruvate metabolism in Saccharomyces cerevisiae. Yeast 12, 1607-1633.
- Rosenfeld, E., B. Beauvoit, B. Blondin, dan J.M Salmon. 2003. Oxygen Consumption by Anaerobic Saccharomyces cerevisiae under Enological Conditions: Effect on Fermentation Kinetics. Appl. Environ. Microbiol. 2003 January; 69(1): 113–121.
- Rahayu, K. dan Sudarmadji, S. 1989. Proses-proses Mikrobiologi Pangan, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Slonimski. P.P. 1958. Recent studies yeast and their significance in industry. Soc. Chem. Ind. Monogr. 3: 7-20.
- Soetarto, E.S., Suharni, TT., Nastiti, SY., Sembiring, L., dan Sidemen, B. 1997.
 Petunjuk Praktikum Mikrobiologi, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi,
 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Taboaz, R., Maceiras, R., Cancela, M.A., & Alvarez, E. 2002. Study of The Alcohols Fermentation in Wine "Albarino". Influence of The Yeast Saccharomyces cerevisae and SO₂. Department of Chemical engineering, ETSEI, University of Vigo, Spain.
- Walker, G. M. 1988. Yeast physiology and biotechnology. John Wiley & Sons Chichester.
- Wirakusumah, E.S. 2005. Jus, Buah, dan Sayuran. Penerbit Swadaya, Jakarta.