

PENGARUH KONSENTRASI STARTER DAN LAMA FERMENTASI PULP KAKAO TERHADAP KONSENTRASI ETANOL

*(The Effect of Starter Concentration and Fermentation Period of Cocoa Pulp on
Ethanol Production)*

Medan Yumas dan Rosniati

Balai Besar Industri Hasil Perkebunan

Jl. Prof. Dr. H. Abdurahman, Basa Lama, No. 28, Makassar, 90231, Indonesia

e-mail: medan.yumas@yahoo.com

Naskah diterima 21 Agustus 2013, revisi akhir 17 Januari 2014 dan disetujui untuk diterbitkan 27 Januari 2014

ABSTRAK. Penelitian pengaruh konsentrasi starter dan lama fermentasi pulp kakao terhadap pembentukan etanol telah dilakukan. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui konsentrasi starter *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi optimum untuk menghasilkan bioetanol dari pulp kakao. Pulp kakao mengandung kadar glukosa antara 12-15% dan sangat potensial untuk dijadikan bahan baku bioetanol. Pada penelitian ini telah dilakukan konversi glukosa pada cairan pulp kakao menjadi etanol menggunakan teknologi fermentasi. Pada proses fermentasi, yeast *S. cerevisiae* akan memecah glukosa menjadi etanol dan karbondioksida dalam kondisi anaerob. Variabel perlakuan adalah penambahan yeast *S. cerevisiae* pada konsentrasi 6, 7, 8 dan 9%; dan lama waktu fermentasi 3, 5 dan 7 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi 5 hari dan penambahan yeast *S. cerevisiae* dengan konsentrasi 9% diperoleh kadar etanol tertinggi sebanyak 5,93% dengan derajat keasaman akhir fermentasi 6,0.

Kata kunci: anaerob, etanol, fermentasi, pulp kakao, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT. The study of starter concentration effect and fermentation period of cocoa pulp on ethanol production has been carried out in order to determine the concentration of *Saccharomyces cerevisiae* as a starter and optimum fermentation period to produce bioethanol from cocoa pulp. Variables in this research were *S. cerevisiae* concentration of 6, 7, 8 and 9%; and fermentation periods 3, 5 and 7 days. The results showed that 5 days of fermentation period and the addition of *S. cerevisiae* with a concentration of 9% obtained the highest ethanol content as much as 5.93% by the end of fermentation acidity of 6.0.

Keywords: anaerob, cocoa pulp, ethanol, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

1. PENDAHULUAN

Berkembangnya teknologi dan bertambahnya penduduk, kebutuhan energi yang semakin meningkat. Bahan bakar fosil yang ada saat ini tidak dapat diharapkan untuk jangka waktu yang lama. Indonesia misalnya pada tahun 2002, cadangan terbukti minyak bumi sekitar 5 miliar barrel, gas bumi sekitar 90 TSCF dan batubara sekitar 5 miliar ton. Apabila tidak ditemukan cadangan terbukti baru, minyak bumi diperkirakan akan habis

dalam waktu kurang dari 10 tahun, gas bumi 30 tahun, dan batubara akan habis sekitar 50 tahun (Hambali, *et. al.* 2007). Oleh sebab itu, diperlukan sumber energi alternatif baru yang mampu mencukupi atau paling tidak dapat menghemat penggunaan energi dari bahan bakar fosil tersebut.

Konsumsi BBM Indonesia yang mencapai 1,3 juta barel per hari tidak seimbang dengan produksi yang nilainya sekitar 980 ribu barel per hari sehingga

terdapat devisit yang harus dipenuhi melalui impor (Kemen ESDM, 2012). Apabila terus dikonsumsi tanpa ditemukannya cadangan minyak baru, diperkirakan cadangan minyak ini akan habis dalam dua dekade mendatang sehingga upaya pengembangan energi alternatif menjadi penting untuk dilakukan.

Indonesia merupakan negara produsen kakao terbesar ketiga di dunia setelah pantai Gading dan Ghana. Dari total produksi kakao nasional 70% berasal dari Sulawesi (Anonim, 2003). Pengusahaan kakao di Indonesia dilakukan oleh rakyat, negara (BUMN/BUMD) dan swasta dengan luas areal tanaman kakao pada tahun 2009 mencapai 1,47 juta ha dengan produksi sebesar 803 ribu ton, (Departemen Pertanian, 2010).

Seiring dengan meningkatnya produksi kakao tersebut di atas, meningkat pula jumlah limbah cair pulp kakao yang dihasilkan. Pada proses fermentasi biji kakao akan menghasilkan cairan sebanyak 5-10 L cairan yang menetes satu malam tiap ton biji kakao basah yang difermentasi. Sedangkan Pemerasan pulp/lendir dengan menggunakan alat pemerasan pulp (*depulper*) akan diperoleh cairan pulp sebanyak ± 70 kg setiap ton biji kakao segar (Sulistyowati, 1998).

Salah satu alternatif pemanfaatan pulp kakao dapat diolah menjadi bioetanol. Etanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif pencampur premium, selain dapat menghemat penggunaan bahan bakar, bioetanol juga dapat mengurangi pencemaran udara. Etanol (C_2H_5OH) adalah cairan biokimia yang berasal dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme, karena pembuatannya melibatkan proses biologis. Produk etanol yang dihasilkan diberi nama bioetanol. Bahan baku bioetanol ini, dapat berupa biomassa yang mengandung gula, pati atau selulosa. Pulp kakao mengandung senyawa gula antara 12–15%, jenis asam-asam organik dan asam amino serta air 80–85% (Opeke, 1984 dalam Mulato, dkk., 2005). Komposisi yang demikian cukup baik untuk media pertumbuhan *yeast S. cereviceae*. untuk menunjang

kesempurnaan proses fermentasi. Sumber karbon bagi *S. cereviceae* yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, manosa dan maltose (Judoamidjojo, dkk., 1992).

Fermentasi adalah proses perombakan gula oleh aktivitas *yeast* dimana ikatan kimia rantai karbon dari glukosa dan fruktosa dilepas satu demi satu dan dirangkai secara kimiawi menjadi molekul etanol dan gas karbondioksida serta menghasilkan panas. Reaksi pembentukan etanol dari glukosa yakni sebagai berikut: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{energi yang lebih sedikit}$ dan dalam suasana anaerob. *Yeast* sendiri termasuk jasad renik yang akan mengeluarkan enzim sangat kompleks dan mampu melakukan perombakan gula menjadi etanol dan karbondioksida, jenis *yeast* untuk proses etanol adalah *S. cereviceae* (Schlegel, H.G dan K. Schmidt, 1994).

2. METODE PENELITIAN

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan pulp kakao yang diperoleh dari buah kakao berasal dari Kabupaten Luwu Utara, Propinsi Sulawesi Selatan dan kultur murni *S. cereviceae* yang diperoleh dari ITB Bandung. Alat-alat pengolahan yang digunakan adalah alat pemerasan lendir (*depulper*), bak fermentasi, selang plastik, thermometer air raksa (0-100°C), shaker, panci *stainless steel*, autoklaf, inkubator merek *memert type* IMB 500 FNr E 5060826, tabung reaksi, petridis, pH meter digital, timbangan kapasitas 5 kg, neraca analitik (*sartorius*) dan jarum ose. Sedangkan alat analisis kadar etanol adalah Gas Chromatography (GC) merek *Shimadzu* 2010. Metode yang digunakan dalam penelitian pembuatan bioetanol dari cairan pulp kakao terdiri dari 3 tahapan yaitu persiapan bahan baku, pembuatan starter dan proses pembuatan etanol.

Persiapan Bahan Baku

Buah kakao dibelah untuk mengeluarkan dan memisahkan biji kakao dari kulit buah dan plasentanya. Pembelahan buah dilakukan dengan alat

pemukul yang terbuat dari kayu. Biji kakao disortir dipisahkan antara biji yang baik dan rusak (berkecambah, kempes dan berjamur). Selanjutnya biji kakao basah dimasukkan ke dalam alat pemeras lendir (*depulper*) untuk memperoleh cairan pulp kakao.

Pembuatan Starter

Proses pembuatan starter yaitu medium fermentasi sebanyak 100 ml diinokulasi dengan 3 ose *S. cereviceae*. Media untuk starter dikocok dalam *water bath shaker* dengan kecepatan 15 rpm dan diinkubasi pada suhu kamar sampai pertumbuhan selnya mencapai fase logaritmik. Dalam penelitian ini fase logaritmik tercapai dalam waktu 24 jam.

Proses Pembuatan Etanol

Cairan pulp kakao yang diperoleh dari alat pemeras lendir dimasukkan ke dalam wadah, kemudian ditambahkan larutan natrium hidroksida (NaOH) untuk menurunkan tingkat keasaman dari pH 3,5 menjadi pH 5,0. Setelah pH cairan pulp kakao dinaikkan sampai 5,0 dimasukkan ke dalam panci *stainless steel* untuk proses pasteurisasi. Pasteurisasi dilakukan selama 30 menit pada suhu 80°C. Setelah dipasteurisasi media pulp kakao dimasukkan ke dalam bak fermentor yang telah disterilkan terlebih dahulu, kemudian didinginkan, lalu ditambahkan starter *S. cereviceae* pada konsentrasi 6, 7, 8 dan 9%. Selanjutnya bak fermentor yang berisi media ditutup dalam keadaan anaerob dan dibiarkan pada suhu ruang selama 3, 5 dan 7 hari untuk proses fermentasi. Setelah waktu fermentasi selesai, sampel disaring menggunakan corong *buchner* dengan kertas saring kemudian disentrifus pada putaran 2500 rpm selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter digital dan kadar etanol menggunakan *Gas Chromatography*. Perlakuan penelitian terdiri dari konsentrasi starter (6, 7, 8 dan 9%) dan waktu fermentasi (3, 5 dan 7 hari).

Metode Analisis

Pengukuran derajat keasaman (pH) terhadap bahan baku cairan pulp kakao dilakukan pada awal (sebelum fermentasi) dan pada akhir (sesudah fermentasi) menggunakan pH meter digital, sedangkan analisa kadar etanol dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Analisis data dilakukan secara deskriptif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) pulp kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3,5. Sebelum dilakukan proses fermentasi nilai pH pulp kakao dinaikkan menjadi 5,0. Hal ini dilakukan agar *yeast S. cereviceae* dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan tempat tumbuhnya. Endah, dkk. (2009) menyatakan bahwa pada fermentasi alkohol, *yeast* memerlukan media dengan suasana asam yaitu antara 4,5–6,9. Berdasarkan pengamatan perlakuan penambahan starter *S. cereviceae* (6, 7, 8 dan 9%) dan waktu fermentasi (3, 5 dan 7 hari) diperoleh derajat keasaman pulp kakao seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa derajat keasaman pulp kakao pada akhir waktu fermentasi untuk masing-masing konsentrasi starter *S. cereviceae* yang digunakan bervariasi menurut waktu fermentasi. Untuk konsentrasi starter *S. cereviceae* 6 dan 7% terjadi penurunan nilai pH setelah fermentasi 3 hari masing-masing menjadi 4,0 dan 4,5 dari pH awal yaitu 5,0 (fermentasi 0 hari), dan setelah itu kembali mengalami kenaikan nilai pH setelah fermentasi berlangsung 5 hari. Terjadinya penurunan nilai pH setelah fermentasi 3 hari disebabkan karena aktivitas *yeast S. cereviceae* mengalami fase penyesuaian dimana *yeast* akan menyesuaikan diri terlebih dahulu dengan lingkungan sekitarnya sehingga menghasilkan enzim yang dapat merombak gula menjadi alkohol. Selain itu, terjadi pula perubahan senyawa kimia dalam pulp kakao, perubahan ini dibantu oleh aktivitas enzim yang dapat menghidrolisis protein menjadi asam amino dan polipeptida lain.

Hal ini sesuai dengan pendapat Sarmidi (1993), bahwa selama fermentasi, derajat keasaman (pH) mula-mula menurun sampai hari ketiga, dan selanjutnya meningkat sedikit demi sedikit sampai hari kelima. Hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Gozan, dkk. (2007), bahwa pada tahap fermentasi 3 hari, *yeast* belum berada pada fase eksponensial (*log phase*) yaitu fase dimana *yeast* menyesuaikan diri dengan lingkungan agar dapat hidup.

Tabel 1. Hasil pengukuran pH pulp kakao setelah fermentasi

Waktu fermentasi (hari)	Konsentrasi starter <i>S. cereviceae</i>			
	6 %	7%	8%	9%
0	5,0	5,0	5,0	5,0
3	4,0	4,5	5,0	5,0
5	5,0	5,5	5,5	6,0
7	5,0	5,5	5,0	5,5

Pada Tabel 1, juga terlihat bahwa penambahan starter 8 dan 9%, nilai pH media pulp tidak mengalami perubahan setelah fermentasi 3 hari dan tetap sama dengan nilai pH pada awal fermentasi, namun setelah fermentasi 5 hari mengalami kenaikan hingga mencapai

puncaknya yaitu masing-masing menjadi 5,5 dan 6,0. Setelah itu kembali mengalami penurunan setelah fermentasi 7 hari masing-masing menjadi 5,0 dan 5,5. Terjadinya peningkatan nilai pH media pulp pada fermentasi 5 hari dengan konsentrasi starter 8 dan 9% disebabkan karena *yeast* mengalami fase pertumbuhan yang cepat, sehingga proses perombakan gula menjadi etanol semakin cepat. Dampak yang ditimbulkan dari fase pertumbuhan *yeast* yang cepat tersebut, yaitu dapat meningkatkan gugus OH sehingga pH sistem naik. Oleh karena adanya fase pertumbuhan dari *yeast* yang demikian cepat, maka terjadi peningkatan gugus OH akibat dari penguraian gula menjadi etanol. Dengan demikian pH pulp hasil fermentasi pada hari ke 5 meningkat menjadi 5,5 dan 6,0. Etanol mempunyai gugus OH yang bersifat basa maka gugus OH pada fermentasi 5 hari meningkat sehingga menaikkan pH sistem. Meskipun pada saat tersebut kondisi pH sistem sempat berada di bawah pH optimum. Hal ini terjadi juga karena kemungkinan terbentuknya asam asetat yang membantu menurunkan pH sistem sehingga dapat kembali pada posisi pH optimum.

Tabel 2. Hasil perhitungan jumlah sel mikroba selama proses fermentasi (sel/ml inokulum)

No.	Konsentrasi starter (%)	Waktu Fermentasi (hari)			
		0	3	5	7
1	6	$7,23 \times 10^4$	$7,69 \times 10^4$	$7,80 \times 10^4$	$7,64 \times 10^4$
2	7	$7,36 \times 10^4$	$7,72 \times 10^4$	$7,84 \times 10^4$	$7,79 \times 10^4$
3	8	$7,48 \times 10^4$	$7,76 \times 10^4$	$7,97 \times 10^4$	$7,88 \times 10^4$
4	9	$7,54 \times 10^4$	$7,89 \times 10^4$	$8,20 \times 10^5$	$7,93 \times 10^4$

Tabel 3. Hasil analisis kadar etanol hasil fermentasi cairan pulp kakao dengan menggunakan GC

Konsentrasi <i>S.cereviceiae</i> (%)	Waktu Fermentsi (hari)					
	3		5		7	
	Luas puncak	Kadar etanol (%)	Luas puncak	Kadar etanol (%)	Luas puncak	Kadar etanol (%)
6	137229	0,06	2867211	1,35	1230217	0,58
7	254395	0,12	1496806	0,71	2449574	1,16
8	260566	0,12	2285081	1,08	912227	0,43
9	1999991	0,95	12517495	5,93	1122665	0,53

Pertumbuhan mikrobial ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel, sedangkan kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimianya (Reed dan Rehm, 1983). Kinetika fermentasi mempelajari perkembangbiakan mikroba yang ditunjukkan oleh kenaikan konsentrasi biomassa karena konsumsi substrat. Dari Tabel 2 terlihat bahwa jumlah sel mikroba terbanyak terdapat pada fermentasi 5 hari dengan konsentrasi starter 9% yaitu $8,20 \times 10^5$. Pada Tabel 2 terlihat juga bahwa rata-rata jumlah mikroba terbanyak dijumpai pada fermentasi 5 hari setelah itu kembali mengalami penurunan pada hari fermentasi berikutnya. Pada saat substrat mendekati habis dan terjadi penumpukan produk penghambat maka terjadi penurunan laju pertumbuhan. Pada fase stasioner konsentrasi biomassa mencapai maksimum. Setelah fase tersebut terjadi fase kematian yang ditandai dengan penurunan jumlah individu yang hidup (Bailey dan Ollis, 1991). Banyaknya mikroba yang terdapat pada fermentasi 5 hari, karena terkait dengan derajat keasaman yang terdapat pada substrat, dimana derajat keasaman hasil pengukuran berkisar antara 4,0-6,0. Hal ini sesuai yang dikemukakan oleh Casida (1968) bahwa pH pertumbuhan khamir yang baik adalah pada rentang antara 3,0-6,0. Perubahan pH dapat mempengaruhi pembentukan hasil samping fermentasi. Nilai pH pertumbuhan berhubungan positif dengan pembentukan asam piruvat. pada pH tinggi maka lag fase akan lebih singkat dan aktifitas fermentasi akan meningkat.

Pada penelitian ini konsentrasi etanol yang paling tinggi terjadi pada pH 6,0 yaitu sebesar 5,93% (Tabel 3). Derajat keasaman (pH) merupakan satu diantara beberapa faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi etanol. Derajat keasaman optimum untuk proses fermentasi adalah antara 4,0-5,0. Pada pH < 3,0, proses fermentasi akan berkurang kecepatannya (Samsuri, dkk., 2007). Hasil konsentrasi etanol yang paling tinggi yang ditampilkan pada Tabel 3 adalah dengan pH 5,0 pada waktu 60 jam sedangkan untuk pH 4,0 menghasilkan konsentrasi

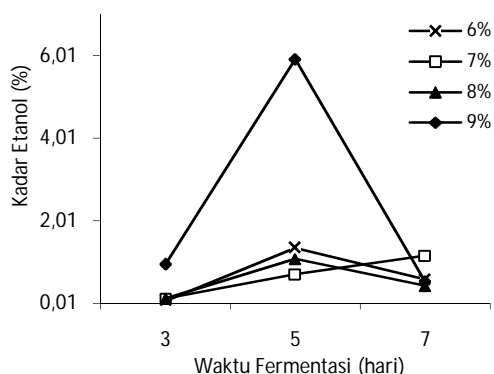
etanol paling sedikit. Maka terbukti bahwa *yeast* dan enzim dapat berkembang dan bekerja dengan baik pada pH 5,0, oleh karena itu konsentrasi etanol yang dihasilkan lebih tinggi.

Berdasarkan hasil pengukuran pH sebelum dan sesudah fermentasi dapat disimpulkan bahwa pH fermentasi berbanding lurus dengan keaktifan mikroba melakukan fermentasi. Semakin aktif mikroba melakukan fermentasi semakin tinggi produk yang dihasilkan baik produk utama maupun produk sampingan. Menurut Casida (1968), fermentasi etanol akan menghasilkan etanol sebagai produk utama. Selain itu akan dihasilkan juga karbondioksida dan asam-asam organik seperti asam piruvat, asam suksinat, asam laktat dan asam-asam lainnya. Asam-asam yang dihasilkan sebagai produk sampingan inilah yang membuat pH larutan semakin rendah. Casida (1968), menyatakan bahwa pada konsentrasi glukosa yang cukup optimal (tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah), khamir akan menggunakan glukosa tersebut untuk pertumbuhan dan perkembangan sel. Menurut Reed dan Rehm (1983), asam sebagai hasil samping fermentasi etanol seperti asam asetat, asam piruvat dan asam-asam organik lainnya berperan besar dalam penurunan pH sedangkan asam butirat dan asam lemak lainnya hanya berpengaruh sedikit.

Kadar Etanol

Hasil analisis kadar etanol dari hasil fermentasi cairan pulp kakao dengan variasi penambahan konsentrasi starter *S. cereviceae* dan lama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1. Pada Tabel 3 terlihat bahwa kadar alkohol setelah fermentasi 3 hari berkisar antara 0,06%-0,95%, fermentasi 5 hari berkisar 0,71%-5,93%, dan fermentasi 7 hari berkisar antara 0,43%-1,16%. Kadar etanol terendah diperoleh pada fermentasi 3 hari dengan konsentrasi *yeast S. cereviceae* 6% sebesar 0,06%. Rendahnya kadar etanol yang terbentuk tersebut disebabkan karena selama pengambilan sampel ada sebagian oksigen yang masuk membuat proses anaerob yang tidak sempurna dan

suhu 4-32°C (Kartika, dkk., 1992). Bahkan menurut Azizah, dkk. (2012) bahwa *S. cereviceae* dapat mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan zimase. Dengan adanya enzim-enzim ini, *S. cereviceae* memiliki kemampuan untuk mengkonversi baik gula dari kelompok monosakarida maupun dari kelompok disakarida. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu, enzim zymase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi alkohol dan CO₂. Perbedaan waktu fermentasi dan dosis *yeast* sangat berpengaruh terhadap kadar alkohol yang dihasilkan pada fermentasi pulp kakao. Hal ini berarti bahwa perbedaan waktu fermentasi (3, 5 dan 7 hari) serta dosis *yeast* (6, 7, 8 dan 9%) sangat menentukan kadar alkohol yang terbentuk pada pulp kakao.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi starter terhadap kadar etanol

Pada Gambar 1, terlihat bahwa kadar etanol tertinggi 5,93% diperoleh pada perlakuan fermentasi 5 hari dengan konsentrasi *yeast* 9% dengan luas puncak 12517495 dan waktu retensinya 2,330. Menurut Noyes (1980) serta Barlina dan Lay (1994), kadar etanol sebesar 5-6% diperoleh dari fermentasi substrat dengan kadar gula 10-12%. Efek penambahan konsentrasi *yeast* *S. cereviceae* berpengaruh terhadap produksi etanol dan bergantung pada waktu fermentasi. Menurut Astawan dan Mita (1991), konsentrasi starter (inokulum) dan lama

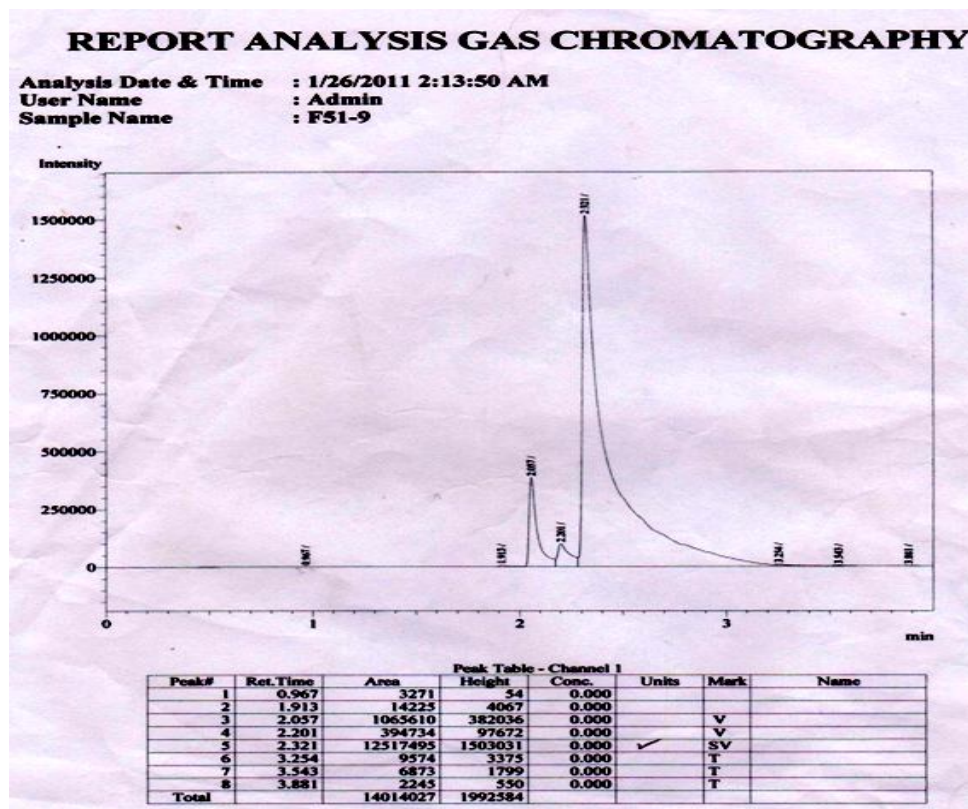
fermetasi sangat berperan terhadap proses fermentasi. Jika konsentrasi inokulum yang digunakan terlalu sedikit, maka proses fermentasi berjalan dengan lambat, sedangkan konsentrasi inokulum yang terlalu banyak akan mempengaruhi persaingan pengambilan nutrisi oleh *yeast* sehingga sangat berpengaruh pada pertumbuhan *yeast* dan alkohol yang dihasilkan.

Dalam penelitian ini diperoleh konsentrasi starter dan waktu fermentasi optimum terjadi pada konsentrasi starter 9% dan waktu fermentasi 5 hari yang menghasilkan kadar etanol tertinggi (Gambar 1). Namun demikian tidak berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi starter yang ditambahkan semakin tinggi pula kadar etanol yang dihasilkan. Menurut Fardiaz (1988), semakin tinggi penambahan konsentrasi starter (inokulum) belum tentu menghasilkan kadar alkohol yang tinggi.

Tinggi rendahnya glukosa juga mempengaruhi kadar alkohol yang dihasilkan. Proses perubahan glukosa menjadi alkohol dalam proses fermentasi dipengaruhi pula oleh aktivitas *yeast*. Aktivitas *yeast* banyak dipengaruhi oleh media dan kondisi lingkungan (suhu dan keasaman) dimana panas, konsentrasi ion hidrogen, air dan cahaya mempengaruhi aktivitas pertumbuhan mikroorganisme. Tinggi rendahnya kadar alkohol yang diperoleh sangat dipengaruhi oleh cepat lambatnya sel *yeast* yang digunakan dalam fermentasi bahan. Optimalnya pertumbuhan *yeast* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya komposisi media yang digunakan sebagai media pengembangbiakan mikroba mulai persiapan sampai fermentasi dapat berjalan optimum ketika pertumbuhan enzim maksimum dan ketersediaan substrat cukup. Menurut Tjahjadi (2007), kandungan air di dalam lingkungan mikroba juga dapat mempengaruhi sifat pertumbuhan mikroorganisme. Bila kandungan air di sekitar lingkungan tidak cukup, maka cairan di dalam sel mikroba mengalir keluar sehingga sel akan mengalami plasmolisis. Pada waktu plasmolisis metabolisme berhenti dan

menyebabkan bahan yang terdapat dalam sel sangat pekat yang akhirnya akan menghambat aktivitas enzim, sehingga

pertumbuhan *yeast* dapat beragam, ada yang cepat dan ada yang lambat.



Gambar 2. Hasil analisis kadar etanol pulp kakao

Pada Gambar 2 terlihat bahwa secara umum bertambahnya waktu fermentasi akan menaikkan persentase etanol yang dihasilkan sampai batas tertentu walau kemudian persentase ini menurun setelah batas tersebut. Naiknya kadar etanol dari fermentasi pulp kakao disebabkan oleh aktivitas *yeast* di awal fermentasi melakukan pertumbuhan. Etanol yang dihasilkan selama fermentasi berasal dari perombakan gula dalam cairan pulp kakao. Menurut Noyes (1980) dan Kozakiu *et. al.* (1998), produk yang dihasilkan dari fermentasi, selain etanol dan gas CO₂ adalah asam asetat, asam butirat, asam laktat, asetaldehida dan lain-lain. Pada Gambar 2 terlihat pula bahwa setelah fermentasi 7 hari semua perlakuan secara keseluruhan terjadi penurunan kadar etanol, kecuali pada perlakuan penambahan starter 7% terjadi peningkatan

kadar etanol, namun peningkatannya tidak signifikan.

Terjadinya penurunan kadar etanol secara keseluruhan untuk semua perlakuan disebabkan karena *yeast* telah mengalami fase perlambatan pertumbuhan, disebabkan berkurangnya nutrisi esensial untuk pertumbuhan mikroorganisme pengurai glukosa. Kadar glukosa yang semakin berkurang dan terjadi pembentukan produk lanjutan dari proses fermentasi tersebut. Produk lanjutan yang dihasilkan dari proses fermentasi setelah lima hari menuju ke fermentasi tujuh hari adalah berupa asam asetat (CH₃COOH) yang terbentuk dari etanol hasil produk fermentasi lima hari yang mengalami reaksi lanjut yaitu reaksi pengubahan etanol menjadi asam asetat oleh mikroba bukan berasal dari penambahan sebagai stater akan tetapi sebagai akibat dari fermentasi proses anaerob yang tidak sempurna, yang

membuat sedikit proses aerob sehingga memungkinkan tumbuhnya *Acetobacter aceti* yang dapat mengkonversi alkohol menjadi asam asetat. Menurut Efendi (2002), untuk fermentasi pembentukan asam asetat dibutuhkan medium dengan kadar etanol hasil fermentasi 5-6%. Kemungkinan lain adalah setelah proses fermentasi optimum terjadi, pada saat itu pula jenis mikroba *Acetobacter aceti* mulai aktif melakukan aktivitasnya yaitu bekerja sebagai pengubah alkohol menjadi asam asetat yang ditandai rasa masam pada sampel dan nilai pH menurun. Apabila dikaitkan dengan nilai pH yang diperoleh setelah fermentasi 7 hari (Tabel 1) terjadi penurunan nilai pH, ini menunjukkan bahwa pada fermentasi 7 hari telah terbentuk asam asetat. Reaksi poduk lanjutan selengkapnya adalah sebagai berikut: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (etanol) \rightarrow CH_3CHO (asetaldehid) \rightarrow $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ (asetaldehid hidrat) \rightarrow CH_3COOH (Asam asetat). Hal ini sejalan dengan pernyataan Tarigan (1988) bahwa *Acetobacter aceti* menumpang untuk mengubah alkohol menjadi asam cuka dan selanjutnya Venty (2009) menyatakan bahwa *S. cereviceae* digunakan untuk fermentasi alkohol, sedangkan *Acetobacter aceti* digunakan untuk fermentasi asam asetat.

4. KESIMPULAN

Fermentasi substrat cairan pulp kakao dengan penambahan stater *S. cereviceae* dengan konsentrasi 9% dengan waktu fermentasi 5 hari menghasilkan kadar bioetanol tertinggi sebesar 5,93%. Derajat keasaman (pH) 6,0 merupakan kondisi pH yang optimum yang diperoleh pada fermentasi 5 hari dengan konsentrasi stater yang ditambahkan 9%.

DAFTAR PUSTAKA

Aminah, A. & Triyani. (2010). Kadar Bioetanol Limbah Tapioka Padat Kering Dengan Penambahan Ragi dan H_2SO_4 Pada Lama Fermentasi Yang Berbeda. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 11(2), 156-166.

Anonim. (2003). Trend dan Prospek Pasar Komoditi Kakao Olahan. *Diskusi Panel*

Peranan Cokelat Sebagai Agro-Based Industri Dalam Meningkatkan Nilai Tambah dan Penyerapan Tenaga Kerja. Jakarta: Depperindag.

Astawan, M. & Mita, W. (1991). *Teknologi pengolahan pangan nabati tepat guna*. Jakarta: Akademika Pressindo.

Azizah, N.A.N., Baarri, Al. & Mulyani, S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2), 72-77.

Bailey, J.E. & D.F. Ollis. (1991). *Dasar-dasar Biokimia*. Bogor: PAU IPB.

Barlina, R. & A. Lay. (1994). Pengolahan Nira Kelapa Untuk Produk Fermentasi Nata de Coco, Alkohol dan Asam Cuka. *Jurnal Penelitian Kelapa*, 7, 21-23.

Budiyanto, A.K. (2002). *Mikrobiologi Terapan*. Malang: Universitas Muhammadiyah.

Casida, J.R. (1968). *Industrial Microbiology*. New York: John Wiley and Sons Inc.

Effendi, M.S. (2002). Kinetika Fermentasi Asam Asetat (*vinegar*) Oleh Bakteri *Acetobacter aceti* B₁₂₇ Dari Etanol Hasil Fermentasi Limbah Cair Pulp Kakao. *Jurnal Teknologi Fermentasi dan Industri Pangan*, 13(2), 125-135.

Endah, R.D., Enny K.A. & Adrian, N. (2009). Bioetanol Fuel Grade dari Talas (*Colocasia Esculenta*). *Ekulilibrium*, 8, (1), 1-6.

Fardiaz, S. (2002). *Mikrobiologi Pangan 2*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

Fardiaz, S. (1988). *Fermentasi Pangan*. Bogor: Gramedia.

Umbiro. (1987). *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi* (ed.1). Jakarta: Mediatama Sarana Perkasa.

Gozan, Misri & Samsuri, M. (2007). Sakarifikasi dan Fermentasi Bagas Menjadi Ethanol Menggunakan Enzim Selulase dan Enzim Sellobiase. *Jurnal Teknologi*, 21(3), 209-215.

Hambali, E., Mujdalipah, S., Armansyah, H.T., Pattiwiri. A.W. & Hendrako, R. (2007). *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

- Judoamidjojo, M., Abdul, A.D. & Endang, G.S. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Rajawali Press.
- Kartika, B., Guritno, A.D., Purwadi, D. & Ismoyowati, D. (1992). *Petunjuk Evaluasi Produk Industri Hasil Pertanian*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Kemen ESDM. (2012). *Perbandingan Produksi dan Konsumsi Minyak Harian*. Jakarta: Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral.
- Kozakiu, M., Lino, Matsumoto H., Dizon, T.E.L., Rahayu K., & Sanchez, P.C. (1998). Studies on the Acid-Producing Bacteria of Traditional Vinegars from the Phlippinnes and Indonesia. *Proc. Int. conf. on Asian Network on Yogyakarta* (pp. 451-464). Indonesia.
- Lewis, M.J & Young, T.W. (1990). *Brewing*. New York: Chapman and Hall.
- Mulato, S., Widiotomo, Misnawi & Suharyanto, E.V. (2005). *Pengolahan Produk Primer dan Sekunder Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Noyes, P. (1980). *Large and Small Scale Ethyl Alcohol Manufacturing Prospect from Agriculture Raw Materials*. NJ: Pata Corp. Paak Ridge.
- Reed, G. & Rehm, H. J. (1983). *Biotechnology Vol III: Industrial Microbiology*. Westport Connecticut: AVI Publishing Company Inc.
- Richana, N. (2008). *Produksi dan Prospek Enzim dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia*. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan.
- Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., & Nasikin M. (2007). Pemanfaatan Sellulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase. *Makara Teknologi*, 11, 17-24.
- Sarmidi, A. (1993). *Mutu Kakao. Iptek Proses Enzimatis Pada Fermentasi Untuk Perbaikan Pemacu Pembangunan Bangsa*. Serpong: Laboratorium Teknologi Proses BPPT.
- Schlegel, H.G., & Schmidt, K. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Indonesia: Universitas Gajah Mada.
- Sulistyowati. (1998). Pembuatan Nata dari Pulpa Kakao. *Warta Pusat Penelitian dari Kakao*, 14(3), 263-270.
- Tarigan. (1988). *Pengantar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Tjahjadi, P. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT. Umi Aksara.
- Venty, I.P. (2009). *Karakteristik Fermentasi Pulp Kakao dalam Produksi Asam Asetat Menggunakan Bioreaktor*. Skripsi. Bogor: Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.