



TEKNOLOGI FERMENTASI HASIL-HASIL PERTANIAN (WINE, SAKE, BREM BALI DAN VINEGAR)

**DISUSUN OLEH:
W. SUDJATHA
NI WAYAN WISANIYASA**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS UDAYANA
2017**

KATA PENGANTAR

Berkat rahmatNya Ida Sang Hyang Widhi Wasa (Tuhan Yang Maha Esa), buku dengan judul TEKNOLOGI FERMENTASI HASIL-HASIL PERTANIAN (Teknologi Fermentasi Wine, Sake, Brem Bali dan Vinegar) dapat kami selesaikan dengan baik. Kami menyadari tulisan ini jauh dari apa yang diharapkan dan kami akan berusaha melengkapi dalam tulisan yang akan datang. Untuk melengkapi tulisan ini kami mohon masukan dari para pembaca.

Bersama ini kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana yang telah memberi dorongan dan kepada teman-teman lainnya yang telah membantu sehingga tulisan ini dapat kami selesaikan. Penulis berharap semoga buku ini bermanfaat bagi para pembaca.

Bukit Jimbaran, 13 April 2017
Penyusun,

Prof. Ir. W. Sudjatha
Ni Wayan Wisaniyasa, S.TP., MP.

DAFTAR ISI

	Halaman:
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
1. TEKNOLOGI FERMENTASI WINE	
I. PENDAHULUAN	1
II. KOMPOSISI BUAH ANGGUR	4
III. MIKROBA DALAM PEMBUATAN WINE.....	18
IV. FEMENTASI ALKOHOL	34
V. PROSES PEMBUATAN WINE	38
VI. ZAT PENJERNIH (<i>FINING</i>)	74
VII. FORTIFIKASI	80
VII. WINE TIDAK DARI BUAH ANGGUR	83
DAFTAR PUSTAKA	87
LAMPIRAN-LAMPIRAN	89
2. TEKNOLOGI FERMENTASI SAKE	
I. PENDAHULUAN	96
II. BAHAN BAKU	100
III. PROSES PEMBUATAN SAKE	101
IV. MIKROBIOLOGI SAKE	111
DAFTAR PUSTAKA	113
3. TEKNOLOGI FERMENTASI BREM BALI	
I. PENDAHULUAN	114
II. BAHAN BAKU	117
III. FERMENTASI	131
IV. PEMBUATAN BREM	145
V. BEBERAPA HASIL PENELITIAN BREM BALI	157
DAFTAR PUSTAKA	162

4. TEKNOLOGI FERMENTASI VINEGAR	
I. PENDAHULUAN	164
II. FERMENTASI	167
III. PENGHANCURAN DAN PENGEPRESAN	168
IV. CARA PEMBUATAN VINEGAR	171
V. PROSES AKHIR	175
VI. KERUSAKAN VINEGAR	177
DAFTAR PUSTAKA	179

1.WINE

I PENDAHULUAN

Buah anggur merupakan bahan utama untuk pembuatan wine. Wine telah lama di buat di Mesir dan di Siria yaitu tahun 3500 sebelum masehi. Dalam tahun 600 sebelum masehi oleh pedagang bangsa Yunani buah anggur tersebut dibawa dan dilakukan penyebaran dan pembudidayaan di Marseille dan pada abad 15 telah tersebar di seluruh Eropa. Buah anggur yang termasuk jenis *Vitis* tersebar di seluruh dunia, tetapi banyak pula yang termasuk jenis ini tidak cocok untuk dijadikan wine, karena komposisi buah anggur kurang mencukupi atau produksi kurang memuaskan atau mungkin juga karena citarasa yang dihasilkan kurang bagus.

Jenis buah anggur yang paling dikenal untuk dijadikan wine adalah jenis *Vitis vinifera*.. Jenis buah ini tersebar di daerah Mediterania kemudian ke Inggris, Jerman, Cekoslowakia, dan Hungaria. *Vitis vinifera* dibawa oleh orang-orang Eropa ke daerah lain seperti ke Afrika Selatan, Australia dan beberapa negara yang lain

Mengenai pengertian wine itu sendiri berbeda-beda tergantung dari negara yang memberikan pengertian tersebut. Misalnya di Cina wine diartikan minuman beralkohol sedangkan beer diartikan wine dan diartikan pula sebagai appertite wine. Secara umum dapat diartikan bahwa wine adalah suatu minuman (*beverage*) merupakan hasil fermentasi cairan buah dengan menggunakan mikroba khamir.

Wine dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu kelompok **wine alami** (*natural wine*) dan *appertizer wine*. Wine yang termasuk kelompok wine alami adalah wine yang dihasilkan dengan proses fermentasi yang kurang sempurna. Oleh karena gula yang terdapat telah digunakan oleh mikroba (khamir) sehingga fermentasi lebih lanjut terhenti. Kerusakan oleh bakteri asam asetat akan tercegah selama oksigen tidak masuk ke dalam anggur. Dengan terbatasnya gula yang terdapat pada cairan buah anggur sehingga kadar alkoholnya sekitar 12 persen. Pengelompokan wine dapat pula berdasarkan warna atau berdasarkan sisa gula yang masih ada.

Salah satu sistem klasifikasi wine adalah sebagai berikut :

A. Wine Alami (Natural wine), mengandung 9 sampai 14 persen alkohol (sifat dan kualitas wine dalam penyimpanan tergantung kemampuan khamir melakukan fermentasi dan masuknya udara).

I. Still wine (tidak mengandung karbon dioksida).

a. Dry table wine (wine tidak terasa manis) dimaksudkan untuk diminum bersamaan dengan makan dan terdapat tiga macam warna.

1. Putih
2. Merah jambu (pink)
3. Merah.

Dapat dikelompokkan berdasarkan jenis buah anggur atau berdasarkan daerah asal buah.

b. Slightly sweet table wine dengan tiga macam warna

1. Putih
2. Merah jambu (pink)
3. Merah

c. Sweet table wine

1. Putih
2. Merah jambu (pink)

d. Jenis-jenis khusus

1. Jenis anggur yang sedikit mengandung karbon dioksida, berwarna merah, pink atau putih
2. Flavored table wine , berwarna merah, pink atau putih.

II. Sparkling Wine (wine yang mengandung karbon dioksida yang cukup banyak)

- a. Putih (champagne, sparkling muscat)
- b. Rose (pink champagne)
- c. Merah (sparkling burgundy)

B. Dessert dan appertizer wine, mengandung alkohol 15 sampai 21 persen.

I. Sweet wine

- a. Putih (muscatel, white port, angelica)
- b. Pink (California tokay, tawny port)
- c. Merah (port, black muscat)

II. Sherries (white sweet atau dry wine dengan flavor yang teroksidasi)

- a. Jenis yang mengalami penuaan
- b. Jenis Flor sherry (fermentasi sekunder oleh khamir aerob).

Jenis jenis bake

III. Flavored wine

- a. Vermouth
- b. Produk hasil-hasil sendiri (Proprietary products) misalnya wine alami yang spesifik.

Wine yang termasuk kelompok ke dua mencakup **dessert dan appertizer wine**. Wine ini diminum sebelum maupun sesudah makan. Anggur ini mengandung kadar alkohol tinggi. Pada anggur ini ditambahkan alkohol untuk meningkatkan kadar alkoholnya dan mencegah kerusakan oleh khamir liar atau mikroba lainnya. Wine sherries dapat terasa manis memberikan flavor spesifik

Wine alami, wine still maupun sparkling umumnya dikonsumsi segera setelah dibuka. Apabila minuman tersebut tidak habis digunakan sisanya dalam waktu satu jam aromanya dan daya percikanya hilang dan telah terjadi perubahan-perubahan lain.

Beberapa macam wine lain sisanya dapat disimpan apabila dilakukan penutupan dengan baik. Pada wine yang mempunyai kadar alkohol rendah sisanya akan dapat dirusak oleh mikroba

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 86 tahun 1977 *dalam* Rahayu dan Kuswanto (1987) bahwa minuman yang beralkohol berdasarkan kadar etanolnya dapat dibagi menjadi 3 golongan. Golongan **A** dengan kadar etanol 1 - 5 % misalnya bir, golongan **B** minuman yang mempunyai kadar etanol 5 - 20 % misalnya wine (anggur) dan golongan **C** yang mempunyai kadar sebesar 20 -55 % misalnya wiski dan brandi. Golongan B dan C termasuk golongan minuman keras. Golongan minuman keras memerlukan pengawasan baik pada pembuatannya maupun peredarannya.

Selain buah anggur, beberapa macam buah lain dapat dibuat minuman seperti minuman wine dengan aroma dan citarasa sesuai dengan buah yang digunakan. Mungkin sangat baik sekali di daerah-daerah yang bukan sebagai penghasil buah anggur (jenis *Vitis*) dapat menggunakan buah lain yang tumbuh di daerah tersebut sebagai bahan pembuatan anggur.

Ilmu yang mempelajari wine dan cara pembuatannya disebut **ENOLOGY**. Asalnya adalah **OINOS** berasal dari kata Yunani yang berarti **wine**.

II. KOMPOSISI BUAH ANGGUR

Sifat dan kualitas wine ditentukan oleh 1). Komposisi bahan baku, 2). Proses fermentasi, dan 3). Perubahan-perubahan yang terjadi pada periode fermentasi berikutnya.

A. Perubahan Fisik dan Kimia pada Proses Pematangan Buah Anggur

Sewaktu terjadinya proses pematangan buah anggur terjadi perubahan fisik dan perubahan kimia

1. Perubahan Fisik

Bulir buah anggur yang berumur satu minggu berwarna hijau dan terasa asam. Pembelahan sel berlangsung dengan lambat dan untuk mencapai ukuran yang cukup memerlukan waktu. Apabila bulir telah mencapai tingkat kematangan yang normal pembesaran sel pada buah terhenti dan dalam keadaan udara panas volume dapat berkurang. Bulir buah anggur dalam proses pematangan terjadi perubahan kulit buah, biji dan pulpanya. Buah yang baik dipanen seminggu setelah masak maksimum. Perubahan-perubahan fisik yang lain terjadi adalah pembengkakan. Pada bulir buah yang tidak masak teksturnya keras dan sukar diremas. Pada bulir buah yang masak ketegarannya bertambah sedangkan buah yang lewat masak agak mengkerut dan terjadi kehilangan ketegarannya.

Perubahan fisik lainnya apabila bulir buah anggur tersebut diserang oleh *Botrytis cinerea* sehingga akan menyebabkan melekatnya kulit pada daging buah menjadi lemah sehingga akibatnya buah akan lebih mudah dihancurkan.

Serangan yang dilakukan oleh *Botrytis cinerea* meningkatkan jumlah gliserol dan gula menurunkan jumlah asam malat dan asam tartarat. Pengaruh keasaman dan intensitasnya tergantung pada iklim dan serangan botrytis tersebut. Serangan Botrytis

terhadap asam glukonat tidak ada pengaruhnya. Sedangkan menurut Charpentie (1954 dalam Amerin *et al* 1972) asam glukonat dapat dipakai sebagai suatu ukuran adanya serangan botrytis pada buah anggur. Pengaruh terhadap keasaman dan intensitasnya tergantung terhadap iklim yang diikuti oleh serangan *Botrytis*. Akibat serangan oleh *Botrytis* selalu terbentuk asam glukonat. Anggur Bordeaux yang terserang oleh botrytis per liter wine terdapat asam glukonat 0,50 sampai 2,50 gram . Pada wine yang normal mengandung asam glukonat sekitar 0,29 sampai 0,92 gram per liter. Dalam bubur buah asam galakturonat dan asam glukonat dalam jumlah kecil selalu terdapat tetapi jumlahnya akan lebih besar jika buah anggur tersebut diserang oleh *Botrytis cinerea* Pencegahan terhadap serangan Botrytis agak sulit dicegah. Serangan oleh jamur lain atau karena adanya hujan dapat menyebabkan terjadinya kehilangan gula.

2. Perubahan Kimia.

Pada buah anggur umumnya terdapat sebuah biji (kecuali pada beberapa jenis), disekelilingnya terdapat pulp dan diselaputi oleh kulit buah. Pulp yang terletak dekat pada kulit buah mempunyai kadar asam lebih rendah dan kadar gula yang lebih tinggi dari pulp yang terletak dekat biji.

Apabila buah anggur dipress seluruhnya seperti pada pembuatan wine di Champagne (Perancis) bahwa pada cairan buah anggur yang pertama gulanya lebih tinggi dan pH nya lebih rendah. Untuk jelasnya dapat terlihat pada Tabel 1. Pada pengepresan yang kedua asamnya lebih tinggi dan pH nya lebih rendah dari pada pengepresan yang pertama.

Perubahan gula, total asam, dan pH dipengaruhi oleh musim baik pada varietas buah yang masak pada pertengahan musim semi maupun pada musim berikutnya.

Tabel.1. Komposisi *must* dan wine yang dihasilkan (Amerine *et al* 1972).

Urutan Pengepresan	Alkohol (% pada wine)	Asam terdititrasi (Tartarat) gr/100 ml	pH		Asam Tatrak pada wine	Kalsium pada wine
			Bubur (Must)	Wine		

					gr/ml	
1	11.8	0,79	2,98	3,01	0,470	0,094
2	11.75	0,85	2,94	2,98	0,542	0,094
3	11.8	0,96	2,87	2,85	0,584	0,094
4	11.7	0,93	2,94	2,94	0,565	0,094
5	11.8	0,82	2,96	2,94	0,462
6	11.8	0,66	3,12	3,16	0,415	0,086
7	11.7	0,51	3,43	3,43	0,288	0,062
8	11.4	0,45	3,69	3,84	0,152	0,082

“ **MUST**” adalah cairan buah anggur dan pulp yang belum mengalami fermentasi. Menurut Amerine, 1964 **must** merupakan campuran pulp dan cairan buah yang dimasukkan ke dalam wadah yang akan mengalami proses fermentasi. Komponen **must** terutama adalah air dengan kadar gula 18 -25 persen per berat. Jika dibandingkan dengan fermentasi industri lain seperti pada pembuatan bir, dan fermentasi untuk menghasilkan antibiotika, pada pembuatan wine mikrobanya sulit untuk dikontrol. Must umumnya tidak steril kecuali setelah diberi belerang oksida dan penggunaan kultur khamir murni dalam pembuatan stater yang dapat mendominasi mikroba yang lain. Sedangkan dalam pembuatan bir wort (bir muda) terlebih dahulu dididihkan sebelum diberi khamir, jadi fermentasi dilakukan dalam medium steril.

Penggunaan **must** yang tersterilisasi untuk pembuatan wine putih menjamin terjadinya kontrol terhadap mikroba. **Must** dapat disterilisasi dengan memasukkan ke dalam alat sterilisasi yang disebut “**plate heat exchanger**“. Dengan alat ini dilakukan pemanasan pada suhu 87⁰ C dalam waktu 30 detik dan kemudian didinginkan sampai pada suhu 15 ⁰C. Pada suhu tinggi dalam waktu singkat akan membunuh mikroba pada **must** tersebut, demikian pula terhadap enzim oksidase dan protein yang tidak stabil terhadap panas. Pemanasan **must** dapat meningkatkan citarasa pada cairan buah karena dengan pemanasan dapat terbentuk citarasa yang lebih bagus yang berasal dari senyawa-senyawa pembentuk citarasa pada cairan buah.

Dengan meningkatnya kematangan buah, keasaman buah makin menurun. Kandungan asam tartarat dan malat sedikit menurun sewaktu masak nya buah. Kemungkinan terjadinya perubahan tersebut karena malat digunakan untuk proses

respirasi pada tingkat akhir pematangan buah. Dalam keadaan udara agak panas tartarat juga digunakan untuk proses respirasi.

Penting juga diperhatikan terjadinya perubahan-perubahan sejumlah-asam dan garam-garam selama proses terjadinya pemasakan buah. Perubahan ini berkaitan dengan perubahan pH. Selama pemasakan pH meningkat dari 2,8 menjadi 3,1 atau lebih tinggi tergantung pada varietas dan musim. Pada pH 2,98, lima puluh persen asam tartarat dalam bentuk asam bebas, sedangkan pada pH 3,41 lima puluh persen asam malat yang terdapat dalam bentuk asam bebas.

Perubahan pH ini disebabkan oleh translokasinya kalium dan kation-kation yang lain ke dalam buah. Alkalinitas abu adalah merupakan suatu pengukuran kandungan kation dan akan meningkat semasa terjadinya pematangan.

Perubahan-perubahan nitrogen selama proses pemasakan perlu diperhatikan karena sangat penting bagi pertumbuhan khamir dan bakteri. Selama terjadinya pematangan terjadi peningkatan prolin, serin, dan threonin dan terjadi penurunan arginin, amonia dan amine nitrogen pada cairan buah anggur jenis Cabernet Sauvignon dan Merlot.

Senyawa yang menimbulkan aroma meningkat semasa pemasakan buah. Etanol merupakan senyawa yang mudah menguap (volatile). Terjadi peningkatan senyawa-senyawa volatil yang teroksidasi (misalnya etanol) sampai kadar gula dalam buah maksimal dan sesudahnya terjadi penurunan pembentukan senyawa tersebut.

Terjadi perubahan warna selama proses pematangan. Warna hijau (khlorofil) berangsur-angsur terdegradasi baik pada jenis buah anggur putih maupun jenis buah anggur merah. Terjadi peningkatan pigmen, dan flavor pada buah jenis putih dan antosianin meningkat pada buah merah. Dalam proses pematangan terbentuk senyawa delphinidin, petunidin, malvidin, dan peonidin pada buah anggur jenis *Merlot*. *L Galokatechin* meningkat tetapi katecin menurun, sedangkan selama proses pemasakan terjadi penurunan tannin lebih dari 50 %.

Pada buah anggur jenis putih fenol dan leukoanthosianin menurun selama terjadinya pematangan buah dan pada waktu fermentasi terjadi penurunan fenolat. Menurut Peynaud dan Lafourcade (1958) dalam Amerine *et al* (1972) pada proses

pemasakan buah anggur terjadi penurunan thiamin dan riboflavin akan tetapi terjadi pembentukan mesoinositol, nikotinamide dan asam pantothenat.

B. Komposisi cairan buah anggur.

Air : Buah anggur yang sudah masak mengandung kadar air sebanyak 70 - 80 persen.

Gula-gula : Gula pada buah merupakan sumber alkohol dan juga merupakan komponen penting untuk memberikan rasa pada anggur. Gula utama yang terdapat adalah dektrosa dan levulosa. Dalam keadaan normal pada buah yang matang penuh perbandingan gula ini adalah 1 berbanding 1. Tetapi menurut Amerine dan Thoukis 1958 *dalam Amerine et al* (1972) perbandingan levulosa dan dektrosa adalah 0,71 dengan 1,45.

Perbandingan tersebut sangat penting bagi pembuatan wine. Levulosa mempunyai rasa manis dua kali dari rasa manis dektrosa. Untuk pembuatan sweet table wine sangat diharapkan adanya levulosa yang tinggi. Sukrosa dalam jumlah sedikit terdapat pada buah anggur jenis *V. vinifera*. Akan tetapi jenis anggur non *V. vinifera* mengandung 10 persen sukrosa. Gula ini akan terhidrolisis dalam fermentasi. Pada dry wine sukrosa yang tertinggal sangat sedikit sekali bahkan tidak ada walaupun diberikan sebelum proses fermentasi. Kadar pektin pada buah yang masak berkisar antara 0,02 sampai 0,6 persen (Tabel 2). Zat ini mencakup zat pengendap alkohol dan terdiri dari gum dan araban.

Tabel. 2. Kadar pektin dari berbagai macam buah anggur (g per liter) (Amerine *et al* 1972).

Varietas	Total Pektin	Asam Pektat		Gum atau Araban
		Bentuk Bebas	Bentuk Ester	
Merlot	1,77	0,07	0,19	1,51
Semillon	4,43	0,02	0,14	4,27
Cabernet franc	1,22	0,08	0,37	0,77

Apabila pada buah anggur terdapat *Botrytis cinerea* asam pektatnya lebih rendah dari tabel diatas tetapi gumnya tiga kali lebih tinggi. Sewaktu fermentasi 20 - 90 persen pektin mengendap, mungkin karena adanya aktivitas enzim pektolitik dari khamir dan pengendapan pada alkohol. Menurut Marteau *et al dalam Amerine et al* (1972) terjadi demethoksilasi pektin pada cairan buah anggur (must) menjadi PE (Pektin Esterase) dan

banyaknya metanol tergantung pada banyaknya asam-asam pektinat pada bubur buah tersebut.

Terdapatnya zat-zat yang bersifat koloidal pada bubur buah dan wine telah diketahui sejak zaman Pasteur. Disamping pektin, juga terdapat gum, zat-zat semacam getah (dektran), zat warna, tannin, protein dan protein yang terdegradasi dan garam-garam anorganik. Dalam beberapa hal dapat terjadi keseimbangan antara senyawa koloidal dan non koloidal. Kandungan koloidal pada bubur buah berkurang dengan melakukan pengeringan buah anggur, dengan pasteurisasi, penyimpanan dan dengan melakukan oksidasi.

Lilin yang terdapat pada kulit buah anggur dapat diekstraksi dengan menggunakan khloroform dan petroleum ether. Sekitar dua per tiga pada lilin tersebut adalah asam oleonolat. Jumlah asam triterpene pada buah anggur lebih sedikit dari pada yang tumbuh di pekarangan. Pada jenis *Vitis vinifera* hanya terdapat sejumlah kecil hidrokarbon tetapi pada jenis Isabella (*V. labrusca*) terdapat 23 persen pada lilin lunak adalah hidrokarbon. Rantai panjang hidrokarbon bervariasi dari C_{18} sampai C_{35} dan yang umum adalah C_{25} , C_{27} , C_{29} dan C_{31} . Fraksi alkohol bervariasi dengan rantai panjang dari C_{20} sampai dengan C_{34} dengan yang paling dominan adalah C_{26} dan C_{28} .

Asam-Asam

Dua buah asam yang terdapat pada buah anggur adalah asam tartarat (*d* tartarat) dan asam malat (*l* malat). Asam tartarat adalah asam kuat sehingga menyebabkan pH rendah. Total asam dihitung berdasarkan asam tartarat, berkisar antara 0,3 sampai 1,5 persen. Jumlah total asam ini bervariasi tergantung varietas dan musim. Asam tartarat ini tidak merupakan bagian dari asam dalam siklus Krebs.

Asam malat pada buah anggur jenis Kalifornia bervariasi dari 0,08 sampai 0,84 persen. Sangat sedikit terdapat asam sitrat pada buah anggur yang masak yaitu sekitar 0,01 sampai 0,03 persen. Pada bubur buah terdapat sedikit sekali asam isositrat, cis aconitat, glutarat, fumarat, pirrolidon, karboksilat dan asam α ketoglutarat. Terdapat 0,05 persen fosfat. Pada bubur buah anggur jenis Kalifornia yang masak mempunyai pH sekitar 3,1 sampai 3,9 tergantung daerah, musim dan jenis buah tersebut.

Senyawa-senyawa Nitrogen

Kadar nitrogen total pada bubur buah bervariasi dari 100 sampai 1100 mg per liter. Buah anggur yang diserang oleh insekta ternyata nitrogen totalnya lebih tinggi. Nitrogen dari amoniak dalam bubur buah bervariasi dari 5 sampai 150 mg per liter. Sangat sedikit sekali nitrogen dalam bentuk amine pada bubur buah, umumnya jumlahnya kurang dari 100 mg per liter. Nitrogen dari polipeptida jarang melebihi 100 mg per liter pada buah masak.

Menurut Lafon-Lafourcade dan Peynaud (1959) dalam Amerine (1972) rata-rata kadar nitrogen dalam bentuk ammonia dan amine pada *must* dan wine terlihat dalam Tabel 3.

Tabel. 3. Rata- rata Amonium dan Amine pada **must** dan **red wine** (mg per liter)
(Amerine *et al*1972)

	Total	Ammonia	Amine
Must	454	70	129
Red wine	320	11,5	96
White wine	184	6,3	36

Asam - asam amino berupa asam glutamat terdapat 26,5 sampai 160,7 mg per liter dan arginin terdapat sebanyak 7,0 sampai 113 mg per liter. Empat belas asam-asam amino yang lain terdapat dibawah 10 mg sedangkan lysin, metionin, dan cystin terdapat 2 mg per liter. Mengenai jumlah asam amino yang terdapat pada must dan anggur terlihat dalam Tabel 4. Ditemukan pula protein terlarut pada buah anggur, sifatnya berbeda tergantung pada varietasnya. Jumlahnya meningkat selama proses pematangan. Zat koloidal pada cairan buah anggur mengandung 10 sampai 13 persen protein. Hanya 4 sampai 21 persen terjadi pengendapan secara iriversibel oleh panas dan pendinginan.

Pigmen

Sedikit sekali diperoleh data mengenai jumlah pigmen pada must. Khlorofil karotein, dan xantofil terdapat pada must. Quercetin terdapat dalam jumlah sedikit. Glikosida, isoquersetin (flavanol) terdapat dalam jumlah 1 sampai 30 mg per liter. Flavin dan lumiflavin terdapat 0,04 sampai 0,1 mg per liter.

-Monoglukosida	14	9	20	21	13	23	30	36	12
-Diglukosida	15	34	-	-	-	-	1	-	-
Petunidin									
-Monoglukosida	10	3	4	15	10	20	20	26	12
-Diglukosida	17	22	-	1	-	1	2	-	-
Malvidin									
-Monoglukosida	6	2	-	33	29	26	16	27	35
-Diglukosida	21	8	-	2	10	2	2	-	-
Zat-zat lain yang tidak teridentifikasi	11	12	4	12	5	2	2	3	23

Sumber data : Ribereau - Gayon dan Sudraud (1958) *dalam Amerine et al* (1972).

Tannin

Tannin terdapat pada batang, kulit dan biji. Pada cairan buah anggur putih mengandung kurang dari 0,02 persen tannin. Tannin pada buah anggur dikelompokkan menjadi dua macam tannin yaitu hidrolizabel tannin (tannin yang dapat dihidrolisa) dan condens tannin (tannin yang intinya terikat oleh rantai karbon, tannin yang tidak dapat terhidrolisa). Tannin mencakup *d*-katechin, *l* katechin, *l*-epigallokatechin, *dl*-gallokatechin, dan *d*-epikatechingallat. Asam gallat dan asam ellagat sangat pahit dan akan hilang jika diberi penjernih gelatin

Pada kulit buah *l*-epi gallokatechin lebih rendah dari pada dalam bijinya. Menurut Durishidze (1959) *dalam Amerine et al* (1972) proses pembentukan tannin dikemukakan sebagai berikut : gula-gula mesoinositol \longrightarrow Phloroglucin \longrightarrow tannin

Vitamin

Asam askorbat terdapat pada buah anggur segar sebesar 1 sampai 18 mg./100 g, tetapi umumnya jumlahnya dibawah 8 g. Juga terdapat asam dehidroaskorbat. Vitamin ini segera berkurang setelah dihancurkan. Pada buah segar cairan buahnya mengandung asam askorbat 1,1 sampai 11,7 per 100 g cairan buah, kecuali pada varietas Veerport mengandung 18,5 sampai 33,8 mg per liter. Asam askorbat meningkat dengan meningkatnya kematangan buah tersebut. Asam askorbat menurun setelah buah dipecah, mengalami fermentasi dan setelah dipasteurisasi. Penyimpanan pada suhu 0⁰ C dapat menghambat menurunnya asam askorbat.

Provitamin A terdapat dalam jumlah sedikit pada buah anggur segar. Thiamin pada buah segar terdapat kurang dari 600 μ per kg. Pyridoksin terdapat sebanyak 2,9 mg per kg must. Panthotenat pada must besarnya sampai 15 mg per kg. Rata-rata banyaknya vitamin pada must dan wine terlihat pada Tabel 6.

Asam nikotinat sampai 2,8 mg per kg, vitamin yang lain seperti B₆, biotin, asam p-aminobenzoat dan vitamin P faktor juga terdapat.

Tabel 6. Kandungan vitamin pada must dan anggur (wine)^{1,2}.

Vitamin	Must (rata-rata)	White Wine (rata-rata)	Red Wine (rata-rata)
Biotin	2,6	2,0	2,1
Cholin	-	21	2
Mesoinositol	500	497	334
Asam nikotinat	3260	1570	1890
Asam Pantothenat	820	810	980
Pyridoksin	420	440	470
Riboflavin	21	32	177
Thiamin	333	10	7,5
Cobalamine	0,05	0,07	0,06

1. mg/liter untuk mesoinositol dan cholin; untuk yang lainnya μ /liter.

2. Sumber data dari Peynaud dan Lafourcade (1957) dalam Amerine (1972)

Enzim

Pada buah anggur dijumpai berbagai macam enzim diantaranya dijumpai enzim poliphenoloksidase. Aktivitasnya dapat dihambat oleh belerang oksida. Dengan melakukan sentrifuge aktivitas enzim pada must dapat dikurangi, kebanyakan akan terlokalisasi di kulit. Gugusan *o*-phenol akan bereaksi dengan oksigen dengan adanya enzim poliphenoloksidase sehingga akan terbentuk quinon yang berwarna kuning atau merah. Reaksi dengan oksigen yang berlebihan akan menghasilkan senyawa berwarna coklat. Enzim-enzim lain yang terdapat adalah tannase, invertase, pektinase, askorbase, katalase, dehidrase, esterase, dan enzim proteolitik.

Pektin dan Enzim Pektolitik

Apabila buah anggur putih dihancurkan cairan buahnya nampak agak keruh. Apabila didiamkan selama satu malam bagian yang padat mengendap di dasar wadah yang digunakan, sehingga kekeruhannya cairan buah tersebut akan berkurang. Setelah buah dihancurkan, ke dalam cairan buahnya ditambahkan enzim pemecah pektin (pektinase) maka cairan buah menjadi agak jernih. Jika pektin tidak dipecah maka partikel dari daging buah akan diikat dalam bentuk suspensi dan dengan terpecahnya pektin maka zat yang terikat tadi akan mengendap meninggalkan cairan buah sehingga cairan buah menjadi jernih.

Pektin merupakan zat yang terdapat pada sel tanaman yaitu antara sel yang disebut lamella tengah yang dapat menguatkan struktur sel tanaman. Ketika buah anggur semakin matang pektin akan terhidrolisis oleh enzim pektolitik dan buah akan menjadi lunak. Besarnya pektin yang terdapat dalam buah anggur yang sudah matang berkisar antara 0,02 sampai 0,5 persen.

Pektin tersusun dari asam anhidro galakturonat dan mencakup protopektin, asam pektat dan pektat. Pektin merupakan polimer dari molekul asam galakturonat yang masing-masing mengandung gugusan metoksi, gula-gula seperti galaktosa, mannosida dan arabinosa. Pektin mempunyai berat molekul antara 10 000 sampai 400 000. Dalam proses fermentasi pektin yang terdapat dalam cairan buah akan dipecah oleh enzim pektolitik yang berasal dari khamir dan akan terbentuk alkohol.

Secara alami enzim pemecah pektin terdapat dalam buah anggur, dan akan memecahkan pektin secara perlahan-lahan dan mengurangi viskositas cairan buah anggur. Dalam proses pemecahan ini akan terbentuk asam galakturonat dan metil alkohol. Enzim ini tidak terdapat dalam jumlah yang cukup sehingga perlu ditambahkan enzim yang dibuat secara komersial. Enzim pektolitik yang diperdagangkan menggunakan berbagai macam nama seperti pektinase, pektolase, pektozyme dan lain sebagainya. Enzim pektolitik dihasilkan dari aktivitas fungi.

Dalam proses pengolahan cairan buah penambahan enzim komersial adalah umum digunakan demikian pula dalam proses pembuatan wine. Aktivitasnya tergantung pada pH dan biasanya digunakan pada pH 2,8-4,2 dan suhu yang diperlukan sekitar 8 sampai 55⁰

C. Dengan suhu optimum 45 dan 50⁰ C. Adapun zat penghambat aktivitas enzim ini adalah belerang dioksida, alkohol (diatas 17 persen), penjernih bentonit dan tannin.

Senyawa Pembentuk Aroma

Holley *et al* (1955) dalam Amerine *et al* (1972) anthranilat merupakan senyawa yang dominan membentuk aroma pada buah anggur jenis Concord. Selanjutnya ditemukan senyawa sebagai berikut (mg per ml : etanol (35), metanol (1,5), ethyl asetat (3,5), methyl asetat (0,15) , aseton (0,3), asetaldehida (0,03), methilantranilat (0,033), dan asam asetat.

Logam-Logam

Komposisi must dan wine/anggur termasuk kandungan logamnya dapat dilihat pada Tabel 7. Menurut Jaulmes *et al* (1960) dalam Amerine (1972) terdapat Pb 0,025 sampai 0,4 mg per liter pada must. Logam dapat berkurang dalam proses fermentasi terutama logam Pb.

Tabel 7. Komposisi Must dan Wine /Anggur (Amerine *et al.*, 1972)

	Must (persen)	Wine (persen)
1. Air	70 - 85	80 - 90
2. Karbohidrat	15 - 25	0,1 -0,3
Dektrose	8 - 13	0,5 - 0,1
Levulose	7 - 12	0,05 - 0,10
Pentose	0,08 - 0,20	0,08 - 0,20
Arabinose	0,05 - 0,15	0,05 - 0,10
Rhamnose	0,02 - 0,04	0,02 - 0,04
Xylose	Sedikit	Sedikit
Pektin	0,01 - 0,10	Sedikit
Inositol	0,02 - 0,08	0,03 - 0,05
3. Alkohol dan senyawa terkait		
Ethil	Sedikit	8,0 - 15,0
Methyl	0,0	0,01 - 0,02
2,3- Butylin glikol	0,0	0,01 - 0,15

Asetoin	0,0	0,000 - 0,003
Gliserol	0	0,30 - 1,40
Sorbitol	Sedikit	Sedikit
Diasetil	0,0	Sedikit - 0,0006
4. Aldehyde	Sedikit	0,001 - 0,050
5. Asam-asam organik	0,3 - 1,5	0,3 - 1,1
Tartarat	0,3 - 1,0	0,1 - 0,6
Malat	0,1 - 0,8	0,0 - 0,6
Sitrat	0,01 - 0,05	0,0 - 0,05
Suksinat	0,0	0,05 - 0,15
Laktat	0,0	0,1 - 0,3
Asetat	0,0 - 0,02	0,03 - 0,05
Formiat	0	Sedikit
Propionat	0	Dalam anggur yang rusak
Butirat	0	Dalam anggur yang rusak
Glukonat		Hanya pada yg. kena
Glukoronat		botrytis
Glioksilat	?	Hanya pada yg. kena
Mesoxalat	?	botrytis
Gliserat	0,00012
Sakarat	0,0001 - 0,0003
Amino	0,01 - 0,08	Sedikit
Pantothenat	Sedikit
Quinat	0,	0,01 - 0,20

Tabel 7. Sambungan

<i>p</i> -Koumarat	Sedikit	Sedikit
Shikimat	sedikit	?
Sulfur	0	0,00 - 0,05
Karbonat	Sedikit	bervariasi
6. Poliphenol dan senyawa terkait		
Anthosianin	Sedikit	Sedikit
Khlorofil	Sedikit	?
Xanthofil	Sedikit	?
Karotin	Sedikit	
Flavonol		
-Quersetin	Sedikit	Sedikit
-Quersetin	Sedikit	Sedikit
-Rutin	?	?
Tannin	0,01 - 0,10	0,01 - 0,30

Katechin	Sedikit	Sedikit
Gallokatechin	Sedikit	Sedikit
Epikatechin gallat	Sedikit	Sedikit
Asam gallat	Sedikit	Sedikit
Asam Isokhlorogenat	Sedikit	Sedikit
Asam Kafeat	Sedikit	Sedikit
Asam p-Koumarilquinat	Sedikit	Sedikit
7.Senyawa-senyawa Nitrogen		
Total	0,03 -0,17	0,01 - 0,09
Protein	0,001 - 0,01	0,001 - 0,003
Amino	0,017 - 0,110	0,010 - 0,200
Humin	0,001 - 0,002	0,001 - 0,002
Amide	0,001 - 0,004	0,001 -0,008
Ammonia	0,001 - 0,012	0,000 - 0,071
Residu	0,01 - 0,02	0,005 - 0,20
8. Mineral		
Kalium	0,15 - 0,25	0,045 - 0,175
Magnesium	0,01 - 0,025	0,01 - 0,020
Kalsium	0,004 -0,025	0,001 - 0,021
Natrium	Sedikit - 0,020	Sedikit - 0,044
Besi	Sedikit - 0,003	Sedikit - 0,005

Tabel 7. Sambungan

Aluminium	Sedikit - 0,003	Sedikit - 0,07
Mangan	Sedikit - 0,0051	Sedikit - 0,05
Cuprum	Sedikit - 0,0003	Sedikit - 0,0005
Boron	Sedikit - 0,007	Sedikit -0,004
Rubidium	Sedikit - 0,0001	Sedikit - 0,0004
Phosphat	0,02 - 0,05	0,003- 0,090
Sulfat	0,003 - 0,035	0,003 - 0,22
Asam silikat	0,0002 - 0,005	0,0002 - 0,005
Khlorida	0,001 - 0,010	0,001 - 0,060
Fluorida	Sedikit	0,0001 - 0,001
Iodium	Sedikit	Sedikit - 0,001
Karbon dioksida	0	0,01 - 0,05
Oksigen	Sedikit	Sedikit - 0,00006

Faktor-Faktor Lingkungan

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi komposisi kimia pada must dan wine adalah faktor lingkungan tempat tumbuhnya tanaman anggur. Faktor lingkungan pertama adalah suhu sedangkan faktor kedua adalah hujan dan kelembaban, angin, tanah, dan kombinasi dari faktor-faktor tersebut.

III. MIKROBA DALAM PEMBUATAN WINE

1. *Botrytis* pada Buah Anggur

Kapang *Botrytis* atau penyakit busuk pada buah anggur ada yang dikehendaki tetapi ada pula tidak diinginkan, ini terutama tergantung pada cuaca. Kapang yang dikehendaki adalah kapang yang berharga. *Botrytis cinerea* merupakan kapang yang menyerang buah anggur memberi citarasa yang bagus dan dapat memberi rasa manis sehingga membentuk alkohol dengan kadar tinggi. *Botrytis cinerea* membentuk lapisan abu-abu kebiruan pada buah anggur, memberi dua macam efek yaitu dikehendaki dan ada yang tidak dikehendaki.

Apabila kelembaban tinggi (lebih dari 90 %) dalam waktu maksimum 24 jam spora *botrytis* akan berkecambah dan kapang akan tumbuh dan dapat masuk ke dalam jaringan buah. Apabila infeksi ini kemudian diikuti dengan periode kelembaban yang rendah (60 % atau dibawahnya) dan apabila suhu antara 24 dan 25⁰ C buah anggur akan mengkerut. Cairan buah akan lebih manis karena menurunnya kadar air dari buah sehingga konsentrasi gula akan meningkat dan akan memberikan wine yang berkualitas tinggi.

Apabila cuaca sangat lembab buah anggur akan pecah maka dapat terjadi infeksi oleh kapang *botrytis* dan kapang lain yang senang dengan suasana lembab, Khamir, dan bakteri asam asetat yang menyebabkan rasa manis pada cairan buah anggur hilang. Keadaan yang demikian tersebut menyebabkan kualitas wine yang dihasilkan jelek.

Buah anggur yang terinfeksi oleh kapang *Botrytis cinerea* dapat menghasilkan wine yang berkualitas bagus sehingga mempunyai harga yang tinggi di pasaran dunia. Wine yang terasa manis dan lebih lanjut tidak mengalami fermentasi, maka jenis wine ini umumnya mengandung alkohol sekitar 12 - 14 % dengan kadar gula 5 sampai 15 %. Suatu antibiotik yang dapat dihasilkan oleh *botrytis* yang disebut *botryticin* mencegah pertumbuhan khamir sehingga menghambat proses fermentasi gula menjadi alkohol. Gula

umumnya diubah oleh khamir menjadi alkohol. Kapang *botrytis* juga menghasilkan metabolit-metabolit lain seperti gliserin yang mempengaruhi komposisi dan citarasa wine. Gliserin yang dihasilkan sebesar 3 %, dan biasanya pada wine terdapat gliserin kurang dari 1 %.

2. *Saccharomyces*

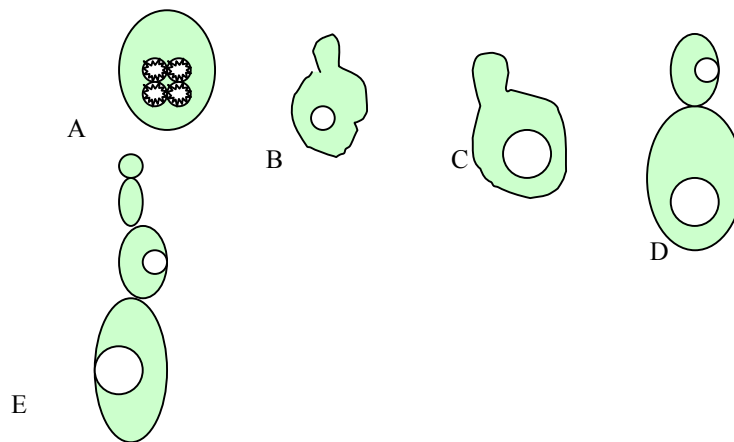
Saccharomyces termasuk jenis khamir. Dalam mengklasifikasikan khamir harus diketahui sifat-sifat morfologisnya sedangkan sifat-sifat fisiologisnya diperlukan bagi ahli mikrobiologis pangan. Sifat-sifat morfologi dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop (Frazier, 1967).

Khamir (*yeast*)

Khamir mempunyai ukuran lebih besar dari bakteri yaitu 20 mikron. Pertumbuhan dapat secara uniseluler, tetapi juga dapat melakukan perkembanganbiakan dengan pertunasan. Khamir dapat bermanfaat tetapi juga ada yang bersifat merusak bahan pangan. Khamir terutama *Saccharomyces cerevisiae* dapat melakukan proses fermentasi bermanfaat untuk pembuatan makanan dan minuman beralkohol misalnya bir, wine, roti, brem dan lain-lainnya. Khamir yang merusak bahan pangan misalnya dapat menyebabkan kerusakan pada sirup, sari buah, jeli, daging dan lain-lainnya.

Sifat-sifat Umum dari Khamir

Bentuk khamir dapat berbentuk bulat oval, berbentuk seperti jeruk, silindris, segitiga, memanjang seperti miselium sejati atau miselium palsu. Sedangkan *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai bentuk seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Perkembangan sel *Saccharomyces cerevisiae*
 A. Sebuah sel dengan askospora. B dan C Sebuah sel membentuk tonjolan. D Terbentuk sebuah sel anak. E. Terbentuk sel yang saling berdekatan sehingga nampak sebagai miselia palsu (Alexopoulos, 1964).

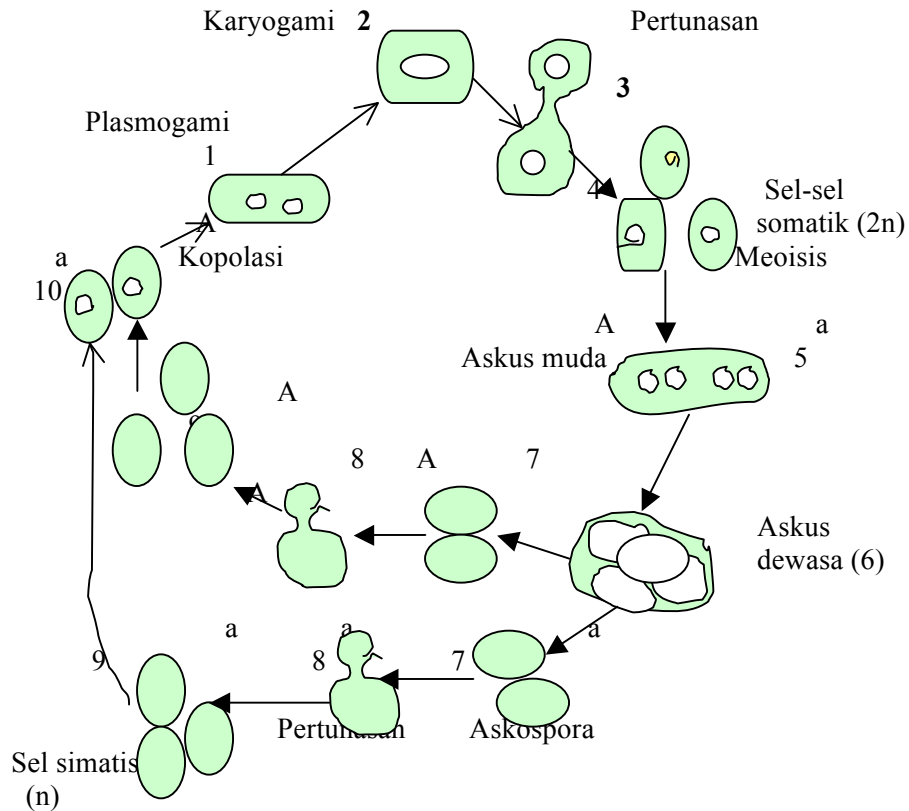
Bagian struktur yang terlihat adalah dinding sel, sitoplasma, vakuola, butir lemak, albumin atau pati. Dengan melakukan pengecatan khusus akan dapat dilihat intinya.

Perkembangbiakan

Kebanyakan khamir berkembangbiak secara aseksual atau dengan pertunasan, suatu proses penonjolan protoplasma keluar dari dinding sel seperti pembentukan tunas, membesar dan akhirnya lepas menjadi sebuah sel khamir baru. Beberapa jenis khamir dapat pula berkembang biak dengan pembelahan dan ada juga dengan pembelahan dan pembentukan tunas.

Perkembangbiakan secara seksual adalah dengan pembentukan askospora dalam kotak (ascus). Askospora ini dapat berkembang menjadi sel somatis atau sel vegetatif. Sel vegetatif ini dapat membelah membentuk sel anakan. Dua sel anak ini saling menempel kemudian dinding selnya larut membentuk pembuluh kopulasi tempat yang akan dilalui oleh inti sel. Kedua inti sel mengadakan perkawinan yang dinamakan karyogami. Hasil dari karyogami ini terbentuk zygote dengan sebuah inti dengan $2n$ khromosom. Apabila sudah cukup dewasa zygota akan membelah secara meiosis membentuk 4 inti. Beberapa

jenis khamir dari 4 inti kemudian membelah lagi sehingga akan terbentuk 8 inti. Siklus hidup *Saccharomyces cerevisiae* terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Siklus hidup *Saccharomyces cerevisiae* (Alexopoulos, 1964).

Dalam siklus hidup *Saccharomyces cerevisiae* perkawinan dua sel yang bersifat haploid (n) melakukan perkawinan dua plasma (plasmogami) (1). Dari proses plasmogami berlanjut terjadinya karyogami (perkawinan dua buah inti) sehingga terbentuk sebuah inti yang bersifat diploid ($2n$) (2). Sel yang diploid bertunas membentuk sel-sel yang diploid (3 –4). Setiap sel yang diploid berkembang menjadi askus (kantong) dan setiap inti di dalam askus melakukan pembelahan secara meiosis sehingga terbentuk 4 buah dan masing-masing inti menjadi 4 buah askospora yang bersifat haploid (5). Setiap askospora

setelah dewasa (6) akan melepaskan diri dari askusnya. Dua askospora mempunyai sifat yang sama (A) dan dua askospora yang lainnya mempunyai sifat berbeda (a) (7). Kedua macam

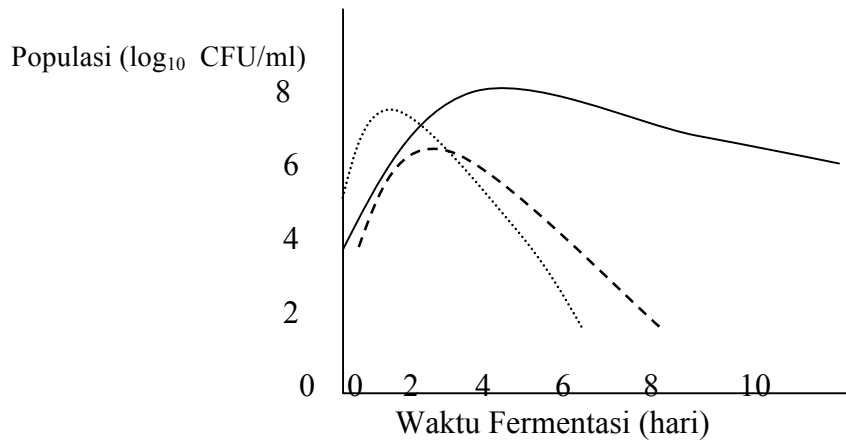
askospora ini masing-masing berkembang membentuk tunas (8) dan kemudian melepaskan diri dan terbentuk populasi sel yang bersifat haploid (9). Sel yang haploid ini ukurannya lebih kecil dari sel –sel yang diploid. Kedua sel-sel yang berlainan ini dapat melakukan kopulasi (10).

Sifat-sifat Fisiologi *Saccharomyces* dan khamir lainnya

Menurut Frazier, (1967) umumnya *Saccharomyces* dan khamir lainnya hidup dengan baik dengan adanya air tetapi dengan kadar air yang lebih rendah dari pada yang diperlukan oleh bakteri. Pada kebanyakan khamir dapat hidup dengan A_w 0,88 sampai 0,94. *Saccharomyces* memerlukan A_w minimal 0,905. Sebaliknya khamir yang bersifat osmofilik dapat tumbuh pada media dengan A_w 0,62 sampai 0,65 tetapi ada pula yang pertumbuhan terhenti pada A_w 0,78 misalnya pada sirup atau larutan garam.

Kisaran suhu untuk pertumbuhan khamir optimum pada suhu 25 sampai 30⁰ C dan suhu maksimum sekitar 35 sampai 47⁰ C. Beberapa jenis diantaranya dapat pula tumbuh pada suhu 0⁰C bahkan dapat pada suhu lebih rendah. Derajat keasaman yang dikehendaki sekitar pH 4 sampai pH 4,5 dan tidak akan dapat tumbuh dalam keadaan basa. Khamir dapat tumbuh dengan baik dalam keadaan aerob kecuali khamir yang bersifat fermentatif hidup dalam keadaan anaerob. Khamir dapat mengubah gula-(glukosa) menjadi alkohol. Nutrisi diperlukan untuk pertumbuhan khamir. Nitrogen diperlukan dalam bentuk sederhana atau kompleks misalnya dalam bentuk ammonia dan urea, asam amino dan polipeptida dalam bentuk senyawa yang lebih kompleks (Frazier, 1967) Menurut Doyle (2001) bahwa pH dibawah pH 3,5 pertumbuhan *Saccharomyces cerevisie* akan terhambat. Selanjutnya dikatakan bahwa cairan buah pH nya berkisar 3,0 sampai 3,5. Sedangkan menurut Rankine (1998) bahwa pembuatan wine dari buah anggur di Australia pH nya yang digunakan berkisar 3,0 – 4,0.

Doyle *et al* (2001) menyatakan bahwa pada ekstraksi cairan buah anggur segar terdapat khamir sebesar 10^3 sampai 10^5 cfu/ml terutama terdiri dari *Kloeckera apiculata* dan *Hanseniaspora* juga terdapat jenis *Candida*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Hansenula*, *Kluiveromyces* dan *Rhodotorula*. Jenis-jenis khamir ini disebut jenis non *Saccharomyces* atau disebut jenis khamir liar. Caruso (2002) juga menjelaskan bahwa dalam cairan buah anggur juga mengandung *Kloeckera*. Pada cairan buah ini kemungkinan terdapat dalam jumlah yang kecil, tergantung dari buah itu sendiri dan besarnya kontaminasi dari peralatan yang digunakan dalam proses pengepresan cairan buah tersebut. Jenis-jenis **non *Saccharomyces*** (khamir liar) hidup hanya 2-4 hari dalam proses fermentasi awal yang selanjutnya akan mengalami kematian. Pertumbuhan khamir ini populasinya maksimum $10^4 - 10^7$ cfu/ml. Kematianannya ini disebabkan terbentuknya alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces cerevisiae* terus hidup sampai proses fermentasi terhenti. *Saccharomyces cerevisiae* tahan terhadap konsentrasi alkohol 15 % bahkan lebih. Mengenai grafik pertumbuhan *Saccharomyces* dan non *Saccharomyces* terlihat seperti pada Gambar 3 (Doyle,2001).



Gambar3. Gambar 3. Pertumbuhan khamir pada fermentasi alkohol pada pembuatan wine (Doyle,2001).

————— *Saccharomyces cerevisiae*
 - - - - - Jenis *Candida*
 *Kloeckera* dan *Hanseniaspora*

Menurut Kyung Man You *et al* (2003) bahwa etanol merusak DNA pada beberapa jenis khamir dan menyebabkan tidak aktifnya beberapa enzim heksokinase dan dehidrokinase. Namun demikian *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai sifat toleran terhadap konsentrasi etanol dibawah 18 %.

Mikroba yang berperan untuk mengubah gula menjadi alkohol dalam suatu proses fermentasi adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan jenis yang lain adalah *S. uvarum*. *S. cerevisiae* berbentuk oval sangat penting dalam fermentasi pada pembuatan wine sedangkan pada khamir lain berbentuk lebih bulat (sferis). *S. cerevisiae* disebut pula *S. ellipsoideus* atau *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*. Khamir ini sering terdapat pada kulit buah anggur yang masak dan dapat menyebabkan fermentasi pada buah anggur yang telah dihancurkan tanpa diberikan khamir lagi. Selaput putih pada bulir buah dan bunga anggur,

adalah lapisan lilin yang dihasilkan oleh buah dan bukan sel khamir, walaupun populasi khamir dapat melekat pada buah anggur tersebut.

Walaupun pada kulit buah anggur terdapat khamir ini tetapi sekarang dalam pembuatan wine sekarang menggunakan biakan murni. Pada kulit buah anggur terdapat khamir-khamir liar seperti *Hansenula*, *Kloeckera*, *Pichia*, dan *Torulopsis*. Khamir-khamir liar mudah dihambat pertumbuhannya dari pada strain murni yang digunakan sebagai pembuatan wine (*S. cerevisiae*).

S. cerevisiae umumnya dipilih sebagai strain untuk menghasilkan alkohol yang tinggi per gram gula yang digunakan, hilangnya sel-sel khamir dari proses akhir lebih sedikit, mempunyai kemampuan fermentasi pada suhu rendah, dapat membentuk flavor yang spesifik. Walaupun khamir liar dapat membentuk alkohol tetapi dapat terbentuk produk-produk lain dengan proporsional yang tinggi. Misalnya *Hansenula* relatif membentuk ester-ester pembentuk aroma. Walaupun demikian pertumbuhannya akan terhenti pada kadar alkohol 4 sampai 6 persen. Beberapa jenis *Torulopsis* akan dapat memfermentasikan sampai kadar alkohol 10 persen.

Jenis-jenis lain yang termasuk genus *Saccharomyces* yang digunakan untuk pembuatan wine khusus misalnya : *S. bayanus*, *S. capensis*, atau *S. fermentati* mendukung pembentukan citarasa khusus untuk anggur *sherry*. Sebaliknya *S. bayanus* digunakan untuk membuat table wine dan champagne tanpa komponen yang jelas dan mempunyai rasa yang berbeda dengan wine yang difermentasi dengan *S. cerevisiae*. Wine yang dibuat berasal dari berbagai daerah dengan jenis buah anggur yang sama, komposisi dan pengolahan yang sama dapat menghasilkan wine dengan rasa yang berbeda.

Seperti halnya dengan mikroba lain khamir juga memerlukan nutrien (zat-zat makanan) seperti sumber karbohidrat, nitrogen, vitamin dan unsur-unsur mikro yang lain. Cairan buah anggur mengandung glukosa dan fruktosa selain unsur yang lain seperti telah dikemukakan diatas. Glukosa dan fruktosa difermentasikan dan mendukung pertumbuhan sebagian besar khamir. Maltosa yang berasal dari pemecahan pati dapat difermentasikan oleh khamir. Sukrosa dapat difermentasikan karena khamir dapat memproduksi enzim invertase yang mengubah sukrosa menjadi gula invert (glukosa dan fruktosa). Sukrosa kadang -kadang ditambahkan kedalam cairan buah yang akan difermentasikan, tetapi

untuk buah yang sudah masak dan kadar gulanya sudah tinggi penambahan tersebut tidak perlu.

Proses perubahan pati menjadi gula hanya terjadi pada pembuatan minuman dengan bahan baku yang mengandung pati seperti halnya pembuatan beer atau brem. Gula-gula lain seperti galaktosa, manosa, dan melibiosa tidak pasti dapat atau tidaknya difermentasikan meskipun khamir tersebut telah dibiasakan pada bahan tersebut. Gula-gula lain terutama pentosa seperti arabinosa, ribosa, dan xylosa terdapat dalam cairan buah dalam jumlah yang kecil tetapi tidak dapat difermentasikan oleh khamir, gula-gula yang tidak difermentasikan masih terdapat dalam wine.

Khamir wine dan khamir-khamir lain pada umumnya tidak memerlukan adanya asam-asam amino atau senyawa-senyawa nitrogen kompleks yang lain. Khamir dapat tumbuh dan melakukan fermentasi dan berkembang biak dengan menggunakan ammonia atau garam-garam ammonium. Khamir tersebut juga menggunakan nitrogen dalam bentuk senyawa organik sederhana seperti karbamide, tetapi dapat menggunakan N dalam bentuk nitrat. Umumnya buah anggur mengandung cukup asam-asam amino atau dalam bentuk senyawa nitrogen yang lain yang dapat digunakan untuk metabolisme oleh khamir selama proses fermentasi. Berbeda dengan buah anggur misalnya untuk memfermentasikan madu, atau buah apel diperlukan adanya penambahan senyawa-senyawa nitrogen untuk meningkatkan aktivitas khamir.

Mineral-mineral diperlukan oleh khamir untuk hidupnya. Buah anggur mengandung cukup mineral untuk keperluan khamir dalam melakukan proses fermentasi. Umumnya fosfor diperlukan dalam bentuk ion-ion fosfat. Biotin mutlak diperlukan oleh khamir, riboflavin dapat dihasilkan oleh khamir bahkan dihasilkan dalam jumlah banyak.

Pembentukan alkohol berlangsung dalam fermentasi anaerob sejalan dengan pertumbuhan khamir. Pertumbuhan khamir dengan jalan pembelahan sel. Sebuah sel menjadi dua sel baru yang besarnya sama. Sel yang baru terbentuk merupakan sel-sel muda. Selain dengan pembelahan sel khamir dapat pula membiak dengan membentuk tunas pada sel induk. Tunas ini membesar dan kemudian terpisah sel induknya kemudian membentuk tunas sendiri. Sel induk menjadi tua kemudian akan mati. Pecahnya sel-sel tua dapat mendukung nutrien untuk sel muda yang sedang berkembang. Ini mungkin suatu

alasan mengapa fermentasi yang dilakukan oleh khamir dapat berlangsung dengan mulus dari pada fermentasi yang dilakukan oleh bakteri.

Dalam fase logaritmik jumlah sel meningkat dengan cepat tiap sel menjadi dua dari dua menjadi empat demikian seterusnya sehingga jumlahnya menjadi sangat banyak. Fase ini berlangsung terus sampai faktor - faktor pendukung untuk berkembangnya khamir tersebut terbatas. Misalnya jumlah gula yang tersedia pada media tersebut sudah sangat sedikit sekali atau sudah banyak terbentuk alkohol yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan khamir. Bahkan dengan terbatasnya nutrisi yang tersedia sehingga pertumbuhan khamir akan terhenti.

Saat pertumbuhan khamir dan proses fermentasi dapat terjadi komplikasi oleh adanya mikroba - mikroba lain. Cairan buah anggur mempunyai kadar pH 3 sampai 4. Sel mikroba yang bersifat patogen tidak tumbuh pada pH tersebut. Selama proses fermentasi, dalam keadaan anaerob dan terbentuk karbondioksida yang cukup tinggi dapat mencegah mikroba lain misalnya mencegah pertumbuhan kapang (*mold*). Pada wine tidak terdapat bakteri patogen. Dalam kenyataan bahwa dengan kadar alkohol 4 sampai 6 persen khamir liar tidak dapat berkembang.

Dalam jumlah terbatas terdapat mikroba lain yaitu bakteri pembentuk asam asetat yaitu *Acetobacter aceti* dan *A. mesoxydans*. Bakteri ini mengubah alkohol menjadi asam asetat. Bakteri ini bersifat aerob dan dapat dihambat dengan menggunakan belerang dioksida. Dalam pembuatan vinegar *Acetobacter* ditumbuhkan pada wine dalam keadaan aerob sehingga terbentuk asam cuka.

Untuk mencegah agar wine yang dibuat tidak menjadi vinegar bakteri pembentuk asam cuka harus seminimal mungkin dengan membersihkan alat-alat dan wadah yang digunakan dan dapat digunakan zat-zat kimia penghambat pertumbuhan mikroba tersebut misalnya dapat digunakan belerang dioksida.

Bakteri lain yang terdapat pada wine adalah bakteri asam laktat. Jenis bakteri ini dapat merusak wine diantaranya terdapat genus *Lactobacillus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc*. Genus ini mempunyai banyak jenis-jenis yang tersebar secara luas di alam yang berarti terdapat pula pada cairan buah anggur. Bakteri ini toleran terhadap keasaman wine dan beberapa diantaranya mampu berkembang biak dalam larutan yang mengandung

alkohol tinggi dan dapat berkembang biak sewaktu terjadinya proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir, dapat pula memetabolisme gula-gula membentuk asam laktat dan senyawa-senyawa lain. Akan tetapi pertumbuhannya tidak secepat pertumbuhan khamir dan dalam tingkat ini jarang menimbulkan masalah. Setelah fermentasi alkohol terhenti mereka masih berkembang pada wine dan mengkonsumsi nutrien-nutrien yang tidak digunakan oleh khamir.

Hasil penting dari perkembangan biakan bakteri asam laktat pada wine disebut fermentasi malo laktat (*malo-lactic fermentation*). Asam malat ($\text{HOOC}-\text{CH}_2\text{CHOH}-\text{COOH}$) diubah oleh mikroba ini menjadi asam laktat $\text{CH}_3-\text{CHOH}-\text{COOH}$. Sebagai akibat terjadinya proses ini sehingga keasaman anggur akan berkurang pH menjadi naik karena dua buah karboksil pada asam malat berkurang menjadi sebuah karboksil pada asam laktat. Umumnya apabila terjadi fermentasi malo laktat, asam malat akan diubah menjadi asam laktat. Kemungkinan dapat terjadi total asam terlalu tinggi pada wine sehingga agar terjadi penurunan keasaman maka dikehendaki terjadinya fermentasi malo laktat.

Waktu terjadinya fermentasi malo laktat adalah penting diperhatikan. Apabila fermentasi malo laktat tersebut terjadi setelah wine dibotolkan, terjadi peningkatan jumlah sel sehingga akan menyebabkan terjadi kekeruhan yang tidak dikehendaki. Apabila terjadi fermentasi malo laktat dalam botol dan karbon dioksida yang terbentuk tidak bisa keluar maka pada wine terjadi yang disebut *gassy*. Terjadinya *gassy* pada table wine dianggap kualitasnya negatif. Jenis kerusakan lain akibat dari beberapa jenis kelompok mikroba malo laktat terjadi *ropy wine*, terbentuk zat gelatin yang tebal.

Kapang tidak dapat tumbuh pada anggur dan tidak menimbulkan masalah. Hanya kadang-kadang terdapat pada bagian luar pada botol dan pada tutupnya.

Terdapatnya *Botrytis cinerea* pada buah anggur akan dapat menyebabkan wine yang dihasilkan terasa manis. Cairan buah yang diperoleh mengandung gula lebih tinggi karena hilangnya kadar air. Menurut Frazier (1967) kerusakan anggur dapat disebabkan oleh mikroba dan non mikroba. Kerusakan non mikroba dapat disebabkan oleh logam dan garam-garamnya, enzim-enzim dan zat-zat yang digunakan pada waktu penjernihan. Misalnya besi dapat menyebabkan suatu endapan keabu-abuan, hitam atau biru yang disebut **ferric casse** atau pada white wine terjadi endapan besi fosfat berwarna putih yang

disebut **white casse**. Seng dan tembaga (Cu) dan garam-garamnya menyebabkan terjadinya kekeruhan pada wine. Enzim peroksidase dari kapang dapat menyebabkan anggur berwarna coklat, sedangkan red wine dapat terjadi perubahan warna. Gelatin yang digunakan untuk menjernihkan wine dapat menyebabkan terjadinya kekeruhan.

Mikroba yang menyebabkan kerusakan terutama khamir liar, kapang dan bakteri dari genus *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, dan mungkin pula *Microccus* dan *Pediococcus*.

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada wine :

1. Keasaman atau pH. Kapang, khamir dan bakteri asam laktat toleran terhadap asam pada pH 3,3 sampai 3,5 lebih rendah dari sebagian besar pH wine.
2. Kadar gula. Pada **dry wine** dengan kadar gula rendah (sekitar 0,1 persen atau kurang) jarang mengalami kerusakan oleh mikroba tetapi dengan kadar gula 0,5 sampai 1,0 persen lebih mudah dirusak oleh mikroba.
3. Konsentrasi alkohol. Toleransi mikroba terhadap alkohol bervariasi. Kadar alkohol 14 sampai 15 persen dapat menghambat kerusakan must oleh mikroba. Jenis *Leuconostoc* terhambat pada kadar alkohol di atas 10 persen.
4. Konsentrasi zat-zat tambahan. Jenis *Acetobacter* dapat membentuk vitamin sendiri, tetapi bakteri asam laktat sangat memerlukannya. Sumber dari zat-zat ini dapat berasal khamir wine yang melepaskan zat-zat tersebut karena terjadi hidrolisis pada sel-sel khamir.
5. Konsentrasi tannin. Tannin dan gelatin yang ditambahkan untuk klarifikasi dapat mengurangi jumlah mikroba, tetapi umumnya dosis yang ditambahkan kurang mencukupi untuk menghambat pertumbuhan mikroba.
6. Jumlah belerang dioksida yang terdapat. Untuk mencegah kerusakan umumnya ditambahkan sebanyak 75 sampai 200 ppm. Efektivitas belerang oksida ini tergantung pada jenis mikroba tersebut.
7. Suhu penyimpanan . Kerusakan umumnya sangat cepat pada suhu 20⁰ sampai 35⁰C. Kerusakan akan menurun dengan turunnya suhu penyimpanan.

8. Tersedianya udara. Dengan tidak adanya udara mencegah pertumbuhan mikroba yang bersifat aerob, misalnya kapang, dan *Acetobacter* tetapi bakteri asam laktat dengan baik dalam keadaan anaerob.

Cairan buah anggur dapat merupakan tempat pertumbuhan mikroba. Cairan buah anggur terasa manis mengandung 18 sampai 24 % gula, pH antara 3 - 4, asam yang dititrasi sebagai asam tartarat sekitar 3 - 8 gram per liter dan mengandung belerang dioksida yang ditambahkan kedalamnya. Mikroba dalam wine sulit hidup dari pada dalam cairan buah anggur, karena dalam wine terdapat alkohol (kadar alkohol dalam wine 7 - 20 % v/v). Mikroba yang terdapat dalam cairan buah anggur adalah khamir, bakteri asam asetat dan laktat. Sedangkan kapang terutama hanya terdapat pada cairan buah anggur. Banyak mikroba dapat tumbuh pada lapisan lilin yang terdapat pada bagian bunga anggur dan mikroba ini akan terseleksi secara alami, ada yang dapat hidup terus atau akan mengalami kematian. Beberapa macam mikroba dapat merusak anggur (wine) yang sedang dalam proses fermentasi seperti misalnya *Bacillus* pembentuk spora.

Khamir liar terdapat pada buah anggur dan banyak juga terdapat pada tanah-tanah pekarangan/perkebunan anggur dan dengan adanya bantuan lalat *Drosophylla* khamir dapat pindah ke buah anggur. Di antara khamir ini adalah *Saccharomyces* yang mampu dapat tumbuh dalam sari buah anggur dan mampu mengubah gula menjadi alkohol. Bahkan diantaranya dapat hidup sampai pada kadar alkohol 18 %.

Bakteri yang terdapat sangat terbatas dan umumnya terdapat dua kelompok bakteri

1. Bakteri asam laktat, diantaranya yang masuk dalam bakteri pembentuk asam laktat adalah *Lactobacillus* (berbentuk batang panjang), *Leuconostoc* (batang pendek) dan bakteri *Pediococcus* (bebentuk bulat).

2. Bakteri asam asetat atau *Acetobacter* terutama membentuk asam asetat dan etil asetat

Jadi dapat dikatakan relatif sedikit terdapat genus-genus mikroba yang tumbuh pada buah anggur dan pada wine.

Kultur Murni Khamir

Pada awalnya terjadi proses fermentasi secara alami tetapi hasilnya tidak dapat diperkirakan, kadang-kadang hasilnya baik tetapi umumnya mengecewakan.

Dalam tahun 1950 di Australia telah dikembangkan biakan murni untuk pembuatan *sparkling wine*.

Tujuan penggunaan biakan murni dalam fermentasi alkohol:

- Dengan cepat terjadinya proses fermentasi
- Prediksi dan pengaturan fermentasi dapat dilakukan
- Tidak terjadi pembentukan aroma dan citarasa yang tidak dikehendaki
- Perubahan gula menjadi alkohol secara efisien dan tidak terdapat sisa gula.
- Dalam keadaan tertentu dapat dilakukan pembuatan produk spesifik misalnya *sparkling wine*

Jadi dengan menggunakan biakan murni akan diperoleh anggur yang berkualitas tinggi. Hal ini telah banyak dilakukan di Australia dan New Zealand

Khamir Pembunuh (*Killer yeast*)

Khamir pembunuh pertama kali diketemukan dalam tahun 1965. Sejumlah khamir sekurang-kurangnya dari 7 macam genus menghasilkan toksin yang merupakan toksin pembunuh dapat berupa glikoprotein yang dapat membunuh khamir-khamir lain. Terdapatnya toksin pembunuh tersebut dapat ditunjukkan seperti halnya antibiotika yang dihasilkan oleh kapang yang dapat menghambat pertumbuhan strain yang lain.

Dapat dibedakan tiga macam strain khamir yaitu strain pembunuh, strain senssitif yaitu strain yang dapat terbunuh oleh toksin yang dikeluarkan oleh strain pembunuh dan yang ketiga adalah strain resisten atau strain netral yang tidak terpengaruh oleh toksin. Protein atau toksin yang bersifat membunuh telah banyak yang diidentifikasi dan dikelompokkan menjadi 10 kelompok yang diberi kode K1 sampai K10. Tetapi kenyataannya ada toksin yang teridentifikasi yang tidak dapat dimasukkan ke dalam salah satu kelompok ini sehingga perlu adanya klasifikasi yang lebih luas.

Aktivitas toksin ini sangat tinggi pada kisaran pH 4 - 5 tetapi pengaruhnya masih nampak pada wine dalam pH 3 -4. Toksin ini pada khamir pembunuh seperti virus dan mempunyai stabilitas pada suhu 30 °C dan pada pH lebih rendah lebih stabil daripada pada pH lebih tinggi. Toksin pada khamir pembunuh ini umumnya akan inaktif pada pH diatas 5. Perlu diketahui pada kultur starter khamir kering dengan sifat sebagai pembunuh dapat diperoleh secara komersial.

Sifat pembunuh dari khamir tidak efektif dalam kultur murni yang disimpan, oleh karena suatu khamir pembunuh apabila ditumbuhkan bersama-sama dengan khamir-khamir lain hanya menyebabkan kematian terhadap suatu strain tertentu. Oleh karena itu suatu strain pembunuh tidak dapat dianggap suatu mikroba yang dapat mensterilkan suatu media. Mekanisme pengaruh khamir pembunuh yang dapat menghambat pertumbuhan strain lain secara keseluruhannya belum diketahui. Sangat penting diketahui bahwa adanya toksin dalam minuman fermentasi tidak membahayakan dan tidak mengganggu kesehatan konsumen. Tetapi terdapatnya khamir pembunuh dapat menimbulkan citarasa yang tidak diinginkan pada bir. Khamir pembunuh daya bunuhnya akan hilang apabila dilakukan penyimpanan dalam waktu lama. Khamir pembunuh mempunyai morfologi identik dengan khamir biasa tetapi mempunyai partikel partikel seperti virus dalam sitoplasmanya.

Kerusakan pada anggur dapat disebabkan oleh mikroba yang bersifat aerob dan bersifat fakultatif aerob. :

Kerusakan oleh Mikroba yang bersifat Aerob.

Mikroba aerob yang menyebabkan kerusakan wine adalah bakteri asam asetat umumnya *Acetobacter aceti* atau *A. oxydans*, yang mengoksidasi must dan anggur terbentuk asam asetat yang disebut asetikasi yang tidak dikehendaki. Mikroba ini juga dapat mengoksidasi glukosa yang terdapat dalam must menjadi asam glukonat sehingga akan menimbulkan rasa asam pada **must**.

Kapang (mold) seperti *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus* dan yang lain-lainnya dapat tumbuh pada barrel, wadah dan tutup wadah dan dapat juga tumbuh pada buah anggur atau pada must yang dingin. Kapang ini dapat dihilangkan dengan melakukan pembersihan yang cukup pada peralatan dan dinding bangunan

Kerusakan oleh Mikroba Fakultatif

Khamir liar dapat menyebabkan fermentasi yang bersifat abnormal menghasilkan alkohol berkadar rendah, terbentuk asam volatil dengan kadar tinggi, citarasa yang tidak dikehendaki, dan anggur tampak keruh.

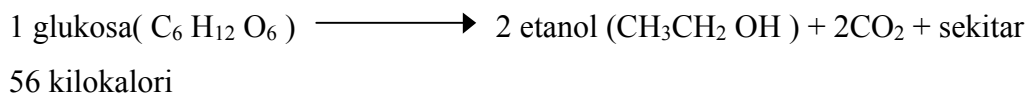
Bakteri asam laktat menyebabkan kerusakan pada **must** dan wine. Dapat terbentuk asam dari gula-gula, glukosa, dan fruktosa dalam wine terutama oleh jenis *Lactobacillus* yang bersifat heterofermentatif seperti *L. brevis*, *L. hilgardii*, *L. trichodes* dan mungkin *L.*

fermenti dan *L. buchneri*. Pertumbuhan *Lactobacilli* pada wine yang keruh, meningkatkan asam laktat, asam asetat, karbon dioksida, terjadi perubahan citarasa dan kerusakan warna. Apabila terjadi fermentasi fruktosa membentuk mannitol yang terasa pahit, fermentasi ini disebut **mannitik**; kepahitan (**amertume**) juga dapat terbentuk dari fermentasi gliserol dalam wine. Terbentuknya gas seperti bebasnya karbon dioksida karena terjadinya laktat heterofermentatif, dan ini disebut **pousse**. *L. plantarum* homofermentatif terutama membentuk asam laktat dari gula-gula pada table wine, meningkatkan asam terikat dan membentuk citarasa “**mousy**”.

Keasaman wine dapat berkurang karena terjadinya oksidasi asam malat, sitrat dan tartarat, kerusakan oleh bakteri *Acetobacter* (aerob). Dapat pula terjadi karena proses fermentasi malat atau asam tartarat oleh *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* atau oleh bakteri coccus yang lain.

IV. FERMENTASI ALKOHOL

Proses fermentasi sebuah molekul gula menjadi dua molekul alkohol (etanol) dan dua molekul karbon dioksida dan energi :

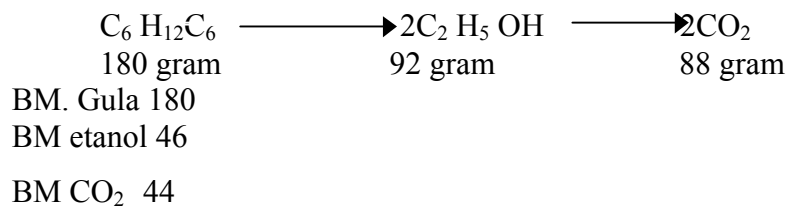


Jadi 180 gram glukosa (Berat Atom C = 12, H = 1 dan O = 16) akan menghasilkan 92 gram ethanol dan 88 gram karbon dioksida apabila terjadi fermentasi secara sempurna. Tetapi umumnya maksimum terjadi 51,1 persen berat gula (heksosa) yang terfermentasi.

Alkohol hasil fermentasi

Hasil fermentasi dari gula yang terdapat pada cairan buah anggur adalah etanol dan karbon dioksida (CO₂) dan dapat pula terbentuk senyawa sekunder yang dipergunakan untuk pertumbuhan khamir. Satu kilogram gula invert (glukosa dan fruktosa) akan menghasilkan 480 gram alkohol dalam proses fermentasi yang berlangsung dengan sempurna, tergantung pada suhu, aerasi dan jenis khamir yang digunakan.

Formulasi pembentukan etanol sebagai berikut :



Suatu contoh cairan buah anggur mengandung 20 % gula (diukur sebagai gula reduksi) dalam fermentasi akan terbentuk 96,3 gram alkohol per liter atau 12,20 % alkohol v/v. Ini dapat diperoleh dari membagi berat persentase alkohol dibagi dengan berat jenis (0,7893). Nilai rata-rata ini diperoleh dengan asumsi alkohol yang menguap sangat kecil, khamir tidak membentuk produk lain, tidak adanya aerasi dan fermentasi berlangsung dalam keadaan dingin (suhu rendah).

Gula dalam **must** dapat diukur dengan hidrometer seperti dengan derajat Baume, Brix atau Oechsle. Umpamanya pada **must** terdapat 22 °Brix akan sesuai dengan 12,26 °Baume dengan berat jenis 1,093 maka sama dengan 93 °Oechsle. Hidrometer untuk mengukur total padatan yang terlarut, pada “**must**” masak sebagian besar adalah gula. Gula reduksi pada “**must**” putih rata-rata adalah 2,0 persen atau 20 gram per liter. Pada “**must**” merah kadar gula lebih tinggi, tergantung pada pigmen dan zat lain yang terekstrak dari kulit buah pada waktu proses fermentasi.

Dengan melalui jalur Embden- Meyerhof - Parnas (EMP) perubahan gula-gula menjadi ethanol tidak memerlukan oksigen dan jika terjadi pencampuran dengan udara akan dapat terjadi penurunan ethanol. Bila sepenuhnya dalam keadaan aerob tidak akan terbentuk ethanol walaupun khamir tumbuh dengan sangat baik dan ethanol akan dipecah menjadi karbondioksida dan air. Pada awal terjadinya perkembangbiakan khamir diperlukan adanya oksigen. Pada keadaan normal dalam fermentasi alkohol kemudian tidak diperlukan adanya udara atau oksigen.

Fermentasi 1 gram molekul glukosa menghasilkan energi 56 kilokalori seperti pada persamaan di atas. Apabila glukosa tersebut dibakar atau terjadi metabolisme sempurna akan terbentuk 673 kilokalori. Khamir memerlukan energi dan ini diperoleh dari hasil fermentasi gula. Energi diperlukan untuk mensintesis senyawa - senyawa di dalam tubuh sel khamir dan tanpa adanya energi itu khamir tidak akan mampu berkembang biak. Seperti dikemukakan diatas apabila terjadi oksidasi secara sempurna maka 180 gram gula akan

diubah menjadi 673 kilokalori, terbentuk karbondioksida dan air. Pada fermentasi alkohol hanya terbentuk 56 kilokalori, jadi dalam keadaan aerob terbentuk enersi 12 kali lebih besar dari pada dalam keadaan anaerob. Dengan kata lain dapat dikatakan khamir harus memetabolisme 12 kali lebih banyak gula dalam keadaan anaerob untuk menghasilkan jumlah sel yang sama dari pada keadaan aerob. Hal ini menguntungkan bagi kita karena selama proses fermentasi alkohol khamir harus memproses sejumlah besar gula menjadi alkohol. Dengan berkembang biakan sel-sel khamir relatif kecil dan oleh karena itu konsumsi gula dan nutrien untuk pembentukan sel relatif kecil.

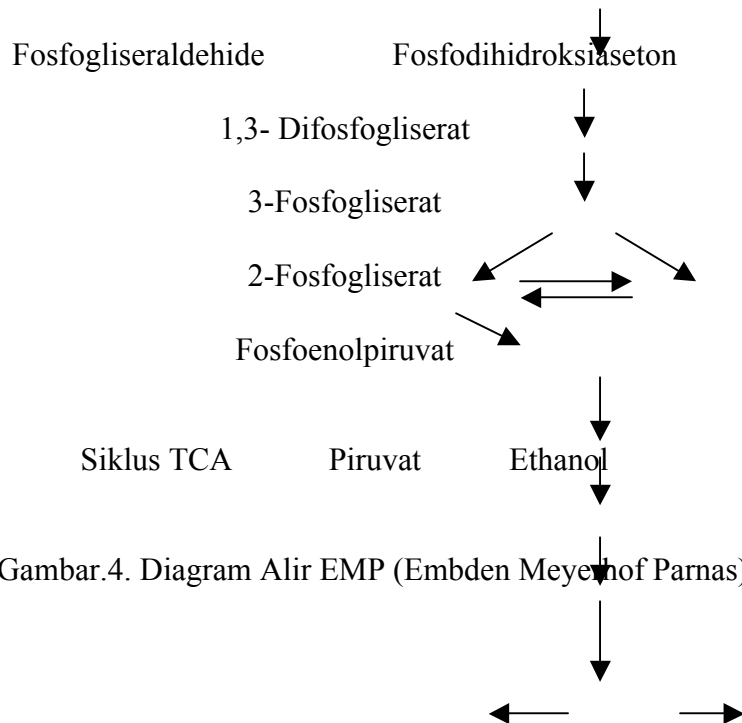
Jumlah total energi yang dibebaskan selama proses perubahan dari gula menjadi ethanol yang dilakukan oleh khamir (sekitar 56 kilokalori per mol) tidak dapat digunakan oleh khamir untuk melakukan metabolisme. Sekitar 40 % dari kalori ini atau sekitar 22 kilokalori yang digunakan oleh khamir. Energi ditangkap dan dipindahkan oleh -sel khamir untuk membentuk senyawa komplek, adenosin trifosfat (ATP). Ion fosfat anorganik dari larutan fermentasi diikat oleh enzim khamir dengan adenosin difosfat (ADP) membentuk ATP. Pembentukan ATP memerlukan enersi dan enersi diperoleh oleh khamir dari perubahan gula menjadi ethanol.

Perubahan gula menjadi alkohol memerlukan sedikitnya dua belas macam enzim dan tiap enzim mengkatalisis satu tahap proses dalam rangkaian EMP. Untuk selanjutnya mengenai rangkaian EMP terlihat pada Gambar 4.

Glukosa - 6-fosfat

Fruktosa-6- fosfat

Fruktosa-1,6 difosfat



Gambar.4. Diagram Alir EMP (Embden Meyerhof Parnas)

Asam piruvat ($\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{COOH}$) diubah menjadi asetaldehide (CH_3CHO). Asetaldehide tereduksi dengan penambahan hidrogen dikatalisis oleh enzim alkohol dehidrogenase. Reaksinya sebagai berikut:

$\text{CH}_3\text{CHO} + \text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (ethanol). Rangkaian reaksi -reaksi ini bersifat reversibel apabila dalam keadaan baik, enzim, dan energi tersedia kecuali terjadi dekarboksilasi asam piruvat.

V. PROSES PEMBUATAN WINE

Pembuatan wine secara umum dapat dikemukakan sebagai berikut

1. Persiapan Buah Anggur

Buah anggur yang akan dijadikan wine harus tetap dalam keadaan baik begitu sampai di pabrik pembuatan wine, buah tersebut dalam keadaan segar, kulit buah tidak lecet atau mengalami kerusakan. Buah yang dipetik diharapkan secepat mungkin tiba di pabrik. Apabila pemetikan dilakukan secara mekanik umumnya dihancurkan dan ditambahkan belerang oksida. **Must** kemudian diangkut ke pabrik dalam tangki tertutup agar terlindung terhadap udara. Apabila buah anggur tersebut dipetik agak keras dan walaupun penanganannya dalam waktu yang singkat kemungkinan akan terkontaminasi oleh mikroba. Buah anggur dijaga dengan baik terutama dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kehilangan cairan buah. Buah yang pecah mengakibatkan akan terjadi browning yang disebabkan oleh aktivitas enzim yang terdapat di dalam cairan buah tersebut.

Pemotongan dan pemecahan

Pengolahan buah anggur tersebut hendaknya secepat mungkin dilakukan begitu buah tersebut sampai di pabrik pengolahan. Tahap permulaan biasanya dilakukan menghilangkan tangkai-tangkainya dan kemudian dilakukan pemecahan bulir-bulir buah anggur tersebut. Umumnya kedua proses ini dikerjakan dalam sebuah alat pemecah dan pemotong (*crusher - stemmer*).

Pada tangkai buah mengandung tannin memberikan rasa sepet (astringent), terasa pahit, dan pada tangkai juga mengandung relatif abu tinggi (mineral) dan asam yang tidak dikehendaki dalam wine yang dibuat. Pemompaan anggur akan jauh lebih cepat apabila tidak terdapat tangkai buah.

Penambahan Belerang Dioksida

Khamir wine toleran terhadap konsentrasi belerang dioksida, sedangkan mikroba lain tak tahan terhadap belerang oksida dan menghambat pertumbuhannya. Belerang dioksida merupakan gas tajam (pedas) dalam penggunaannya dapat ditambahkan langsung kedalam must atau anggur atau dibuat larutan dalam air dengan konsentrasi 6 persen atau lebih. Dapat pula digunakan natrium atau kalium metabisulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ atau $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) natrium sulfite (Na_2SO_3) dan natrium bisulfite (NaHSO_3). Zat-zat ini berupa kristal putih banyak

digunakan untuk pembuatan wine dalam usaha industri rumah tangga. Dalam larutan asam (misalnya dalam must) setengah dari berat zat-zat tersebut membentuk belerang dioksida.

Belerang dioksida dalam pembuatan wine mempunyai tiga peranan yaitu mencegah mikroba yang tidak dikehendaki, menghambat enzim-enzim penyebab browning, dan berlaku sebagai antioksidan. Aktivitas enzim penyebab browning pada buah anggur langsung dicegah oleh belerang dioksida yaitu terjadinya denaturasi enzim-enzim tersebut. Belerang dioksida disamping membantu mencegah reaksi browning dan reaksi oksidatif yang lain dan dengan menjaga sistim dalam keadaan tereduksi dan terjadi reaksi dengan oksigen. Dengan adanya reaksi ini akan terbentuk antioksidan. Pengaruh lain dari belerang oksida mencakup bereaksinya dengan asetaldehyde, jadi menyebabkan lebih banyak terbentuknya gliserol. Belerang dioksida dapat membantu penjernihan (klarifikasi) terutama pada cairan buah anggur sebelum difermentasi. Belerang dioksida juga membantu membunuh sel-sel mikroba pada kulit buah anggur dan karena itu akan membantu pembebasan pigmen merah untuk pembuatan anggur merah, tetapi juga bereaksi dengan pigmen merah memucatkan beberapa warna. Pemberian belerang dioksida sekitar 200 sampai 350 ppm.

Oleh karena pemberian belerang dioksida menghambat kerja enzim penyebab browning dan merusak mikroba liar sehingga pemberian belerang dioksida segera mungkin diberikan sebaiknya pada saat pemecahan buah anggur atau pemecahan dengan menggunakan mesin *crusher-stemmer*.

Belerang dioksida dengan cepat dapat bereaksi dalam wine dan dapat dalam bentuk terikat maupun tidak terikat. Dalam bentuk tidak terikat atau dalam bentuk bebas dapat dalam bentuk molekuler atau dalam bentuk ion belerang dioksida, anion bisulfit atau anion sulfit. Perimbangan ketiga macam bentuk ini tergantung pada pH, dalam keadaan yang sangat asam akan lebih banyak terdapat dalam bentuk belerang dioksida yang tidak

terdisosiasi. Belerang dioksida bebas mencakup ketiga macam bentuk dalam keadaan tidak terdisosiasi bersifat sangat merusak mikroba, tetapi pada pH wine (pH 3 sampai 4) sangat banyak dalam bentuk bisulfit.

Banyaknya belerang dioksida bebas yang diperlukan tergantung pada pH karena pH mempengaruhi belerang dioksida dalam keadaan bebas. Pada pH yang lebih rendah belerang dioksida dalam bentuk tidak terdisosiasi sehingga lebih efektif membunuh mikroba. Oleh karena itu maka pada wine yang lebih asam memerlukan belerang dioksida yang lebih sedikit.

Pemberian belerang dioksida sekurang-kurangnya 0,8 miligram per liter pada “**white table wine**” (anggur tidak berwarna dibuat dari buah anggur varietas putih atau dengan pengepresan buah varietas anggur merah diambil airnya saja), dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan mencegah oksidasi. Banyaknya pemberian belerang dioksida bebas dipengaruhi oleh pH dan untuk jelasnya terlihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Pemberian SO₂ dalam mg/L pada pH 3,0 sampai 3,7 untuk white table wine (Rankine, 1998).

pH	SO ₂ bebas mg/L
3,0	13
3,1	16
3,2	21
3,3	26
3,4	32
3,5	40
3,6	50
3,7	60

Untuk “red table wine” (anggur yang berwarna merah dengan kandungan alkoholnya 14 %) pada pH 3,4 sampai 3,6 dapat diberikan belerang dioksida bebas sebanyak 10 sampai 20 miligram per liter sedangkan pada *white dessert wine* juga sebanyak 10 sampai 20 miligram per liter.

Belerang dioksida dapat tersedia dalam tiga bentuk :

1. Dalam bentuk gas cair. Belerang dioksida adalah sebagai suatu gas pada suhu dan tekanan normal, apabila digunakan dalam bentuk cairan harus dijaga dibawah tekanan.

Mempunyai titik didih pada suhu minus 10°C , 1 mililiter mempunyai berat 1,43 gram dan 1 mililiter per 100 liter adalah ekuivalen dengan 14,3 miligram per liter (ppm).

2. Dalam bentuk asam belerang atau larutan belerang dioksida dalam air. Pengukuran konsentrasi dengan menggunakan hidrometer maka akan diperoleh seperti pada Tabel 9.

Tabel 9. Hubungan persentase per berat berat belerang dioksida dan berat jenis pada suhu 15°C (Rankine, 1998).

Persen per berat	SO_2 g/l	Berat Jenis pada suhu 15°C
1,0	10	1,0056
2,0	20	1,0113
3,0	30	1,0168
4,0	40	1,0221
5,0	50	1,0275
6,0	60	1,0328

3. Dalam bentuk garam belerang dioksida. Umumnya dalam bentuk kalium atau natrium metabisulfit. Dalam bentuk garam potasium (kalium) umumnya disebut PMS atau meta, adalah bersifat higroskopis. Apabila dimasukkan ke dalam cairan buah atau wine akan terbebas sekitar 50 % belerang dioksida.

2. Pengepresan

Setelah tangkai buah anggur dihilangkan dan dihancurkan dan setelah penambahan belerang dioksida ke dalam cairan buah (*must*), siap dilakukan pengolahan selanjutnya. Apabila buah anggur putih yang akan dijadikan wine umumnya dilakukan pemisahan cairan *must* atau cairan buah dari bahan-bahan padatnya (kulit, biji, dan bagian-bagian pulp) disebut **pomace**. Apabila wine merah yang dihasilkan dan pemisahan cairan (wine) dari bahan padatnya terjadi selama proses fermentasi dengan menggunakan peralatan yang sama. Cairan buah (*must*) dapat disimpan dalam sebuah tangki yang besar dan dapat ditambahkan enzim pemecah pektin untuk memecahkan jaringan-jaringan yang terdapat di dalamnya. Cairan bebas ini dapat dikeluarkan dari bagian bawah tangki. Cairan buah yang diperoleh dengan cara ini disebut *free -run*. lawannya disebut *press-run*. Umumnya diperoleh 60 sampai 70 persen cairan *free run*. Apabila cara ini tidak digunakan umumnya

dilakukan mengumpulkan bagian *free run* yang diperoleh tanpa pengepresan atau dengan pengepresan ringan dan kemudian digabungkan menjadi satu dengan bagian berikutnya yang dipres. Wine yang dihasilkan dari hasil pengepresan mutunya lebih rendah karena mengandung tannin tinggi.

3. Fermentasi

Fermentasi dilakukan dalam tangki. Tangki diisi tiga perempatnya, karena pada permukaan cairan buah yang mengalami fermentasi terjadi buih akibat terbentuknya CO₂ dan terjadi pengembangan volume. Fermentasi hendaknya berlangsung dengan perlahan-lahan tetapi setelah dua belas sampai dua puluh empat jam fermentasi berlangsung dengan cepat. Suhu awal lebih rendah pada fermentasi awal dan berlangsung lebih lambat. Karena pelepasan panas pada waktu terjadinya proses fermentasi suhu naik, laju fermentasi meningkat. Apabila fermentasi dilakukan di tempat yang sejuk, hilangnya panas dari dalam wadah mungkin cukup untuk mencegah naiknya suhu berlebihan pada fermentor. Pada umumnya kenaikan suhu hendaknya dapat diatur.

Menurut Frazier (1967) diperlukan sekitar 2 sampai 5 persen strain *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* yang dimasukkan ke dalam cairan buah (must) untuk terjadinya fermentasi. Untuk memperoleh pigmen merah dapat diekstrak dari kulit buah dengan pemanasan dan kemudian ditambahkan kembali ke dalam cairan buah untuk memperoleh anggur merah. Pencampuran ini dilakukan tidak kontinyu, sesuai dengan fermentasi alkohol yang memerlukan keadaan anaerob. Suhu optimal dalam kisaran antara 75⁰ - 80⁰ F (23,9⁰ - 26,7⁰C) perlu dipertahankan selama proses fermentasi untuk membuat anggur merah dan lama fermentasi 3 sampai 5 hari. Untuk membuat anggur putih memerlukan waktu fermentasi 7 sampai 14 hari pada suhu 10 sampai 21,1⁰ C. Suhu yang terlalu tinggi menghambat perkembangan khamir dan memungkinkan pertumbuhan mikroba lain misalnya bakteri lactobacilli yang dapat menimbulkan kerusakan. Sedangkan suhu yang terlalu rendah perkembangan khamir wine akan lambat sehingga memungkinkan khamir liar, bakteri asam laktat, dan mikroba-mikroba yang lain tumbuh. Selama proses fermentasi keluar panas dan erat kaitannya dengan suhu atmosfer sehingga diperlukan adanya pendingin.

Menurut Rahayu dan Kuswanto (1967) bahwa proses fermentasi pada pembuatan wine dilakukan pada suhu 10 - 30⁰ C. Untuk pembuatan anggur putih suhu diperlukan 10 - 20⁰ C. Selanjutnya dikatakannya keuntungan fermentasi menggunakan suhu rendah yaitu wine lebih segar dengan rasa buah, terbentuk etanol lebih banyak dengan kehilangan etanol lebih sedikit, kemungkinann terjadinya kontaminasi lebih kecil sehingga produksi asam volatil juga lebih sedikit. Anggur merah biasanya diproduksi pada suhu lebih tinggi 22 - 30⁰ C, yaitu pada waktu kulit buah disertakan dalam fermentasi, sehingga ekstraksi warna lebih efektif. Konsentrasi gula mempengaruhi proses fermentasi Kadar gula lebih besar dari 300 g per liter dapat menghambat pertumbuhan khamir sehingga fermentasi juga terhambat, hanya beberapa mikroba dari genus *Saccharomyces* yang osmofilik dan osmotoleran yang mampu tumbuh seperti misalnya *S. rouxii* dan *S. italicus*.

Aerasi diperlukan apabila pertumbuhan khamir lambat dan biasanya diperlukan pada awal fermentasi. Aerasi yang berlebihan menurunkan hasil alkohol, rasa tawar, terjadi oksidasi warna dan flavor.

Seperti dikemukakan diatas keasaman diperlukan untuk pertumbuhan khamir. Fermentasi berlangsung dengan baik pada pH 3,1 - 3,9, sedangkan pH dibawah 3 fermentsinya agak lambat. Fermentasi yang berlangsung pada pH rendah menguntungkan karena pada pH rendah bakteri sulit berkembang, kecuali bakteri asam asetat dan laktat. Pertumbuan khamir tidak dipengaruhi oleh asam tartarat, malat dan sitrat yang terdapat pada cairan buah. Asam yang merupakan hasil samping proses fermentasi adalah asam asetat, butirat, dan propionat berpengaruh terhadap khamir.

Menurut Jay (1992) fermentasi berlangsung 3 sampai 5 hari pada suhu 21 32⁰ C dan dengan menggunakan strain yang baik dapat memproduksi ethanol sebanyak 14 sampai 18 %.

4. Penuaan (*Aging*) dan Penjernihan (*Clarification*)

Setelah bahan padat (kulit, tangkai dan pulp) dipisahkan dari cairan buahnya (pomace) dan fermentasi telah berhenti langkah selanjutnya adalah mengendapkan bahan padat yang terdapat pada wine tersebut dengan meletakkan wadah yang mengandung wine di para-para. Wine dibiarkan untuk mengendapkan sel sel khamir dan suspensi yang lain

di bagian dasar wadah. Wine menjadi relatif jernih kemudian bagian yang jernih dipindahkan dengan pipa perlahan-lahan ke wadah lain. Pemindahan segera dilakukan karena sel-sel khamir yang mengendap di bagian bawah wadah dapat melakukan autolisis sehingga mungkin akan terbentuk flavor yang tidak disenangi. Sebaliknya dengan adanya sisa-sisa khamir mendorong rusaknya nutrisi yang diperlukan oleh bakteri *Lactobacillus*, sehingga fermentasi berlangsung dengan baik.

Pada peralihan akhir terjadinya fermentasi yang keras dan awal penyimpanan terjadi pelepasan karbondioksida dengan lambat yang terbentuk dari perombakan gula-gula dan kemudian lepas dari wine. Oleh karena fermentasi ini masih berlangsung dan karbondioksida masih keluar maka tidak dilakukan penutupan yang ketat. Keluarnya karbondioksida masih dapat mencegah masuknya udara dari luar. Apabila karbondioksida terhenti keluar dan udara dari luar masuk maka akan dapat terjadinya kerusakan wine.. Agar karbondioksida tetap keluar dan udara dari luar tidak masuk maka saat akhir fermentasi ini perlu menggunakan leher angsa yaitu suatu tabung kecil yang berisi air dihubungkan dengan pipa ke dalam tangki yang berisi wine. Karbon dioksida yang keluar dari wine masuk ke dalam tabung kecil tampak keluar sebagai gelembung. Dapat pula dilakukan pada akhir fermentasi tersebut menggunakan tangki besar sehingga mempunyai *headspace* yang cukup menampung karbondioksida yang keluar dari wine dan tidak menimbulkan tekanan yang tinggi pada tangki fermentasi tersebut. Apabila karbondioksida telah habis keluar (fermentasi sudah terhenti) botol atau tangki penyimpanan ditutup rapat. Dalam periode waktu tertentu wine dipisahkan dari endapan yang berada di bawah tangki (wadah).

Wadah yang terbuat dari kayu seperti misalnya barrel (tangki) dari kayu oak putih (umumnya volumenya 50 sampai 60 gallon) dan tangki kayu merah (volumenya sampai beberapa ribu gallon) diyakini mempunyai peranan penting dalam proses penuaan (*aging*). Masuknya oksigen yang berlangsung dengan sangat lambat sekali dan jumlahnya sangat terbatas yang dapat menimbulkan perubahan selama proses penuaan. Barrel dari kayu oak mendukung pembentukan beberapa macam citarasa dan aroma sehingga wine menjadi lebih kompleks, lembut dan matang. Dalam jumlah kecil terjadi difusi air dan uap ethanol

keluar dari wadah. Konsentrasi alkohol di dalam tangki tergantung pada kelembaban relatif udara, apabila keadaan udara kering konsentrasi alkohol lebih pekat tetapi akan lebih lemah jika udara basah. Dengan lepasnya air dan alkohol dari tangki menyebabkan senyawa-senyawa nonvolatil lebih peka, karena adanya penguapan ini akan menyebabkan bertambah besarnya headspace. Pada saat ini biasanya dapat diatasi dengan menambahkan wine dari wadah yang lain.

Salah satu kriteria kualitas wine adalah kejernihannya. Kebeningan wine tidak diperoleh pada waktu pengendapan (racking) pertama, tetapi dilakukan beberapa kali disertai dengan filtrasi dan fining (penggunaan zat-zat tertentu untuk menjernihkan). Kemudian dilakukan perlakuan untuk menstabilkan sehingga wine itu tetap bening sampai pada konsumen. Klarifikasi adalah merupakan suatu bagian yang diikuti oleh proses aging (penuaan). Protein, zat-zat koloidal yang lain dan sel-sel mikroba cenderung mengendap dalam waktu aging. Akan tetapi dalam waktu aging dapat juga terjadi ion-ion logam yang berasal dari wadah dapat masuk ke dalam wine, dapat terjadi oksidasi sehingga terjadi kekeruhan, dan beberapa macam mikroba dapat berkembang biak. Walaupun demikian wine yang diperoleh haruslah jernih, dan sejumlah kecil pengendapan terus berlangsung.

Berbagai macam kekeruhan (*turbidity*) dapat terbentuk dalam wine dapat berupa sel-sel mikroba, zat yang bersifat amorf seperti misalnya protein, tanin, pengendapan yang bersifat kristalin misalnya asam potasium tartarat. Dalam wine hendaknya tidak terdapat mikroba dan jangan terjadi pertumbuhan mikroba dan hal ini dapat dicegah dengan belerang oksida, atau zat-zat lain yang diijinkan oleh Departement Kesehatan misalnya dengan asam sorbat. Dapat pula dilakukan pasteurisasi dan dengan melakukan filtrasi halus sehingga sel mikroba dapat dipisahkan.

Ada tiga macam zat penjernih yaitu protein, absorben dan zat-zat berupa logam. Putih telur, skim milk dapat sebagai penjernih awal dan merupakan penjernih yang bersifat protein. Penjernihan selanjutnya umumnya dapat digunakan seperti gelatin, dan kasein. Protein akan membentuk suatu koagulum yang akan mengendap setelah beberapa hari sampai beberapa minggu pemberian penjernih. Terjadinya koagulum dan pengendapan protein dalam wine karena bereaksi dengan tannin yang terdapat pada buah anggur. Bila tannin yang terdapat pada wine sedikit dan tidak mencukupi atau protein yang terdapat

terlalu banyak sehingga klarifikasi tidak berlangsung dengan baik. Umumnya anggur merah (*red wine*) mengandung cukup tannin sehingga klarifikasi berlangsung dengan baik, dan dapat menghilangkan rasa kelat (*astringent*) dari tannin.

Penjernihan dengan pengendapan dapat menyebabkan berkurangnya intensitas warna pada wine merah tetapi sebaliknya dapat memperkuat warna pada anggur putih. Zat absorban penjernih yang umum digunakan adalah bentonit. Zat ini ditambahkan pada wine dalam bentuk tepung halus dan biasanya ditambahkan sebanyak 4 pound untuk 1000 galon wine (480 g/kl.) wine. Bentonit ini akan menyerap partikel halus dan kemudian akan mengendap ke bagian bawah. Bentonit ini terutama efektif terhadap partikel protein yang menyebabkan kekeruhan pada wine. Dapat pula menyerap partikel protein yang diberikan berlebihan dalam penjernihan.

Zat penjernih metal di Amerika Serikat, Jerman dan beberapa negara lain tidak diijinkan misalnya kalium ferrosianida. Penjernih ini sering disebut penjernih biru karena terbentuk endapan berwarna biru. Cara ini perlu dilakukan pengawasan teliti, pemberian zat ini efektif dalam penjernihan terutama untuk mengendapkan sejumlah kecil tembaga, besi dan ion-ion logam lain yang dapat menimbulkan masalah dalam pengendapan dan dapat merupakan katalisator oksidasi.

Beberapa zat lain yang dapat digunakan atau yang sedang dipelajari untuk klarifikasi wine. Diantaranya adalah zat karbon aktif untuk menghilangkan bau atau menghilangkan warna, zat pemecah pektin dan enzim lain untuk klarifikasi terutama untuk buah yang akan dijadikan wine. Zat penjernih seperti bubuk polyamide dan polivinilpirolidon di Amerika Serikat pengawasan dilakukan dengan sangat ketat dan penggunaan zat baru harus melalui pengujian yang sangat teliti sebelum digunakan sebagai penjernih wine.

Stabilisasi Tartrat

Kalium bitartrat, kalium asam tartrat telah dikenal ibu-ibu rumah tangga dengan nama krim tartrat. Cairan buah anggur mengandung sejumlah senyawa-senyawa ini. Terjadinya fermentasi pada cairan buah anggur alkohol yang terbentuk menurunkan daya larut kalium bitartrat. Hal ini mengakibatkan garam ini mengalami kristalisasi secara perlahan-lahan terbentuk kerak didasar wadah fermentasi. Apabila kerak ini terbentuk

berlebihan dan tidak dihilangkan dapat berlanjut ke dalam botol dan akan terjadi pengendapan di dasar botol wine. Adanya endapan tersebut tidak berbahaya tetapi kurang disukai oleh konsumen. Dua cara umum yang digunakan untuk menstabilkan wine terhadap endapan tartarat yaitu dengan stabilisasi dingin dan dengan pertukaran ion.

Wine dipertahankan pada suhu dingin sampai tartarat mengendap (termasuk senyawa-senyawa yang tidak larut) kemudian dilakukan filtrasi untuk membebaskan dari bahan endapan tersebut.

Perlakuan dengan pertukaran ion (ion exchange) ini merupakan proses agak lebih modern. Mineral-mineral atau resin-resin yang digunakan sebagai pelunak air dirubah dalam bentuk natrium. Zat -zat yang tidak terlarut diberi muatan ion natrium; bila suatu cairan seperti wine atau air sadah dialirkan melalui partikel partikel ini, ion-ion logam yang bermuatan positif yang lain akan diambil dan ion-ion natrium akan terbebaskan. Jadi kalium pada wine akan diambil dan bagian kalium bitartarat akan dirubah menjadi natrium bitartarat. Garam natrium jauh lebih mudah larut dalam wine daripada garam kalium, dan oleh karena hal tersebut pengendapan tartarat pada wine dapat dicegah. Zat-zat pergantian ion dapat digunakan kembali dan proses dapat diawasi dengan teliti.

Ion-ion logam dalam wine

Pengaruh yang tidak diinginkan dari ion-ion logam tertentu telah dikemukakan diatas. Fraksi anorganik dari cairan buah jeruk misalnya abu merupakan suatu campuran kompleks yang mengandung unsur-unsur seperti kalium, besi, tembaga, kalsium, magnesium, natrium, aluminium, mangan, fosfor, belerang, dan boron. Kecuali kalium biasanya dalam jumlah yang cukup dapat menimbulkan masalah. Oleh karena wine sedikit bersifat asam Fe dan Cu yang terdapat pada peralatan yang dipakai dalam proses pengolahan akan dapat masuk ke dalam wine. Fe terdapat sekitar 10 ppm dan Cu 1 ppm akan dapat mempercepat proses oksidasi dan reaksi-reaksi lain dan akan dapat terjadi perubahan warna, citarasa, dan kejernihan wine. Untuk mencegah terjadinya hal-hal tersebut di atas maka wadah yang digunakan hendaknya terbuat dari baja tahan karat (stainless steel), glass dan bahan lain yang tidak mudah teroksidasi.

Ion-ion kalsium menyebabkan terjadinya kekeruhan pada wine karena garam-garam kalsium yang berikatan dengan asam tartarat dan asam-asam organik yang lain

relatif tidak larut. Ion-ion kalsium tidak saja berasal dari tangki yang dipakai terbuat dari beton tetapi dapat juga berasal dari filter yang dibuat dari tanah diatome. Hal ini umumnya dapat dihindari dengan mencuci material dengan larutan asam sitrat sebelum digunakan. Wadah yang terbuat dari beton masuknya Ca dari wadah tersebut ke wine dapat dihindari dengan membersihkannya dengan asam atau wadah tersebut dapat dilapisi dengan lilin atau plastik.

Pelaksanaan akhir proses

Setiap langkah proses memerlukan perhatian terutama dalam langkah fermentasi, penuaan (*aging*), klarifikasi dan prosedur stabilisasi. Pada wine dapat terjadi kerusakan dalam proses pembuatan. Suatu wadah yang terbuat dari kuningan maka Cu nya dapat masuk ke dalam anggur. Dalam penggunaan pompa yang tidak benar dapat terjadinya aerasi yang dapat menyebabkan terjadinya oksidasi terhadap wine. Apabila kesalahan-kesalahan yang demikian tidak dilakukan pencegahan maka akan dapat menimbulkan kerugian. Botol yang digunakan juga berbagai macam dengan berbagai alasan misalnya alasan sanitasi, ekonomi, keseragaman, dan lain-lainnya yang mnyenangkan. Di Eropa botol botol digunakan kembali. Ada beberapa jenis anggur yang mudah rusak karena sinar matahari maka botol yang digunakan hendaknya yang berwarna gelap umumnya botol yang berwarna hijau gelap atau yang berwarna coklat. Sering ditambahkan sejumlah kecil belerang oksida pada saat akan dibotolkan. Antioksidan yang lain seperti asam askorbat (vitamin C) disubsitusikan ke dalam wine atau senyawa senyawa penghambat (*inhibitor*) ditambahkan kedalam anggur. Wine dapat dipasteurisasi atau di filter untuk mensterilkan anggur tersebut.

Mengenai skema pembuatan wine secara umum dapat dilihat dalam Gambar 5

Beberapa Contoh Proses Pembuatan Wine

1. Pembuatan Dry White Table Wine

Kemajuan yang sangat penting telah dicapai di Australia dan New Zealand dalam industri pembuatan anggur adalah perbaikan kualitas dari “white table wine “

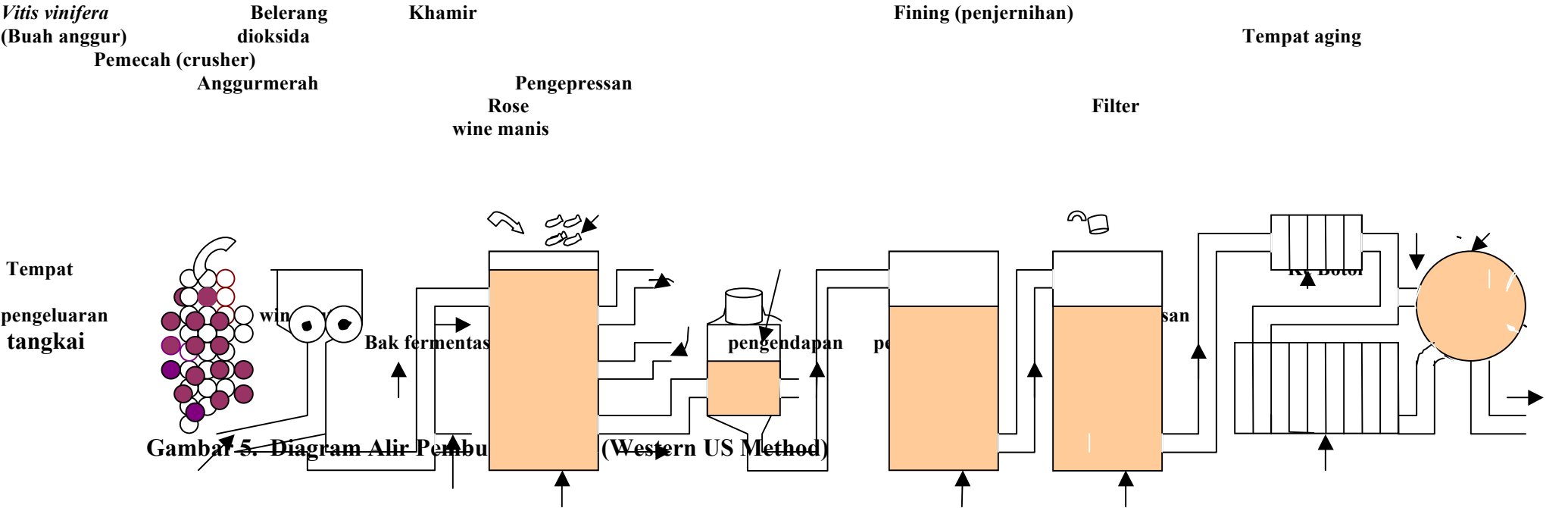
Perbaikan kualitas pada white wine dengan memperhatikan faktor-faktor berikut :

- Varietas buah anggur yang lebih bagus, seperti varietas Rhine Riesling, Chardonnay, Sauvignon Blanc, Traminer, Semilon, dan Chenin Blanc.

- Pengaturan pematangan yang lebih bagus dan kesegaran buah yang lebih baik
- Pendinginan sewaktu pembuatan wine sehingga aroma dan flavornya tidak hilang.
- Pencegahan terjadinya oksidasi sewaktu pengolahan dengan menggunakan gas inert pada suhu rendah
- Pengaturan dengan sebaik mungkin terhadap pH, belerang dioksida dan asam askorbat
- Pengaturan kualitas keseluruhannya hendaknya se efisien mungkin.

Dalam pembuatan *dry table wine* seperti pembuatan wine pada umumnya komposisi dan kesegaran buah sangat penting sekali karena kualitas wine yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor tersebut. Kematangan buah anggur yang dipanen tergantung pada jenis wine yang akan dihasilkan, tetapi umumnya kematangan yang normal apabila mempunyai derajat Baume antara 10 sampai 12,5 °Baume (18 -22,5 °Brix).

Buah anggur yang dipetik hendaknya didinginkan sebaiknya pada suhu 8 - 16 °C. Di daerah panas pemetikan secara mekanis dapat dilakukan pada malam hari karena pada



malam hari suhunya lebih dingin. Buah yang dipanen diberi 50 -75 mg/L belerang dioksida berbentuk kalium atau natrium metabisulfit, bersama-sama dengan 50 - 100 mg/l asam askorbat

Buah anggur dihancurkan dalam alat penghancur (roller crusher) atau dapat di press dengan alat pengepress. Dengan cara pemerasan akan diperoleh cairan buah dengan kualitas yang sangat bagus dan kadar fenolatnya rendah. Kalau diperlukan dapat pula ditambahkan asam tartarat untuk menjamin pH cairan buah dalam kisaran antara 3,0 - 3,4. Enzim pemecah pektin dapat ditambahkan untuk mempercepat keluarnya cairan buah dari buah yang diperas. Aktivitas enzim ini tergantung pada suhu (pada suhu 10 °C aktivitasnya 15 sampai 25 persen, pada suhu 20 °C aktivitasnya 25 -35 persen, pada suhu 30 °C aktivitasnya 40 - 60 persen, suhu optimumnya adalah pada suhu 45 - 50 °C. Pada suhu 60 °C aktivitasnya akan hilang sedangkan pada suhu 80 °C akan inaktif. Pemberian enzim ini dilakukan secepat mungkin setelah pemerasan.

Beberapa macam varietas menguntungkan apabila terjadi kontak antara cairan buah dengan kulit buah, tergantung pada lamanya kontak dan suhunya. Tegantung pada varietas buah anggur, kontak dapat dilakukan dalam waktu 18 jam pada suhu 10 °C. Pada suhu yang lebih tinggi akan lebih banyak fenolat dan tanin yang terekstrak sehingga terasa lebih pahit.

Pemerasan “must” dilakukan pada suhu tidak lebih dari 15 °C, dan kulitnya dipress dengan pemberian belerang dioksida sebanyak 20 - 50 ml/l. Hasil pemerasan dapat juga ditambahkan dengan cairan buah yang disebut “free run” (cairan buah yang keluar dengan sendirinya tanpa melalui pemerasan), karena cairan buah ini dapat meningkatkan mutu wine)

Cairan buah dapat pula dijernihkan tergantung keinginan produsen. Penjernihan dapat dilakukan dengan pengendapan dengan menggunakan enzim pektat atau dengan sentrifugal.

Kemudian cairan buah diinokulasi dengan biakan khamir murni, dibiarkan dalam keadaan aerob untuk memberi kesempatan khamir berkembang sehingga menghasilkan jumlah sel yang tinggi, sebaiknya diatas 200 juta per mL. Pada saat ini diberikan 100

sampai 200 mg per liter ammonium fosfat dengan maksud untuk memberikan N anorganik untuk menghambat kemungkinan terbentuknya hidrogen sulfida (H_2S) dan terbentuknya metanol pada waktu proses fermentasi. Disamping hal tersebut juga membantu agar terjadi pemecahan gula dengan sempurna. Beberapa produsen anggur menambahkan vitamin B kompleks sebagai nutrisi bagi khamir untuk membantu proses fermentasi.

Fermentasi biasanya dilakukan pada suhu $10 - 16 ^\circ C$, tetapi diantara produsen ada yang memilih suhu lebih rendah lagi. Terjadinya reduksi terhadap kandungan gula dalam proses fermentasi tiap hari hampir sama dan dikehendaki antara $0,4 - 0,8 ^\circ Baume$ ($0,7 - 1,4 ^\circ Brix$) per hari.

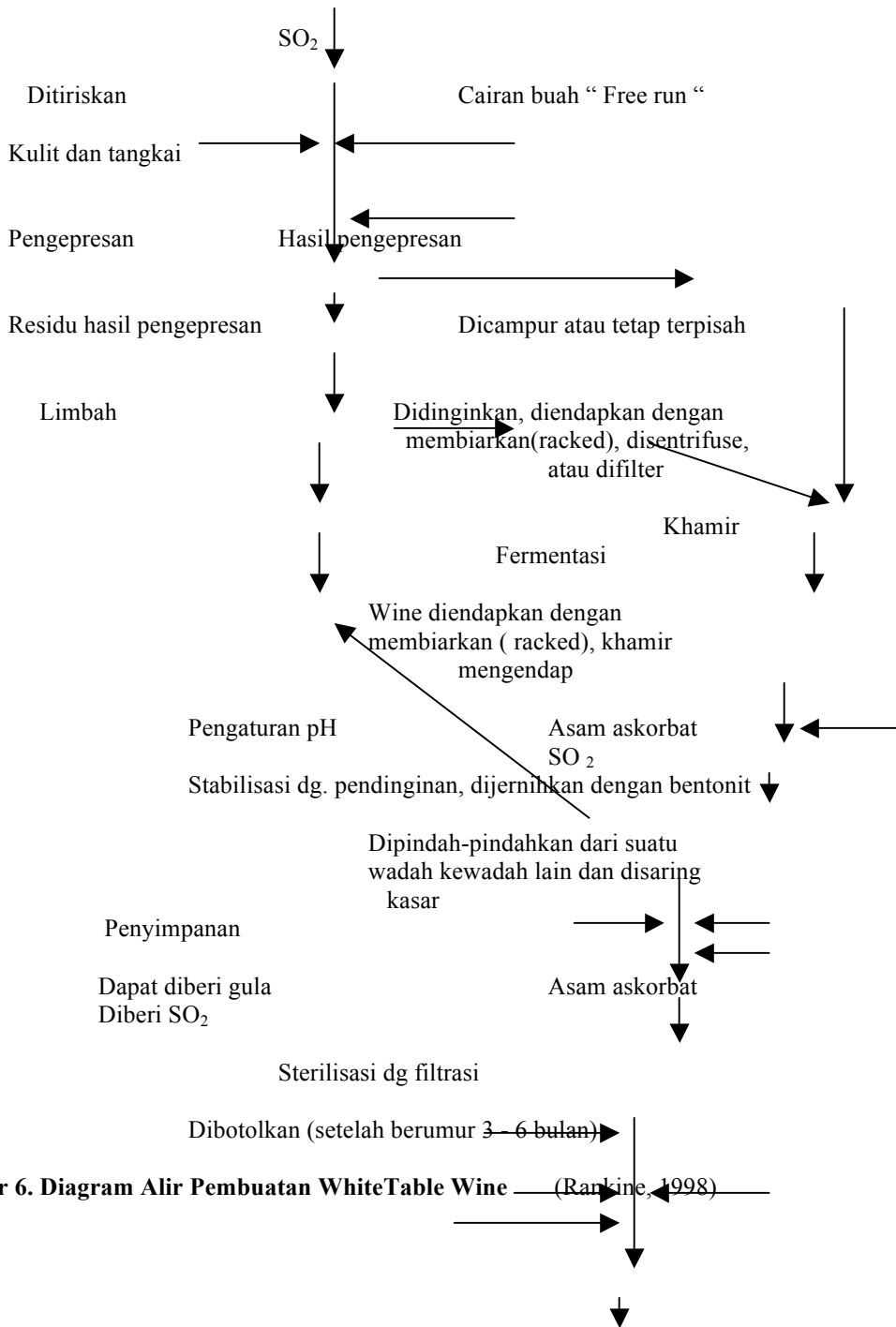
Dalam proses fermentasi dapat ditambahkan bentonit tergantung kadar protein yang terdapat pada cairan buah. Cairan buah varietas Chardonnay dan Sauvignon Blanc. dapat difermentasikan dalam wadah yang terbuat dari kayu oak tergantung jenis anggur yang diinginkan.

Setelah proses fermentasi, wine diendapkan. Pada beberapa jenis anggur seperti Chardonnay dapat dilakukan penundaan penyimpanan (racked) beberapa minggu atau bulan sehingga terjadi fermentasi malo - laktat. Dalam penyimpanan dapat ditambahkan belerang oksida $20 - 35 \text{ ml/l}$ tergantung pH anggur (umumnya pH nya $3,0 - 3,4$). Pada pH yang lebih tinggi diperlukan belerang oksida bebas. Sangat baik sekali apabila ditambahkan asam askorbat 100 ml/l . pada saat akhir fermentasi. Pada pembuatan “**white wine** “ perlu suhu rendah dan dicegah masuknya udara ke dalam wine. Mengenai diagram alir pembuatan “white table wine” terlihat pada diagram alir Gambar 6.

Dihancurkan

Asam Tartrat

Enzim Pektat



Gambar 6. Diagram Alir Pembuatan WhiteTable Wine (Rankine, 1998)

2. Sweet White Table Wine

Sekarang popularitas “**sweet white table wine**” meningkat karena telah terjadi perbaikan mutunya dengan menggunakan teknologi pembuatan yang lebih baik terutama telah dilakukan filtrasi. Dahulu wine jenis ini diawetkan dengan menggunakan belerang dioksida dosis tinggi, dan senyawa ini mengurangi rasa lezat pada wine dan tidak selalu mencegah terjadinya fermentasi lanjut (refermentation). Dengan melakukan filtrasi yang steril wine yang dihasilkan rasa belerang dioksidanya sangat kurang dan mutunya yang tinggi dapat dipertahankan. “Sweet white table wine” dapat dibuat dengan dua cara

1. Cairan buah anggur yang mengandung kadar gula tinggi sehingga gula tidak habis digunakan dan anggur tetap terasa manis. Wine jenis ini antara lain Sauternes dan Barsac, Beeren auslesen dan Trocken beeren ausle wines Jerman. Rasa manis ini dapat disebabkan oleh kapang *Botrytis cinerea* yang tumbuh pada bulir buah anggur. Di Australia maupun di New Zealand infeksi oleh botrytis ini adalah sangat umum dan akan menghasilkan wine yang sangat bagus.

Rasa manis pada “must” dapat diperoleh tanpa adanya botrytis yaitu di daerah yang beriklim lebih panas dengan membiarkan buah anggur tersebut lewat matang. Wine yang dihasilkan setelah fermentasi akan tetap manis tergantung manisnya buah anggur tersebut.

2. Membiarkan cairan buah terfermentasi secara normal kemudian wine tersebut distabilkan atau dimaniskan dengan cairan buah pekat sebelum dibotolkan. Memaniskan wine sebelum dilakukan stabilisasi merupakan suatu cara alternatif dan kemudian secepat mungkin dibotolkan. Pembuatan wine dengan cara ini cenderung terjadi fermentasi kembali terhadap gula yang ditambahkan. Tetapi dengan teknologi modern dan dengan filtrasi steril akan mencegah terjadinya fermentasi kembali. Manisnya anggur lebih tepat dapat mengaturnya dari pada pengontrolan terhadap fermentasi “must” yang manis. Cairan buah anggur yang digunakan sebagai bahan pemanis perlu pengawetan dengan pendinginan karena cenderung terjadi fermentasi. Cairan buah anggur kepekannya umumnya sekitar 68 sampai 72 °Brix, dan dalam waktu yang tidak lama dapat disimpan pada suhu kamar.

Rasa manis wine tergantung pada pasar. Sweet table wine kisaran rasa manis sangat lebar dari wine yang berkadar gula reduksi 1 % (dry wine = wine yang berkadar gula sangat rendah) sampai dengan wine yang terasa sangat manis (kadar gula sekitar

20 %).

Pengertian “**dry wine** “di Australia adalah wine yang mempunyai kadar gula 7,5 gram per liter atau 0,75 persen gula reduksi. Pengertian ini telah ditetapkan oleh Committee of the Royal Agricultural and Horticultural Society of South Australia. Dua macam gula alami yang terdapat pada buah anggur yaitu glukosa (dekstrosa) dan fruktosa (laevulosa), dari kedua macam gula ini fruktosa mempunyai rasa lebih manis. Dalam proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir glukosa umumnya lebih cepat difermentasi daripada fruktosa, oleh karena khamir lebih bersifat glukofile daripada fruktofile suatu sifat permeabilitas membran sel terhadap kedua macam gula tersebut.

Apabila pengukuran “white table wine “diukur dengan derajat Baume terbaca angka 0⁰, jika wine mengandung 30 gram gula per liter atau mengandung 3 persen. Akan tetapi gambaran ini tidak tepat karena tergantung pada kadar alkohol, dan total padatan terlarut. Hubungan ini tidak linear dan derajat Baume yang lebih tinggi sekitar 18 gram per liter gula untuk setiap derajat Baume. Apabila menggunakan perhitungan kadar alkohol dalam wine hubungannya agak lebih tepat. Beberapa macam wine dalam pengukuran dibawah 0⁰Baume seperti anggur sherry yang kadar alkoholnya tinggi tetapi total soluble solidnya (total padatan terlarut) rendah.

Beberapa istilah yang digunakan di Australia untuk menunjukkan kepada konsumen bahwa wine tersebut manis, seperti halnya pemetikan paling belakang, dan beberapa istilah yang digunakan di Perancis misalnya Moselle, dan Sauternes, di Jerman Auslese, Beeren auslese dan Trocken - beeren -auslese. Istilah- istilah ini kurang tepat dan hanya untuk memperkirakan terhadap kemanisan wine yang diproduksi, setiap perusahaan wine menggunakannya dengan cara yang berbeda. Untuk menunjukan rasa kemanisan wine dapat digunakan skala yang menunjukkan besarnya kadar gula yang terdapat di dalamnya.

Untuk wine yang paling rendah mengandung gula mempunyai skala 0 sedangkan untuk wine yang mempunyai gula tinggi mempunyai rasa sangat manis diberi skala tertinggi 8 sampai 10. Untuk jelasnya terlihat pada Tabel 10.

Tabel. 10. Taste dan skala rasa manis dari white table wine Rankine, 1998)

Rasa	Skala
------	-------

Tidak terasa manis	0
Sedikit terasa manis	1 -2
Cukup manis	2 -3
Manis	5 -8
Sangat manis	8 -10

3. Dry Red Table Wine

Pembuatan “**dry red table**” wine masih merupakan suatu seni jika dibandingkan dengan pembuatan anggur putih (white wine), hasilnya dapat diperkirakan. Pada pembuatan “**red table wine**” jika dibandingkan dengan pembuatan anggur putih (**white wine**) komposisi dan kualitasnya tergantung pada sejumlah variabel, misalnya seperti waktu dan suhu fermentasi sewaktu proses fermentasi cairan bersama dengan kulit buah, cara mengekstraksi warna, jenis kayu yang digunakan sebagai wadah dan penanganan wine tersebut. Perbedaan pembuatan anggur putih dan merah sangat berkaitan dengan buah anggur yang digunakan. Jenis anggur merah (hitam) yang ditanam di Australia dan New Zealand yaitu *Vitis vinifera* zat warna terdapat dalam vakuola tepat dibawah kulit buah tidak terdapat pada pulp.

Zat warnanya terdiri dari antosianin dan zat warna ini secara alami terdapat pada bunga. Antosianin pada buah anggur dapat berupa antosianidin monoglukosida. Tiap molekul antosianidin mengikat molekul gula yang menyebabkan ikatannya lebih stabil. Antosiadin adalah malvidin (pigmen utama pada buah anggur), peonidin, petunidin, delfinidin dan sianidin. Semua pigmen ini rumus kimianya sangat berdekatan dan warnanya dipengaruhi oleh pH dan faktor lainnya. Terdapat juga zat warna tannin, konsentrasi dan besar molekulnya tergantung pada umur simpan buah anggur. Pada anggur atau wine yang disimpan lama akan mengendap membentuk kerak pada dasar botol.

Misalnya pembuatan wine dari buah anggur varietas **Cabernet Sauvignon**. Kematangan buah yang akan dipanen tergantung pada citarasa buah anggur tersebut. Umumnya buah anggur dipanen jika mempunyai derajat Baume berkisar 10 sampai 12⁰ Baume (18 sampai 21,6 Brix) yang akan menghasilkan alkohol sekitar 10 sampai 12 persen. Makin masak buah anggur tersebut citarasa wine makin baik dan kadar

alkoholnya dapat lebih tinggi. Wine merah umumnya dibuat dari buah anggur yang mempunyai derajat Baume 10 - 14⁰ Baume (18 sampai 25,2⁰Brix).

Wine setelah melalui proses fermentasi malo - laktat pHnya menjadi sekitar 3,3 - 3,5 . Derajat keasaman pada buah anggur tidak otomatis sama dengan pH pada wine yang dihasilkan, karena pada proses pembuatan wine pH nya akan berubah. Sebagai suatu contoh dapat dikemukakan sewaktu terjadinya proses fermentasi alkohol komponen yang terdapat pada kulit buah akan terekstrak secara kontinyu tercampur dengan cairan buah yang terfermentasi mengakibatkan pH akan naik . Komponen yang terdapat pada kulit buah bersifat basa terutama kalium, natrium, kalsium dan magnesium.

Buah anggur yang masih keras dipanen dilepaskan dari tangkainya kemudian dihancurkan. Beberapa pabrik pembuat wine tangkai buahnya diikut sertakan dalam proses fermentasi, tetapi umumnya cara ini tidak banyak digunakan karena pada tangkai tersebut terdapat senyawa fenolat yang memberi rasa pahit (astringent). “Must “ yang dibuat dari buah yang telah dihilangkan tangkainya dan sudah dihancurkan dimasukan ke dalam wadah fermentasi, ditambahkan asam tartarat dan sejumlah kecil belerang dioksida yaitu 50 mg per liter disertai dengan pemberian khamir murni yang terseleksi yang diikuti dengan ekstraksi warna dari kulit buah dapat dilakukan antara lain dengan cara

1. Menekan kulit buah yang mengapung dalam waktu tertentu sewaktu proses fermentasi berlangsung sehingga tercampur dengan cairan buah yang terfermentasi. Ini dapat dilakukan pada fermentasi dengan menggunakan wadah ukuran kecil dan cukup efisien untuk meng ekstraksi kulit buah.

2. Penenggelaman kulit buah dengan menggunakan papan sehingga kulit buah selalu kontak dengan cairan buah. Dahulu cara ini dilakukan pada tangki bagian atas yang terbuka., tetapi sekarang lebih banyak digunakan tangki baja tahan karat yang kepalanya menghadap kebawah.

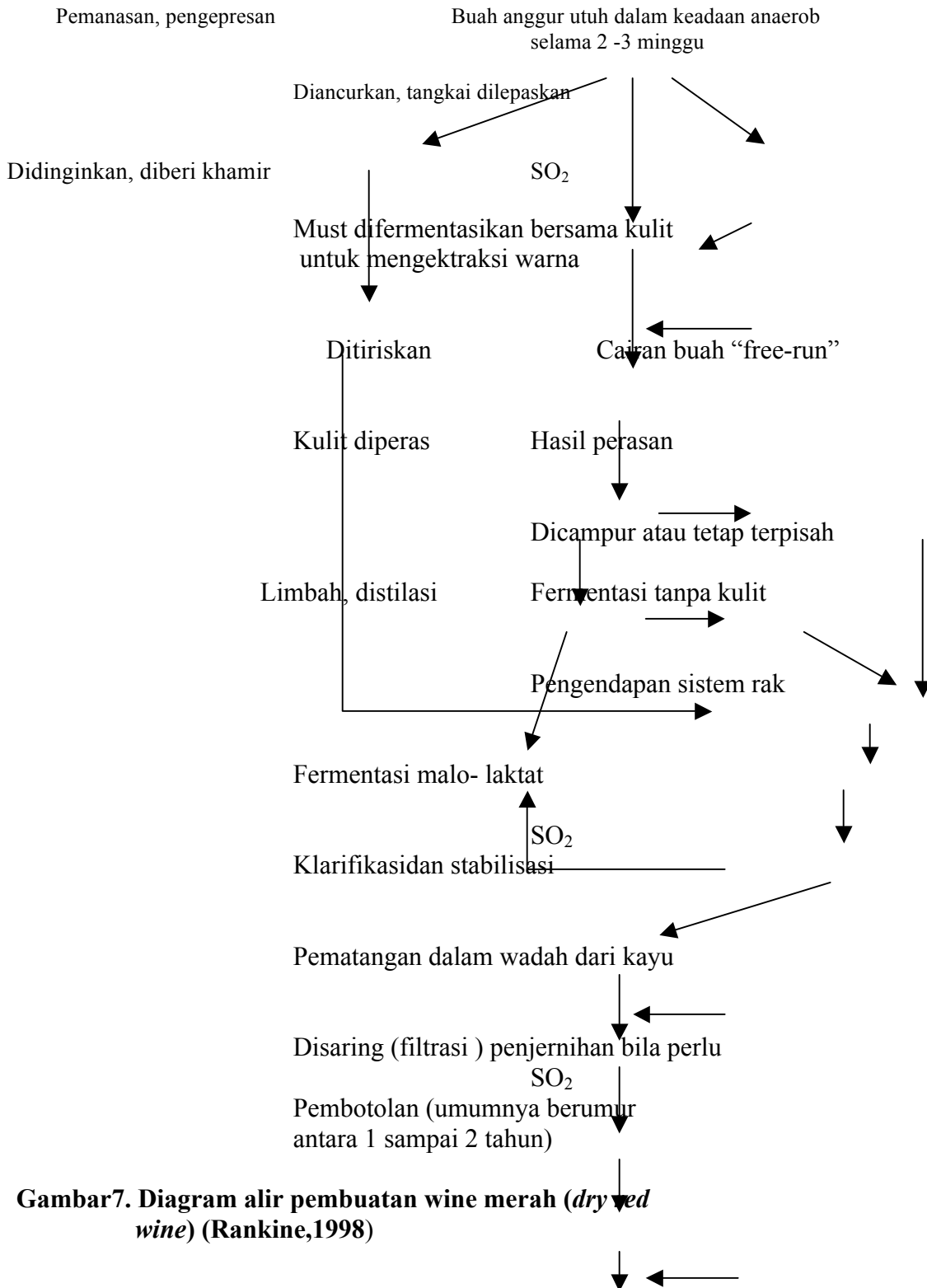
Pengepresan dilakukan jika pengolah wine menghendaki adanya warna, citarasa dan tannin. Ini tergantung dua hari setelah fermentasi sampai dua atau tiga minggu setelah fermentasi berlangsung dengan sempurna tergantung dari jenis wine yang dikehendaki. Misalnya di Bordeaux wine dibiarkan bersama -sama dengan kulit buah anggur selama satu sampai dua minggu setelah fermentasi selesai. Wine yang telah

terpress dapat dicampur dengan “drain wine” (wine bukan hasil perasan) atau tetap dibiarkan terpisah, tergantung pada jenis wine yang dikehendaki. Setelah pengepresan wine mengalami fermentasi sehingga kadar gulanya menjadi rendah antara 1 sampai 2 gram per liter gula reduksi, terdiri dari pentosa yang tidak terfermentasi.

Dalam proses ini umumnya wine mengalami proses fermentasi malo-laktat, terutama apabila ditambahkan kultur *Leuconostoc oenos* pada awal proses fermentasi. Bakteri ini bersifat endemik dan mikroba ini umumnya tidak perlu ditambahkan, proses fermentasi malo laktat berlangsung secara alami. Di daerah dingin dikehendaki terjadinya fermentasi malo laktat karena dapat melembutkan wine. Kenyataannya akan terjadi peningkatan pH sebanyak 0,4 unit apabila kadar asam malat tinggi pada buah anggur. Secara normal terjadinya peningkatan pH antara 0,05--0,4 . Dalam tahap ini wine tidak disimpan dalam wadah kayu, dan diharapkan terjadinya fermentasi lebih awal. Pada tingkat ini dapat diberikan bentonit sebanyak 0,2 - sampai 0,4 gr per liter atau putih telur yaitu sebesar satu sampai tiga butir per 100 liter dengan tujuan mengendapkan zat yang terdapat di dalamnya dan jika perlu pH nya diatur dengan pemberian asam tartarat (tidak dengan asam sitrat) untuk mencapai pH 3,3 sampai 3,6.

Wine dapat di “aging“ dalam wadah yang terbuat dari kayu oak (*Quercus alba*) dalam waktu beberapa bulan sampai 8 bulan, tergantung pada macamnya wine, umur, suhu, ukuran dan jenis kayu oak yang digunakan. Suhu “**aging**” dalam wadah dari kayu hendaknya 15⁰ dan 22 ⁰C. Penyimpanan sistim rak (racking system) adalah pengendapan dalam satu wadah kemudian dipindahkan ke wadah yang lain. Setelah terjadinya pengendapan dipindah ke wadah lain demikian selanjutnya sehingga wine tersebut jernih (sangat penting untuk pembuatan “**red-wine**”). Penjernihan dengan sistem rak sebanyak dua sampai tiga kali perlu dilakukan sebelum wine disaring.

Penyimpanan dalam botol pada suhu dingin (15 - 20 ⁰C) akan dapat memperbaiki kualitas wine. Untuk jelasnya mengenai proses pembuatan “dry red wine” dapat dilihat pada Gambar 7



Gambar7. Diagram alir pembuatan wine merah (*dry red wine*) (Rankine,1998)

4. Pembuatan White Wine dari Buah Anggur Merah

Di beberapa tempat dari beberapa negara “white wine” dibuat dari buah anggur merah misalnya champagne di Perancis dibuat di pinot Noir dan Pinot Meunier, seluruh bagian buah di pres tanpa dihancurkan terlebih dahulu. Cairan buah yang diperoleh dengan cara demikian tidak berwarna atau berwarna agak merah muda dan wine “white sparkling” dihasilkan dari buah anggur merah.

Sejumlah warna yang terdapat pada buah anggur merah dipengaruhi oleh berbagai faktor:

- Jenis buah anggur.
- Tingkat besarnya buah, makin besar buah makin kurang warnanya.
- Tingkat kematangan, makin matang buah tersebut makin intensif warnanya.
- Ukuran tandan, umumnya tandan yang lebih besar makin kurang warnanya.
- Tanah dan iklim, keduanya mempengaruhi intensitas warna makin dingin iklimnya makin intensif warnanya.

Sejumlah warna dalam cairan buah dipengaruhi oleh berbagai macam faktor :

- Waktu antara setelah panen dan penghancuran buah dan suhu buah anggur.
- Setelah pemecahan, lamanya kontak dengan kulit buah, makin lama terjadinya kontak makin banyak zat warna yang masuk ke dalam cairan buah.
- Terdapatnya belerang dioksida, terjadinya pengaruh disini sangat kompleks dan dapat terjadinya pengurangan warna.
- Terdapatnya berbagai zat penjernih dapat mempengaruhi warna.
- Terjadinya aktivitas fenoloksidase cenderung terjadinya warna coklat.

Salah satu perlakuan penting untuk warna adalah menggunakan karbon aktif. Karbon aktif ini dapat menghilangkan zat warna antosianin cairan buah atau wine. Zat lain dapat digunakan untuk mengurangi warna merah pada wine adalah dengan menambahkan bentonit, gelatin, dan zat -zat penjernih yang lain.

White wine (anggur putih) yang dibuat dengan memperlakukan anggur merah dengan karbon dapat diperoleh wine dengan kualitas yang bervariasi.

5. Wine Sparkling (Sparkling wine).

Wine sparkling adalah anggur yang diberi tambahan karbondioksida. Wine sparkling di Australia diproduksi sebesar 9 persen dari wine yang dihasilkan dalam setahun.

Menurut Rankine (1998) bahwa dalam undang-undang makanan di Australia terdapat tiga jenis pengertian mengenai anggur sparkling yaitu

- Champagne. Wine jenis ini dihasilkan dengan proses fermentasi secara tradisional dalam sebuah botol yang berkapasitas sebesar 5 liter dan lama penyimpanan sekurang-kurangnya 6 bulan.
- Wine sparkling (*sparkling wine*). Dalam proses pembuatan wine ini gula yang terdapat difermentasi secara sempurna atau dapat pula terjadi tidak sempurna dapat dilakukan penambahan karbon dioksida, gula atau wine hasil destilasi (*wine spirit*). Wine setelah fermentasi pertama dimasukkan ke dalam botol diberi gula dan ragi diletakkan terbalik setelah ditutup dan dibiarkan terjadi fermentasi. Wine jenis ini dinamakan wine sparkling.
- Wine karbonatasi : Wine ini selain adanya karbondioksida hasil fermentasi juga ditambahkan karbondioksida dari luar dengan tekanan 100 kilo paskal.

Menurut Amerine *et al* (1972) bahwa sparkling wine tersebut dapat dibagi menjadi 4 tipe yaitu :

1. Tipe I. Karbon dioksida diperoleh dengan fermentasi sisa gula dari fermentasi primer. Ini mencakup anggur Alsatian, German, Loire, dan Italia.
2. Tipe II. Karbon dioksida berasal dari fermentasi malo-laktat. Ini mencakup wine vinho Verde dari Portugal Utara, tetapi banyak juga di Italia.
3. Tipe III. Karbon dioksida berasal dari hasil fermentasi dari gula yang ditambahkan. Sebagian wine sparkling yang dihasilkan di dunia adalah dengan cara ini.
4. Tipe IV Karbon dioksida ditambahkan bukan hasil fermentasi. Cara ini disebut wine karbonatasi.

Varietas anggur yang dipergunakan untuk pembuatan berbagai macam wine sparkling tergantung harga produk dan harga jenis wine yang digunakan. Dalam pembuatan wine sparkling yang berkualitas dapat dilakukan fermentasi dalam botol. Diantara jenis Champagne adalah Pinot Noir, Cardonny dan pinot Meunier. Jenis-jenis

lain di Azustralia seperti Semillon, Ondene, Sultana, Chenin Blanc, Muscadelle, Pedro Ximenez, Polomino, Colombard, Crouchen, Riesling dan Trebbiano.

Fermentasi dalam botol

Wine sparkling ini dibuat dengan dua cara yaitu yang dinamakan “**methode champenoise**” dan **cara transfer**. Cara yang pertama adalah merupakan metoda klasik yang dilakukan di Perancis untuk pembuatan wine sparkling di Champagne dengan cara sebagai berikut :

1. Buah anggur dengan kadar gula 9 sampai 11 ⁰Baume (16,2⁰ sampai 19,8 ⁰Brix) dipres tanpa dilakukan penghancuran dan dengan sekecil mungkin penarikan warna dari buah anggur merah dan tanin dari buah anggur putih. Tujuannya adalah untuk mengekstraksi cairan buah anggur dengan sekecil mungkin terdapatnya buah yang mengalami pelunakan (*maceration*). Dalam Champagne yang baik terdapat sedikitnya 510 liter free run per ton cairan buah.
2. Pengendapan (*settling*) mencakup klarifikasi cairan buah, menghilangkan zat padat dengan cara pengendapan (*racking*) kalau perlu disertai dengan sentrifuse atau dengan filtrasi. Suspensi zat padat umumnya kurang dari 0,2 gram per liter.
3. Fermentasi dilakukan dengan menggunakan khamir (khamir) yang telah diseleksi dan dilakukan pada suhu 11 sampai 14 ⁰C. Di Perancis dilakukan dengan penambahan gula (sukrosa). Lama fermentasi 10 sampai 14 hari, dan dapat ditambahkan bentonite rata rata 0,1 sampai 0,25 gram per liter bersamaan dengan pemberian diamonium fosfat 50 sampai 100 miligram per liter sewaktu terjadinya fermentasi pertama.
4. Penjernihan (*fining*) umumnya dengan isinglass atau gelatin.
5. Stabilisasi dalam keadaan dingin.
6. Penambahan gula dapat berupa gula pasir (gula tebu) sebanyak 19 sampai 26 gram per liter tergantung kadar alkohol dan tekanan yang dikehendaki Misalnya untuk memperoleh tekanan 600 k Pa (Bar, 87 psig atau tekanan 6 atm gauge) memerlukan 23 gram per liter untuk memperoleh kadar alkohol sebanyak 9 persen dan untuk memperoleh kadar alkohol sebanyak 12 persen memerlukan penambahan gula sebanyak 26 gram per liter. Untuk jelasnya terlihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hubungan konsentrasi gula (gram/liter) tekanan dan alkohol yang terbentuk (Rankine, 1998).

Alkohol % v/v	Gula (gram per liter) yang diperlukan untuk memperoleh		
	Tekanan 5,0 atm	Tekanan 5,5 atm	Tekanan 6,0 atm (gauge)
9	19	21	23
10	20	22	24
11	21	23	25
12	22	24	26

Perkiraan berkaitan dengan tekanan karbon dioksida pada suhu 20 °C, sebagai berikut
 1 volume = 1 atmosfer = 1 Bar = 100 kilopaskal = 14,5 pound per square gauge = 2 gram karbondioksida per liter.

7. Penambahan khamir yang telah mengalami seleksi
8. Pembotolan, dalam botol ini dimana wine ditambahkan gula dan khamir
9. Penempatan botol ini yang berisi wine, gula dan ragi dalam rak-rak. Botol diletakkan horizontal dalam rak-rak disimpan selama 6 bulan sampai beberapa tahun, tergantung kualitas wine dan pada suhu 12 sampai 15 °C.
10. Dikocok, botol diletakkan terbalik, dilakukan pemutaran setiap hari selama seminggu sehingga khamirnya menuju ketutup botol dan akan mengendap pada tutup botol tersebut.
11. Menghilangkan endapan pada tutup botol. Untuk menghilangkan endapan ini dilakukan dengan cara wine dalam botol didinginkan dalam bak pendingin dengan suhu minus 24 sampai minus 28 C. Dalam keadaan beku tutup botolnya ditarik dan dengan adanya tekanan karbon dioksida dari dalam botol sehingga khamir beku akan keluar dan botol. ditutup kembali.

Fermentasi primer

Dalam pembuatan wine aroma dan citarasa hendaknya dipertahankan dan dicegah terjadinya oksidasi. Untuk memperoleh keadaan yang demikian cairan buah harus mempunyai pH antara 2,9 dan 3,3. Untuk mendapatkan pH sebesar ini dapat digunakan belerang dioksida tidak lebih dari 50 milligram per liter diberikan sebelum proses fermentasi. Penambahan asam askorbat atau asam (tidak lebih dari 60 mg per liter) efektif diberikan sebelum fermentasi tetapi akan lebih efektif apabila diberikan sesudah fermentasi. Sangat baik sekali apabila cairan buah diendapkan dalam keadaan dingin

dengan pemberian enzim pektat dan penyaringan dengan menggunakan tanah diatome dan umumnya juga ditambahkan diamonium fosfat sebanyak 200 - 400 mg per liter. Perlu dilakukan pengaturan suhunya yaitu sekitar 15 °C

Pengurangan warna dapat dilakukan dengan mengusahakan sesedikit mungkin terjadinya kontak dengan kulit buah anggur sewaktu melakukan pengolahan, dan dapat pula dihilangkan dengan menggunakan karbon (maksimal sampai 1,0 gram per liter) atau PVPP (Polyvinyl Polypyrrolidone) sebanyak 0,5 gram per liter. Pemberian bentonite (maksimal sampai 1 gram per liter) umumnya diberikan setelah selesai fermentasi untuk membantu mnenghilangkan warnanya. Setelah terjadi fermentasi wine dijernihkan umumnya dilakukan dengan cara sentrifuse yang keseluruhannya belum jernih., dengan maksud menghilangkan endapan khamir dan kemudian dilakukan “stabilisasi dingin”. belerang dioksida serendah mungkin kurang dari 20 mg per liter.

Fermentasi sekunder

Khamir yang digunakan diseleksi yang mempunyai sifat sebagai berikut :

- Mempunyai kemampuan toleransi terhadap belerang dioksida bebas dan pH rendah pada waktu dilakukan inokulasi.
- Mempunyai kemampuan untuk memfermentasi wine pada suhu 10 sampai 15 °C dengan tekanan karbon dioksida 6 sampai 7 atm dengan kadar alkohol 10 sampai 11 persen.
- Dapat mengendap setelah proses fermentasi.
- Tidak menyebabkan adanya bau jelek terutama bau hidrogen sulfida dan asam -asam volatil.

Penambahan gula diperhitungkan untuk memperoleh tekanan karbon dioksida yang dikehendaki. Penambahan gula 4 gram per liter menimbulkan tekanan 1 atm karbon dioksida. Tekanan normal dalam botol fermentasi pada anggur sparkling sekitar 6 atm (5,9 bar, 88 psig atau 608 pascal), yang ekuivalen dengan 8,4 gram per liter karbon diokdsida pada suhu 20 °C memerlukan penambahan gula sebanyak 26 gram per liter untuk memperoleh wine dengan kadar alkohol 11 persen.

Di Australia suhu yang umum dalam proses fermentasi antara 10 sampai 16 °C, sedangkan Champagne (Perancis) suhu dalam proses fermentasi antara 11 dan 14 °C. Pada suhu ini lama fermentasi berlangsung 4 sampai 6 minggu. Dalam fermentasi

sekunder membentuk 8 gram karbondioksida. Mengenai kelarutan karbondioksida yang berkaitan dengan tekanan terlihat pada Tabel 12.

Tabel. 12. Kelarutan karbon dioksida (gram per liter) berkaitan dengan tekanan maupun suhu terlihat pada Tabel 12 (Rankine, 1998).

Tekanan (atmosfer)	0 °C	10 °C	20 °C
1	2,5	2,0	1,5
2	5,0	3,8	3,0
3	7,4	5,6	4,4
4	9,7	7,4	5,8
5	11,9	9,0	7,2
6	14,0	10,7	8,4

Pada fermentasi primer terjadi pengurangan jumlah nutrisi dalam wine dan umumnya diberikan penambahan diamonium fosfat 50 sampai 200 miligram per liter sebelum fermentasi berlangsung. Khamir memerlukan kelompok vitamin B-biotin, inositol, thiamin. Tetapi oleh karena sudah dianggap cukup sehingga biasanya tidak perlu dilakukan penambahan.

Kultur khamir dibuat dalam keadaan aerob untuk memperoleh persentase maksimum sel yang hidup, pada media “gula - wine” terdapat 100 - 150 juta sel per mililiter. Volume suspensi khamir yang ditambahkan harus dapat menghasilkan sebanyak 1 sampai 1,5 juta sel per mililiter di dalam botol.

Setelah penambahan gula, khamir dan nutrisi wine dibotolkan dan ditutup dengan tutup botol dan dibiarkan untuk terjadinya fermentasi dan dalam penyimpanan akan terjadi endapan khamir. Dapat pula ditambahkan zat yang terdiri dari isinglass (5 - 60 mg per liter), bentonit (20 - 150 mg per liter), alginat (5 - 25 mg per liter) dan tannin (5 - 50 mg per liter) dalam berbagai macam kombinasi. Botol-botol dapat diletakkan horizontal atau vertikal, dan suhu penyimpanan normalnya sekitar 15 °C.

Sistem Pemindahan (transfer)

Kualitas yang bagus dari wine sparkling yang difermentasi dalam botol bukan hasil dari penggunaan cara penumpahan, tetapi kualitas dari wine dasar (wine yang terbentuk pada proses fermentasi pertama) dan periode pematangan pada sisa khamir.

Dalam proses ini, wine yang stabil dalam keadaan dingin difermentasi dalam botol seperti pada metoda champenoise dan disimpan bersama dengan endapannya minimum 6 bulan. Dalam tingkat ini wine disimpan dengan tekanan 11 gram per liter karbondioksida atau 525 kilopascal pada suhu 20 °C. Botol-botol tersebut dipindahkan dari tempat penyimpanan ke konveyor (alat pengangkut semacam ban berjalan) ke mesin pemindah (transfer machine). Wine dan khamir dipindahkan dengan memasukkan suatu alat semacam pipa melalui tutup botol diberi tekanan sebesar 200 kilopascal karbon dioksida sehingga menekan keluar wine yang terdapat dalam botol melalui pipa tersebut. Botol ini akan kosong dan siap untuk diisi kembali.

Setelah terjadinya fermentasi dan penyimpanan wine pada endapan khamir, wine dingin dapat dipisahkan dengan jalan sentrifuse dan atau dengan filtrasi dimasukkan ke dalam tangki / wadah yang kedua yang terlebih dahulu diberi tekanan karbon dioksida sebesar 200 kilopascal. Selanjutnya dilakukan analisis terhadap belerang dioksida bebas (20 sampai 25 mg per liter), pH (kurang dari 3,2), sisa gula, tekanan (480 sampai 550 kilopascal) dan suhu (suhu sekitar minus 2 sampai 0 °C).

Isi tangki didinginkan sampai suhu sekitar 0 °C untuk menjaga agar karbon dioksida tetap larut dan tekanan 400 kilopascal. Minuman alkohol yang keras dan manis (disebut **liqueur**) ditempatkan dalam tangki sebelum dipindahkan, dihitung jumlah botol yang akan diisi dan rasa manis wine yang akan diproduksi. **Liqueur** dicampur dengan wine dan wine dalam botol ini dibiarkan berdiri agar khamir mengendap.

Pekerjaan akhir membotolkan kembali wine dalam keadaan tidak terdapat udara. Setelah pengisian wine ke dalam botol dan pemberian karbon dioksida dilakukan dengan mesin pengisi yang selanjutnya dilakukan penutupan dengan tutup gabus. Penuaan (aging) wine sparkling ini dapat dilakukan dari 6 bulan dsampai beberapa tahun tergantung tempat atau negara penghasil wine sparkling tersebut, misalnya di Perancis aging dapat dilakukan 12 bulan sampai tiga tahun.

Karbonatasi

Karbonatasi adalah suatu proses yang dipergunakan untuk pembuatan wine sparkling jenis **spumante** dengan harga yang tidak mahal. Caranya sebagai berikut ;

Wine dasar dibuat seperti dikemukakan di muka, distabilisasi dingin, disaring dan siap dibotolkan sebagai “table wine”. Dilakukan analisis dan hendaknya diperoleh sebagai berikut :

Belerang dioksida	:25 - 30 mg per liter
pH	kurang dari 3,3
Asam tertetras	6,5 - 8,0 gram per liter
Alkohol	disekitar 10 persen per volume.
Gula (sesuai yang diperlukan)	40 - 100 gram per liter.

Dilakukan pendinginan pada suhu 0 °C dalam suatu tangki/wadah yang terlindung oleh karbon dioksida untuk menghindari kontak dengan oksigen udara dan dilakukan ke alat karbonator, sehingga terdapat tekanan karbon dioksida. Karbonator umumnya berupa alat silindris vertikal dimana wine yang dingin dan karbon dioksida bercampur. Laju aliran, suhu wine dan tekanan karbon dioksida diatur untuk memperoleh tekanan karbon dioksida seperti yang dikehendaki. Kebanyakan karbon dioksida tidak menyebabkan wine berkualitas tinggi.

6. Wine Port (*Port Wine*)

Wine merah manis (*sweet red wine*) yang di produksi di Portugal merupakan negeri penghasil wine merah manis. Wine ini disebut juga wine “port “ (port wine). Selain di Portugal wine jenis ini banyak pula diproduksi di Australia, Kalifornia, Chili, Afrika Selatan dan Rusia.

Wine port disebut juga wine “fortified sweet wine” yang dibuat dari buah anggur merah dan berasal dari nama Porto (atau Oporto) di Portugal, tempat tanaman anggur tersebut ditanam dekat lembah Douro. Wine port dibuat dari buah anggur yang sangat manis dengan kadar gula lebih besar dari 14 °Baume. Buah anggur yang digunakan tangkainya dihilangkan, dihancurkan, dan “must” nya dipompa ke dalam fermentor yang terbuka atau tertutup. Kemudian ditambahkan belerang dioksida sebanyak 50 sampai 80 miligram per liter, asam tartarat dan khamir yang sudah diseleksi. Kulit buah diikutkan dalam proses fermentasi. Suhu fermentasi diantara 18 dan 25 °C, oleh karena suhunya lebih rendah warna dan “body” wine akan berkurang. Buah anggur tanpa kulit adalah 9 °Baume sehingga dilakukan fortifikasi 18 persen untuk hasil akhir dengan kemanisan

antara 3,5 dan 6 °Baume tergantung jenis wine. Wine port Australia mempunyai rasa lebih manis dari pada wine port Portugis, umumnya antara 3 dan 4 °Baume.

Wine tawny port merupakan campuran dari berbagai macam wine yang telah disimpan beberapa tahun dengan alkohol berasal dari hasil distilasi (spirit). Pematangan wine dalam wadah (botol) mengakibatkan warna yang lebih cerah dan timbul aroma dan citarasa yang lebih kompleks. Sebaliknya wine vitage port terdiri dari wine yang disimpan setahun, pematangannya berlangsung dalam waktu yang singkat.

Wine ini ditambahkan dengan brandi yang mengandung alkohol 80 sampai 83 % v/v.

Fortifikasi dengan alkohol terhadap kulit buah akan menyebabkan terjadinya ekstraksi zat-zat warna yang terdapat pada kulit buah anggur. Pada waktu pemerasan dapat terjadi peningkatan tannin dan ini diinginkan pada wine **vitage**. Setelah terjadinya fermentasi wine disimpan, dijernihkan dengan penambahan gelatin untuk menghilangkan tannin yang berlebihan. Wine tawny port merupakan corak wine yang populer di Australia dan dimatangkan dalam wadah yang terbuat dari kayu oak dengan suhu 20 sampai 28 °C.

Derajat keasaman (pH) wine Tawny maupun wine vitage port sekitar 3,4 sampai 3,8 dan kadar alkohol antara 17 sampai 19 % v/v. Kadar belerang dioksida umumnya antara 80 sampai 150 miligram per liter.

Wine vintage port kurang populer dibandingkan dengan wine tawny port. Jenis buah anggur yang digunakan adalah jenis Shiraz . Jenis anggur ini memerlukan masa fermentasi lebih lama sebelum dilakukan fortifikasi dan prosesnya dihentikan setelah kadar gulanya antara 3,5 sampai 4,0 °Baume. Di Australia anggur vintage port lebih banyak mengandung tannin dan warna. Anggur ini difortifikasi dengan brandi sehingga kadar alkoholnya 18 sampai 20 persen dan pHnya 3,7 dan beberapa diantaranya tidak disimpan dalam wadah yang terbuat dari kayu tetapi langsung dalam wadah dari baja taahan karat (stainless steel)

Jenis wine fortifikasi lain yang dihasilkan dari berbagai varietas buah anggur seperti Tokay, Madeira, Muscat, dan Vardelho dengan cara seperti diatas umumnya mempunyai mutu yang bagus dan beberapa diantaranya merupakan wine terkemuka. Untuk jelasnya dapat dilihat diagram alir cara pembuatan anggur manis yang difortifikasi (sweet fortified wine) pada Gambar 7

Wine Beralkohol Rendah

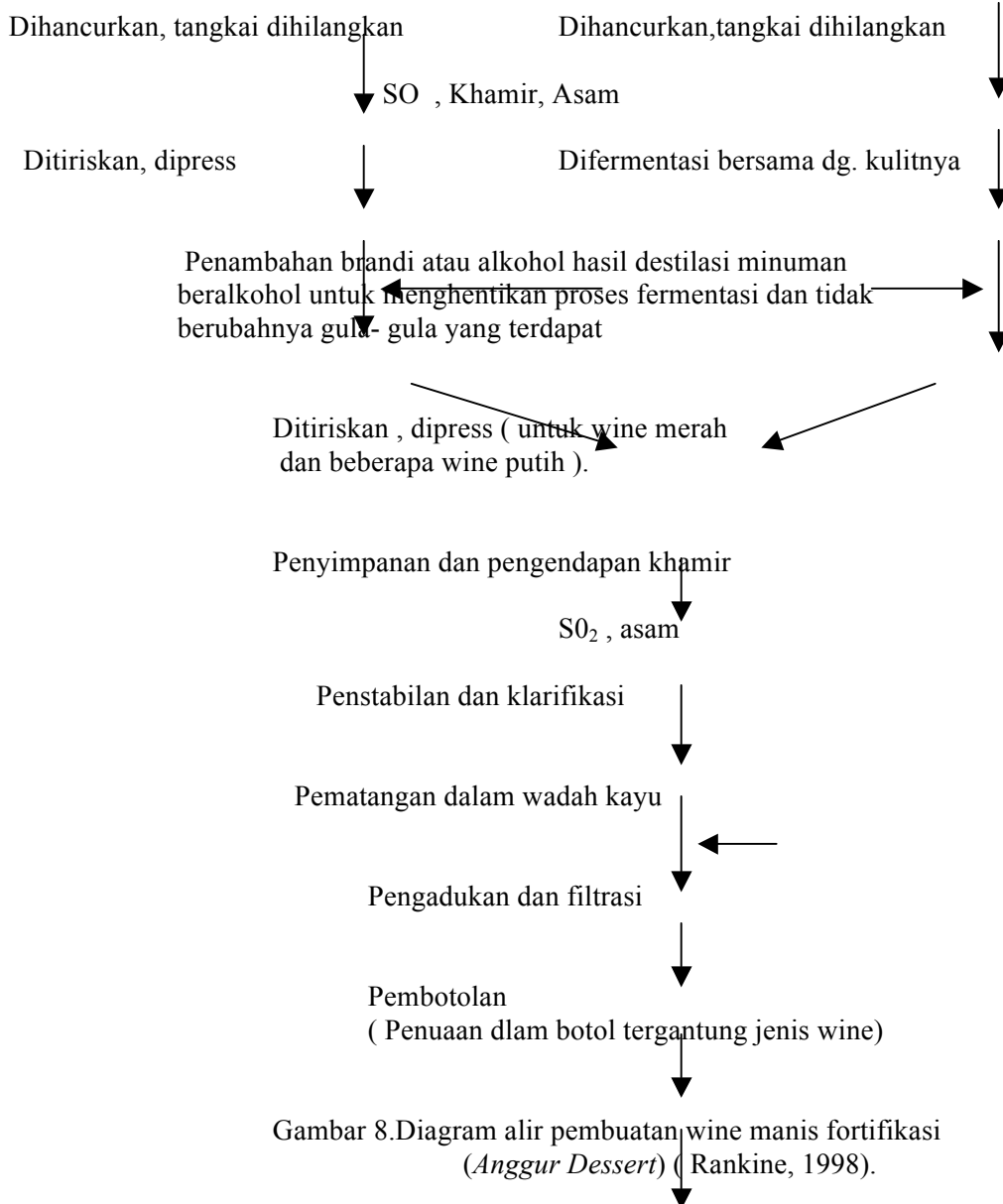
Akhir-akhir ini banyak menginginkan wine dengan kandungan alkohol lebih rendah dari wine pada umumnya. Di Australia ada jenis wine beralkohol rendah dengan kadar lebih rendah dari 60 ml per liter pada suhu 20 °C (8 % v/v) yaitu

- Wine dengan alkohol yang dikurangi (reduced alcohol wine) yaitu wine yang kadar alkoholnya telah dikurangi dengan penambahan air sehingga kadar alkoholnya berkisar antara 11,5 sampai 65 mililiter per liter pada suhu 20 °C.

Dealkoholisasi wine yaitu wine yang kadar alkoholnya telah dikurangi selain dengan penambahan air juga dapat dilakukan seperti pada diagram alir Gambar 8.

Buah anggur putih

Buah anggur merah



Persyaratan yang perlu diperhatikan dalam memproduksi wine beralkohol rendah adalah mempertahankan aroma dan citarasanya. Dalam proses fermentasi ester dan citarasa yang dikehendaki yang terbentuk oleh khamir proporsional dengan jumlah alkohol yang dihasilkan.

Cara utama yang digunakan adalah dengan vakum destilasi dan ultrafiltrasi.

Destilasi vakum, cara ini mencakup destilasi atau pemekatan wine dengan cara vakum dengan aliran kontinyu dan akan diperoleh destilat dan wine beralkohol rendah. Wine ini dididampurkan (diblender) bersama dengan cairan buah anggur untuk meningkatkan citarasanya. Konsentrator (alat pemekat sentrifugal) bervakum tinggi dan dengan suhu rendah umumnya bekerja pada suhu 30 sampai 40 °C dalam waktu yang singkat. Penggunaan suhu rendah degradasi terhadap citarasa akan berkurang, dan penggunaan waktu yang pendek, sehingga kemungkinan terbentuknya hidroksi metil furfural yang tidak dikehendaki berkurang, biasanya memerlukan waktu 20 menit pada suhu 80 °C.

Perlakuan dengan kevakuman yang tinggi dan suhu rendah memungkinkan hilangnya alkohol sangat sedikit dan terjadinya penggabungan dengan produk-produk lain. Dari segi kualitas wine dengan perlakuan ini lebih ringan daripada destilasi yang dilakukan dalam tekanan atmosfer atau dalam udara terbuka suhunya mencapai 100 °C dalam waktu 20 - 30 menit. Jumlah volume yang diperlukan tergantung jumlah alkohol yang akan diturunkan.

VI. PENJERNIHAN (FINING)

Penjernihan (*fining*) adalah suatu cara untuk menjernihkan (klarifikasi) dan memurnikan cairan, misalnya wine untuk menjernihkan atau menstabilkan diperlukan zat alami atau zat-zat sintetis. Fining dalam suatu proses tradisional yang bersifat praktis untuk menjernihkan wine diberikan suatu zat kemudian dibiarkan mengendap dengan sendirinya.

Cara yang dilakukan seperti diatas memerlukan waktu lama. Untuk mempercepat proses pengendapan perlu diberikan zat penjernih. Penjernihan (*fining*) yang dilakukan dengan pemberian zat penjernih jauh lebih sederhana daripada klarifikasi dengan filtrasi.

Mekanisme penjernihan dapat sangat kompleks dan umumnya penyederhanaan yang berlebihan. Penjelasan yang sangat sederhana dapat dikemukakan merupakan suatu

daya tarik elektrostatis, dimana zat penjernih membawa muatan listrik bereaksi dengan bahan yang terdapat pada wine yang bermuatan berlawanan berikatan membentuk endapan yang bermuatan netral. Misalnya reaksi yang terjadi antara gelatin yang bermuatan positif bereaksi dengan tannin yang bermuatan negatif.

Dalam melakukan penjernihan dapat dilakukan secara empiris. Untuk mengendapkan zat-zat tertentu tidak langsung berhubungan dengan jumlah zat penjernih yang ditambahkan, reaksi antara dua zat lebih bersifat logaritmik dari pada bersifat linear. Berbagai faktor perlu dipertimbangkan misalnya suhu (bentonit memerlukan suhu hangat dari pada suhu dingin pada wine

Beberapa zat penjernih dapat meng “adsorpsi “ senyawa -senyawa pembentuk citarasa (flavor) pada wine. Misalnya bentonit dapat menyerap (meng “adsorpsi”) citarasa pada wine sehingga citarasa wine tersebut menjadi berkurang.

Beberapa zat penjernih :

1. Gelatin

Penambahan gelatin akan dapat mengurangi tannin yang memberikan rasa sepet (astringent) pada wine merah. Dosis yang diberikan 0,05 sampai 0,15 gram per liter, caranya adalah tepung gelatin dicampur dengan air dingin dibiarkan semalam, kemudian dihangatkan untuk melarutkan dan ditambahkan wine diaduk dengan baik. Gelatin sedikit berwarna dan mempunyai bau netral. Daya pembentuk gel dinyatakan dalam bentuk angka mekar (*bloom*) nilainya antara 80 sampai 200. Angka ini merupakan sebagai ukuran resistensi untuk perubahan bentuk suatu gelatin dalam keadaan padat dari suatu larutan 6,7 persen pada suhu 10 °C dalam waktu 18 jam. Angka mekar menunjukkan kemampuan gelatin untuk menyerap air, umumnya antara enam dan sepuluh kali dari beratnya, dan angka mekar yang lebih besar daya ikat gelatin akan lebih besar. Berat molekul yang dikehendaki untuk penjernihan antara 15 000 dan 140 000.

Gelatin mempunyai titik isoelektrik pada pH 4,7. Jadi muatan positif dalam larutan bereaksi dengan molekul bermuatan negatif seperti misalnya fenolat dengan mengikat hidrogen. Apabila dilakukan pemberian berlebihan dapat merusak protein yang terdapat dalam wine.

2. Isinglass

Pemberian isinglass ke dalam wine adalah menghilangkan fenolat dan tannin yang memberi rasa pahit. Isinglass ini dibuat dari gelembung ikan tertentu seperti gelembung ikan cord, sturgeon dan lain-lainnya

Jaringan gelembung ikan hampir seluruhnya terdiri dari kolagen, suatu protein mengandung hidroksi -prolin. Titik isoelektrisnya 5,5 sehingga wine pada pH (3,0 - 4,0) gelembung ikan ini bermuatan positif yang akan menempel pada partikel -partikel wine yang bermuatan positif. Kadang-kadang dengan partikel lain yang tidak bermuatan membentuk senyawa kompleks mengendap ke bagian dasar. Endapan yang terbentuk, zat penjernih menstabilkan endapan sehingga tidak terpengaruh oleh goncangan.

Isinglass merupakan bahan yang sulit dalam penggunaannya. Zat tersebut hendaknya dapat larut dengan sempurna, ini merupakan suatu masalah dalam penggunaannya. Dalam proses tradisional mencakup sejumlah langkah. Gelembung ikan yang sudah dipilih dan dikeringkan dibersihkan, dikelantang / diputihkan, disterilkan dan kemudian dicabik cabik kecil-kecil. Dapat pula digiling untuk memperbesar daya larutnya.

Penggunaan isinglass mempunyai keuntungan yaitu dapat digunakan untuk menjernihkan wine putih tanpa terjadinya kehilangan warna. Jumlah yang digunakan cukup kecil sekitar 2 persen jauh lebih sedikit dari pada penjernih yang lainnya. Misalnya bentonite penggunaannya sampai 10 persen. Isinglass lebih banyak menghilangkan leukoantosianin tetapi kurang memadatkan tannin dari pada zat penjernih gelatin dan kasein. Para pengolah wine mengatakan isinglass merupakan zat penjernih protein yang sangat bagus, menghasilkan wine yang bening dan lebih lembut. Rata-rata penjernih yang digunakan rendah, umumnya sekitar 0,02 sampai 0,1 gram per liter. Isinglass sering digunakan berkaitan dengan bentonit, bentonit ditambahkan lebih dahulu.

Cara penjernihan dapat dikemukakan sebagai berikut :

Pada wadah yang ber volume 250 liter, dimasukkan air 60 liter 500 gram asam sitrat, dan 140 gram kalium metabisulfit diaduk sampai larut. Pengadukkan dilanjutkan dan diberikan satu kilo gram isinglass dan diaduk lagi dengan baik. Dibiarkan satu malam dalam suhu 15 °C sehingga terbentuk gel. Hari berikutnya volumenya dinaikkan menjadi 200 liter dengan penambahan air. Untuk per liter wine dapat diberikan 25 miligram isinglass, untuk 1000 liter wine dapat diberikan 25 gram isinglass.

3. Susu dan kasein

Penjernih dengan susu merupakan perlakuan tradisional yang digunakan untuk wine putih untuk menghilangkan rasa pahit yang disebabkan oleh fenolat. Susu merupakan penjernih protein dan kerjanya seperti kerja gelatin, albumen telur, dan isinglass. Zat penting penyusun susu adalah kasein, suatu heteroprotein. Susu tidak terpresipitasi karena panas tetapi akan terpresipitasi dalam keadaan asam. Susu tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkali. Oleh karena itu kasein sebelum ditambahkan dalam wine terlebih dahulu dibuat alkalis.

Penjernih kasein digunakan secara luas untuk white table wine dan wine sherry untuk memberikan rasa enak, menghilangkan rasa pahit, menghilangkan citarasa yang kurang baik dan menyebabkan warna wine bening.

Beberapa macam penjernih susu yang dapat digunakan, skim atau susu murni, kasein laktat dan natrium kaseinat. Susu skim kerjanya lebih lembut daripada kasein, mungkin karena tidak larut. Kasein laktat lebih disukai tetapi kadang-kadang sulit untuk memperolehnya. Umumnya diberikan kasein laktat antara 0,05 dan 0,3 gram per liter (50 sampai 300 gram per 1000 liter).

4. Albumen atau Putih Telur

Protein dalam telur terutama albumen dengan beberapa globulin dan sebutir telur mengandung 3 sampai 4 gram protein. Cara penggunaannya adalah sebutir telur dipecah, dipisahkan kuning telur dari putihnya. Kemudian dibuat 10 persen larutan dengan memasukkan ke dalam larutan natrium khlorida 0,5 persen. Larutan ini kemudian dimasukkan ke dalam wine. Umumnya ukurannya satu sampai tiga butir telur untuk 200 liter wine. Alternatif lain dapat digunakan putih telur beku rata-rata antara 0,1 dan 0,5 gram per liter.

5. Polyvinyl-polypyrrolidone (PVPP)

Zat penjernih yang digunakan secara tradisional adalah dari sumber alami seperti halnya bentonit, kasein, putih telur, gelatin dan isinglass. Tetapi ada juga yang sintetis seperti PVPP yang digunakan sebagai penjernih pada wine. Zat ini digunakan untuk wine putih untuk menyerap fenolat .

PVPP merupakan singkatan dari **poly-vinyl-poly-pyrrolidone** merupakan polimer dari PVP (**Poly-vinyl-pyrrolidone**) berat molekul lebih besar. Beberapa macam polimer vinyl pyrrolidone digunakan untuk berbagai macam bahan seperti bahan plasma darah, kosmetik, perekat, detergen dan sabun, Komponen-komponen listrik, serat dan tekstil, lithografi dan fotografi, kertas dan plastik, bahan -bahan obat-obatan dan lain-lainnya. Polimer yang lebih kecil, PVP mempunyai berat molekul antara 10 000 sampai 360 000, semuanya ada yang mudah atau kurang larut dalam air.

Polimer dengan berat molekul tinggi tidak larut dipergunakan untuk klarifikasi dan stabilisasi pada bir. Penggunaan untuk bir dengan maksud untuk memperbaiki citarasa, klarifikasi, warna, dan sifat-sifat busa.

PVPP digunakan dalam wine karena sebagai absorben terhadap senyawa - senyawa fenolat yang memberikan rasa pahit dan warna coklat pada wine putih. PVPP juga digunakan untuk menghilangkan atau mencegah warna muda. Daya pengikatan terhadap leukoanthosianin, katechin, flavonol dan asam-asam fenolat terjadi melalui pengikatan hidrogen, dimana fenol terikat pada gugusan ketoimida. Oleh karena PVPP praktis tidak larut dalam wine dapat dianggap sebagai suatu zat ikut dalam proses dan tidak merupakan zat additif.

Di Australia penambahan PVPP dalam wine diperkenankan maksimum sebanyak 100 milligram per liter sedangkan di New Zealand sebanyak 60 milligram per liter. PVPP tidak larut lebih dari 1,5 %.

Oleh karena harga PVPP mahal sehingga pada umumnya perusahaan minuman wine berusaha untuk memperoleh kembali PVPP yang telah digunakan. PVPP yang telah ditambahkan ke dalam wine diambil dengan cara filtrasi atau dengan sentrifuse kemudian diikuti dengan pemberian natrium hidroksida sebanyak 0,5 persen dan selanjutnya dilakukan netralisasi.

PVPP yang digunakan dimasukkan ke dalam wine kemudian diaduk dan pengadukan dapat dilakukan selama satu jam untuk memberi kesempatan terjadinya kontak antara penjernih yang tidak larut dengan wine. Kemudian PVPP dibiarkan mengendap di dasar wadah. Jumlah PVPP yang diberikan tergantung pada banyaknya fenolat yang akan dihilangkan dan biasanya bervariasi antara 0,2 sampai 0,5 gram per liter.

6. Sol Silika (Silica Sol)

Zat penjernih ini disebut pula **Kiieselsol** atau **Baykisol**. Zat ini mencegah terjadinya kelebihan zat penjernih dari protein seperti gelatin dan untuk mempercepat pengendapan zat penjernih. Dalam wine akan terbentuk suspensi koloidal silikon dioksida yang bermuatan negatif. Dengan adanya partikel bermuatan positif seperti gelatin atau protein terjadi ikatan elektrostatik sehingga terjadi flokulasi dan akan mengendap.

Cara pemberian dilakukan dengan mula-mula diberikan 0,03 sampai 0,1 gram per liter gelatin kemudian diberikan sol silika dari 0,06 sampai 0,2 gram per liter, pemberian secara terpisah dengan maksud agar terjadi pencampuran yang baik antara kedua zat tersebut. Pemberian kombinasi sol silika dan gelatin akan menyebabkan kejernihan yang sangat baik dan terjadi endapan yang sangat kompak.

VII. FORTIFIKASI

Arti dari fortifikasi adalah tindakan untuk memperkuat atau untuk mempertahankan, misalnya dalam pembuatan wine untuk meningkatkan kadar alkohol dapat ditambahkan alkohol hasil destilasi wine (disebut spirit) atau dapat ditambahkan brandi (sari buah yang difermentasi kemudian dilakukan destilasi disebut juga brandy spirit). Kadar alkohol minimum pada wine fortifikasi yang dijual di Australia sekitar 17 % dan maksimum 23 %. Sedangkan untuk ekspor keluar Australia dapat lebih tinggi yaitu 24 %. Tetapi pada umumnya wine fortifikasi kandungan alkoholnya 17 sampai 19 %.

Alkohol hasil destilasi dari buah anggur yang digunakan untuk fortifikasi dapat berkadar antara 94 sampai 96 % atau bila digunakan brandi dapat dengan kadar antara 57 sampai 83 %. Penambahan alkohol pada waktu proses fermentasi yang disertai dengan pengadukan menyebabkan proses fermentasi terhenti karena pertumbuhan khamir terhenti. Apabila alkohol yang ditambahkan pada cairan buah yang tidak disertai dengan pengadukan maka akan mengapung pada permukaan, fermentasi berlangsung dengan

lambat. Wine yang difortifikasi yang terasa manis tergantung kadar gula pada must atau cairan buah pada waktu akan difortifikasi.

Pelaksanaan fortifikasi tidak dapat dilakukan dengan tepat karena kesulitan pengukuran yang tepat dengan Baume pada ‘must’ terfermentasi. Sebelum diberi penambahan alkohol sebaiknya fermentasi berlangsung setelah cairan buah keluar dari kulit buah. Pengukuran kadar gula dengan menggunakan hidrometer pada waktu terjadinya fermentasi terjadi kekeliruan karena alkohol (berat jenis 0,789) menyebabkan hidrometer tenggelam. Jadi akan menunjukkan kadar gula lebih rendah dari kadar yang sebenarnya. Keadaan yang kurang tepat pada pengukuran kadar alkohol karena terdapatnya zat-zat yang terlarut seperti gula dan karamel sehingga pengukuran dengan hidrometer akan nampak lebih tinggi. Dalam perhitungan kurang tepatan tersebut hendaknya dipakai dasar 1 persen alkohol (v/v) sesuai dengan 0,26 °Baume atau 0,47 Brix.

Untuk melakukan fortifikasi perlu diperhatikan hal-hal berikut :

- Rasa manis awal dari “must” atau wine yang difortifikasi dinyatakan dengan derajat Baume
- Volume awal dan kadar alkohol must atau wine yang akan difortifikasi
- Kadar alkohol dan volume awal dari brandi atau alkohol hasil destilasi yang akan digunakan untuk fortifikasi.
- Volume wine setelah fortifikasi.
- Kadar alkohol dalam wine setelah fortifikasi.

Penambahan jumlah alkohol ke dalam anggur dapat diperhitungkan diukur dengan derajat Baume atau Brix. Misalnya dapat dikemukakan sebagai berikut :

Must - 5780 liter pada 13,4 °Baume

Alkohol spirit 95% v/v yang digunakan sebagai fortifikasi’

Diinginkan : Wine (anggur) yang mengandung alkohol 18,5 % v/v pada 4,5 °Baume

Pertanyaan : Berapa banyaknya alkohol yang diperlukan untuk fortifikasi dan kapan harus ditambahkan ?

1. Kesamaan : Kadar alkohol akhir dikalikan 0,26 dengan dasar bahwa alkohol 1 % v/v disamakan dengan 0,26 °Baume, yaitu $18,5 \times 0,26 = 18,5 \times 0,26 = 4,8$ °Baume.

Jadi kadar alkohol ini dengan kadar gula 4,8 °Baume.

2. Derajat Baume yang diinginkan (4,5) setelah fortifikasi ketika dikoreksi akan menghasilkan derajat Baume tekoreksi.yaitu derajat Baume 4,5 ditambah dengan derajat Baume 4,8 sama dengan 9,3 °Baume.

Angka ini digunakan untuk menghitung kadar alkohol yang dihasilkan dalam proses fermentasi sebelum fortifikasi atas dasar bahwa 1 °Baume menghasilkan 1 % v/v alkohol.

3. Alkohol yang terbentuk sebelum fortifikasi

Pada Baume awal dikurangi dengan Baume terkoreksi dinyatakan sebagai kadar alkohol seperti dalam (2) diatas yaitu $13,4 - 9,3 = 4,1$ °Baume, jadi kadar alkohol 4,1 % v/v sebelum fortifikasi

4. Kesamaan Baume oleh alkohol yang terbentuk pada waktu fermentasi, dengan menggunakan angka konversi 0,26 (1) diatas $= 4,1 \times 0,26 = 1,1$ °Baume. Jadi dengan demikian dihasilkan oleh fermentasi alkohol dengan derajat Baume sebesar 1,1 °Baume.

5. Baume riil pada fortifikasi

Ini akan diperoleh dengan mengurangi Baume terkoreksi , yaitu $9,3 - 1,1 = 8,2$ °Baume. Jadi “must bisa difortifikasi sebesar 8,2 °Baume. apabila menginginkan kadar alkohol 4,1 % v/v.

6. Fortifikasi dengan penambahan Alkohol

Dapat dihitung dengan menggunakan rumus **Pearson Square** (Rankine,1998)

$$X = \frac{V(C - A)}{B - C}$$

X = Banyaknya alkohol spirit untuk fortifikasi (liter)

V = Banyaknya must atau wine yang akan difortifikasi (liter)

C = kadar alkohol akhir

A = kadar alkohol “must” atau wine yang difortifikasi

B = kadar alkohol yang digunakan untuk fortifikasi.

$$\begin{aligned} X &= \frac{5780(18,5 - 4,1)}{95 - 18,5} \\ &= \underline{\underline{1088 \text{ liter alkohol}}} \end{aligned}$$

yaitu 1088 liter alkohol yang digunakan untuk fortifikasi ke dalam 5780 “liter must” yang difermentasi pada 8,2 °Baume yang akan difermentasi sehingga akan menghasilkan 6868 ($1088 + 5780 = 6868$) liter wine dengan 4,5 °Baume.dengan kadar alkohol 18,5 % v/v. (Biasanya volume wine yang dihasilkan dikurangi 1,6 % , tetapi umumnya diabaikan).

VIII. WINE TIDAK DARI BUAH ANGGUR

Wine dapat dibuat dari berbagai macam buah-buahan, madu dan umbi-umbian. Berbagai macam buah-buahan seperti buah apel, peach, apricot, plum, pear, cherri, mangga, pisang, papaya, salak, mete dan lain-lainnya. Umbi umbian yang digunakan seperti jae, ketela rambat ungu, dan lain-lainnya.

Buah-buahan maupun umbi-umbian yang digunakan sebagai bahan pembuatan wine kadar gula yang dikandungnya umunya kurang mencukupi sehingga perlu ditambahkan gula sebelum dilakukan fermentasi. Tetapi umbi ketela rambat ungu mengandung kadar gula cukup untuk pembentukan alkohol. Secara teoritis produk yang mengandung cukup kadar air, gula, dan senyawa senyawa lain yang dapat digunakan oleh khamir untuk perkembangannya dapat digunakan sebagai bahan pembuatan wine. Prinsip pembuatannya adalah sama seperti pada pembuatan wine dari buah amggur. Produk yang dihasilkan dapat berupa dry, sweet, dan sparkling wine.

Wine yang dibuat dari madu dengan mengencerkan terlebih dahulu dan perlu ditambahkan senyawa senyawa nitrogen maupun mineral-mineral untuk nutrisi khamir yang digunakan dalam proses fermentasi. Umbi ketela rambat ungu yang digunakan sebagai bahan pembuatan wine dapat dilakukan dengan jalan pengukusan terlebih dahalu. Setelah dalam keadaan dingin dapat diberi ragi tape. Pemeraman dilakukan dua sampai tiga hari. Dilakukan pemerasan dalam pemerasan dapat dicampur dengan air steril dengan perbandingan (1:1), yaitu satu kilogram berat tape ditambahkan satu kilogram air. Mengenai pembuatan starter dan wine ketela rambat terlihat pada Gambar 9 dan 10 sedangkan Gambar diagram alir pembuatan wine buah mete terlihat Gambar 11

Pemberian Gula 10 %

Pasteurisasi (70 C selama 10 menit)

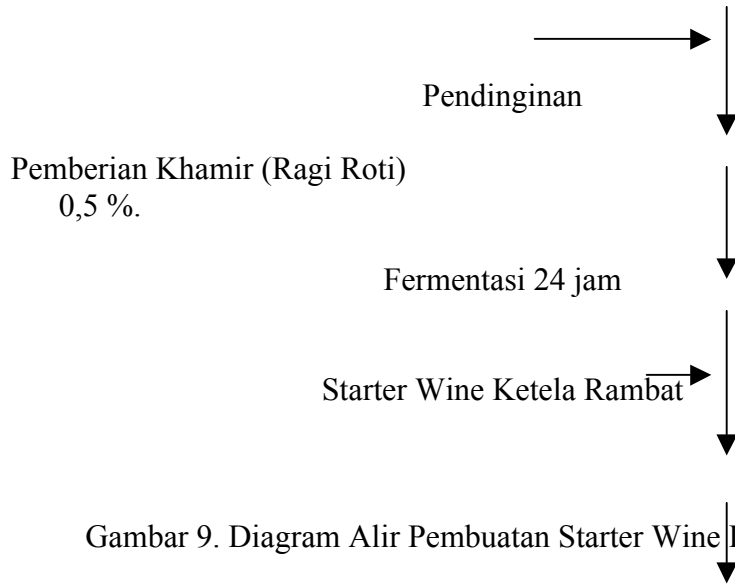
Pendinginan

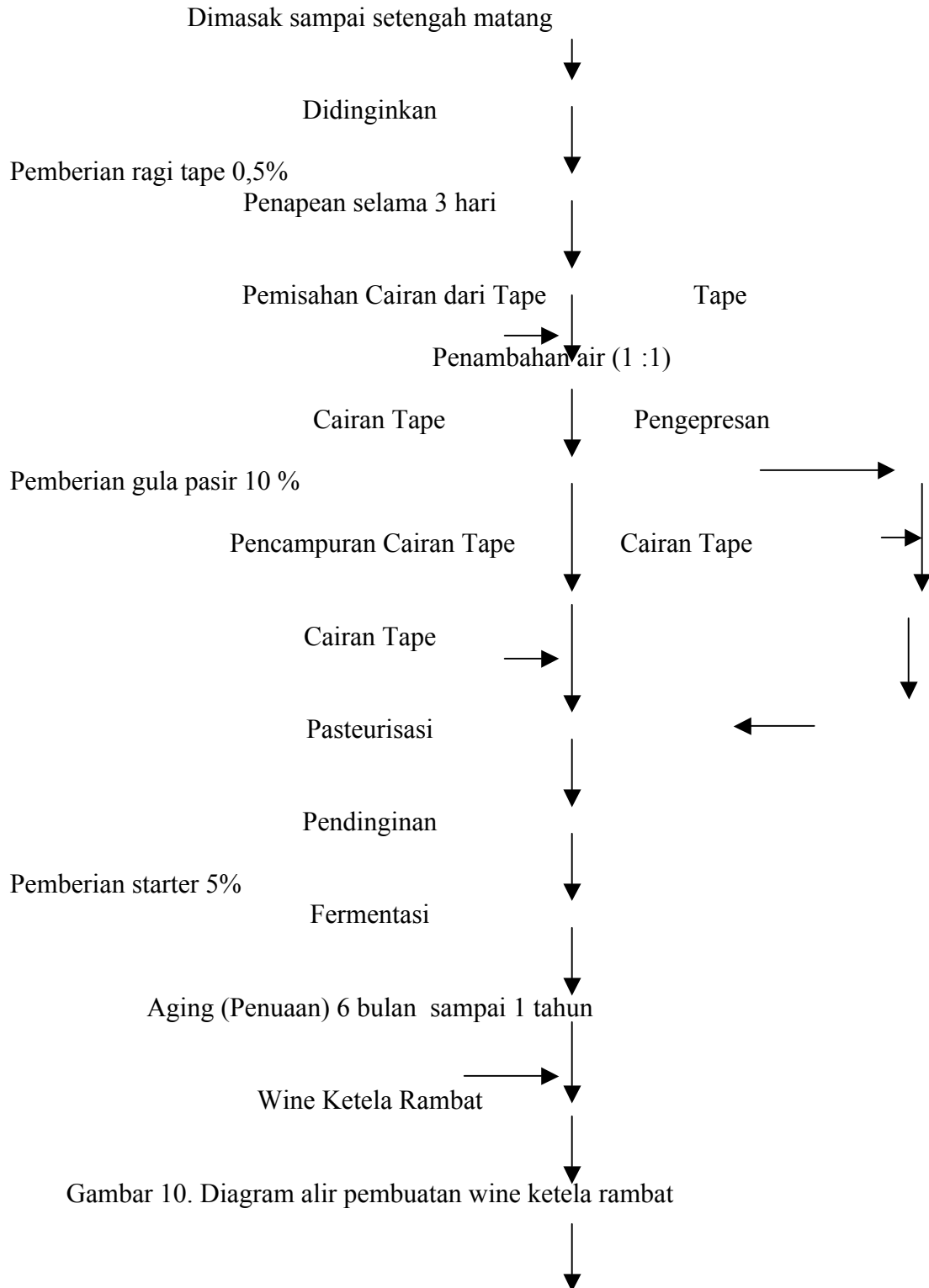
Pemberian Khamir (Ragi Roti)
0,5 %.

Fermentasi 24 jam

Starter Wine Ketela Rambut

Gambar 9. Diagram Alir Pembuatan Starter Wine Ketela Rambut





Gambar 10. Diagram alir pembuatan wine ketela rambat

Dicuci dan dipotong-potong

Ditimbang

Ditambah air (1:4)

Dihancurkan

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 150 ppm

Bubur buah

Dipasteurisasi 70 C selama 5 menit

Disaring

Endapan

Filtrat

Didinginkan pada suhu 30 C

pH diatur sampai 3,75

Pemberian gula 10 %

Amonium fosfat 100 ppm

Starter 5 %

Fermentasi 14 hari

Penjernihan

Dipindahkan ke wadah yang lain/filtrasi

Aging (3- 6 bulan)

Dibotolkan

Gambar 11. Diagram alir pembuatan wine dari buah semu jambu mete

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J. 1964. Introductory Mycology. John Wiley & Son, Inc., New York.
- Amerine, M.A. 1964. Wine. *In* Food, J.E. Hoff and J. Jamiak (eds). Scientific American, W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Amerine, M.A., H.W. Berg, and W.V. Cruess. 1972. The Technology of Wine Making. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Amerine, M.A. and V.L. Singleton. 1977. Wine. Australia & New Zealand Book Company, Sydney.
- Caruso, M., A. Capece, G. Satzano and P. Romano. 2002. Typing of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata* strains from Aglianico wine. Letters in Applied Microbiology 34 : 323-328.
- Doyle, Michael P, Larry R. Beuchat and Thomas J. Monville. 2001. Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers 2nd Edition. ASM Press. Washington, D.C.
- Fardiaz, S. 1988. Fisiologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Frazier, W.C. 1967. Food Microbiology. Tata Mc Graw- Hill Publishing Company Ltd., New Delhi.
- Jay, J.M. 1992. Modern Food Microbiology. Chapman & Hall, New York.
- Judoamidjojo, M., Abdul Aziz Darwis dan Endang Gumbira Said. 1990. Teknologi Fermentasi. Rajawali Pers, Jakarta.
- Kyung Man You, Claire-Lise Rosenfield and Douglas C. Knipple. 2003. Ethanol Tolerance in the Khamir *Saccharomyces cerevisiae* is Dependent on Cellular Oleic Acid Content. Applied and Environmental Microbiology 69: 1400-1593
- Pirt, S.L. 1975. Principles of Microbe and Cell Cultivation. Blackwell Scientific Publication. Oxford.
- Rahayu, E.S., dan K.R. Kuswanto. 1988. Teknologi Pengolahan Minuman Beralkohol. Pusat Antar Universitas dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rankine, B. 1998. Making Good Wine. A Manual of making Practice For Australia and New Zealand. Pan Macmillan Australia Pty Limited, Sydney

Reed, G. 1975. Enzymes in Food Processing. Academic Press. New York.

Sikya, B. 1983. Methods Industrial Microbiology. John Wiley and Sons. New York.

Tucker, G.A. and L.F.J. Woods. 1995. Enzymes in Food Processing. Blackie Academic & Professional. London.

LAMPIRAN – LAMPIRAN

Lampiran 1

1. Ukuran massa

1 mikrogram (1 ug)	= 10^{-6} gram
1 miligram (1 mg)	= 10^{-3} gram
1 kilogram (1 kg)	= 10^3 gram = 1000 gram
1 tonne (1`)	= 1000 kilogram atau 2204 pound
1 pound (1 lb)	= 0,454 kilogram atau 454 gram
1 ton (US)	= 2000 pound atau 907 kilogram
1 ton (imperial)	= 2240 pound atau 1016 kilogram

2. Panjang

1 mikrometer	= 10^{-6} meter
1 milimeter	= 10^{-3} meter
1 sentimeter	= 10^{-2} meter
1 kilometer	= 10^3 meter atau 1000 meter
1 meter	= 39,37 inci

3. Luas

1 hektar (ha)	= 10 000 meter persegi atau m^2 = 2,48 acre
1 acre	= 0,405 hektar

4. Volume

1 mikroliter (1 uL)	= 10^{-6} liter
1 mililiter (1 mL)	= 10^{-3} liter
1 hektoliter (1 hL)	= 10^2 liter atau 100 liter
1 kiloliter (1 kL)	= 10^3 liter atau 10000 liter
1 gallon (1 gal) imperial	= 4,54 liter
1 gallon USA	= 3,78 liter
1 hektoliter	= 22 gallon imperial

Konsentrasi umumnya dinyatakan sebagai gram per liter atau miligram per mililiter

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Berat zat yang dilarutkan}}{\text{Volume larutan}}$$

1 gram per liter	= 0,1 persen w/v
1 miligram per liter (mg/l)	= 1 part per million (ppm)
10 000 miligram per liter	= 1 persen (%) w/v

Baume (Be). Alat ukur (hidrometer) yang digunakan untuk mengukur berat jenis pada awalnya digunakan untuk mengukur larutan garam.

$$0^{\circ} \text{ Be} = 1,0 \text{ berat jenis}$$

$$10^{\circ} \text{ Be} = 1,075 \text{ berat jenis atau mendekati 10 persen per volume alkohol}$$

Brix (Balling) adalah suatu alat hidrometer yang digunakan dalam industri gula. Brix adalah jumlah gram gula tebu dalam 100 gram larutan pada suhu $15,6^{\circ} \text{ C}$.

$$1^{\circ} \text{ Brix} = 0,56^{\circ} \text{ Baume}$$

$$1^{\circ} \text{ Baume} = 1,80^{\circ} \text{ Brix}$$

Oechsle = Skala hidrometer Swiss adalah suatu alat ukur alternatif untuk mengukur berat jenis.

$$\text{Oechsle} = (\text{Berat Jenis} - 1) \times 1000. \text{ Misalnya } 85^{\circ} \text{ Oe} = (1,085 \text{ SG.-1}) \times 1000$$

$$100^{\circ} \text{ Oe} = 13,1^{\circ} \text{ Baume atau } 23,6^{\circ} \text{ Brix}$$

Lampiran 2.

Baume

Merupakan ukuran penting dalam pembuatan wine digunakan dalam industri wine di Australia. Alat ukur ini ditemukan oleh Antoine Baume- dipergunakan untuk berbagai macam pengukuran diantaranya untuk pengukuran larutan garam. Baume lahir di Senlis, Perancis dalam tahun 1728 dan meninggal di Paris dalam tahun 1804. Dia adalah seorang apoteker, bekerja sambil belajar, menyediakan dan membuat obat-obatan dan peralatan. Dia merupakan orang pertama yang memproduksi ammonium klorida dalam jumlah besar. dalam tahun 1767 dan dalam tahun 1777 memenangkan hadiah pada pembuatan dapur dan destilasi wine. Alat (hidrometer) ini dikembangkan lebih lanjut dalam tahun 1768.

Untuk skala yang lebih berat dari air, pada 0° Baume adalah pada air destilasi dalam suhu 15°C dan 10° Baume sama dengan 10 persen larutan garam. Pada awalnya Baume didefinisikan pada 15° Baume (Be) sebagai suatu larutan 15 bagian berat natrium klorida dalam 85 bagian berat air pada suhu $12,5^{\circ}\text{C}$ atau $10,0^{\circ}$ Reaumur.

Untuk cairan yang lebih ringan dari pada air, 0° Baume sama dengan 10 persen larutan garam dan minus 10° Baume pada air destilasi. Untuk kalibrasi hidrometer pada suhu 20°C harus dibaca pada 0° Baume (Be) dalam air destilasi pada suhu 20°C .

Sebagai suatu contoh misalnya sari buah-buahan yang diukur menunjukkan 11 Baume akan menghasilkan alkohol sebesar 11 persen per volume (by volume) apabila dilakukan fermentasi . Umumnya 1° Baume pada cairan buah anggur akan sama 1,8 persen padatan terlarut, sebagian besar adalah gula-gula (glukosa, fruktosa, dan sedikit sukrosa).

Balling

Karl Josef Napoleon Balling adalah orang Cekoslowakia ahli kimia (1805 -1868). dia mengembangkan skala hidrometer untuk mengukur konsentrasi sirup gula. Derajat balling menunjukkan jumlah gram gula tebu atau bit dalam 100 gram air pada suhu 15°C atau $12,5^{\circ}$ Reaumur.

Brix

Dalam tahun 1854 Brix adalah orang Austria ahli matematika membuat hidrometer berdasarkan data Balling. Dengan hidrometer tersebut akan dapat dibaca langsung persentase gula dalam sirup. Skala 0° sampai 75° Brix yang berarti dari 0 sampai 75 persen gula. Sekarang industri gula menggunakan derajat Brix. Hidrometer brix dikalibrasi pada suhu 20°C

Oechsle

Hidrometer ini diperkenalkan oleh Ferdinand Oechsle (1774 - 1852) orang Jerman. Derajat Oechsle dari suatu cairan misalnya must atau juice buah anggur. Must atau juice buah anggur yang mempunyai berat jenis (specific gravity) 1,100 maka derajat Oechsle adalah 100. Jadi untuk memperoleh derajat Oechsle adalah dengan mengurangi **berat jenis** cairan tersebut dengan nilai satu dikalikan 1000. Misalnya cairan buah yang menunjukkan 100° Oe akan sesuai dengan **berat jenis** cairan buah

tersebut 1,100, dan akan sama dengan 13,1⁰ Be atau 23,6⁰ Brix. Untuk jelasnya dapat dilihat dalam Tabel Lampiran 3

Lampiran 3. Perbandingan Ukuran Berat jenis (D), Oechsle, Baume, Brix Balling

D	Oechsle	Baume	Brix Balling
1,051	51	7,0	12,5
1,052	52	7,1	12,8
1,053	53	7,3	13,0
1,054	54	7,4	13,2
1,055	55	7,5	13,5
1,056	56	7,6	13,7
1,057	57	7,8	14,0
1,058	58	7,9	14,2
1,059	59	8,0	14,4
1,060	60	8,2	14,7
1,061	61	8,3	14,9
1,062	62	8,4	15,1
1,063	63	8,5	15,4
1,064	64	8,7	15,6
1,065	65	8,8	15,8
1,066	66	8,9	16,1
1,067	67	9,1	16,3
1,068	68	9,2	16,5
1,069	69	9,3	16,8
1,070	70	9,4	17,0
1,071	71	9,6	17,2
1,072	72	9,7	17,5
1,073	73	9,8	17,7
1,074	74	9,9	17,9
1,075	75	10,1	18,1
1,076	76	10,2	18,4
1,077	77	10,3	18,6
1,078	78	10,4	18,8
1,079	79	10,6	19,0
1,080	80	10,7	19,3
1,081	81	10,8	19,5
1,082	82	10,9	19,7
1,083	83	11,0	20,0
1,084	84	11,2	20,2
1,085	85	11,3	20,4
1,086	86	11,4	20,6
1,087	87	11,5	20,8
1,088	88	11,7	21,1
1,089	89	11,8	21,3

1,090	90	11,9	21,5
-------	----	------	------

Sambungan Tabel

D	Oechsle	Baume	Brix Balling
1,091	91	12,0	21,7
1,092	92	12,1	21,9
1,093	93	12,3	22,2
1,094	94	12,4	22,4
1,095	95	12,5	22,5
1,096	96	12,6	22,8
1,097	97	12,8	23,0
1,098	98	12,9	23,2
1,099	99	13,0	23,5
1,100	100	13,1	23,7
1,101	101	13,2	23,9
1,102	102	13,3	24,1
1,103	103	13,5	24,3
1,104	104	13,6	24,5
1,105	105	13,7	24,8
1,106	106	13,8	25,0
1,107	107	13,9	25,2
1,108	108	14,0	25,4
1,109	109	14,2	25,6
1,110	110	14,3	25,8
1,111	111	14,4	26,1
1,112	112	14,5	26,3
1,113	113	14,6	26,5
1,114	114	14,7	26,6
1,115	115	14,9	26,9
1,116	116	15,0	27,1
1,117	117	15,1	27,3
1,118	118	15,2	27,5
1,119	119	15,3	27,8
1,120	120	15,5	28,0
1,121	121	15,6	28,2
1,122	122	15,7	28,4
1,123	123	15,8	28,6
1,124	124	15,9	28,8
1,125	125	16,0	29,0
1,126	126	16,1	29,2
1,127	127	16,3	29,4
1,128	128	16,4	29,7
1,129	129	16,5	29,9
1,130	130	16,6	30,1

Lampiran 4.

Standar Nasional Indonesia (SNI) Syarat Mutu Wine (SNI 01-4018-1966)

No.	Kreteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Kedaaan : Bau	-	Nomal /khas
	Rasa	-	Normal/khas
2	Etil akohol	%v/v	8 – 20
3	Metil alcohol	%v/v terhadap alcohol absolute	maks. 0,1
4	Asam yang mudah menguap (dihitung sebagai asam asetat)	g/100 ml	maks. 0,2
5	Bahan Tambahan Makanan		
5.1	Zat warna buatan	Sesuai SNI 01-022-1987	negatif
5.2	Pengawet (SO ₂)		
5.3	Pemanis Buatan		negative
6	Cemaran Logam		
6.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks 0,2
6.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 2,0
6.3	Seng (Zn)	mg/kg	maks. 2,0
6.4	Air Raksa (Hg)	mg/kg	maks 0,003
6.5	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40-250
7	Cemaran Arsen(As)	mg/kg	maks. 0,1
8.	Cemaran mikroba		
8.1	Angka lempeng total	koloni/ml	maks. 2,0x10 ²
8.2	Bakteri coliform	APM/ml	maks 0,1
8.3	Secherichia coli	APM/ml	< 3
8.4	Salmonella		negatif
8.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	koloni/ml	0
8.6	Vibrio species		negatif
8.7	<i>Clostridium perfringens</i>		negatif
8.8	Kapang	koloni/ml	maks. 50
8.9	Khamir	koloni/ml	maks. 50

2. SAKE

I. PENDAHULUAN

Sake merupakan minuman beralkohol hasil fermentasi beras yang telah disosoh berwarna kuning pucat, jernih, sedikit terasa asam dan manis mengandung kadar alkohol sekitar 15 sampai 16 persen. Kandungan alkohol sake sampai 17% (Frazier, 1967). Menurut Jay (1992) fermentasi yang dilakukan oleh *Saccharomyces sake* berlangsung 30 – 40 hari membentuk alkohol 12 -15 % dan asam laktat yang terbentuk sekitar 0,3 %. Seperti minuman-minuman beralkohol yang lain awalnya pengolahan adalah secara tradisional berbentuk industri rumah tangga tapi sekarang sudah sebagian besar merupakan industri modern.

Sake erat kaitannya dengan wine china yang disebut *shaosing chu*. Kedua proses pembuatannya menggunakan *koji* yang mampu men-sakarisasi pati. *Shaosing chu* mempunyai warna lebih gelap. *Amazake* merupakan minuman wine beras. Prinsip pembuatan sake seperti halnya pembuatan brem, tetapi bahan baku sake adalah beras sedangkan pada brem bahan bakunya adalah ketan. Enzim yang memecahkan pati pada beras berasal dari *koji* (starter). Koji dibuat dengan menumbuhkan *Aspergillus oryzae* pada nasi dan akan terbentuk enzim-enzim. Pada koji terdapat enzim amylase yang akan menghidrolisis pati yang terdapat pada beras menjadi beberapa gula yang kemudian akan diubah oleh khamir. Selain enzim amylase terdapat pula enzim proteinase. *Aspergillus* ini disebut juga *kojikin*. Di Jepang sake ini sudah dikenal sejak ribuan tahun yang lalu. Minuman sake di Jepang tidak hanya sekedar minuman saja, tetapi sudah merupakan tradisi bagi masyarakat di Jepang dalam berinteraksi sosial di masyarakat, yakni diminum saat ada upacara kematian.

Pada tahun 1973 di Jepang diproduksi sebanyak 1,8 juta kiloliter sake. Dikonsumsi dua kali lebih banyak dari pada bir. Hampir 87 persen pabrik sake di Jepang merupakan skala kecil dengan produksi sekitar 500 kiloliter per tahun. Pada awal abad ke 20 pajak dari minuman beralkohol diantaranya sake merupakan pemberi pajak utama di Jepang. Sebelum pembahasan lebih lanjut tentang pembuatan sake perlu dikemukakan diagram alir pembuatan dan jenis sake (Gambar 1, 2, dan 3)

Disosoh

Bran

Beras sosoh (70 – 75% dari berat awal)

Dibersihkan

Direndam

Dikukus

Didinginkan

Spora *Aspergillus oryzae*
(*Tane-koji*)

Nasi

Khamir sake

Fermentasi

Air

Koji

Starter Khamir (*Moto*)Dicampur
(*Moromi*)

Air

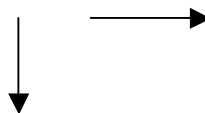
Fermentasi Utama (3 minggu)

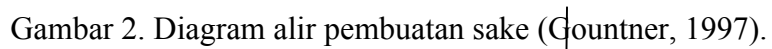
Filtrasi

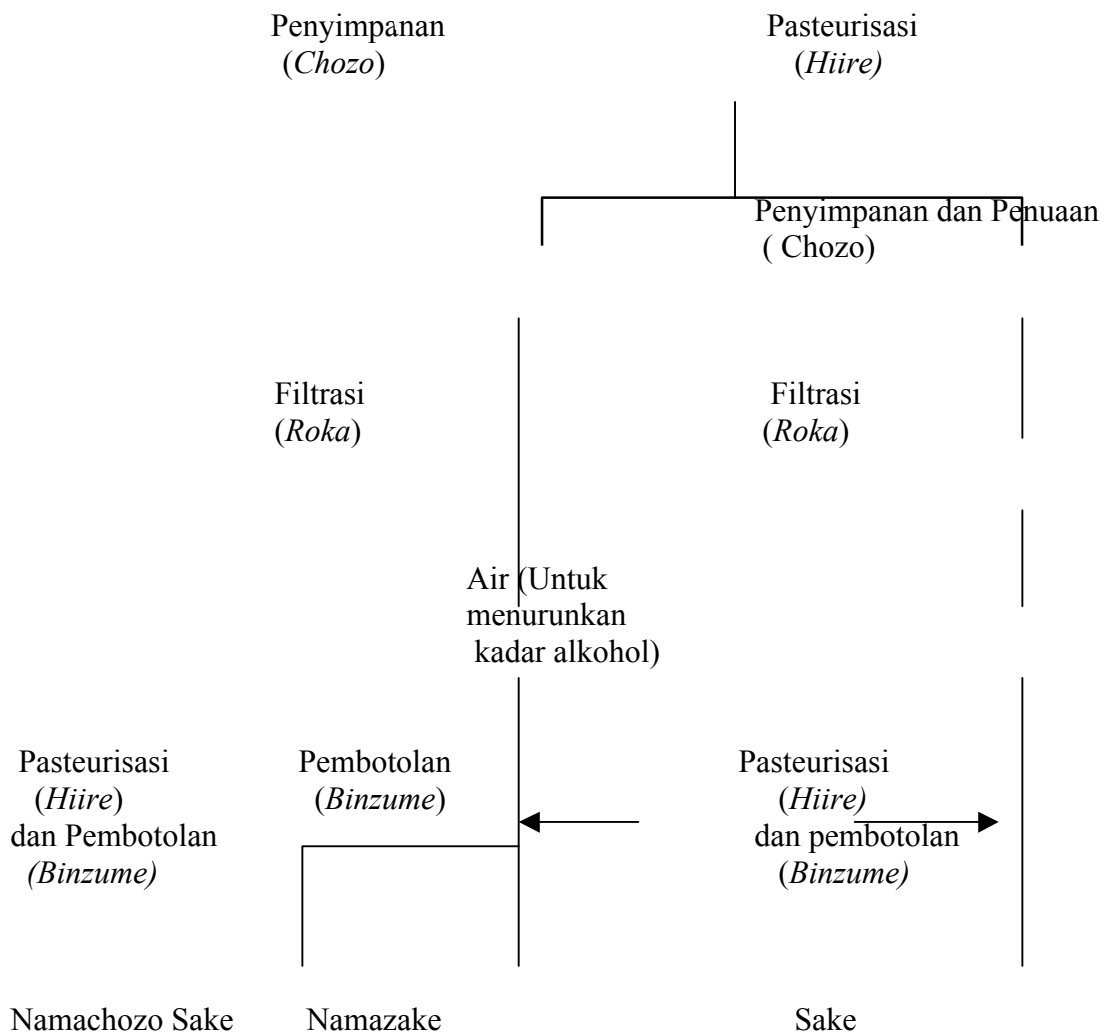
Bungkil sake

Sake

Gambar 1. Diagram alir Pembuatan Sake (Steinkraus,1983).







Gambar 3. Diagram pembuatan beberapa jenis Sake (Gountner,1997).

II. BAHAN BAKU

Sebagai bahan baku sake digunakan beras yang telah disosoh. Beras disosoh sehingga beratnya menjadi sekitar 70–75 % dari berat semula. Penyosohan dilakukan untuk menghilangkan lemak, protein dan mineral-mineral yang terdapat pada aleuron. Lemak yang terdapat pada aleuron apabila ikut dalam fermentasi akan menyebabkan sake mudah menjadi tengik sehingga mutunya akan menjadi kurang baik. Disamping itu juga akan mengganggu aktivitas kapang saat memecahkan pati yang terdapat pada beras. Dalam proses penyosohan akan melepaskan embryo yang masih terdapat pada endosperma. Embryo juga banyak mengandung lemak, protein dan mineral-mineral. Beras yang baik digunakan untuk pembuatan sake adalah beras yang pendek dan lebar. Sebaliknya pada beras panjang mengandung kadar gula yang lebih rendah (Yoshizawa dan Ishikawa, 2004). Brown rice (beras pecah kulit) merupakan beras yang sekamnya telah dilepaskan dan beras yang telah disosoh mengandung kalori dan nutrisi seperti yang tertera pada Tabel 1(Araullo *et al.*, 1976)

Tabel 1. Kalori dan nutrisi pada brown rice (beras pecah kulit) dan beras sosoh (Araullo *et al* ,1976)

	Brown rice (beras pecah kulit)	Beras sosoh
Kadar air (g/100g)	14	14
Enersi (Kcal/100g)	352	354
Protein (g/100 g)	8,3	7,1
Lemak (g/100 g)	1,9	0,5
Karbohidrat total (g/100 g)	74,9	77,8
Serat (g/100 g)	0,7	0,4
Abu (g/100 g)	1,1	0,6
Kalsium (mg/100g)	9	8
Fosfor (mg/100g)	183	104
Besi	1,6	1,2
Tiamin (mg/100g)	0,29	0,10
Riboflavin (mg/100g)	0,07	0,05
Niasin (mg/100g)	3,9	2,3

Beras yang disosoh menjadi 75 % dari berat awal umumnya mengandung protein 5- 6 %.

Air yang digunakan untuk pembuatan sake hendaknya tidak berbau, tidak berwarna, terasa netral artinya tidak sadah atau sedikit alkali dan kandungan besinya tidak lebih dari 0,02

ppm. Air yang digunakan hendaknya bebas dari nitrat, ammonia, bahan organik dan mikroba pembusuk.

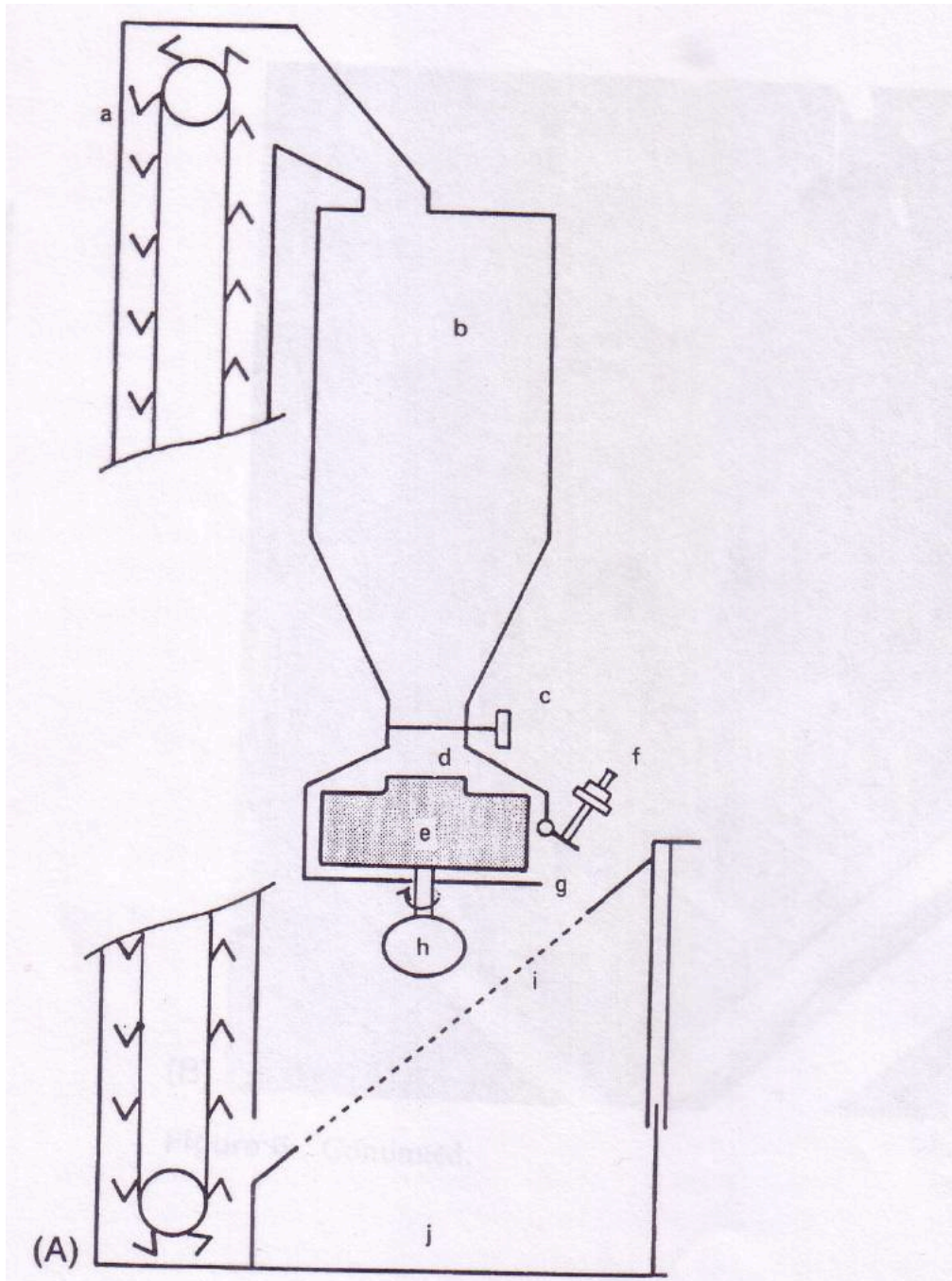
Koji yang digunakan mengandung *Aspergillus oryzae* yang mampu membentuk enzim –enzim. Menurut Reed (1975), *Aspergillus* dapat menghasilkan enzim laktase, glukamilase, sellulase, dan proteinase. *A. oryzae* juga mengandung enzim amylase.

Dalam proses pembuatan sake selain menggunakan *Aspergillus oryzae* juga menggunakan yeast. Starter yeast (khanir) juga disebut moto. Menurut White (1945) bahwa yeast (khamir) dapat menghasilkan enzim-enzim invertase, maltase, glikogenase, fosfatase, amilase, oksidoreduktase, heksokinase, karboksilase, protease, dan peptidase. *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi dapat menghasilkan enzim heksokinase, laktase, dan alkohol dehidrogenase (Suliantari dan Rahayu, 1990). Pada pembuatan sake menggunakan khamir (yeast) yaitu khamir sake.

III. PROSES PEMBUATAN SAKE

a. Penyosohan beras (Seimai).

Beras yang akan dijadikan sake terlebih dahulu hendaknya disosoh untuk menghilangkan kulit luar dan lapisan aleuron yang banyak mengandung lemak, protein, mineral dan vitamin terutama thiamin dan lepasnya embryo. Senyawa protein, lemak dan senyawa anorganik seperti kalium dan fosfat dapat menyebabkan sake yang dihasilkan kurang disukai. Sedangkan sisanya masih berupa endosperma terutama tersusun dari pati. Pati pada beras terutama berupa amilosa sedangkan pati yang berupa amilopektin jumlahnya lebih rendah dari amilosa. Awalnya beras disosoh menggunakan lumpang dan alu sehingga diperoleh beras yang dikehendaki, tetapi dengan cara ini tidak efisien sehingga kemudian digunakan alat yang lebih modern. Perkembangan lebih lanjut menggunakan sejenis penggilingan yang berisi alat penggosok (Gambar 4). Pengangkut keranjang (*basket conveyor*) melepaskan beras ke dalam wadah (rice hopper) dan beras tersebut dialirkan ke ruang penyosohan (*milling chamber*) dengan diatur menggunakan klep. Di dalam ruang penyosohan terdapat roller. Beras yang telah disosoh masuk ke dalam ruang pengayakan.



Gambar 4. Penyosohan beras jenis vertical (Yoshizawa dan Ishikawa, 2004).
 (a) Pengangkut keranjang (basket conveyor). (b) rice hopper.

(c) klep pengatur. (d) Ruang penyosohan. (e) Penyosoh (roller).
 (f) Penahan beras keluar (resistance). (g) Tempat beras keluar.
 (h) Motor. (i) Ayakan. (j) Penampung bran

Seperti telah dikemukakan di atas bahwa setelah dilakukan penyosohan beras yang tersisa masih sekitar 70–75 %. Menurut Gauntner (1997) setelah dilakukan penyosohan beras yang tersisa sebesar 35 – 73 % selanjutnya dijelaskan bahwa dengan dilakukan penyosohan akan terjadi gesekan di antara bulir-bulir beras secara alami akan menimbulkan panas. Panas ini akan mempengaruhi daya serap beras tersebut terhadap air. Butir pecah tidak akan mengalami proses fermentasi dengan baik.

b. Pencucian dan Perendaman (Senmai dan Shinseki)

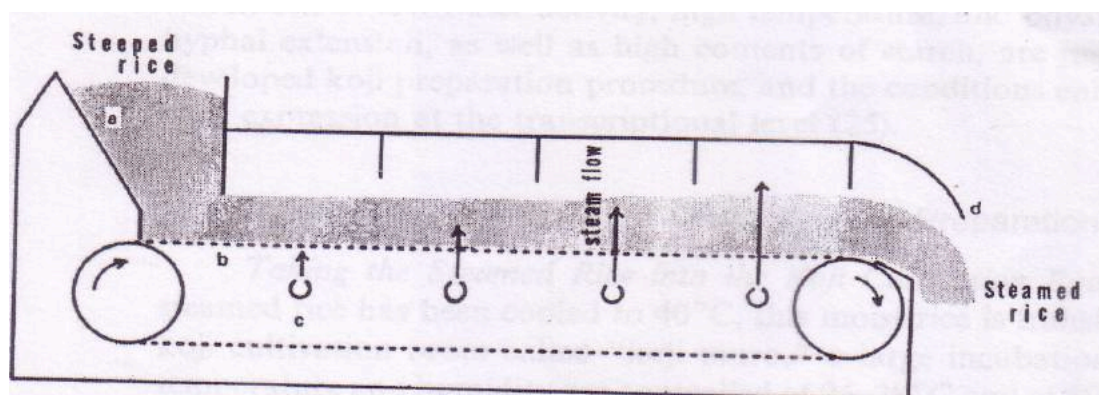
Pencucian dilakukan untuk menghilangkan debu yang masih melekat pada beras pada waktu penyosohan (*nuka*). Pada waktu pencucian terjadi penyerapan air dan air yang terserap sebanyak 9 sampai 17 %. Dalam perendaman kadar air meningkat menjadi 25 sampai 30 % dari berat awal beras. Perendaman memerlukan waktu 1 sampai 20 jam tergantung kerasnya beras tersebut atau dapat dikatakan tergantung jenisnya beras. Setelah dilakukan perendaman beras tersebut ditiriskan selama 4 sampai 8 jam.

c. Pengukusan (Mushimai atau Jomai).

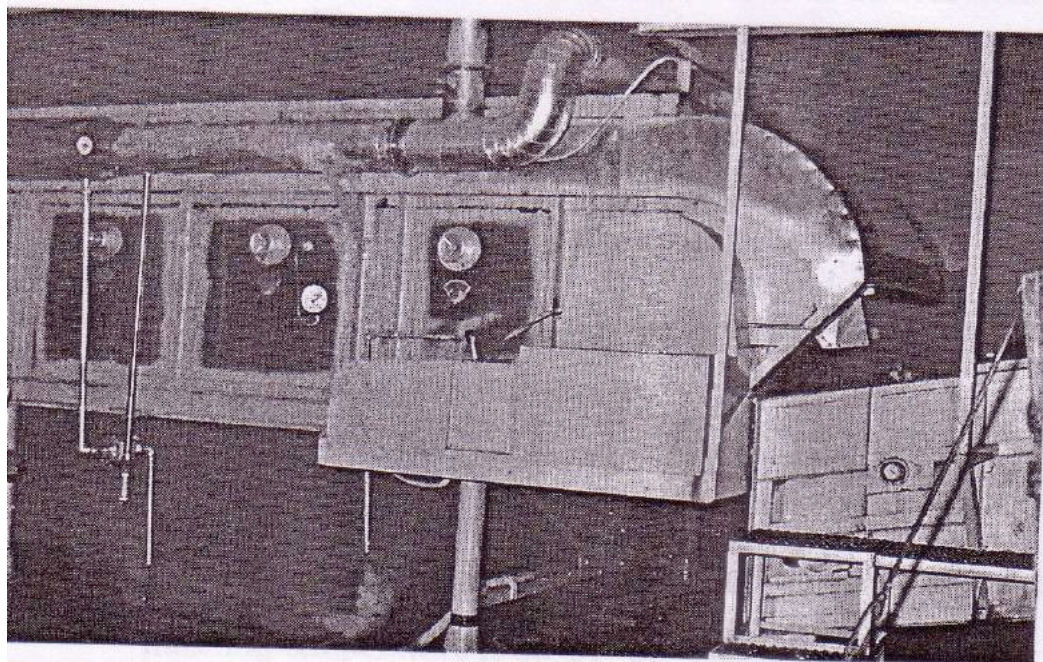
Pengukusan terutama bertujuan agar terjadi proses gelatinisasi pada beras yang akan dijadikan sake. Enzim amilase yang diproduksi oleh kapang hanya mampu memecahkan pati apabila telah mengalami gelatinisasi. Pada proses pengukusan terjadi denaturasi protein dan juga nasi yang dihasilkan steril dan terjadi penyerapan air sebanyak 7 sampai 12 %.

Lama waktu pengukusan yang diperlukan umumnya 30 sampai 60 menit dan pada akhir proses pengukusan kadar air total yang terdapat pada bahan baku sekitar 35 sampai 40 % dibandingkan dengan berat asalnya. Sesudah proses pengukusan nasi yang dihasilkan dibiarkan dingin. Jika akan digunakan untuk pembuatan koji suhu nasi dibiarkan sampai menjadi 35 °C, sedangkan jika akan digunakan untuk pembuatan *moto* dan *moromi* suhu nasi dibiarkan sampai

10 °C (Kodama dan Yoshizawa, 1977 dalam Steunkraus, 1983). *Moto* merupakan starter khamir sedangkan campuran starter kapang, nasi, air dan starter khamir disebut *moromi*. Di pabrik pembuatan sake yang lebih modern, pengukusan dilakukan secara kontinyu yakni telah menggunakan sistem “*belt conveyor*” (ban pengangkut) dan silender (Gambar 5).



(A)



3)

Gambar 5. A . Alat pengangkut untuk pembuat nasi (steaming rice)

(Yoshizawa dan Ishikawa, 2004).

(a) Tempat masuknya beras yang telah direndam.

(b) Belt conveyor yang terbuat dari saringan kawat tahan karat.

(c) Nozzle uap. (d) Tempat keluarnya nasi.

B. Sistem operasi belt conveyor

d. Koji (*Koji Zukuri* atau *Seigiku*).

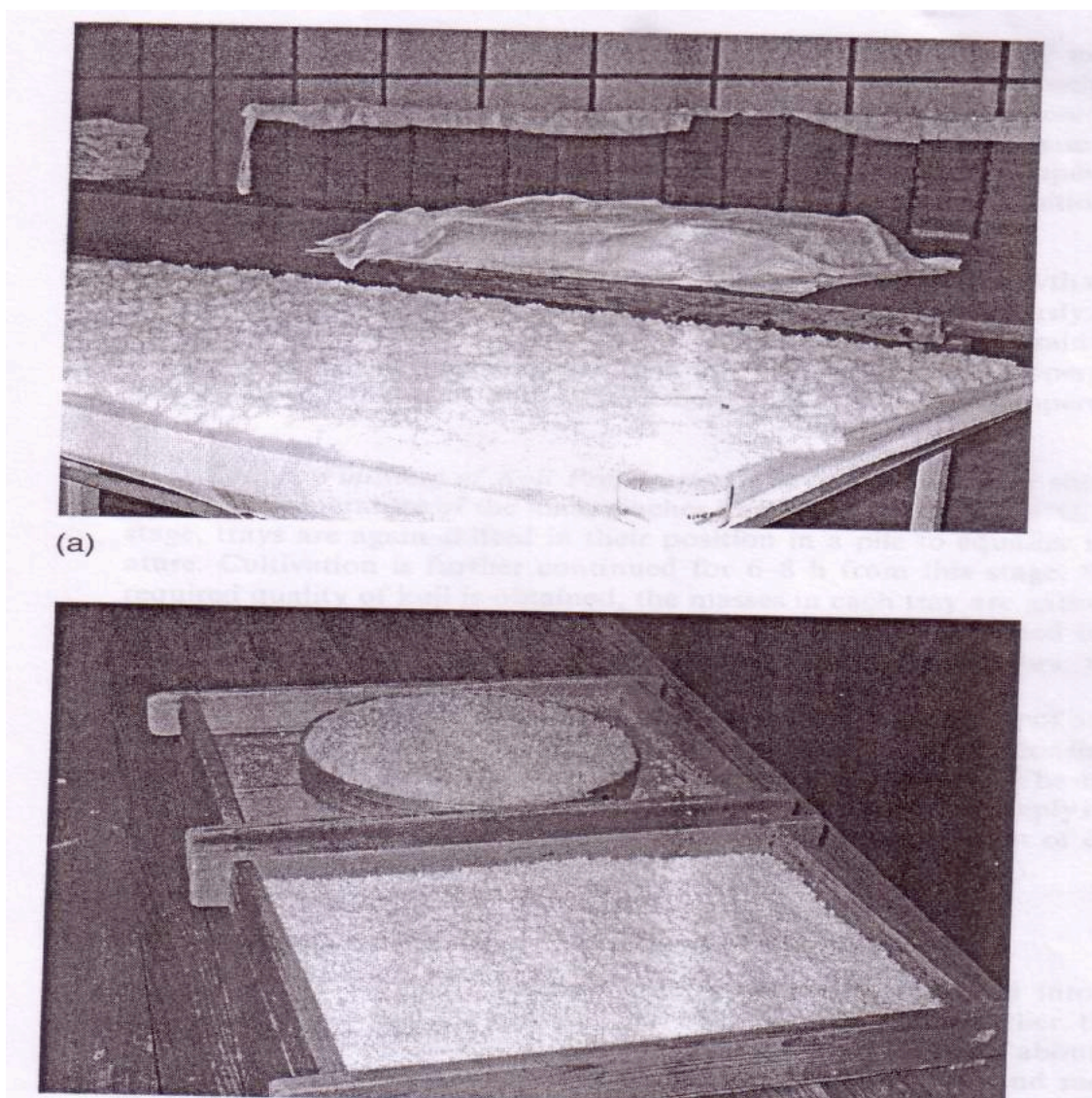
Di perusahaan sake proses sakarifikasi diperoleh dengan menggunakan koji (starter kapang) yang menghasilkan enzim amilase, protease, dan enzim-enzim lain terutama dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae*.

Pembuatan koji.

Koji merupakan komponen yang paling menentukan karena selain digunakan sebagai sumber enzim koji juga mempengaruhi citarasa sake. Koji yang dihasilkan dengan menumbuhkan *A. oryzae* disebut juga *tane koji*. Nasi yang diperoleh dari hasil pengukusan didinginkan pada suhu 28 – 30 °C lalu diinokulasi dengan *A. oryzae*. Fermentasi dilakukan selama 5 – 6 hari. Pada suhu 65 -70 °C aktivitas enzim α amilase tinggi sedangkan enzim β amilase memerlukan suhu yang lebih rendah (60 – 65 °C) untuk menghidrolisis pati. Menurut Yoshizawa dan Ishikawa (2004) terdapat lebih dari 50 enzim yang terdapat pada *koji*. Diantara enzim tersebut yang terpenting adalah α amilase, glukoamilase dan protease.

Nasi yang telah dingin (suhu 40 °C) dimasukkan ruangan untuk pembiakan koji yang disebut dengan istilah *koji muro*. Ruangan inkubasi suhunya diatur 26 – 28 °C dan kelembaban relatif (RH) 80 -90 %. Nasi dihamparkan diatas rak dari kayu dan ditutup dengan kain selama 2 -3 jam agar nasi menjadi lembab dan memperoleh suhu 26 -28 °C. Nasi yang telah lembab ditaburi dengan askospora dari *tane koji* secara merata dengan menggunakan ayakan.

Pada perusahaan koji dapat digunakan 60 sampai 100 gram tane koji untuk 100 kg nasi yang telah didinginkan. Setelah 10 -20 jam fermentasi, terjadi pertumbuhan kapang dengan baik. Setelah 20 jam inkubasi banyak terjadi pertumbuhan miselia dan pada saat ini koji harus dipindahkan pada tempat yang luas permukaannya. Pada saat ini terjadi peningkatan suhu menjadi 32 sampai 34 °C dan pada inkubasi 40 jam suhu akan naik menjadi 40 sampai 42 °C. Mengenai ruang pembiakan koji terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Ruang pembiakan *koji*. (Yoshizawa dan Ishikawa, 2004)
(a) Nasi basah dihamparkan di atas para-para setelah diinkubasi dengan askospora tane koji, nasi ditumpuk dan ditutup dengan selebar kain.
(b) Para-para yang berisi butir-butir nasi yang telah diinkubasi ditumpuk satu dengan lainnya dapat sampai 8 tumpukan

e. Pembuatan Starter Khamir (Moto atau Shubo)

Untuk mencegah pertumbuhan bakteri maka dibuat starter dengan konsentrasi khamir yang tinggi. Pembuatan starter khamir (*moto*) dengan mencampurkan nasi dengan koji dan air. Jenis moto yaitu *ki moto* dan *yamahai moto* mengalami fermentasi asam laktat.

Beberapa macam mikroba, khamir liar, bakteri asam laktat dan khamir tumbuh berturut-turut diatas 13 sampai 19 hari. Khamir sake murni yang diinokulasi sehingga proses fermentasi akan berlangsung dengan baik dan moto siap dalam 2 minggu.

Yamahai –Moto: Metoda konvensional

Pada pembuatan *yamahai –moto* merupakan cara pembuatan tradisional yaitu bakteri asam laktat yang terdapat akan membentuk asam laktat. Tujuh puluh kilogram nasi dicampur dengan koji sebanyak 30 kg dan 100 liter air dalam suatu wadah dengan suhu awal 7-8 °C. Keadaan ini dipertahankan 3 -4 hari dengan diselang selingi pengadukan dan agitasi. Pada periode ini terjadi proses sakarifikasi dan terjadi penurunan suhu secara perlahan lahan 6-7 °C. Bubur ini kemudian menjadi hangat, suhunya naik rata –rata 0,5 -1 °C per hari. Dalam waktu 10 -15 hari suhunya dapat mencapai 14 -15 °C. Dalam perioda ini mula-mula berkembang bakteri reduksi nitrat seperti *Pseudomonas* dan *Achromobacter* yang berasal dari koji yang diikuti oleh bakteri *Leuconostoc mesenteroides* var *sake* dan *L sakei*. Bakteri ini berkembang sehingga jumlahnya mencapai maksimum sebanyak $10^5 - 10^8$ per gram, kemudian menghilang sebelum terjadi fermentasi oleh khamir, oleh karena terbentuknya kadar gula dan asam yang tinggi yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Khamir – khamir liar yang berasal dari koji dapat mencapai sebanyak 10^4 sel per gram dalam waktu 10 hari pertama, tetapi dalam waktu 2-3 hari hilang dengan cepat karena terpengaruh adanya nitrit. Nitrit ini dapat dihasilkan 5-7 mg/l oleh bakteri reduksi nitrit dengan menggunakan nitrat yang terdapat dalam air. Pengaruh beracun dari nitrit diperkuat dengan terdapatnya asam laktat. Ketika khamir liar hampir hilang dan suhu bubur (mash) mendekati suhu 15 °C, nitrit juga hilang dari bubur tersebut. Pada saat ini *Saccharomyces cerevisiae* saja yang hidup. Khamir ini mempunyai toleransi terhadap media yang mengandung kadar gula yang tinggi dan kadar asam laktat 0,1 – 0,2 %. Sekarang banyak dilakukan penambahan kultur khamir sake murni sebanyak $10^5 - 10^6$ sel per gram bubur (mash). Setelah 2-3 hari ketika suhu mencapai 18 – 20 °C pertumbuhan khamir maksimal

(sekitar 10^8 sel per gram dan proses fermentasi mulai berlangsung. Pada tingkat ini disebut “wakitsuki”(memancar keluar) dan berlangsung 2-3 hari dan pada saat ini gula berkurang berubah menjadi alkohol. Beberapa hari kemudian ketika filtrat menunjukkan sekitar 8-9 °Baume, bubur didinginkan pada suhu kamar untuk mencegah kematian khamir karena konsentrasi alkohol dan asam yang tinggi. Moto ini dapat digunakan untuk memfermentasi *moromi*. *Moromi* merupakan campuran nasi, koji, moto dan air.

Sukujo-Moto

Pada sukujo-moto ditambahkan asam laktat untuk mengasamkan moto dan khamir sake, diinokulasi dengan cepat dan dengan menambahkan asam laktat ini sukujo-moto siap dalam 7 sampai 15 hari. Pada prinsipnya sukujo moto adalah penambahan asam laktat yang juga mencegah kontaminasi oleh mikroba. Dengan cara ini *moto* dapat dibuat lebih cepat yaitu 7-15 hari. Cara pembuatannya dapat dilakukan dengan menambahkan 600 – 700 ml asam laktat ke dalam air 100 L. Pada awal pembuatan moto ini pH nya 3,5 -3,8.

Contoh dari campuran pembuatan *sukujo-moto* adalah 60 kg koji dicampur dengan 200 liter air, 140 mL asam laktat (75 %) kultur murni khamir sake dengan densitas $10^5 - 10^6$ sel per gram, dan 140 kg nasi. Suhu mula-mula 12 °C dan kemudian berangsur-angsur naik sampai 15 °C. Laju fermentasi dapat ditingkatkan dengan mempertahankan suhu inkubasi tidak kurang dari 18 °C.

Khamir sake dapat dibeli di pasaran, jika digunakan khamir ini dapat digunakan secara langsung dengan menaburkan pada campuran bahan baku dengan jumlah sekitar 7 persen dari total nasi yang digunakan.

Ko-on-toka Moto

Ko-on-toka moto disebut pula bubur moto panas dan merupakan variasi dari sukujo moto

menghasilkan bubur manis yang dibuat pada suhu tinggi (55-60 °C) dalam beberapa jam disertai dengan inkubasi khamir sake. Salah satu contoh pembuatan moto adalah sebagai berikut :

220 L air (total 270 L) dipanaskan sampai suhu 60 °C, 120 kg nasi dan 60 kg koji dimasukkan ke dalam wadah yang dilengkapi dengan agitator dan selubung air. Setelah inkubasi dilakukan dalam waktu 6 jam pada suhu 55-60 °C, campuran ini diberi asam laktat sebanyak 180 mL dan

segera didinginkan, dapat digunakan blok es atau dengan mengalirkan air pada selubung wadah tersebut. Komposisi bubur sebagai berikut densitas 16-17° Baume, gula reduksi 24-25%, asam amino 0,16 -0,2 %, asam-asam total 0,3 -0,35 %. Apabila suhu bubur sudah mencapai 25 °C khamir murni diinokulasikan sebanyak 10^5 - 10^6 sel/g bubur.

f. Moromi

Setelah koji dan moto siap dapat dilakukan fermentasi atau pembuatan moromi. Moromi adalah campuran nasi, koji, moto dan air. Kualitas moto dan koji mempengaruhi kualitas moromi. Pembuatan moromi dikemukakan sebagai berikut : pertama-tama nasi, koji, dan air ditambahkan pada moto dengan jumlah yang hampir sama dengan jumlah moto. Suhu pada campuran (bubur) pertama adalah 12 °C dan fermentasi pada hari kedua berlangsung secara perlahan –lahan Fermentasi dilakukan pada suhu 12 °C dan suhu dipertahankan tetap rendah untuk menghindari kontaminasi. Lama fermentasi berkisar antara 20 sampai 24 hari, selama ini alkohol akan terbentuk pada 2 minggu pertama dengan kecepatan peningkatan alkohol rata–rata sebesar 1 persen per hari.

Populasi khamir dalam moromi berkembang setelah 3 hari. Moto yang dicampur nasi dan air dalam jumlah yang sama akan dapat mengurangi jumlah khamir dua pertiganya. Setelah 2 hari pada suhu 12 °C populasi khamir akan meningkat lagi menjadi 10^8 sel /g dan campuran moto diencerkan lagi sekitar setengah kali. Campuran nasi air dan koji ditambahkan pada suhu 9 – 10 °C untuk menekan pertumbuhan kontaminan. Setelah fermentasi berlangsung satu minggu populasi khamir $2,5 \times 10^8$ sel/g. Suhu bubur (*mash*) akan tercapai maksimum 15 -18 °C pada hari ke 6 sampai hari ke 9 dan suhu ini dipertahankan selama 5- 7 hari, setelah itu suhunya menurun. Pada hari ke 15 sampai hari ke 25 konsentrasi alkohol pada bubur mencapai 15 – 20%(v/v). Umumnya pada tingkat ini ditambahkan alkohol murni 30-40% (tidak ditambahkan pada jummai-shu) sehingga pada akhirnya kadar alkoholnya menjadi 20-22% (Yoshizawa dan Ishikawa, 2004). Mengenai tingkat penambahan bahan baku untuk pembuatan sake terlihat pada Tabel 2,

Tabel 2. Formula bahan baku pada pembuatan Sake (Yoshizawa dan Ishikawa, 2004).

	Total Nasi+	Nasi-	Koji	Air
--	-------------	-------	------	-----

	Koji (kg)	(kg)	(kg)	(L)
Moto	240	160	80	260
Penambahan Pertama	460	330	130	440
Penambahan Kedua	850	66	190	1000
Penambahan Ketiga	1450	1150	300	2200
Total	3000	2300	700	3900

Penambahan nasi dan koji yang keempat diberikan pada tingkat akhir fermentasi yaitu pada saat kadar alkohol lebih tinggi dari 15 %(v/v). Karena pada kadar alkohol tersebut aktivitas khamir rendah sehingga hasil dari proses sakarifikasi menghasilkan produk yang masih agak manis, Sedangkan kadar alkohol yang diinginkan 20 sampai 22 %.

g. Pengepresan (Joso)

Pengepresan dilakukan untuk memisahkan sisa-sisa nasi yang difermentasi dengan filtratnya (*kasu*). Pengepresan dapat dilakukan secara tradisional beberapa diantaranya masih digunakan sampai sekarang. Moromi ditaruh dalam kantong kain kasa, diletakan dalam kotak besar yang disebut *fune* umumnya dibuat dari kayu atau dari baja tahan karat. Kemudian dilakukan penekanan dari atas sehingga cairannya mengalir ke bawah sedangkan *ampas* nya tetap dalam kantong. Pada saat ini pengepresan telah menggunakan alat-alat modern.

Pengepresan dilakukan setelah fermentasi selesai dan dilakukan pengendapan 5 sampai 10 hari. Kemudian dilakukan penyaringan dan diendapkan kembali (30 -40 hari) pada suhu rendah.

h. Pasteurisasi (Hiire)

Pasteurisasi dilakukan untuk membunuh khamir dan mikroba perusak terutama bakteri seperti *Lactobacillus homochiochii* dan *L. fructivorans* (jika ada) dan enzim-enzim. *Lactobacillus homochiochii* dan *L. fructivorans* dapat tumbuh pada sake yang mempunyai kadar alkohol 14-16% dengan sebuah faktor tumbuh asam mevalonat yang dihasilkan oleh khamir *A.oryzae* (Yoshizawa dan Ishikawa, 2004). Pasteurisasi dilakukan pada suhu 55 -65 °C, sehingga citarasa dan aroma yang terbentuk tidak hilang. Sake dialirkan dalam kumparan pipa logam melalui wadah yang berisi air panas.

i. Penyimpanan (penuaan/aging)

Saat penyimpanan terjadi proses penuaan dimana sake menjadi semakin matang. Pada proses pematangan terjadi oksidasi kimia dan terjadinya perubahan fisikokimia. Sake lebih baik disimpan dalam tempat yang sejuk untuk mencegah terjadinya perubahan citarasa. Lebih baik aging dilakukan pada suhu 13 -18°C, baik yang ditambahkan maupun yang tidak diberikan senyawa karbon.

Pada proses penuaan, beberapa senyawa seperti 2-deoksiglukoson konsentrasinya meningkat pada sake dan terjadinya peningkatan reaksi aminokarbonil menyebabkan terjadinya perubahan warna sake menjadi coklat. Hasil reaksi melanoidin merupakan komponen warna utama pada sake yang mendukung 40 -80% terjadinya pewarnaan pada sake. Ferrichrysin salah satu dari ferrikhrom senyawa yang mengandung senyawa besi dan warna sake dapat berubah menjadi coklat yang tidak baik. Senyawa melanoidin dapat dihilangkan dengan menggunakan karbon aktif. Sake berwarna pemasarannya sulit dilakukan.

Perubahan kimia yang terjadi pada beras pada saat dijadikan nasi terjadi perubahan pati menjadi bentuk alfa dan hidrolisis pati menjadi dekstrin, maltosa, dan glukosa oleh enzim yang terbentuk dalam koji. Protein akan dihidrolisis menjadi asam amino dan peptida. Hidrolisis dilakukan oleh enzim ini yang dihasilkan oleh *A.oryzae*. Bakteri *Lactobacillus* akan dapat mengubah gula menjadi asam laktat, suksinat, dan asam-asam organik yang lain.

Sake cenderung nampak gelap selama penyimpanan, sangat sensitif terhadap sinar sehingga dalam distribusinya diperlukan botol biru yang kurang meneruskan sinar. Reaksi amino karbonil menyebabkan terjadinya perubahan warna. Senyawa lain yang berkaitan dengan warna sake adalah melanoidin, riboflavin, ferrichrysin.

Sake mengandung berbagai macam alkohol dan ester : *n propanol* (120 mg/liter), isobutanol (64mg/liter), isoamilalkohol (170 mg/liter) dan 2 phenethanol (75 mg/liter) (Kodama dan Yoshizawa, 1977 dalam Steinkraus, 1983). Ester yang terdapat pada sake etilbutirat, isoamilasetat, isobutilasetat, dan etilasetat.

Sumber kalori pada sake adalah kandungan alkoholnya, sedangkan kadar proteinnya sangat rendah sekali tetapi mengandung asam-asam amino mulai kadar yang terendah yaitu triptofan (3mg/l) sampai dengan kadar tertinggi yaitu leusin (105 mg/l).

Mengenai komposisi kimia sake dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi kimia sake

Komposisi	Jumlah
Gula total (sebagai glukosa) % w/v	4,2
Glukosa (terfermentasi) % w/v	3,46
Asam (meq /100ml)	1,52
Total asam:	
Asam organik mg/ml	115,22
Asam glutamat mg/100	20,23
Total Nitrogen % w/v	0,0726
Formol Nitrogen % w/v	0,0288
Ertanol %w/v	15

Sumber : Kodama dan Yoshizawa, 1977 dalam Steinkraus,1983).

IV. MIKROBIOLOGI SAKE

Dalam pembuatan sake terjadi interaksi beberapa macam mikroba. Pada pembuatan koji terjadi pertumbuhan kapang *Aspergillus oryzae* yang dapat membentuk enzim amilase dan protease sehingga dalam proses sakarifikasi terjadi perombakan pati dan protein pada nasi. Pada pembentukan alkohol digunakan khamir *Saccharomyces sake* yang mirip dengan *Saccharomyces cereviae*.

Pada proses fermentasi tradisional (yamahi – moto) pada awal fermentasi tumbuh mikroba pemecah nitrat seperti *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacter*, atau *Micrococcus*. Mikroba mampu membentuk nitrit dan asam nitrat dengan menggunakan nitrat yang terdapat dalam air. Setelah pertumbuhan mikroba tersebut di atas kemungkinan dapat tumbuh mikroba *Leuconostoc mesenteroides* var *sake* dan *Lactobacillus sake*. Bakteri tersebut dapat mencapai 10^7 sampai 10^8 sel/g, menyebabkan moromi asam dan cenderung akan mengurangi aktivitas mikroba sehingga mengakibatkan terbentuknya gula dan konsentrasi asam yang tinggi. Kemudian baru khamir melakukan aktivitas fermentasi. Khamir-khamir liar yang terdapat pada awal fermentasi akan mati karena terbentuknya nitrit yang dihasilkan oleh bakteri reduksi nitrat. Tetapi khamir *Hansenulla anomala* yang resisten terhadap nitrat tidak dapat hidup dalam

keadaan anaerob. Umumnya khamir sake berkembang mencapai 3 sampai 4×10^8 sel/g (Steinkraus, 1983).)

Pada sukujo–moto penambahan asam laktat dengan tujuan menekan pertumbuhan mikroba liar, pembuatannya dapat lebih pendek 7 sampai 15 hari karena tidak perlu lagi adanya fermentasi asam laktat. Akan tetapi pada *sukujo-moto* mungkin khamir liar tumbuh dan dapat sangat berperan karena tidak terbentuknya nitrit yang dapat mencegah pertumbuhan khamir liar ini sehingga produksi yang diharapkan tidak tercapai.

DAFTAR PUSTAKA

- Araullo, E.V., D.B. De Padua and M.Graham. 1976. Rice Postharvest Technology. International Development Research Centre. Ottawa.
- Frazier, W.C.1987. Food Microbiology. Tata McGraw-Hill Publishing Company LTD. New Delhi.
- Gauntner, J. !997.The Sake. Handbook. Charles E. Tuttle Publishing. Singapore.
- Reed, G. 1975. Enzymes in Food Processing. Academic Press. New York.
- Jay, J.M. 1992. Modern Food Microbiology. Chapman &Hall. New York.
- Steikraus, K. H. 1983. Handbook of Indigenous Fermented Food. Maecel Dekker. Inc. New York.
- Suliantari dan W.P. Rahayu. 1990. Teknologi Fermentasi Biji-Bijian dan Umbi-Umbian . Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- White, J. 1954. Yeast Technology. John Willey and Sons Inc, New York
- Yoshizawa, K. and T. Ishikawa. 2004. Industrialization of Sake Manufacture. In Industrilzation of Indigenous Fermented Foods. K.H. Steinkraus (ed). Marcel Dekker,Inc. New York.

3. BREM BALI

I. PENDAHULUAN

Minuman beralkohol telah dikenal 6000 tahun yang lalu di Lembah Sungai Nil, sedangkan wine (anggur) telah dibuat di Mesir dan Suria yaitu 3500 tahun Sebelum Masehi. Wine yang dibuat selain digunakan sebagai minuman juga dipersembahkan kepada para dewa. Minuman beralkohol yang dibuat dari beras dan ketan misalnya arak, sake, dan brem sudah sejak lama dibuat di Asia Timur, contohnya brem Bali.

Brem bali merupakan minuman beralkohol, pada umumnya dibuat secara tradisional. Brem bali dibuat dari ketan putih atau hitam atau campuran dari kedua ketan tersebut tanpa melalui proses distilasi sama halnya seperti pada pembuatan sake. Sedangkan pada pembuatan arak, beras mula-mula difermentasi sehingga diperoleh cairan, kemudian cairan tersebut didistilasi. Arak mempunyai kadar alkohol sebesar 42 % (Wibaut 1951), sake kadarnya 13% sedangkan pada brem mempunyai kadar alkohol 7 – 8 % (Sudjatha *et al.*, 1997)

Brem selain diminum juga digunakan sebagai pelengkap upacara keagamaan Hindu di Bali yaitu sebagai tetabuhan yaitu persembahan untuk ”**buta kala**“. Dahulu pembuatan brem dianggap pekerjaan yang sangat sulit karena pada saat itu pengetahuan mengenai mikroba belum dimiliki sehingga lebih banyak kegagalan yang dialami pada pembuatan brem tersebut. Mereka sangat bangga apabila telah berhasil memperoleh brem dari hasil fermentasi beras ketan. Oleh karena dahulu sangat sulit membuat brem sehingga masyarakat Hindu di Bali brem sangat dihargai sekali sehingga terdapat ungkapan dalam bahasa Bali “**Payuk Prumpung Misi Brem**” periuk yang bibirnya pecah artinya walaupun kelihatan jelek tetapi isinya sangat mulia. Jadi brem merupakan produk yang sangat dimuliakan. Hal ini juga menyebabkan brem digunakan sebagai tetabuhan (persembahan untuk “bhuta kala”).

Kata brem tidak hanya dikenal di Bali tetapi juga di Jawa sehingga menurut Steinkraus (1983) di Indonesia terdapat tiga macam brem yaitu brem padat madiun, brem padat wonogiri dan brem bali (brem cair). Brem padat madiun dibuat di Madiun (Jawa Timur), brem padat

wonogiri dibuat di Wonogiri (Jawa Tengah), sedangkan brem bali dibuat di Bali. Brem padat berwarna putih kekuningan. Brem padat umumnya dibuat dari ketan putih.

Brem bali oleh Rose (1982) *dalam* Steinkraus, 1983) dimasukkan dalam “rice wine “ seperti halnya sake (Jepang), Mie chiu (China), Sato (Thailand), Sonti (India), dan Yakyu (Korea). Sake merupakan minuman tradisional beralkohol yang dihasilkan di Jepang sudah lama berkembang dan diekspor ke berbagai negara termasuk ke Indonesia. Brem bali terutama dihasilkan di Bali juga merupakan minuman tradisional beralkohol diharapkan dapat berkembang seperti halnya minuman sake. Brem bali diharapkan tidak hanya untuk kepentingan wisatawan yang datang ke Bali tetapi juga sebagai komoditi ekspor non migas ke luar negeri untuk menambah devisa negara. Hal ini dimungkinkan karena brem bali mempunyai citarasa spesifik sebagai minuman tradisional. Tamu- tamu manca negara yang datang ke Bali selalu menanyakan brem bali dan biasanya bagi pengelola hotel minuman brem bali dipakai sebagai minuman ucapan “selamat datang”. Pada saat ini brem bali tidak hanya dipasarkan di daerah Bali juga dipasarkan di kota –kota besar seperti di Jakarta, Surabaya dan kota- kota lainnya di Indonesia tetapi belum memasuki pasaran internasional. Untuk memasuki pasaran internasional perlu dilakukan perbaikan kualitas antara lain pengurangan rasa manis dan peningkatan kadar alkohol.

Karena brem bali tidak hanya sebagai minuman tetapi juga sebagai pelengkap upacara tetabuhan yaitu dipersembahkan kepada “ bhuta kala “, maka produksi brem bali tetap diperlukan. Menurut Suja (1977) bhuta kala diartikan juga ruang dan waktu. Pengertian “**bhuta**” mencakup materi dan ruang sedangkan “**kala**” mencakup **enersi** dan **waktu**. Brem bali digunakan sebagai tetabuhan yang dipersembahkan kepada bhuta kala, karena agama Hindu menganut prinsip keseimbangan. Brem bali yang dicipratkan untuk bhuta kala adalah untuk mengembalikan brem tersebut ke unsur -unsur semula. Brem yang dicipratkan kandungan alkoholnya akan teroksidasi terurai menjadi unsur yang lebih sederhana yaitu kembali ke unsur penyusunnya yaitu C,H, dan O. Brem yang diinum akan dapat berubah menjadi enersi, air dan karbondioksida (unsur-unsur sederhana) memerlukan waktu lebih lama. Jadi terjadi keseimbangan alam kembali, sesuai dengan ajaran agama Hindu.

Dari uraian di atas dapat dikatakan bahwa produksi brem bali harus tetap ada sebab diperlukan dalam upacara agama Hindu di Bali sebagai tetabuhan disamping itu beberapa

penduduk diantaranya senang meminumnya. Brem bali mempunyai rasa manis dengan kadar alkohol rendah (7 sampai 8 persen) sehingga agak kurang disukai oleh wisatawan mancanegara tidak seperti wine atau sake atau minuman beralkohol lainnya. Oleh karena itu perlu ditingkatkan mutunya apabila ditujukan sebagai komoditi bagi tamu mancanegara atau sebagai komoditi ekspor untuk menambah devisa negara non migas. Mutu brem bali perlu ditingkatkan tanpa menghilangkan sifat khasnya seperti aroma dan citarasanya kecuali rasa manis dikurangi dan kadar alkoholnya perlu ditingkatkan. Akan tetapi sebagai bahan tetabuhan tetap masih dapat digunakan.

Menurut peraturan Menteri Kesehatan Nomor 86 tahun 1977 minuman beralkohol berdasarkan kadar etanolnya dibedakan menjadi 3 golongan yaitu Golongan A dengan kadar etanol 1- 5 %, misalnya tuak dan legen, golongan B kadar etanol 5 – 20 % misalnya wine, dan golongan C kadar alkohol 20 -55 %, misalnya wiski, arak dan brendi. Golongan B dan C termasuk minuman keras. Jadi, brem dengan kadar alkohol 7 – 8 % termasuk minuman keras, sehingga apabila membuat usaha pengolahan brem diperlukan ijin dari pemerintah.

Brem bali umumnya dibuat dari ketan putih atau hitam atau campuran dari kedua macam ketan tersebut. Dengan makin berkembangnya teknologi, muncul usaha-usaha untuk membuat minuman beralkohol dari buah-buahan atau umbi-umbian sehingga mempunyai citarasa, aroma dan kadar alkohol seperti brem yang terbuat dari beras ketan.

Timbul masalah, yaitu apakah minuman demikian ini dapat dikatakan brem bali?. Bila dikatakan brem bali maka akan ada pergeseran definisi brem. Namun demikian dibawah ini akan diuraikan pembuatan brem bali dari beras ketan dengan proses tradisional.

Oleh karena brem bali sangat diperlukan oleh penduduk Bali yang beragama Hindu terutama digunakan sebagai “tetabuhan” disamping dapat diminum sehingga pemerintah daerah Bali perlu memberi kelonggaran bagi masyarakat yang berkeinginan untuk memproduksinya. Pemerintah Bali hanya melakukan kontrol agar produksi brem yang dihasilkan aman dan nyaman bagi konsumen. Selain sebagai “tetabuhan” perlu pula dipromosikan bahwa minuman brem bali merupakan minuman tradisional seperti minuman sake yang diproduksi di Jepang.

II. BAHAN UTAMA

Sebagai bahan utama dalam pembuatan brem adalah beras ketan, air, dan ragi tape.

1. Beras Ketan

Beras ketan sebagai mana jenis padi-padian lain terdiri dari kulit luar merupakan sekam membungkus biji ketan dengan membentuk ruangan udara pada kedua ujung sekam tersebut. Sekam penuh dengan trichome yang sangat keras. Sekam ini mengandung silikat.

Apabila sekam ini dilepaskan maka akan terdapat beras pecah kulit yang disebut **caryopsis**. Lapisan yang terluar disebut perikarp dan **perikarp** ini terdiri dari:

- epikarp**, lapisan terluar
- mesokarp**, lapisan tengah
- cross layer**, lapisan lebih di dalam.

Di bawah lapisan perikarp terdapat testa atau tegmen suatu lapisan tipis, sedikit lebih padat jika dibandingkan dengan perikarp, dan bagian ini kaya dengan minyak dan protein tetapi kadar karbohidratnya rendah. Lapisan ini dianggap sebagai pembungkus biji dan karena banyak mengandung minyak maka disebut sebagai lapisan dedak paling luar.

Di bawah lapisan tegmen adalah lapisan dedak atau lapisan aleuron dengan ketebalan beberapa sel. Sel ini kaya dengan vitamin, mineral, protein dan minyak kandungan karbohidratnya sedikit sekali. Di bagian dalam dari lapisan aleuron adalah **endosperma** (putih lembaga) yang sebagian besar terdiri dari karbohidrat, kandungan protein sedikit sekali sedangkan kandungan mineral, dan minyak hampir tidak terdapat. Mengenai gambar anatomi biji ketan terlihat pada Gambar .1

Endosperma mengandung granula pati yang besarnya sekitar 3- 8 μm . Granula-granula pati terletak di dalam sel pati. Di antara granula-granula pati di dalam sel pati terdapat ruangan yang disebut **void**. Di dalam void mengandung udara dan air. Adanya void ini dapat menyebabkan terjadinya patahan beras pada saat penggilingan (Araullo *et al*, 1976).

Beras ketan yang digunakan dalam pembuatan brem mula-mula direndam dan kemudian dimasak. Pada proses perendaman dan pemasakan akan terjadi beberapa perubahan. Granula pati akan membengkak apabila ketan tersebut direndam dalam air. Air masuk ke dalam granula pati berbentuk hidrat karena terjadi pengikatan hydrogen sehingga terjadi pembengkakan. Karena keterbatasan granula pati menyerap air dan terjadinya pembengkakan dalam air dingin disebabkan karena adanya ikatan hydrogen antara amilosa dan amilopektin. Pada perendaman dalam air panas, energi dalam bentuk panas akan memperlemah struktur granula karena

pecahnya ikatan hydrogen, oleh karena itu lebih banyak permukaan granula menyerap air. Granula pati dapat membengkak luar biasa tetapi tidak kembali ke kondisi yang semula (irreversible) dan terjadinya perubahan disebut “**gelatinisasi**”. Suhu pada saat granula pati pecah disebut suhu gelatinisasi. Indek refraksi butir-butir pati yang membengkak itu mendekati indek refraksi air dan hal ini yang menyebabkan sifat translusen. Oleh karena gugus hidroksil dalam molekul pati sangat besar maka kemampuan mengikat air juga sangat besar

Terjadinya peningkatan viskositas disebabkan air yang dulunya terdapat di luar granula pati dan bebas bergerak sebelum suspensi dipanaskan tetapi kemudian berada dalam butir –butir pati sehingga tidak dapat bergerak dengan bebas lagi (Winarno, 1984).

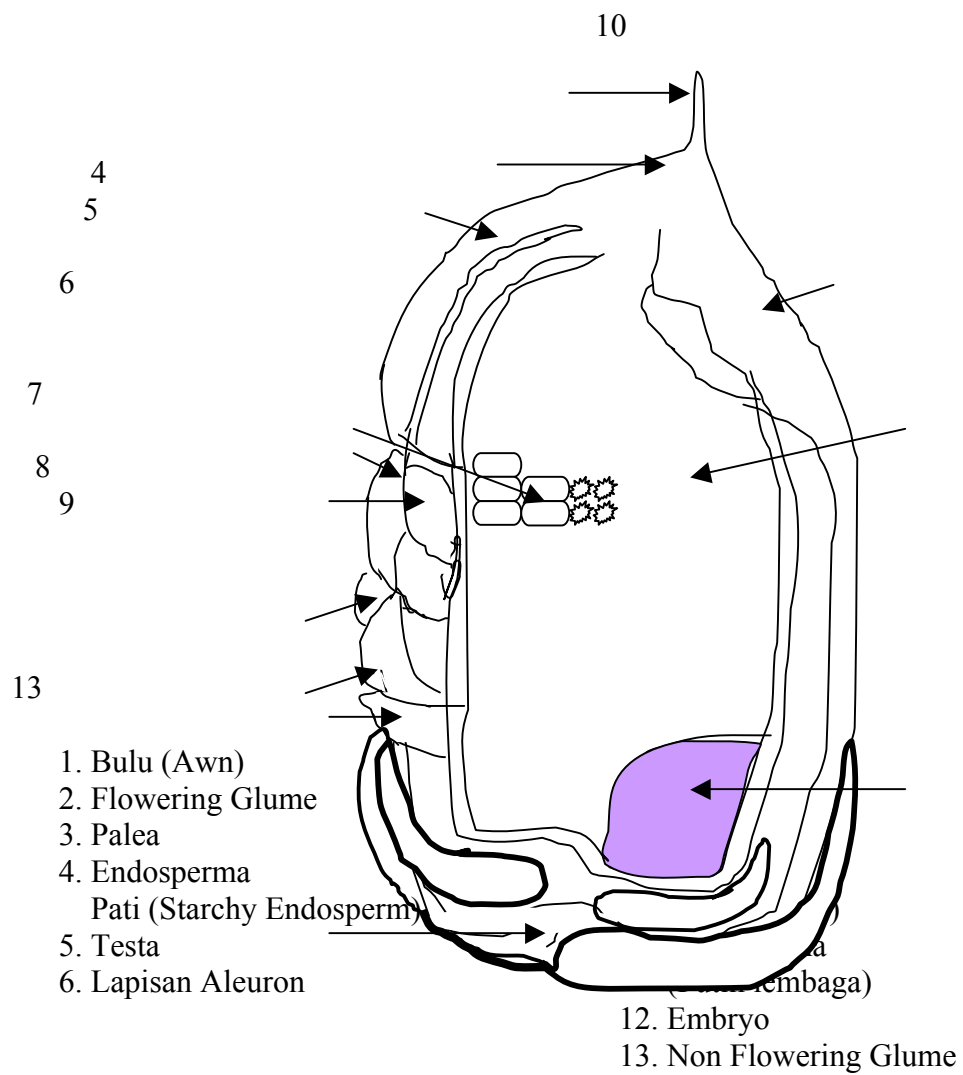
Suhu gelatinisasi berbeda-beda bagi setiap jenis pati dan merupakan suatu kisaran. Dengan viskosimeter suhu gelatinisasi dapat ditentukan misalnya pada jagung 62 -70 °C, beras 68 -78 °C. Suhu gelatinisasi dapat ditentukan dengan “polarize” microscope. Granula pati mempunyai sifat merefleksikan cahaya terpolarisasi sehingga di bawah mikroskop terlihat kristalin putih. Sifat ini disebut “**birefringent**” dan pada waktu granula mulai pecah sifat *birefringent* ini akan hilang.

Selanjutnya dikatakan bahwa kisaran suhu yang menyebabkan 90 % butir pati dalam air panas membengkak sedemikian rupa sehingga tidak kembali ke bentuk normalnya disebut ***Birefringent End Point Temperature (BEPT)***. BEPT beras berbeda-beda, rendah (55-69 °C, medium (70⁰ -74 °C) dan tinggi (75⁰ -77 °C). Pada pati yang dipanaskan dan telah dingin kembali sebagian air masih berada di bagian luar granula yang membengkak. Air ini mengadakan ikatan yang erat dengan molekul-molekul pada permukaan butir –butir yang membengkak. Sebagian air pada pasta yang telah dimasak berada dalam rongga jaringan yang terbentuk dari butir pati dan endapan amilosa. Bila gel dipotong dengan pisau atau disimpan beberapa hari, air tersebut akan keluar dari bahan tersebut. Keluarnya atau merembesnya cairan dari suatu gel dari pati disebut “sineresis”.

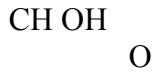
Berdasarkan kandungan amilosa pada beras maka beras ada yang berkadar amilosa tinggi 25 -33 %, beras dengan kadar amilosa menengah 20 -25 % beras dengan kadar amilosa rendah 9 -20 % dan beras dengan kadar amilosa sangat rendah < 9 % (Winarno, 1984). Beras ketan mengandung kadar amilopektin tinggi atau kadar amilosanya rendah. Pada beras ketan mengandung amilopektin tinggi atau kandungan amilosanya tidak lebih dari 2 % sedangkan

pada beras biasa kandungan amilosanya lebih dari 5 %. Amilopektin apabila diberi iodium akan memberikan warna coklat kemerah-merahan sedangkan amilosa dengan iodium akan memberikan warna biru. Pada beras ketan kandungan patinya terutama terdiri dari amilopektin yang menunjukkan sifat kelengketan pada ketan lebih tinggi. Selain kandungan pati yang terdapat pada beras terdapat pula zat gizi lain baik pada beras pecah kulit maupun pada beras giling. Untuk jelasnya terlihat pada Tabel .1.

Kebanyakan pada pati terdapat dua jenis dasar polimer adalah amilosa dan amilopektin. Amilosa berupa rantai lurus dengan ikatan glukosida $\alpha - (1,4)$ - atau ada juga yang mengatakan ikatan $\alpha - (1,4)$ D glukosa. Amilosa dapat mengandung sekitar 200- 2000 unit glukosa. Pada Gambar. 2. menggambarkan skema gambar molekul amilose. Gugusan hidroksil bersifat hidrofilik pada polimer yang bersifat mengikat kadar air dan dapat terjadi disperse dalam air. Akan tetapi karena molekul bersifat linear dan mengandung hidroksil, sehingga terjadi kecendrungan pada posisi sejajar satu dengan lainnya. Letak yang saling berdekatan akan terjadi pengikatan satu polimer dengan polimer lainnya melalui ikatan hidroksilnya. Apabila proses ini terjadi daya ikat terhadap air berkurang akan terjadi peningkatan ukuran agregat sampai titik terjadinya presipitasi pada konsentrasi rendah sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi akan terjadi gel (Wurzburg, 1968).

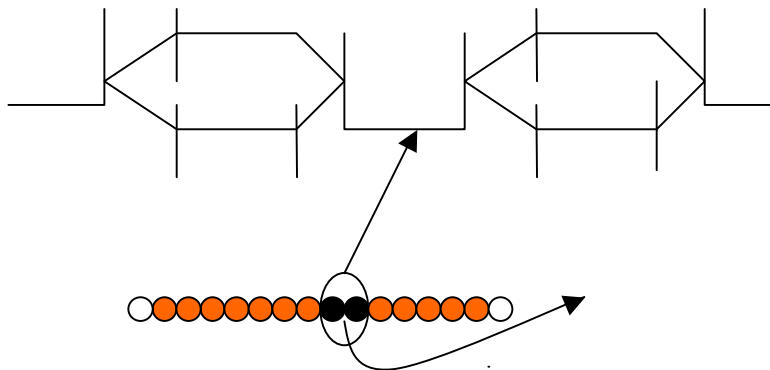


Gambar 1 Anatomi Biji Ketan (Araullo *et al* ,1976).

Tabel 1. Kandungan kalori dan nilai beras pecah kulit dan beras giling (Araullo *et al.*, 1976)

	Beras pecah kulit	Beras giling
Kadar air (%)	14,0	14,0
Kalori (kcal/100 g)	352	354
Protein (g/100 g)	8,3	7,1
Lemak (g/100 g)	1,9	0,5
Karbohidrat total (g/100 g)	74,9	77,8
Serat (g/100 g)	0,7	0,4
Abu (g/100 g)	1,1	0,6
Kalsium (mg/100 g)	9	8
Fosfor (mg/100 g)	183	104
Fe (mg/100 g)	1,6	1,2
Thiamin (mg/100 g)	0,29	0,10
Riboflavin (mg/100 g)	0,07	0,05
Niasin (mg/100g)	3,9	2,3

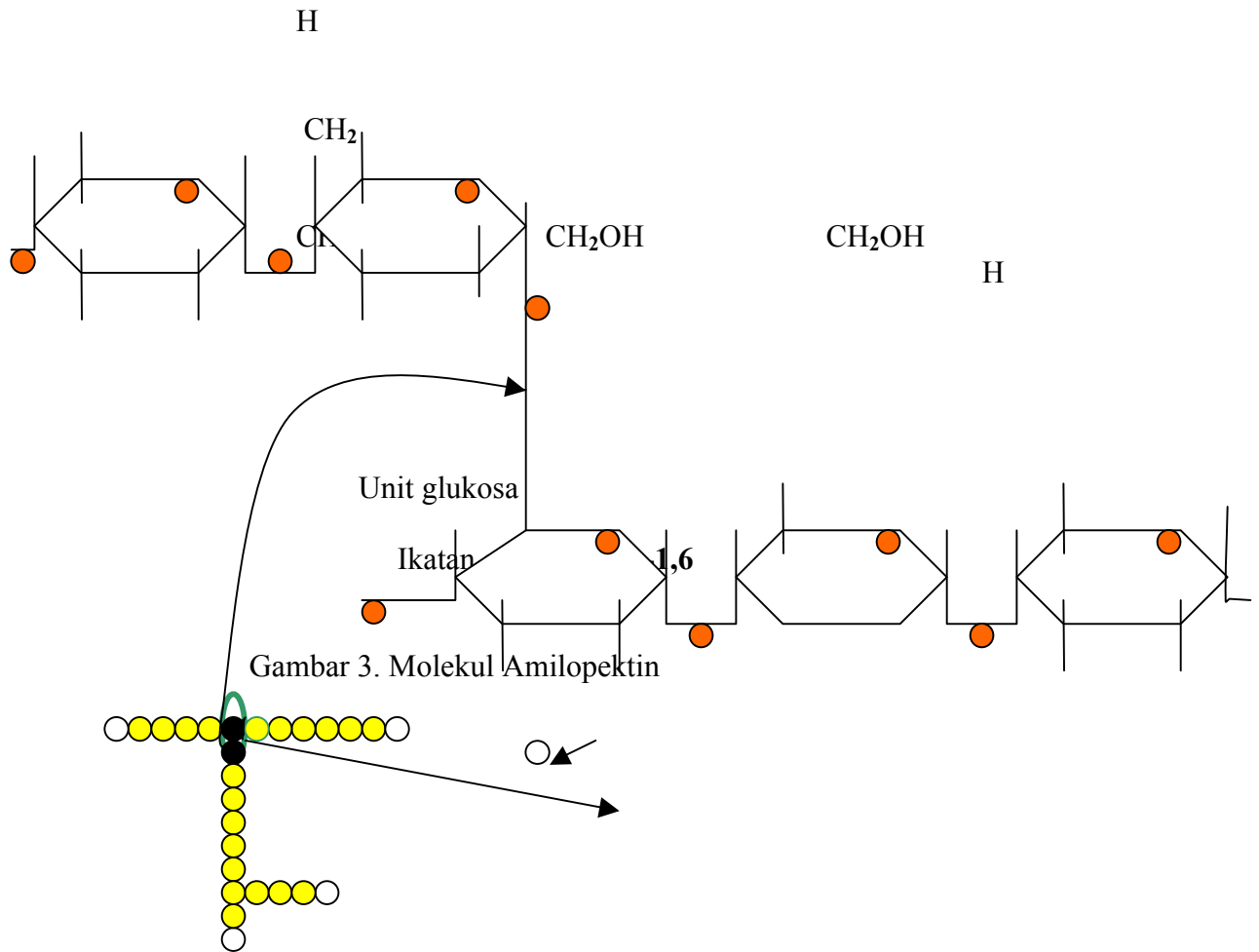
Gambar 2. Molekul Amilosa (Furia, 1968)



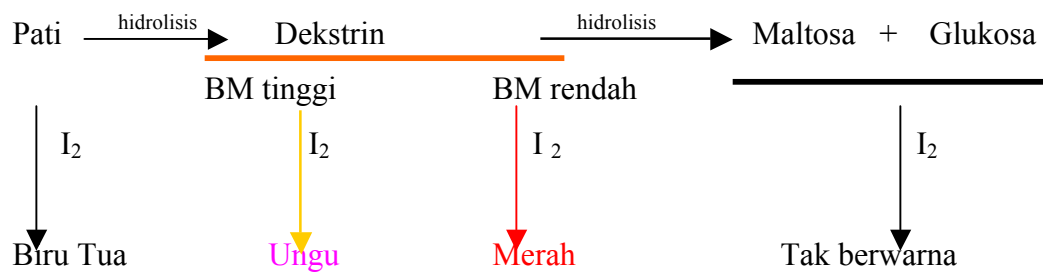
Amilosa dapat terdispersi dalam air panas meningkatkan granula-granula yang membengkak dan masuk ke dalam cairan yang ada di sekitarnya. Molekul-molekul amilosa tersebut akan terus terdispersi asalkan pasta tetap dalam keadaan panas dan dalam kondisi panas pasta masih memiliki kemampuan untuk mengalir yang bersifat fleksibel dan tidak kaku. Dalam keadaan dingin energi kinetik tidak lagi cukup tinggi untuk melawan kecenderungan molekul-molekul amilosa untuk bersatu kembali. Molekul –molekul amilosa berikatan kembali satu

dengan yang lainnya serta berikatan dengan cabang amilopektin pada pinggir luar granula. Dengan demikian bergabungnya butir pati yang membengkak tersebut menjadi semacam jaring-jaring membentuk mikrokristal dan mengendap. Proses kristalisasi kembali pati yang telah mengalami gelatinisasi tersebut disebut **retrogradasi**. Sebagian air pada pasta yang telah dimasak berada dalam rongga-rongga jaringan yang terbentuk dari butir pati dan endapan amilosa. Jika gel dipotong dengan pisau atau disimpan beberapa hari, air tersebut dapat keluar dari bahan dan keluarnya atau merembesnya cairan dari suatu gel dari pati disebut **sineresis** (Winarno, 1984).

Amilopektin mempunyai struktur rantai bercabang dan tiap cabang mengandung sekitar 15 -25 unit glukosa. Pada titik cabang, cabang-cabang ini dihubungkan oleh atom karbon nomor 1 dan karbon nomor 6 dari unit glukosa. Cabang pada tiap cabang terdapat ikatan α -(1,6) glukosidik. Untuk jelasnya terlihat pada Gambar 3.



Iodium dalam larutan kanji dan air menjadi terserap oleh molekul kanji yang dalam keadaan terhidratasi menghasilkan warna biru tua. Warnanya tergantung pada besar molekulnya dan perubahan warnanya terlihat sebagai berikut:



Pada pati terdapat juga sejumlah kecil mineral-mineral antara lain mineral kalium, kalsium dan silikat. Granula pati yang lebih kecil mengandung jumlah mineral yang lebih banyak dari pada pati yang ber-granula lebih besar. Terdapatnya mineral dalam pati dapat

melindung terhadap hidrolisis oleh enzim amylase. Pada hidrolisis secara enzimatis oleh enzim amylase sekitar 80 % akan menjadi maltosa dan sisanya dapat berupa dekstrin.

Pada proses pembuatan tape hidrolisis pati terjadi tiga tahap yaitu tahap gelatinisasi, tahap likuifikasi, dan tahap sakarifikasi. Suhu gelatinisasi tergantung dari jenis patinya dan ukuran granulanya. Likuifikasi merupakan proses enzimatis dan likuifikasi ini lebih diartikan sebagai suatu proses pencairan karena aktivitas enzim α amylase. Sedangkan proses sakarifikasi merupakan proses konversi karena bekerjanya enzim α amylase dan β amylase.

2. Air

Air yang digunakan untuk pembuatan brem tidak berbau, tidak berwarna, tidak berasa, bersih, jernih, bebas dari komponen organik, mikroba kontaminan, logam berat, sulfide dan nitrit.

Komposisi mineral yang terdapat dalam air dapat dinyatakan dalam bentuk kesadahan. Tingkat kesadahan dapat dinyatakan dalam dua cara yaitu tingkat kesadahan sementara dan tingkat kesadahan tetap. Tingkat kesadahan sementara atau disebut pula tingkat kesadahan karbonat yaitu merupakan tingkat kesadahan yang disebabkan oleh garam karbonat (CO_3) dan bikarbonat (HCO_3) dari kalsium dan magnesium. Tingkat kesadahan sementara dapat dikurangi dengan pemanasan. Sedangkan kesadahan tetap adalah kesadahan yang disebabkan oleh kandungan garam khlorida (Cl) dan asam sulfat (SO_4) dari kalsium dan magnesium (Rahayu dan Kuswanto, 1987).

3. Ragi

a. Ragi tape

Di Indonesia dikenal beberapa macam ragi misalnya ragi tempe, ragi tape, ragi roti dan lain-lainnya. Ragi tape yang beredar di pasaran dan banyak dikenal adalah ragi NKL (Nak Kok Liong). Ragi ini berwarna putih dan dijual berbentuk butiran bulat dan agak lonjong dengan berat sekitar 5 gram. Ragi tape merupakan media kering yang terbuat dari tepung sereal dan diberi beberapa rempah-rempah, mengandung kapang, khamir dan beberapa macam bakteri. Ragi tape maupun ragi roti dapat menghasilkan alkohol. Di Malaysia ragi tape disebut ragi *tapai*, *jui-paing*, di Thailand disebut ragi *loogpang*, *lukpaeng*; di Filipina ragi *bubod levadura*;

di China ragi *chu*, *levure chinoise*; di India *bakhar*, *mucha*, *ranu*, atau *u-y-iat*; di Indonesia disebut ragi tape dan ragi roti.

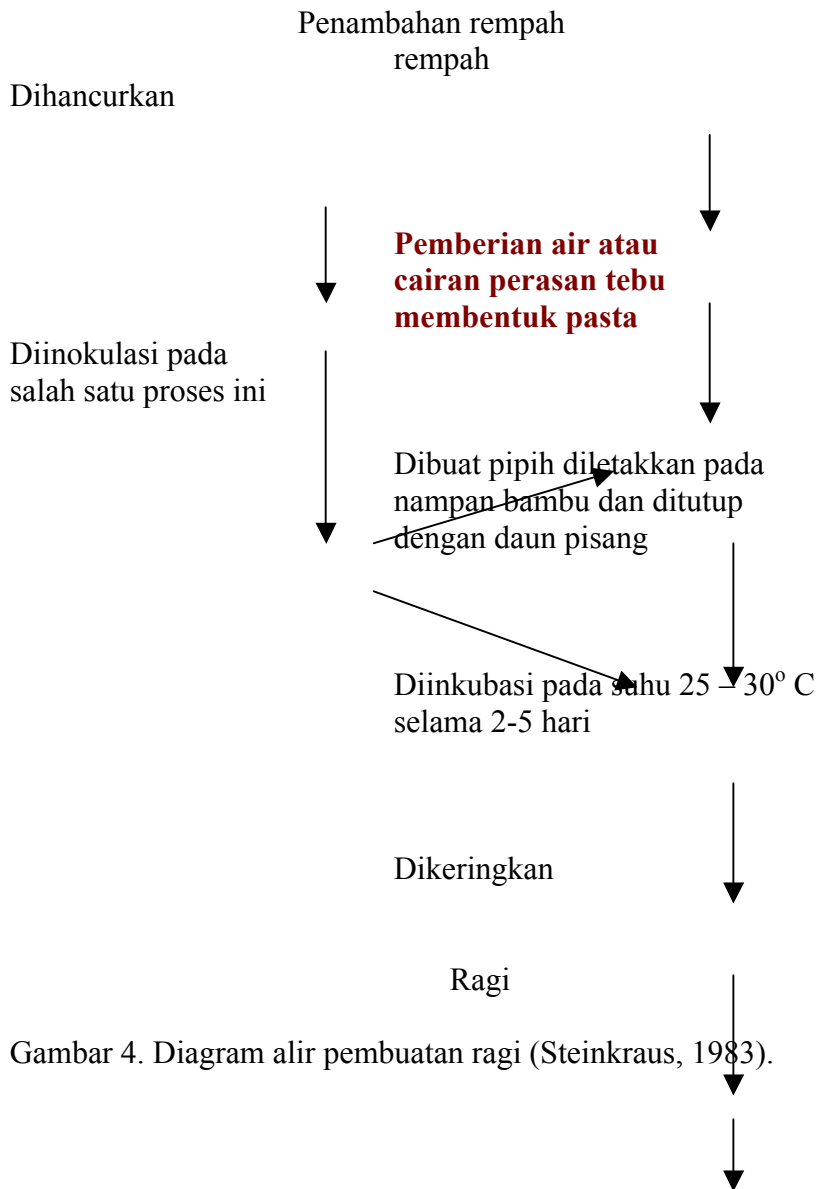
Jadi ragi merupakan media yang mengandung inokulum mikroba. Ragi tempe adalah media yang mengandung inokulum untuk pembuatan tempe, ragi tape digunakan untuk membuat tape.

Pembuatan Ragi

Tepung beras dicampur dengan bubuk jahe, merica, cabai, lengkuas, bawang putih, air perasan tebu, kayumanis, pekak dan lain-lainnya. Campuran ini diberi air atau cairan perasan tebu. Kemudian diinokulasi dengan bubuk ragi kering dan dibuat bulatan bulatan pipih dengan ukuran 0,5 sampai 1 cm dan diletakan dalam nampan bambu dengan alas merang padi kemudian ditutup dengan daun pisang. Kemudian dikeringkan pada suhu 25 sampai 30 °C selama 2 sampai 5 hari. Untuk jelasnya dapat dilihat pada diagram alir Gambar 4.

Di Filipina ragi diberi nama bubod (bubud) levadura dibuat dengan berbagai proses pembuatan. Bubud dapat dibuat dari beras ketan dicampur dengan beras. Beras dicuci dengan baik direndam satu malam, ditiriskan dan kemudian digiling. Tepung ini dicampur dengan bubuk akar jahe, digulung berbentuk bulat atau berbentuk pipih dengan tebal dan panjang berbeda-beda tanpa diberi inokulum. Cara lain pembuatan bubod adalah dengan menginokulasikan bubuk bubod yang telah dibuat dan yang sudah jadi. Inkubasi dilakukan pada kondisi suhu kamar disimpan sekurang-kurangnya 3 hari. Dalam penyimpanan tersebut mikroba akan tumbuh. Mengenai diagram alir bubod dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.

Ragi lama



Direndam

Dicampur dengan air, gula dan bubod

Ditiriskan

Diinokulasi dengan kapang

Digiling

Inkubasi 3 hari dan dikeringkan

Dicampur dengan jahe

Bubod

Diinokulasi dengan kapang

Gambar 6. Diagram alir pembuatan
Bubod (Steinkraus, 1983)

Ditaburi dengan bubod

Inkubasi 3 hari dan dikeringkan

Bubod

Gambar 5. Diagram alir pembuatan ragi bubod
(Steinkraus, 1983).

Penambahan rempah-rempah pada pembuatan ragi dapat mencegah atau membantu pertumbuhan mikroba tertentu. Rempah-rempah yang ditambahkan berupa bawang putih, lada hitam, lengkuas, jeruk nipis, cabe merah, kayu manis, adas dan tebu. Mengenai komposisi rempah-rempah yang digunakan pada pembuatan ragi tape dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi rempah-rempah pada pembuatan ragi tape (Saono *et al*, 1974 dalam Suliantari dan Rahayu, 1990)

Rempah-rempah	Jumlah rempah (% terhadap beras)
Bawang putih (<i>Allium sativum</i>)	0,50 – 18,70
Lada (<i>Piper nigrum</i>	0,05 – 6,20
Lada hitam (<i>Piper retrofractum</i>)	0,30 – 2,50
Lengkuas (<i>Alpina galanga</i>)	2,50 – 50,00
Jeruk nipis (<i>Citrus auranticum aurantifolia</i>)	2,50
Cabe merah (<i>Capsicum frutescent</i>)	0,25 – 6,20
Kayu manis (<i>Cinnanomun burmani</i>)	0,05 – 3,50
Adas (<i>Foeniculum officinarum</i>)	2,50 – 3,00
Tebu (<i>Saccharum officinarum</i>)	1,00 – 12,5

Rempah-rempah kering mengandung berbagai macam mikroba. Beberapa minyak esensial yang terdapat pada rempah-rempah dapat menghambat atau dapat sebagai bakteriostatik mempunyai pengaruh spesifik, misalnya bawang putih, cengkeh dan kayu manis mempunyai sifat bakteriostatis.

Kemungkinan pula bahwa pada rempah-rempah terdapat khamir dan kapang yang bersifat amilolitik dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan.

Mikroba pada ragi

Mengenai berbagai macam mikroba yang terdapat pada ragi dan tape Indonesia dapat dilihat pada Tabel 3. Mikroba penting yang terdapat pada ragi tape adalah kapang *Amylomyces rouxii* dahulu dikenal dengan nama *Chlamydomucor oryzae* dan khamir *Endomycopsis burtonii* (*E. chodati*),. Beberapa sampel ragi yang diambil di Thailand Tengah ternyata terdapat beberapa macam mikroba yaitu *Amylomyces*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, dan *Absidia*. *Absidia* mungkin merupakan mikroba yang bersifat simbiotik dengan *Acetobacter* pada pembuatan vinegar, karena *Acetobacter* mungkin sulit untuk hidup dalam keadaan asam.

Terdapat 41 strain khamir yang dapat diisolasi dari ragi dan tape Indonesia, 19 diantaranya bersifat amilolitik, 14 bersifat lipolitik tetapi tidak diketemukan yang bersifat proteolitik. Semua kapang yang diisolasi bersifat amilolitik dan lipolitik dan 89 % bersifat proteolitik.

Ko (1977) dalam Steinkraus (1983) membuat ragi yang mengandung biakan murni yaitu satu jenis mikroba. Ia menggunakan *A. rouxii* dan *Endomycopsis chodati* masing ditumbuhkan pada nasi selama 4 hari pada suhu 30 °C. Kultur kemudian dikeringkan dan dihancurkan.. Bila diperlukan bubuk ini dicampur dan diinokulasikan kedalam ketan yang telah dimasak atau umbi ketela pohon., sehingga Ko memperoleh tape ketan dan tape ketela pohon yang spesifik.

Tabel 3. Mikroba pada ragi dan tape Indonesia.(Steinkraus,1983)

Genus	Species
<i>Candida</i>	<i>C. guilliermodii</i> <i>C. humicola</i> <i>C. intermedia</i> <i>C.japonica</i> <i>C. lactosa</i> <i>C. melinii</i> <i>C. mycoderma</i> <i>C.parapsilosis</i> <i>C. parapsilosis var. Intermedia</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. solani</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<i>Endomycopsis</i>	<i>E. chodatii</i> <i>E. fibuliger</i>
<i>Hansenula</i>	<i>H. subpelliculosa</i> <i>H. anomala</i> <i>H. malanga</i>
<i>Amylomyces</i>	<i>A. rouxii</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>A. oryzae</i>
<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium sp.</i>
<i>Mucor</i>	<i>M. circinelloides</i> <i>M. javanicus</i> <i>M. rouxii</i>
<i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus sp.</i> <i>R.oryzae</i>

III. FERMENTASI

Keberhasilan proses pembuatan brem bali sangat tergantung dengan proses fermentasi, atau lebih tepatnya sangat tergantung yang dengan teknologi fermentasi yang diterapkan.

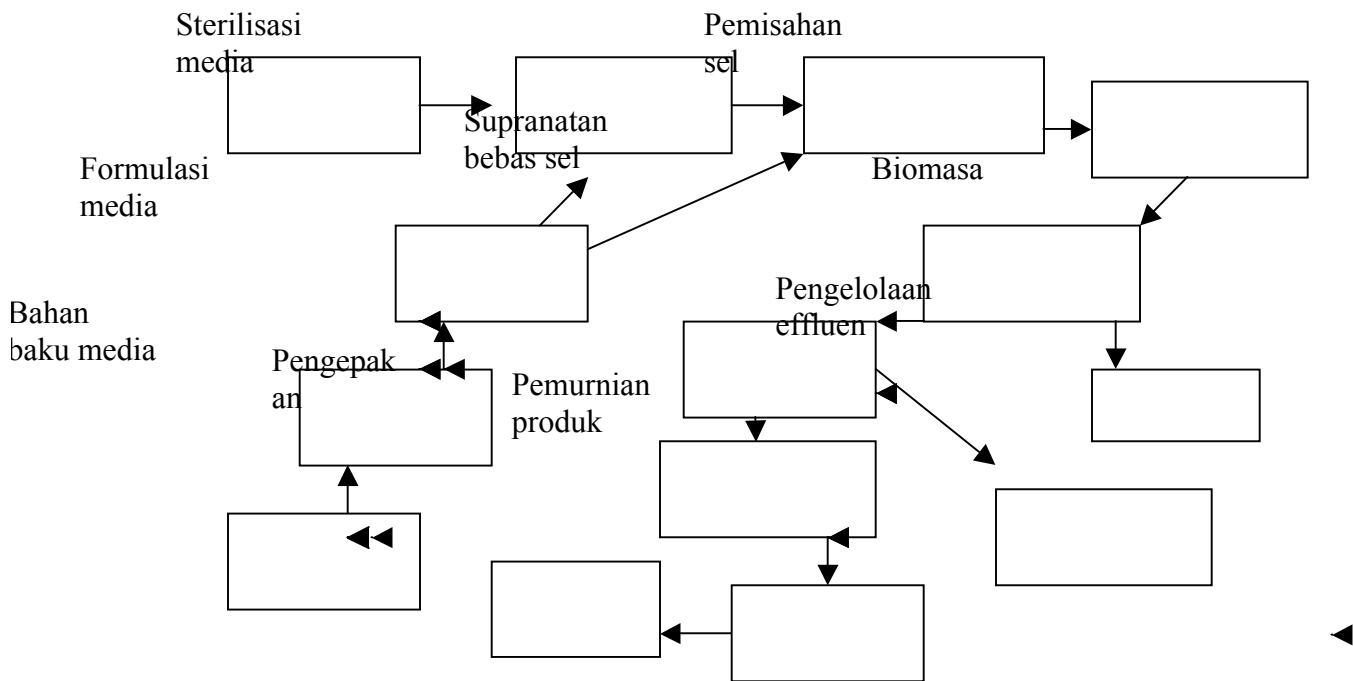
Pengertian fermentasi adalah suatu perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim suatu mikroba walaupun dalam beberapa hal dapat pula terjadi tanpa adanya sel hidup (mikroba), dan prosesnya dapat berlangsung aerob maupun anaerob. Dalam proses fermentasi terjadi suatu reaksi oksidasi reduksi di dalam sistem biologi yang menghasilkan energi sedangkan sebagai donor dan akseptor elektron adalah senyawa organik.

Sedangkan teknologi fermentasi merupakan ilmu teknik terapan dalam upaya manusia untuk mencapai kondisi optimal agar proses fermentasi dapat memperoleh hasil yang maksimal serta sesuai dengan target yang direncanakan secara kualitatif maupun kuantitatif. Dalam proses fermentasi pembuatan brem diusahakan kondisi yang optimal sehingga diperoleh brem bali yang maksimal kualitas maupun kuantitasnya.

Prinsip dasar proses fermentasi dapat dikemukakan sebagai berikut :

1. Memformulasikan media yang akan digunakan untuk menumbuhkan inokulum dalam fermentor
2. Mensterilkan media, fermentor dan alat-alat pendukung lainnya.
3. Memproduksi kultur yang aktif, murni dan dalam jumlah yang cukup yang akan diinokulasikan ke dalam fermentor produksi.
4. Pertumbuhan mikroba dalam fermentor produksi dalam keadaan optimum untuk pembentukan produk.
5. Dilakukan ekstraksi produk dan pemurniannya.
6. Perlakuan limbah (effluent) yang tidak berguna yang dihasilkan dalam proses fermentasi.

Selanjutnya untuk jelasnya dapat dilihat pada diagram alir Gambar 7 yang merupakan hubungan antara keenam proses fermentasi tersebut diatas.



Gambar 7. Diagram alir proses fermentasi secara umum.

A. Enzim Pemecah Pati

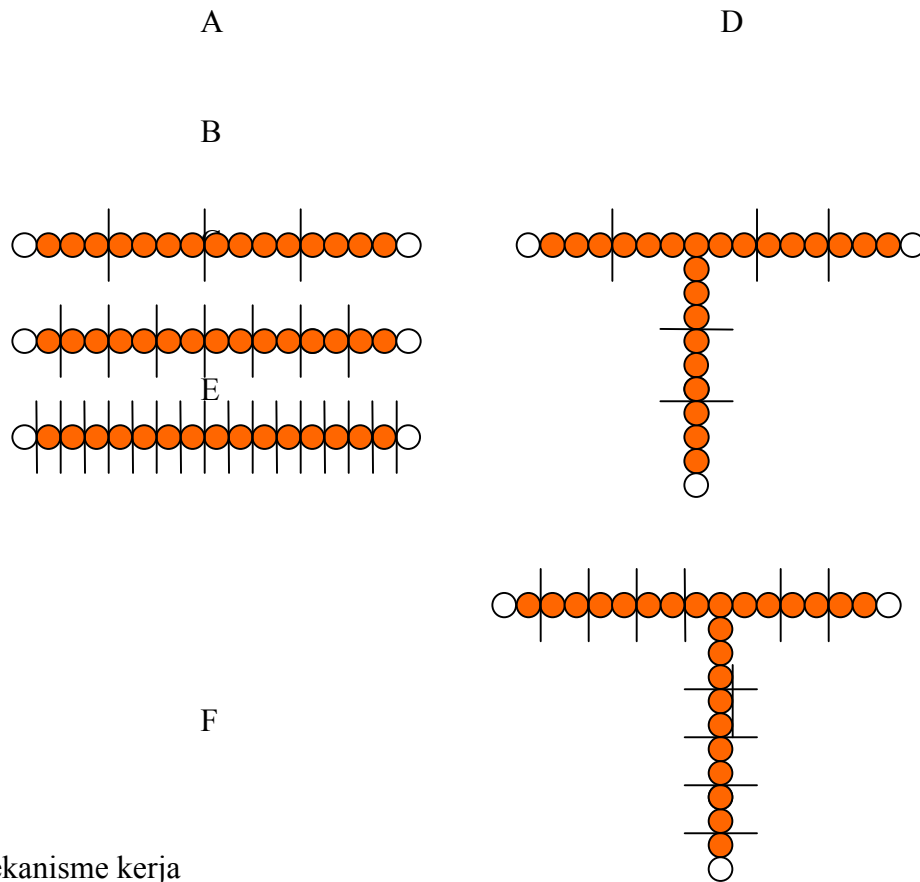
Beras ketan mengandung pati (amilosa dan amilopektin) akan dipecahkan oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang terdapat pada ragi tape. Enzim yang berperan memecahkan rantai lurus pada amilosa dan amilopektin adalah enzim α amilase, β amilase, glukoamilase sedangkan rantai cabang dipecah oleh enzim pululanase, isoamilase dan enzim amilo 1,6 glukosidik. Pati yang telah dipecah menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana menjadi glukosa, maltosa, oligosakarida, dan limit dekstrin. Glukosa dan maltosa akan dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh khamir (yeast) menjadi alkohol. Untuk jelasnya mekanisme kerja enzim enzim tersebut terlihat pada Gambar 8.

Pada pembuatan brem peranan enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang terdapat pada ragi tape kerja optimalnya sangat tergantung lingkungan dan jenis yang dihasilkan oleh mikroba yang terdapat pada ragi tersebut. Di dalam ragi tape terdapat beberapa macam mikroba seperti yang dikemukakan diatas. Beberapa mikroba yang terdapat pada ragi tape dapat menghasilkan enzim yang mampu memecahkan karbohidrat yang terdapat pada ketan. Dalam ketan terdapat karbohidrat berupa amilosa dan amilopektin. Amilosa dan amilopektin ini akan dipecahkan

oleh enzim yang dikeluarkan oleh mikroba yang terdapat pada ragi tersebut. Menurut Reed (1975) *Aspergillus oryzae* dapat menghasilkan α amilase, glukoamilase, laktase, dan proteinase, *Aspergillus niger* membentuk enzim α amilase, amilogluoamilase, katalase, glukose oksidase, glukoamilase, pektinliase, lipase, poligalakturonase, stachyase, tanase, dan naringinase. *Rhizopus* sp menghasilkan enzim glukoamilase, lipase, *Candida* menghasilkan lipase, dan laktase. *Saccharomyces cerevisiae* dapat membentuk enzim invertase sedangkan *Mucor* menghasilkan lipase.

Amilase memecahkan pati, glikogen dan derivat polisakarida, dan menghidrolisis ikatan α 1,4 glikoside. Amilase ini dapat dibagi menjadi tiga kelompok :

1. α amilase yang memecahkan ikatan bagian dalam pati (endoamilase) secara acak.
2. β Beta amilase yang menghidrolisis unit-unit pati dari ujung non reduksi substrat (exoamilase) pati.
3. Glukoamilase, yang memecahkan unit -unit glukose dari ujung non reduksi dari molekul substrat



Gambar 8. Mekanisme kerja amylase (Reed 1975).

- A. Pemecahan amilosa oleh α -amilase secara random/acak untuk membentuk dektrin
- B. Pemecahan amilosa oleh β -amilase dari ujung gula non pereduksi membentuk maltosa
- C. Hidrolisis amilosa oleh glucoamilase untuk membentuk glukosa
- D. Pemecahan amilopektin oleh α -amilase untuk membentuk dekstOn
- E. Pemecahan amilopektin oleh β -amilase dari ujung gula non pereduksi amilopektin membentuk maltosa
- F. Pemecahan amilopektin oleh glucoamilosa untuk menghasilkan glukosa.

α AMILASE

α Amilase (1,4 glukon 4 glukanohidrolase EC 3.2.1.1) Enzim ini umumnya terdapat pada tumbuh-tumbuhan, jaringan mamalia dan mikroba. Enzim ini memecahkan komponen-komponen pati secara acak. Cara kerja sifat dan pemecahan dapat berbeda tergantung sumber dari enzim tersebut (Roboyt dan Whelan, 1968 *dalam* Reed, 1975). Enzim α amilase murni dapat diperoleh dari beberapa sumber antara lain dari malt barley, ludah manusia (saliva), pankreas dan *Aspergillus oryzae* atau dari *Bacillus subtilis*.

Pemecahan amilosa oleh enzim α amilase terdiri dari dua tingkat; yaitu tingkat pertama yaitu pemecahan amilosa dengan cepat menjadi maltose dan maltotriose. Pada tingkat ini (tingkat amilolisis) ini terjadi pemecahan secara random (acak) terhadap substrat. Bentuk pemecahan ini tampak dengan segera dengan hilangnya viskositas dan hilangnya daya ikat amilose terhadap iodum.

Tingkat kedua yaitu tingkat pemecahan yang jauh lebih lambat dari pada tingkat pertama. Pada pemecahan tingkat kedua ini mencakup pemecahan oligosakarida menjadi glukose dan maltose sebagai hasil akhir. Pemecahan tidak berlangsung secara acak.

Pemecahan amilopektin oleh α amilase membentuk glukosa, maltosa dan beberapa jenis limit dektrin yaitu oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang semuanya mengandung ikatan glikoside α -1,6.

Berat molekul α amilase

Berat molekul α amilase sekitar 50.000. Masing-masing molekul mengandung satu ion Ca. Berat molekul amilase yang diisolasi dari bakteri sekitar 96.900 dalam bentuk kristalin. Enzim dengan berat molekul 50.000 dapat bergerak dengan cepat dan merupakan monomer α amylase. Dengan adanya ion zink maka terbentuk dimer karena dua monomer α enzim dihubungkan oleh sebuah atom zink (Kokiuchi *et al.*, 1964 *dalam* Reed, 1975).

Pengaruh Kalsium

Kalsium yang terdapat di dalam α amilase terikat dengan dengan erat sekali. Pada pH rendah kalsium dapat dilepaskan dari atom α amilase menyebabkan enzim tersebut tidak aktif, kurang stabil dan akan terdenaturasi oleh panas, asam atau urea. Kalsium dalam jumlah sedikit pada pati umumnya sudah cukup mengkompensasikan enzim yang sudah kehilangan garam kalsiumnya dan akan melindungi enzim tersebut terhadap kerusakan denaturasi karena panas (Stanbury dan Whitaker, 1984).

Pengaruh pH dan suhu terhadap stabilitas α amilase

Pengaruh pH terhadap stabilitas dan aktivitas enzim α amilase dari pertimbangan praktis sangat penting. Misalnya pada pH 3,4 - 4.0 enzim α amilase sereal mengalami kerusakan dengan cepat. Aktivitas maksimum α amilase ialah pada 4,5 - 7.0 , akan tetapi kurve aktivitas dan lokasi optimalnya berbeda tergantung pada sumber enzimnya.

Kisaran pH optimal untuk α amilase dari saliva manusia, pankreas, relatif kecil yaitu 6.0 sampai 7.0. Alfa (α) amilase dari *Bacillus subtilis* kisaran pH nya lebih besar yaitu pH 5.0 - 7.0. Alfa α amilase *Bacillus stearothermophilus* kisarnya sempit. Enzim α amilase dari sorgum dengan pH optimum 4,8 dan aktivitasnya segera akan turun dan akan hilang pada keadaan asam dan hilangnya aktivitas sangat lambat pada pH di atas 5.0. Alfa (α) amilase wheat aktivitas optimum pada pH 4,5 dan aktivitasnya akan turun dengan cepat pada pH dibawah 4,0.

Suhu

Alfa (α) amilase yang masih mengandung Ca lebih stabil dari pada β amilase. Sifat ini penting dalam proses pembuatan roti. Stabilitasnya terhadap suhu juga tergantung dari sumber enzim tersebut. Enzim α amylase dari *Bacillus subtilis* dan *B. stearothermophilus* stabil terhadap panas. Enzim α amilase *B.stearothermophilus* lebih resisten panas daripada amilase dari *B.subtilis*. Kisaran suhu optimumnya 55⁰C-70⁰C. Pada umumnya aktivitas α amilase meningkat dari suhu 0⁰ C sampai 40⁰ C. Akan tetapi beberapa macam α amilase menunjukkan suhu optimalnya sampai pada suhu 70⁰ C.

Enzim yang dikehendaki ialah enzim yang stabil terhadap panas. Dalam hal ini ialah enzim α amilase bakteri karena dalam prosesing lebih banyak menggunakan panas.

Alfa (α) amilase fungi tidak aktif sebelum terjadinya titik gelatinisasi pada pati. Sedangkan α amilase bakteri lebih efektif menghidrolisis pati setelah gelatinisasi terjadi, substrat akan diubah lebih sempurna.

Hilangnya substrat dapat diukur dengan berkurangnya derajat pewarnaan iodium terhadap substrat. Pati yang mengandung amilosa bereaksi dengan yodium berwarna biru sedangkan dekstrin dengan yodium akan berwarna coklat. Keaktifan α amilase dapat ditentukan dengan berbagai cara misalnya dengan pengukuran viskositas dan jumlah pereduksi yang terbentuk.

β Amilase (α 1,4 Glukan maltohydrolase, EC 3.2.1.2)

β Amilase juga disebut amilase sakarogenik (saccharogenic amylase) terdapat pada klas tumbuh-tumbuhan tinggi, tidak terdapat pada mamalia terdapatnya pada mikroba masih disangsikan. Empat macam β amilase telah dapat dikristalisasikan yaitu yang berasal dari wheat, malt barley, ketela rambat dan kedele.

Mekanisme Kerja β amilase

β amilase menghidrolisis ikatan α 1,4 glikoside pati dan glikogen dengan menginversi konfigurasi kedudukan atom C (1) glukose dari α ke β . Perubahan konfigurasi ini yang menyebabkan enzim diberi istilah β . β amilase tidak mampu memecah ikatan 1,6 glikoside amilopektin. Jadi pemecahan amilopektin tidak sempurna, biasanya hanya dapat menghasilkan 50%-60% maltosa. Bagian yang tidak dipecah disebut limit dektrin. Sedangkan pemecahan glikogen akan membentuk 40-50% maltosa. Secara teoritis polimer linear seperti halnya amilosa dapat dipecah secara sempurna, tetapi kenyataannya hanya terdegradasi 70-90%. Degradasi tidak sempurna ini disebabkan karena adanya modifikasi amilosa misalnya karena terjadinya oksidasi pada waktu pembentukan pati dan glikogen.

Pemecahan ikatan glukoside pada α 1,4 glikoside terjadi secara bertahap dari arah luar atau dari ujung rantai gula non reduksi.. Oleh karena enzim ini menghidrolisis ikatan glukoside, bila enzim memecahkan molekul rantai lurus dengan jumlah residu glukose genap akan

terbentuk maltose. Apabila enzim bekerja pada rantai yang terdiri dari jumlah residu ganjil, maka diantara hasil-hasil akhir dapat terbentuk glukosa dan maltotriosa.

Pemecahan maltotriose akan menghasilkan maltose dan glukose, berlangsung dengan kecepatan yang lebih lambat, dan memerlukan konsentrasi yang tinggi. Sebagaimana halnya telah dikemukakan diatas bahwa amilopektin yang dipecah akan menghasilkan 50 -60% maltose, sedangkan glikogen yang lebih bercabang-cabang akan menghasilkan 40 -50 % maltosa..

Sifat Enzim β Amilase

Pada suhu 30 C dan pada pH 4,8 sebuah molekul enzim dapat menghidrolisis 252.000 ikatan per menit. β amilase sangat aktif pada kisaran pH 5.0 - 6.0 dan stabil antara pH 4,0 dan pH.8,9 pada suhu 20⁰ C, selama 24 jam. Diluar kisaran pH tersebut dan terutama dalam keadaan asam β amilase kedele lebih stabil dari pada enzim yang berasal dari wheat dan malt barley.

β amilase dari barley kurang stabil terhadap panas dari pada α amilasena.. β amilase kedele 50% dari aktivitasnya akan hilang jika dipanaskan pada suhu 65⁰ C dalam waktu 30 menit dan pH 5,5 dan enzim tersebut akan inaktif bila dipanaskan pada suhu 70 ⁰C dalam waktu 30 menit.

β amilase ketela rambat yang dalam keadaan tidak murni dapat dipanaskan dengan suhu 60⁰ - 65⁰ C tanpa banyak kehilangan aktivitasnya . Enzim ini dalam bentuk kristalin dapat dipergunakan untuk menghidrolisis polimer pati pada pH 3,6 dan pada suhu 35⁰ C.

Gugusan sulfidril sangat penting untuk aktivitas β amilase. Enzim ini dapat diinaktifkan oleh reagen sulfhidril seperti **p.khloromercuri benzoat** dan **N etilmaleimide**. Inaktivasi ini dapat dicegah dengan menambahkan serum albumin dan glutathion tereduksi.

β amilase ketela rambat berat molekulnya 152 000.Pada umumnya. B.M. β amilase lebih tinggi dari pada α amilase.

Glukoamilase (α 1,4 Glukan glukohidrolase, EC 3.2.1.3.).

Glukoamilase ialah suatu enzim yang memecahkan pati dari luar (exo-splitting) dengan memisahkan unit-unit glukosa dari ujung polimer pati yang non reduksi. Hasil reaksinya hanya glukosa sehingga dapat dibedakan dengan α dan β amilase.

Glukoamilase tingkat kemurniannya bermacam-macam dan secara komersial dapat diproduksi dari *Aspergillus* dan *Rhizopus*.

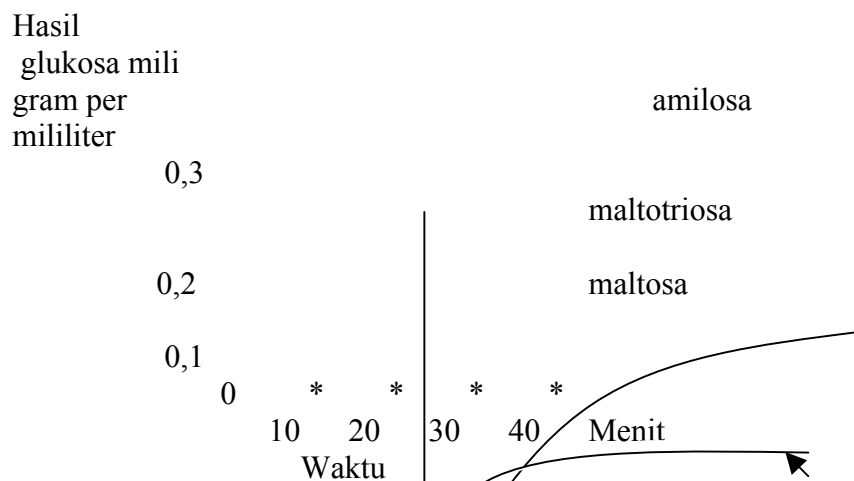
Enzim ini mempunyai, kemampuan memecahkan ikatan α 1,3 1,6 dan 1,4 dengan kecepatan berbeda-beda (Tabel 4). Walaupun kerja enzim tidak terhenti pada ikatan α 1,6 pada rantai cabang tetapi degradasi tidak sempurna. Kemungkinan bahwa beberapa ikatan α 1,6 terdapat dalam suatu susunan sehingga enzim mengalami kesukaran untuk menghidrolisisnya. Mengenai waktu hidrolisis terhadap berbagai macam substrat oleh glukoamilase dari *R.delemar* terlihat pada Gambar 9.

Glukoamilase dari *Aspergillus niger* menghidrolisis maltose, maltotriose, maltotetraosa dan maltopentaosa. Enzim ini mempunyai aktivitas optimal pada pH 4- 5 dan suhu optimum 50- 60 C dalam waktu 24 jam.

Tabel 4. Kecepatan hidrolisis disakarida oleh enzim glukoamilase dari *Aspergillus niger*

Disakaride	Ikatan α	Kecepatan hidrolisis glukose yang dibebaskan mg/unit/jam	Kecepatan relatif
Maltose	1,4	$2,3 \times 10^{-1}$	100
Nigerose	1,3	$2,3 \times 10^{-2}$	6,6
Isomaltose	1,6	$0,83 \times 10^{-2}$	3,6

Sumber: Pazur dan Ando dalam Reed (1975)



Gambar 9. Kurve waktu reaksi untuk hidrolisis berbagai macam substrat oleh glucoamilase yang kristalin dari *R.delemar*. Konsentrasi substrat 0,04% untuk semua substrat. Konsentrasi enzim $2,82 \times 10^{-7}$ M; pH 5,15; suhu 15 °C (Birch *et al*, 1981).

Enzim Pemecah Rantai Cabang

Enzim pemecah rantai cabang pada amilopektin dapat dibagi menjadi dua yaitu pemecah langsung dan pemecah tidak langsung. Pemecah langsung ialah Pullulanase dan Isoamilase. Enzim ini memecah rantai cabang secara langsung dengan menghidrolisis ikatan α 1,6 glikogen dan atau amilopektin yang tidak dimodifikasi. Sedangkan pemecah rantai cabang pemecahannya tidak langsung namun harus didahului dengan suatu modifikasi substrat dengan enzim lain. Pemecah rantai cabang tidak langsung ini ialah **amilo 1,6 glukosidase** (EC. 3.2.1.33) / oligo -1,4 glukantransferase (EC 2.4.1.24).

Amilo 1-6 glukosidase (EC.3.2.1.33)

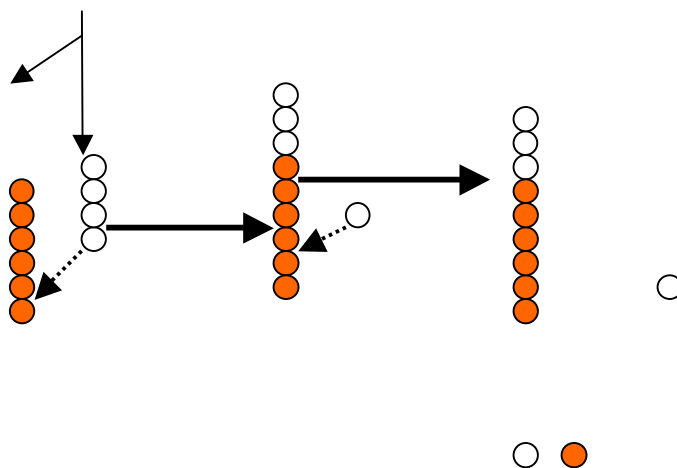
Enzim ini bekerja sama dengan fosforilase memecahkan glikogen menjadi glukosa 1 fosfat dan glukosa. Pada mamalia fosforilase bekerja terhadap cabang molekul glikogen pada

Glukosa 1-P

Fosforilase

bagian luar membentuk limit dekstrin yang mempunyai rantai yang terdiri dari empat unit glukosa. Akan tetapi amilo 1,6 glukosidase hanya akan menghidrolisis titik cabang ikatan α 1,6 jika rantai samping terdiri dari satu unit glukosa. Untuk terjadinya degradasi lebih lanjut dekstrin terlebih dahulu dimodifikasi oleh kerjanya enzim α 4 -D -glukantransferase.

Enzim ini memindahkan sisa maltotriosil kedudukan α 1,4. Jadi terbuka ikatan tunggal α 1,6 unit glukosa. Cara yang sama dapat terjadi pada pembuatan roti dengan menggunakan ragi roti *Saccharomyces cerevisiae*. Enzim amilo 1,6 glukosidase ini tidak banyak digunakan dalam industri .



Enzim Pullulanase (R-enzim) E.C 3.2.1.41

Enzim pullulanase ialah enzim α 1,6 glukosidase terutama memecahkan pullulan suatu α glukan linear. Struktur pullulan yang dihasilkan oleh *Aureobasidium pullulans* terlihat pada gambar berikut (Gambar 10). Pullulanase dari tumbuh-tumbuhan disebut pula R. enzim, terutama terdapat pada kacang-kacangan, jagung manis dan pada kentang.

Struktur tersebut merupakan polimer linear yang terdiri dari unit-unit maltotriosil yang dihubungkan oleh ikatan α 1,6. Pengujian struktur pullulan dapat juga terlihat dengan adanya gugusan maltotetraosa. Struktur pullulan tidak sulit dan tergantung tempat terbentuknya.

Molekul terkecil yang dihidrolisis oleh Pullulanase *K. pneumoniae* ialah tetrasakaride. Maeda *et al* (Birch, 1981) menyatakan bahwa untuk memecahkan tetrasakaride dengan menggunakan R enzim murni yang berasal dari malt barley akan menghidrolisis isopanose menjadi glukose dan maltose.

Isopullulanase (pullulan-4glukanohidrolase) EC.3.2.1.54.)

Enzim ini dapat diisolasi dari *Aspergillus niger* dan *Arthrobacter globiformis* menghidrolisis ikatan α 1,4 glukoside yang berdekatan dengan ikatan α 1,6 glikoside. Pemecahan dilakukan secara random membentuk isopanose dan pada mulanya sederetan isopanose yang mengandung oligosakaride.

Suatu α amilase yang diisolasi dari *Thermoactinomyces vulgaris* menunjukkan kemampuannya untuk menghidrolisis pullulan. Enzim ini menyerang ikatan α 1,4 glukoside dengan cara yang sama menghasilkan panose.

Enzim pullulanase dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme tetapi enzim untuk kepentingan industri diperoleh dari *Klebsiella pneumoniae* atau *Bacillus cereus* var. *mycoides*. Tetapi *B.cereus* menghasilkan β amilase dan pullulanase secara serentak. Enzim ini dapat digunakan untuk membuat sirup bermaltose tinggi (HMS). Akan tetapi hanya pullulanase dari *K.pneumoniae* yang diperdagangkan.

Apabila enzim dipanaskan pada suhu 100 °C dalam waktu 5 menit pada pH 7 didinginkan sampai seperti suhu sekitarnya ternyata aktivitasnya hilang 50 % setelah 20 menit penyimpanan. Akan tetapi apabila penyimpanan dilakukan pada pH 5 aktivitasnya akan hilang sama sekali. Kalsium akan dapat menghambat enzim tersebut.

Apabila enzim dipanaskan pada suhu 100 °C dalam waktu 5 menit pada pH 7 didinginkan sampai pada suhu sekitarnya ternyata aktivitasnya hilang 50 % setelah 20 menit

ATP
Heksokinase
ADP

Glukosa -6 -fosfat

139

Fosfoglukosa isomerase

Fruktosa -6- fosfat

penyimpanan. Akan tetapi apabila penyimpanan dilakukan pada pH 5 aktivitasnya akan hilang sama sekali. Kalsium akan dapat menghambat enzim tersebut.

Fosfofruktokinase

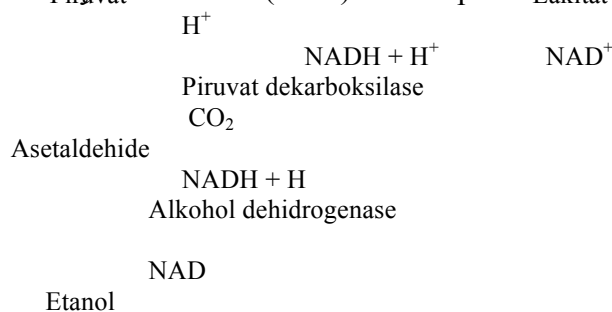
Fruktosa-1,6- difosfat

Aldolase

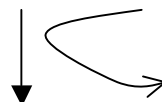
Enzim ISOAMILASE (EC.3.2.1.68)

Enzim isoamilase ialah enzim pemecah rantai cabang secara langsung, meghidro-
lisis ikatan α 1,6 pada amilopektin, glikogen dan maltodektrin yang bercabang dan
oligosakarida. Enzim ini mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap amilopektin dan glikogen
akan tetapi aktivitas sangat rendah terhadap pullulan. Substrat yang dipilih untuk dipecah
ialah oligosakarida yang mempunyai berat molekul tinggi, sedangkan pullulanase memilih
substrat yang mempunyai berat molekul rendah. Isoamilase dapat diperoleh pada
Pseudomonas amyloclavata. Pada pembuatan tape enzim tersebut memegang peranan
penting sampai terbentuk glukosa, maltosa dan beberapa macam dekstrin. Glukosa lebih lanjut
akan mengalami pemecahan.

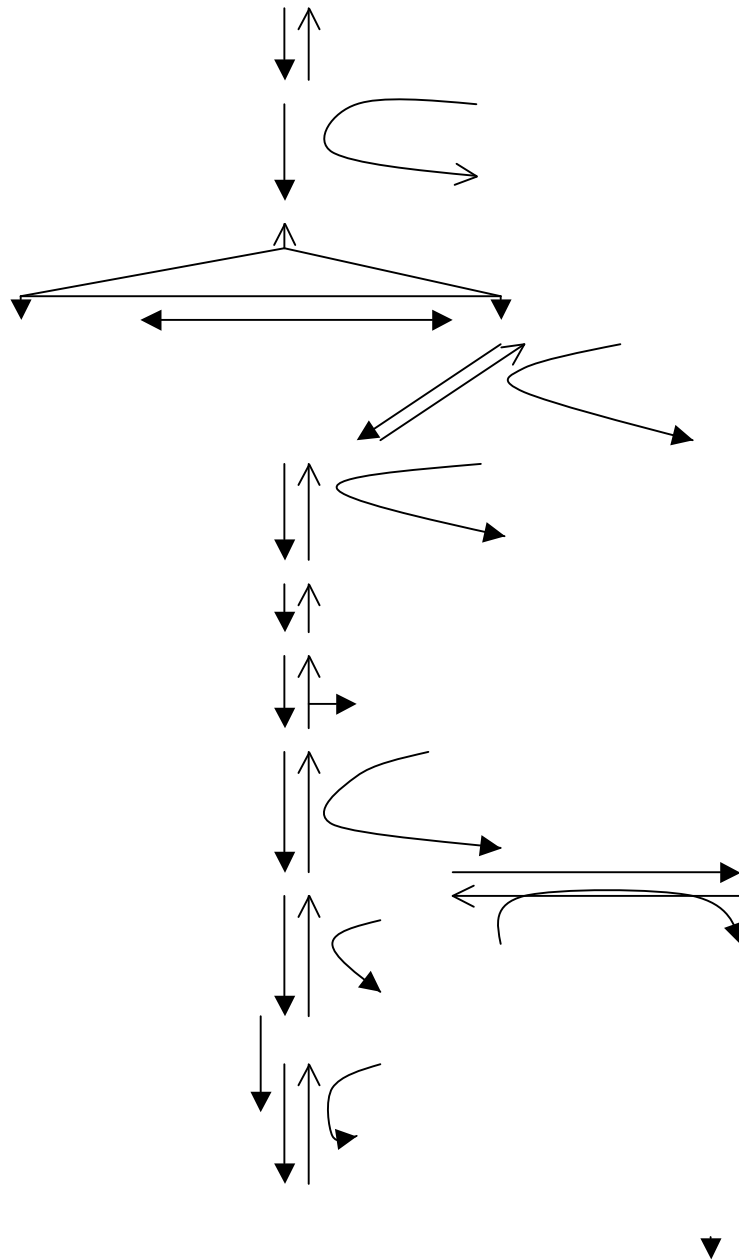
Glukolisis yang merupakan pemecahan glukosa dalam pembentukan alkohol atau asam
laktat melalui jalur Embden Meyerhof Parnas (EMP) terlihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Jalur Glikolisis (Embden Meyerhof Parnas).



B. Glukolisis



IV. PEMBUATAN BREM

Proses pembuatan brem bali pada umumnya masih dibuat secara konvensional. Dahulu brem bali menggunakan peralatan sederhana, sebagian besar terbuat dari tanah liat misalnya priuk untuk memasak, tempat fermentasi, untuk menutup dalam proses fermentasi menggunakan daun pisang. Di beberapa daerah di Bali masih ada berbagai kepercayaan bahwa pada waktu pembuatan tape si pembuat harus mandi terlebih dahulu, tidak boleh memakai minyak rambut, karena minyak dapat menghambat perkembangan khamir. Ketan yang akan dijadikan tape diatas daun penutup diisi cabe agar ketan yang difermentasi menjadi tape dan banyak lagi hal yang dilakukan oleh masyarakat pada waktu itu. Akan tetapi pada prinsipnya pembuatan brem dapat dilakukan sebagai berikut.

1. Persiapan Bahan

Beras ketan yang digunakan untuk pembuatan brem ada dua macam yaitu ketan putih atau ketan hitam atau dibuat dari campuran kedua macam ketan tersebut. Secara konvensional ketan yang digunakan umumnya ketan pecah kulit tanpa dilakukan penyosohan lebih lanjut sehingga kemungkinan masih mengandung aleuron. Pada ketan pecah kulit ini masih mengandung lemak, protein, vitamin dan mineral-mineral. Ketan yang akan digunakan untuk pembuatan brem terlebih dahulu disosoh sehingga tinggal endosperm (putih lembaga) yang terdiri dari karbohidrat yang akan dipecah oleh enzim menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana yaitu glukosa, maltosa dan beberapa jenis *α limit dekstrin*. Terdapatnya lemak dan protein pada ketan dapat menyebabkan brem menjadi keruh sebagai akibat terdapatnya koloid-koloid dari protein dan warna brem menjadi lebih gelap karena terjadinya reaksi browning, reaksi antara gugusan amine dan gugusan aldehida dari pati. Lemak yang terdapat pada ketan dapat terbentuk partikel partikel lemak pada brem dan apabila terjadi oksidasi akan timbul bau tengik.

2. Pencucian dan Perendaman

Ketan yang akan digunakan untuk pembuatan brem terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan berbagai kotoran dan benda asing seperti kerikil, sisa-sisa jerami, dan benda-benda asing lainnya yang masih melekat pada beras ketan tersebut. Kemudian dilakukan perendaman selama 3-4 jam tergantung jenis beras ketan yang digunakan. Apabila digunakan beras ketan hitam akan membutuhkan waktu perendaman lebih lama yaitu perendaman dapat

sampai 24 jam. Perendaman akan dapat meningkatkan daya hidrasi pati ketan pada saat pengukusan dan mempercepat penetrasi panas ke endosperma sehingga proses gelatinisasi dapat tercapai lebih cepat. Pada waktu perendaman dalam air dingin granula patinya akan menyerap air dan membengkak. Jumlah air yang terserap dan pembengkakannya terbatas. Air yang terserap hanya dapat mencapai kadar 30 %. Pada waktu perendaman, beberapa mineral yang terdapat pada ketan dapat keluar tetapi sebaliknya kemungkinan pula terjadi masuknya mineral ke dalam ketan. Beberapa mineral keluar dari biji ketan yaitu 50% kalium, 20 % fosfor dan beberapa magnesium, sedangkan kalsium, natrium dan besi dapat terserap ke dalam biji ketan selama perendaman. Setelah perendaman kemudian ketan ditiriskan untuk menghilangkan air rendaman yang tidak terikat pada granula-granula pati.

3. Pemasakan (Pengukusan)

Setelah ketan direndam kemudian dilanjutkan dengan melakukan pemasakan (pengukusan) agar terjadi proses gelatinisasi pada ketan tersebut. Apabila tidak terjadi gelatinisasi amilosa dan amilopektin yang terdapat pada ketan tersebut sulit dipecahkan oleh α dan β amilase.

Ketan yang akan dikukus diletakkan di atas sarangan yang dibawahnya terdapat air mendidih, dimana uap yang dihasilkan selama pemanasan akan mematangkan ketan tersebut. Lamanya waktu yang diperlukan untuk proses ini tergantung dari jumlah bahan yang dimasak. Pemanasan awal memerlukan waktu kurang lebih 30 menit, beras ketan ini dimasukkan ke wadah yang sudah berisi air mendidih (pengaruhan, pengadukan serta penambahan air). Setelah dilakukan pengaruhan pemanasan dilanjutkan kurang lebih 90 menit sampai ketan tersebut benar – benar masak. Pada proses pengaruhan untuk setiap 50 kg ketan ditambahkan air sekitar 3 liter dengan suhu air yang ditambahkan 40-45 °C selama 10 menit. Salah satu tujuan pengaruhan dilakukan untuk memberi kesempatan agar seluruh bagian dari ketan mendapat pemanasan yang sama. Pengukusan dilakukan dengan menggunakan alat pemasak (cublukan) dari aluminium (Gambar 12).



Gambar 12. Alat pengukusan dari aluminium

4. Pendinginan

Setelah ketan tersebut masak tahap selanjutnya adalah melakukan pendinginan. Pendinginan dapat dilakukan dalam ruang pendingin. Ketan yang telah dimasak dihamparkan di atas rak-rak yang di atasnya dilapisi dengan plastik dan sebelumnya diperciki air yang suhunya sekitar 27°C dengan maksud untuk memudahkan pengangkatan ketan tersebut pada saat akan dipindahkan (Gambar 13) . Pendinginan dilakukan selama 2 jam dengan tebal hamparan 2 cm, kemudian diberi ragi tape. Ragi tape yang diberikan bisa ragi NKL (Na Kok Liong) bisa pula menggunakan ragi yang dibuat sendiri. Ragi NKL banyak yang dijual di pasaran tetapi umur ragi ini tidak diketahui sehingga akan mempengaruhi brem yang dihasilkan.



Gambar 13. Tempat pendinginan setelah pengukusan.

5. Proses Fermentasi.

Pada pembuatan brem proses fermentasi berlangsung dua tingkat yaitu pada tingkat pertama terjadi pemecahan pati menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa, maltosa, dan berbagai macam α limit dekstrin (oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang mengandung ikatan α -1,6). Fermentasi tingkat pertama ini berlangsung selama 3 - 5 hari. Dahulu wadah yang digunakan sebagai tempat fermentasi beras ketan atau yang digunakan untuk penapean adalah wadah yang terbuat dari tanah liat yang dikenal dengan nama “pane”. Beras ketan yang telah diberi ragi diatasnya ditutup dengan daun pisang. Daun

pisang agar tidak mudah lepas biasanya dilipat kebawah beras ketan tersebut. Penutupan dengan daun pisang bertujuan agar suhunya stabil dan mencegah terjadinya aerasi yang berlebihan sehingga tidak terjadinya penurunan suhu. Aktivitas enzim α dan β amilase membutuhkan suhu tertentu (untuk α amilase suhu optimum 65° - 70° C, untuk β amilase suhu optimum 60° - 65° C). Enzim –enzim pemecah rantai cabang juga memerlukan suhu tertentu misalnya enzim pullulanase membutuhkan suhu 50° - 55° C. Sekarang beberapa perusahaan pengolahan brem bali tidak menggunakan “*pane*” lagi karena mudah pecah tetapi menggunakan cublukan yang terbuat dari logam yang tahan karat umumnya digunakan cublukan yang terbuat dari aluminium (Gambar 14). Beras ketan yang diperam dalam wadah tahan karat tersebut di tempatkan dalam suatu ruangan.



Gambar 14. Pemeraman beras ketan di lakukan dalam cublukan yang terbuat dari aluminium

Pada waktu pemeraman terbentuk cairan tape dan cairan ini terasa manis merupakan brem muda. Di dalam tape mengandung cairan dan untuk mengeluarkannya dilakukan pengepresan.

6. Pengepresan

Perusahaan pembuatan brem yang masih konvensional, proses pemerasan cairan tape dilakukan dengan membungkus tape dengan kain putih (kain kafan) yang bersih. Kain kafan

yang digunakan terlebih dahulu disterilkan dengan merebusnya dalam air mendidih selama kurang lebih 1 jam. Secara konvensional pemerasan dilakukan dengan menekannya dengan tangan. Dengan cara ini rendemen yang diperoleh akan lebih rendah jika dibandingkan dengan menggunakan alat pengepres hidrolis. Sekarang pada perusahaan brem yang ada di Bali telah menggunakan alat pengepres yang lebih maju. Diantaranya ada yang membungkus tape dengan kain putih atau kain kafan lalu diletakkan pada alat pengepres yang selanjutnya dilakukan pengepresan dengan memutar skrup pada alat sampai cairan tape keluar. Tetapi banyak perusahaan menggunakan alat pengepres yang terbuat dari kayu tapi skrup pemutarnya terbuat dari logam (Gambar15). Cairan tape ini ditampung dalam wadah (waskom plastik) atau ada pula yang menggunakan wadah yang terbuat dari aluminium atau wadah stainless steel Cairan tape ini merupakan brem muda. Brem muda ini yang akan difermentasi lebih lanjut atau diistilahkan dengan proses penuaan. Perusahaan brem Fa Udiyana di Sanur Denpasar menggunakan alat pengepres manual dengan kapasitas 200 – 210 liter cairan per hari yang dihasilkan dari 200 kg bahan.



Gambar 15 Alat pengepres terbuat dari kayu dengan penampung brem muda dari aluminium (Fa.Udiyana).

7. Pemberian Khamir (ragi)

Setelah brem muda disterilkan brem ini diberikan khamir. Terlebih dahulu khamir dibiakkan dengan menggunakan media dari muda dalam jumlah yang terbatas. Khamir dimasukkan ke dalam brem tersebut sebanyak 3 %. Dalam waktu 3-4 hari khamir akan

berkembang dengan pesat. Khamir yang sedang berkembang dengan aktif merupakan starter digunakan 10 -15 %. dimasukkan ke brem muda yang akan difermentasi

8. Pasteurisasi

Cairan tape hasil pengepresan dan cairan tape tanpa pengepresan dicampur dan dilakukan pasteurisasi pada suhu 70^0 - 80^0 C selama 15 menit. Pasteurisasi dilakukan dengan maksud membunuh mikroba patogen atau mikroba lain yang dapat merusak brem muda (cairan tape) hasil perasan. Disamping bertujuan untuk membunuh mikroba perusak juga dengan pasteurisasi proses klarifikasi dapat berlangsung lebih cepat karena protein mengalami koagulasi yang akan segera mengendap. Tetapi dengan pasteurisasi senyawa volatil pembentuk citarasa dan aroma dapat mengalami kerusakan dan dapat juga mikroba pembentuk alkohol dapat mengalami kematian. Pembentukan alkohol dapat pula dilakukan dengan penambahan khamir (*yeast*) yaitu *Saccharomyces cerevisiae*

Pasteurisasi dilakukan dengan pemanasan brem muda dalam wadah yang terbuat dari logam stainless steel. Di Fa Udiyana, proses pasteurisasi dilakukan di ruang terbuka (Gambar 16).



Gambar 16. Tempat dan wadah untuk pasteurisasi di Fa. Udiyana Denpasar

9. Aging (penuaan)

Pada proses aging, cairan tape atau brem muda diperam. Proses ini merupakan fermentasi tingkat kedua. Pada umumnya pembuatan brem bali secara tradisional, cairan tape tidak mengalami pasteurisasi dan tidak diberikan penambahan khamir atau bahan tambahan lainnya tapi langsung diperam (difermentasi). Tapi pembuatan brem bali diperusahaan misalnya di Fa Udiyana setelah dilakukan pasteurisasi diberi khamir *Saccharomyces cerevisiae* atau diberikan khamir dalam bentuk ragi roti seperti fermifan.. Cairan tape ini langsung disimpan dalam wadah yang terbuat dari gelas atau fibre glass (Gambar 17). Dahulu pemeraman dilakukan dalam wadah berupa gentong atau periuk yang terbuat dari tanah liat.

Botol atau wadah lain yang digunakan ditutup rapat sehingga tidak ada udara masuk ke dalam wadah yang berisi brem muda. Jadi proses fermentasi berlangsung secara anaerob. Fermentasi brem muda berlangsung sekitar 6 bulan.

Dalam proses fermentasi ini terjadi perubahan-perubahan yang disebabkan karena mikroba membentuk enzim-enzim yang mampu menghidrolisis senyawa pada bahan yang difermentasikan. Komponen citarasa yang terbentuk adalah senyawa alkohol, aroma, senyawa karbonil dan senyawa-senyawa lainnya. Menurut Suliantari dan Rahayu (1990) jenis senyawa pembentuk citarasa dan aroma terlihat pada Tabel 5.



Gambar 17. Tempat aging (pemeraman brem muda) yang terbuat dari fibre glass.

Tabel 5. Komponen citarasa dan aroma pada brem (Suliantari dan Rahayu,1990)

No	Senyawa	Jenis
1.	Senyawa alkohol	Metanol; etanol; n propanol 1; 2 metilpropanol 1; n butanol 1; 2 metil butanol 1; 3 metil nutanol 1; n pentanol 1; n heksanol 1; nonanol
2.	Senyawa aroma	Etil formiat; metil asetat; propil asetat; etil asetat; propil asetat; isobutil asetat; etil laktat; etil 2 metilpropionat; etil butirat; isoamil ester; di etil suksinat; etil pentanoat; etil heksanoat; etil oktanoat; metil benzoat; etil fenil asetat.
3	Senyawa karbonil	Asetaldehida; 2 metilpropanol; 3 metilpropanol; heptanol; bensaldehida; furfural; derivat furfural; 2 asetilfuran; fenil asetaldehyde;
4		Di etil asetal; etil isoamil asetaldehyde.
5	Senyawa lain	Etilbenzana,propilbenzana, butirolakton,.

10. Penanganan akhir

a. Pembotolan

Setelah dilakukan pemeraman selama 6 bulan brem cair yang diperoleh sudah dapat dibotolkan dengan menggunakan botol yang telah disterilkan. Brem yang telah disimpan selama 6 bulan sudah mulai bening. Sterilisasi dapat dilakukan dengan terlebih dahulu botol-botol tersebut direndam dalam larutan kaporit selama satu malam (24 jam). Botol-botol ini kemudian dibilas dengan air bersih kemudian dilakukan perebusan selama 30 menit setelah air mendidih. Air yang terdapat di dalam botol yang telah direbus harus dihilangkan dengan pembilasan dengan alkohol 70% atau dikeringkan dalam otoklaf dan sebelum digunakan ditutup agar tidak terjadi kontaminasi oleh mikroba. Secara tradisional brem yang telah jadi dimasukkan ke dalam botol dengan menggunakan corong plastik. Apabila brem yang disimpan dalam waktu 6 bulan tidak dilakukan klarifikasi dengan baik maka pada penuangan ke dalam botol, brem akan menjadi keruh. Sebaiknya dalam waktu aging (penuaan) dilakukan penjernihan dengan menggunakan sistem rak artinya brem yang jernih dipindahkan ke dalam wadah aging yang lain. Demikian dilakukan seterusnya sehingga pada wadah terakhir brem tersebut sudah bersih.

Bentuk dan model botol di Fa. Udiyana Sanur Denpasar tergantung dari perusahaan produsen (Gambar 18). Botol yang digunakan untuk penyimpanan brem digunakan botol berwarna agar terjadi penyerapan sinar terutama sinar ultra violet untuk mencegah kerusakan brem tersebut.

b. Pelabelan

Brem yang telah dimasukan ke dalam botol ditutup dan diberi label sesuai dengan perusahaan produsen brem tersebut. Sebelum dilakukan pelabelan botol –botol yang akan diberi label terlebih dahulu dibersihkan. Pembersihan dapat dilakukan dengan menggunakan kain (lap) yang telah dibasahkan. Proses pelabelan di perusahaan Fa Udiyana, Sanur Denpasar dapat dilihat pada Gambar 18. Botol brem yang telah diberi label lalu dimasukkan ke dalam kemasan yang terbuat dari daun lontar (Gambar 19).



Gambar 18 Pelabelan



Gambar 19. Brem yang telah dikemas.

V. BEBERAPA HASIL PENELITIAN BREM BALI

Brem bali merupakan brem cair disamping terasa asam juga terasa manis dengan kadar alkohol rendah. Rasa manis dan kadar alkohol yang rendah kurang disenangi oleh tamu-tamu mancanegara. Berbeda dengan sake maupun wine yang mempunyai kadar alkohol diatas 12 % dan tidak terasa manis. Kalau ingin agar brem yang dihasilkan dapat memasuki pasaran internasional dan bersaing dengan wine maupun sake, rasa manisnya perlu dikurangi dan kadar alkoholnya ditingkatkan. Tamu dan konsumen lokal memang menyenangi rasa manis dan kadar alkohol rendah tetapi konsumen lokal sangat terbatas karena ajaran beberapa agama tidak memperbolehkan minum minuman beralkohol.

Dibawah ini akan disampaikan beberapa hasil penelitian tentang brem bali..

1. Perbaikan Mutu Brem Bali Produksi Fa Udiyana.

Percobaan ini dilakukan diperusahan minuman brem bali yang berlokasi di Sanur kota Madya Denpasar Bali. Perusahan ini memproduksi brem bali dengan cara konvensional dengan menggunakan peralatan yang lebih modern dari pada yang umum digunakan oleh pembuat brem secara tradisional di Bali. Pada percobaan ini dilakukan **pasteurisasi, sanitasi, dan penjernihan dengan menggunakan gelatin.**

Pasteurisasi.

Tape beras ketan yang telah difermentasi diperas sehingga diperoleh cairan tape yang disebut brem muda. Brem muda dipasteurisasi dengan suhu pasteurisasi 75°C diperlakukan dalam waktu 4 level yaitu tanpa pasteurisasi, pasteurisasi pada suhu 75°C dengan waktu selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit dengan dua kali ulangan. Aging (penuaan) dilakukan selama 3 bulan. Sebelum diaging brem muda ini diberi ragi roti sebanyak 1 g/liter sebagai sumber inokulum yeast. Hasil percobaan menunjukkan bahwa tanpa dilakukan pasteurisasi pada brem muda pH nya 3,5 dan kadar alkoholnya 5,3 %. Pasteurisasi selama 10 dan 15 menit pada suhu 75°C pH nya berturut turut 4,1 dan 4,2 dengan kadar alkoholnya berturut turut 6,8 dan 7,4 %. Brem yang dihasilkan dengan melakukan pasteurisasi tampak lebih jernih dari pada tanpa dilakukan pasteurisasi. Jadi dengan melakukan pasteurisasi cenderung terjadinya peningkatan pH dan peningkatan kadar alkohol.

Sanitasi

Dalam sanitasi ini terutama dilakukan pembersihan pada tangki tempat pemeraman brem muda. Pembersihan dilakukan dengan menggunakan kalsium hipoklorit ($\text{CaO}(\text{Cl})_2$). Kalsium hipoklorit yaitu 6 ppm, 100 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm. Lamanya larutan hipoklorit dalam tangki pemeraman selama 1 jam. Kemudian dibilas dengan air panas yang telah dididihkan sampai kalsium hipoklorit tersebut hilang. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa terjadi kecenderungan peningkatan pH tapi tidak berbeda nyata diantara semua perlakuan tersebut. Pada perlakuan sanitasi dengan pemberian 300 ppm kalsium hipoklorit pH nya 4,14 sedangkan tanpa dilakukan sanitasi pH nya 3,54. Kadar alkohol tanpa dilakukan sanitasi 7,21 % sedangkan dengan perlakuan sanitasi 400 ppm 7,57 %.

Kadar gulanya terjadi penurunan tetapi terdapat perbedaan nyata antar perlakuan. Kadar gula terendah terdapat pada perlakuan sanitasi dengan kalsium hipoklorit 400 ppm sebesar 37,36 %, sedangkan tanpa dilakukan sanitasi kadar gulanya 42,81 %.

Penjernihan

Penjernihan dilakukan karena brem bali yang dihasilkan masih nampak keruh. Brem keruh kurang menarik bagi konsumen sehingga dilakukan penjernihan. Sampai saat ini untuk memperoleh brem jernih memerlukan waktu pemeraman yang cukup lama yaitu lebih dari 6 bulan. Pada percobaan ini dilakukan pemeraman selama 3 bulan. Penjernihan dilakukan dengan pemberian gelatin yang diberikan 2 minggu setelah pemeraman brem muda tersebut. Perlakuan dilakukan adalah tanpa diberi gelatin, diberi gelatin 2 g/l, 4g/l, 6 g/l dan 8g/l. Ulangan dilakuakn dua kali. Pada pemberian gelatin sebanyak 8g/l memberikan brem yang paling jernih dengan kadar alkohol 8,27 %.dan pHnya 3,82.

Dari ketiga percobaan tersebut ternyata kadar alkoholnya masih berkisar 5 sampai 8 % dengan kisaran pH 3,4 sampai 4 dan kadar gulanya antara 30 sampai 45 %. Untuk menaikkan kadar akohol mengurangi rasa asam maupun menurunkan kadar gula dilakukan percobaan dengan perlakuan- perlakuan yang lain. Tetapi perlu diingat bahwa pada pembuatan brem bahan baku yang digunakan adalah ketan yang mengandung amilopektin tinggi sedangkan pada beras kandungan amilopektinnya rendah.

2. Pengolahan brem bali dengan peralatan tradisional guna mencegah terdapatnya logam berat

Prinsip pembuatan brem dalam penelitian ini secara umum seperti dikemukakan dalam point IV di atas.

Pada penelitian ini digunakan sampel

- A. Sampel brem produksi Fa Udiyana
- B. Sampel brem yang dibuat dengan menggunakan peralatan tradisional (periuk dibuat dari tanah liat)
- C. Sampel brem yang dibuat dengan menggunakan peralatan dari logam
- D. Sampel brem yang dibeli di Pasar Pemedilan Kota Denpasar

E. Sampel yang dibeli di Pasar Abiantimbul Denpasar Selatan

Analisis logam dilakukan di Laboratorium Analitik Universitas Udayana. Dari hasil pengujian semua sampel tidak mengandung logam Pb. Logam-logam lain : Cu, Zn, dan Al masih terdapat dalam jumlah yang sangat kecil, jauh dibawah standar air minum yang ditetapkan oleh WHO (standar air minum Cu sebesar 1 ppm, Zn sebesar 5 ppm dan Al sebesar 0,25 ppm).

2. Perbaikan Mutu Brem Bali dengan Pemberian *Saccharomyces cerevisiae* dan Beberapa Macam Merk Ragi Roti pada Cairan Tape Ketan (Brem Muda)

Dalam penelitian ini sampel yang dibuat di laboratorium dengan menggunakan metoda Rancangan Acak Lengkap

B0 = cairan tape tidak diberi stater ragi

B1 = cairan tape diberi stater ragi roti fermifan 10 %

B2 = cairan tape diberi ragi roti bruggemen 10 %

B3 = cairan tape diberi stater ragi roti Sav Levure 10 %

B4 = cairan tape diberi stater ragi roti Maurivan 10 %

B5 = cairan tape diberi stater ragi roti Gist 10 %

B6 = cairan tape diberi stater *Saccharomyces cerevisiae* 10 %

Dalam penelitian tersebut dilakukan 2 kali ulangan.

Dari penelitian tersebut disimpulkan sebagai berikut :

- a. Pemberian starter *Saccharomyces cerevisiae* serta ragi roti *Fermifan*, *Brugemen*, *Sav Levure*, *Maurifan* atau *Gist* masing-masing sebanyak 10% pada brem muda (cairan tape) mampu meningkatkan kadar etanol brem yang dihasilkan serta menurunkan kadar total gula dan reduksi namun tidak mampu menurunkan kadar asam asetat.
- b. Perlakuan starter ragi roti *Maurifan* sebanyak 10 % menghasilkan brem bali dengan kadar etanol tertinggi yakni sebesar 10,53 persen (v/v), secara statistik nilai ini berbeda nyata dengan kontrol.
- c. Perlakuan starter ragi roti *Maurifan* sebanyak 10 persen menghasilkan brem bali dengan kadar total gula terendah yakni sebesar 4,51 persen (b/v).
- d. Kadar abu yang dihasilkan dalam penelitian tersebut berkisar antara 0,9 -0,15 persen (b/b).

- e. Tidak diketemukan adanya metanol serta logam Pb dan Al pada brem bali dalam penelitian tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Araullo.E.V., D.B. De Padua, M. Graham. 1976. Postharvest Technology. International Development Research Centre. Ottawa.
- Amerine, M.A. dan V.L. Singleton. 1977. Wine on Intoduction.Australia & New Zealand Book Company, Sidney
- Anonimus. 1992. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I. Bhratara Karya Aksara, Jakarta.
- Anonimus. 1995. Standar Anggur Brem bali. Standar Nasional Indonesia (SNI), Dewan Standarisasi Nasional (DSN). Departemen Undustri Indonesia, Jakarta.
- Birch,G.G., N. Blakebrough and K.J. Parker. 1981. Enzym and Food Processing. Applied Science Publisher Ltd. London.
- Frazier, W.C. 1967. Food Microbiology.Tata Mc Graw Hill Publishing Company Ltd, Bombay - New Delhi
- Rahayu,E.S. dan K.R. Kuswanto.1987 Teknologi Pengolahan Minuman beralkohol Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi.Universitas Gadjah Mada ,Yogjakarta
- Reed, G. 1975. Enzymes in Food Processing. Academic Press, New York
- Rump,H.H. and H Kriat. 1988. Laboratory Manual for the Examination of Water, Waste Water and Soil. V.C.H. Velagsgesellscaftmbh D 6940 Winheim Germany.
- Sudjatha,W., A.A.G.N. Anom Jambe, dan I.D.G.Mayun Permana. 1993.Pengaruh Pemberiam Ragi Tape Terhadap Mutu Biji Coklat Kering Siap Ekspor Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perguruan Tinggi Dep. Pendidikan Dan Kebudayaan, Buku VII Hal.232 - 243.
- Sudjatha, W., K. Sulandra, G.P. Yamasuta. 1997. . Perbaikan Mutu Brem Bali Produksi Fa. Udiyana. Majalah Ilmiah Gitayana Vol.: 2 No. :2.
- Sudjatha, W., Ni W. Wisaniyasa dan Agus Slamet Duniaji. 2000. Pengolahan Brem bali dengan Peralatan Tradisional Guna Mencegah Terdapatnya Logam Berat

Teknologi Pertanian Universitas Udayana.

- Sudjatha, W., Ni W. Wisaniyasa. 2002. Pengaruh Lama Peragian Tape Ketan Terhadap Konsentrasi Logam dalam Brem Muda. Program Studi Teknologi Pertanian Universitas Udayana.
- Sudjatha, W., Ni W. Wisaniyasa. 2003. Pengaruh lama Waktu Pemeraman Beras Ketan (Penapean) dan Pemberan ragi fermifan pada Brem Muda terhadap Pembentukan Alkohol dan Asam Aetat pada Brem.
- Suja, I W. 1077. Bhuya Kala. Warta Hindu Dharma. 165, 12-15.
- Suliantari dan W. P. Rahayu. 1990. Teknologi Fermentasi Biji-Bijian dan Umbi- Umbian. Pusat Antar Universitas IPB , Bogor.
- Steinkraus, K.H. 1983. Hand Book of Indigeneous Fermented Foods.Marcel Dekker Inc, New York
- White, J. 1954. Yeast Technology. John Willey and Sons Inc, New York
- Wills,R.H.H.,T.H. Lee,D. Graham, W.B. Mc Glasson and Hall.1981. Postharvest an introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables. New South Wales University Press Limited, Australia.
- Winarno, F.G. 1983. Enzim Pangan. Penerbit PT Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G. 1984. Kimia Pangan dan Gizi. Penerbit PT Gramedia, Jakarta.
- Wisaniyasa, N.W. dan W.Sudjatha. 2003. Perbaikan Mutu Brem bali dengan Pemberian *Saccharomyces cerevisiae* dan Beberapa Macam Merk Ragi Roti pada Cairan Tape Ketan (Brem Muda)
- Wurzburg, O.B. 1968. Starch in Food Idustry. *In* Handbook of Food Additives. T.E.Furia (ed). The Chemical Rubber CO. Ohio. p 377-411.
- Yanagida, Fujiharu.,Yasuo Takai,Seuchi Homma,Shigera Kato, dan Yashiko Ando.1987. Traditional Foods And Their Processing in Asia.NODAI Research Institute,Tokyo University of Agriculture..John Press Co. Ltd., Tokyo.

4. VINEGAR

I. PENDAHULUAN

Vinegar di Indonesia dikenal dengan nama cuka. Kata vinegar berasal dari kata **sin-aegre** yang berarti wine asam. Hal ini dapat ditunjukkan apabila wine dibiarkan beberapa lama dalam keadaan terbuka akan terasa asam. Asam cuka disebut *acetum* (bahasa Latin) atau *acetic acid* (bahasa Inggris). Pada produk vinegar mengandung asam asetat sebesar 4- 5% (4-5 g asam asetat per 100 g vinegar). Vinegar adalah penyedap makanan yang dibuat dari bahan yang mengandung gula atau pati dengan melalui proses fermentasi alkohol yang diikuti oleh proses fermentasi asam asetat.

Bahan baku yang umum digunakan untuk pembuatan vinegar adalah

1. Berasal dari sari buah misalnya sari buah apel, buah jeruk, buah pear dan lain-lainnya.
2. Sayur-sayuran yang berpati misalnya kentang, ketela rambat. Patinya harus terlebih dahulu dihidrolisis menjadi gula-gula.
3. Dari sereal yang dikecambahkan misalnya barley, wheat, jagung dan lain-lainnya.
4. Dari gula-gula seperti sirup, molase, madu, dan lain-lainnya.
5. Dari minuman yang beralkohol misalnya dari bir, wine dan sebagainya.

Vinegar umumnya berasal dari bahan yang memberikan gambaran pada cuka yang dibuat, jadi berdasarkan bahan baku tersebut terdapat beberapa macam vinegar

1. **Cider vinegar** yang dibuat dari sari buah (buah apel)
2. **Malt vinegar** yang dibuat dari biji-bijian yang dikecambahkan kemudian dilakukan fermentasi.
3. **Wine vinegar** dibuat dari buah anggur (wine) sangat populer di Perancis, sedangkan alegar yang dibuat dari bir ale dikenal di Inggris.
4. **Spirit (distilled vinegar, grain vinegar)** merupakan vinegar dari alkohol yang telah diencerkan. Alkohol yang digunakan adalah alkohol hasil destilasi dan dalam 100 cc (suhu 20 °C) tidak boleh mengandung lebih dari 4 gram asam asetat.
5. **Sugar vinegar** hasil fermentasi asam asetat dari sirup, molase.
6. **Glukosa vinegar** hasil fermentasi dari glukosa dan dekstrosa.

Seperti telah dikemukakan diatas bahwa vinegar mengandung asam asetat 4-5 % atau 4-5 gram per 100 ml. Di Indonesia dikenal istilah cuka makan yang diperdagangkan dalam botol plastik

berisi asam cuka sebanyak 100 cc dengan konsentrasi 25 % dan pada labelnya berisi peringatan bahwa dalam penggunaannya diharuskan diencerkan dengan air sehingga konsentrasinya menjadi 4 %. Asam asetat yang diencerkan ini di Indonesia disebut cuka makan berbeda dengan vinegar yang merupakan cuka makan yang dihasilkan melalui proses fermentasi.

Cuka makan yang dibuat dengan melarutkan asam asetat ke dalam air atau melalui cara-cara lain tanpa melalui proses fermentasi tidak mempunyai citarasa spesifik. Sedangkan cuka makan yang diperoleh dengan cara fermentasi mempunyai citarasa spesifik, tidak berbahaya dan konsentrasinya sekitar 4 -5%. Di negara maju umumnya menggunakan vinegar (cuka makan) dengan konsentrasi sekitar 5 % langsung digunakan dalam makanan atau produk lain seperti pada saus tomat, cabai dan lainnya dan tidak berbahaya. Dapat dikatakan bahwa istilah vinegar dengan cuka makan mengandung pengertian yang berbeda karena cuka makan di Indonesia umumnya tidak melalui proses fermentasi sedangkan sebaliknya vinegar melalui proses fermentasi. Dalam tulisan akan digunakan istilah vinegar.

Vinegar terutama digunakan sebagai penyedap masakan. Hampir sebagian besar masakan diberi vinegar sehingga kebutuhan terhadap vinegar sangat besar. Vinegar digunakan untuk pembuatan acar, pada saus tomat, cabai, ikan dalam kalemg dan sebagainya.

Bahan –Bahan untuk Pembuatan Vinegar

1. Sari Buah Segar

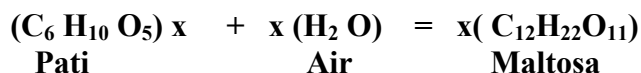
Sari buah segar dapat diperoleh dari berbagai macam buah segar seperti buah apel, jeruk, anggur dan lain-lainnya. Untuk menghancurkan buah apel dapat digunakan alat pemecah buah. Bubur buah yang mengandung sari buah dimasukkan ke dalam tangki dan dibiarkan mengalami fermentasi 2-3 hari sebelum diperas. Untuk setiap 1 ton bubur buah apel dapat ditambahkan 10 sampai 20 gallon cider yang telah aktif untuk menstimulasi terjadinya fermentasi dan mencegah terjadinya asetifikasi. Jika pada bubur buah terjadi asetifikasi, asam-asam yang terbentuk akan menghentikan proses fermentasi alkohol sehingga akan diperoleh vinegar yang berkualitas rendah.

Buah anggur putih yang dihancurkan dan diperas diperoleh sari buah putih dan akan diperoleh vinegar putih jernih. Buah jeruk yang diperas sari buah yang diperoleh masih mengandung minyak yang berasal dari kulit jeruk perlu dilakukan sentrifuse untuk memisahkan

minyaknya dan sari buahnya digunakan untuk pembuatan vinegar. Sari buah-buahan lainnya seperti sari buah pear, peach, pisang dan lain-lainnya dapat digunakan untuk pembuatan vinegar.

2. Umbi-Umbian sebagai Bahan Vinegar.

Umbi-umbian yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan vinegar terutama yang mengandung pati. Kentang yang digunakan sebagai bahan pembuatan vinegar harus dihidrolisis terlebih dahulu dengan enzim diastase, atau dengan menggunakan asam mineral lemah sebelum dilakukan fermentasi. Umbi yang telah dihancurkan dipanaskan dalam *retort* (autoklaf) atau dilakukan pengukusan sampai umbi tersebut mengalami gelatinisasi. Kemudian suhunya diturunkan sampai pada suhu 60°C jika hidrolisis akan dilakukan dengan menggunakan enzim yang diperoleh dari malt. Dua sampai lima persen tepung malt yang ditambahkan pada bahan yang telah digelatinisasi dan diaduk sampai pati diubah menjadi maltosa dan beberapa dekstrin juga terbentuk. Untuk jelasnya terlihat pada reaksi berikut :



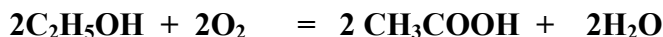
Proses ini dikenal dengan nama ‘**mashing**’ (masakan). Berlangsungnya proses hidrolisis ini dapat diketahui dengan melakukan pengetesan dengan menggunakan larutan iodium. Masakan dalam jumlah kecil ditetaskan dengan larutan iodium. Apabila masih dalam bentuk pati larutan iodium berwarna biru.

Ketela rambat umumnya mengandung karbohidrat 25 sampai 30 % sebagian besar dalam bentuk pati. Vinegar yang bagus dapat dihasilkan dari ketela rambat tanpa proses destilasi. Pati yang telah digelatinisasi dengan proses fermentasi akan terbentuk gula dalam hal ini terbentuk dektrosa. Proses ini dapat dilakukan dalam otoklaf dan digunakan asam mineral lemah seperti asam HCl kemudian dinetralkan dengan menggunakan natrium karbonat, kalsium karbonat atau natrium hidroksida setelah dilakukan hidrolisis.

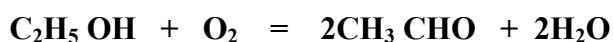
II. FERMENTASI

Pembentukan alkohol tergantung dari berbagai faktor antara lain gula-gula yang difermentasi dan khamir yang melakukan proses tersebut. Di perusahaan pembuatan vinegar

umumnya dilakukan dengan memfermentasikan gula-gula tersebut. Fermentasi berlangsung dua tingkat yaitu tingkat pertama terjadi fermentasi gula-gula menjadi alkohol dan karbondioksida yang dilakukan oleh khamir. Pada tingkat kedua alkohol yang terbentuk dioksidasi menjadi asam asetat yang dilakukan oleh bakteri asam asetat. Secara singkat reaksi terbentuknya alkohol dan asam asetat dapat dirumuskan sebagai berikut:

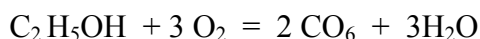
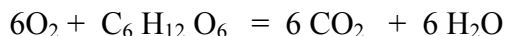


Tingkat reaksi antara (intermediate) pada proses asetifikasi adalah terbentuknya asetaldehida.



Selain senyawa intermediate (asetaldehida) dan sejumlah produk seperti gliserol, asam asetat juga terbentuk senyawa-senyawa lain dalam jumlah kecil seperti asam suksinat, amil alkohol ester-ester, asetoin dan lain-lainnya. Asam asetat terbentuk oleh bakteri asam asetat dan terbentuknya asam asetat dengan konsentrasi 0,5% sudah dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) sehingga mengakibatkan fermentasi berhenti. Sifat penghambatan asam asetat lebih tinggi terhadap khamir dan bakteri dari pada terhadap kapang. Bakteri yang dihambat antara lain *Bacillus* sp, *Clostridium* sp, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* dan lain-lainnya (Doyle *et al.*, 2001)

Pada pembuatan vinegar sering terdapat khamir liar adalah khamir yang tidak dikehendaki antara lain khamir *Hansenia aepulata*. Khamir ini terdapat pada fermentasi yang berlangsung secara spontan dan berkembang dengan cepat dan menggunakan zat makanan yang diperlukan oleh khamir yang dikehendaki (*Saccharomyces cerevisiae*). Khamir lain adalah *Hansenula* dan *Debarromyces* merupakan khamir pembentuk spora bersifat aerobik, bersifat mengoksidasi alkohol, gula-gula, asam-asam organik menjadi karbondioksida. Mikroba ini tumbuh pada sari buah yang difermentasi dan merusak alkohol dan mengubah cairan yang bersifat asam menjadi cairan yang bersifat basa. Reaksinya dapat dikemukakan sebagai berikut :



Torulla merupakan khamir liar tumbuh dengan cepat pada sari buah dan mempunyai daya pembentuk alkohol rendah. Mycoderma merupakan mikroba yang tidak dikehendaki karena dapat menyebabkan kerusakan vinegar dan dikenal dengan nama “**wine flower**”.

Saccharomyces ellipsoideus, *Saccharomyces malei*, dan *Saccharomyces cerevisiae* berturut-turut terdapat pada kultur buah anggur, apel, dan sereal. Khamir ini mempunyai sifat mengubah gula-gula menjadi alkohol dengan efisien dan cairan yang dihasilkan mempunyai citarasa yang bagus dan penampakkannya yang baik.

Menurut buku Bergey's manual of Determinative Bacteriology edisi ke 6 terdapat 19 jenis bakteri *Acetobacter* dan 6 jenis *Bacterium* sebagai bakteri asam asetat. Dari jenis bakteri *Acetobacter* tersebut terdapat 7 jenis yang dapat mengoksidasi asam asetat menjadi karbondioksida dan air sedangkan yang lain tidak.

Pada pembuatan cuka dengan "**metode cepat**" diketahui mikroba yang aktif adalah *Bacterium scheutzenbachii* dan *B. curvum*. Sedangkan *Acetobacter aceti*, *A. rancens*, *A. xylinum* dapat diisolasi dari starter vinegar aktif pada "**methoda lambat**" (**slow method**). *Bacterium orleanense* dapat berperan pada methoda ini. Dalam praktek tidak digunakan biakan murni bakteri asam asetat karena dianggap kurang efisien.

III. PENGHANCURAN DAN PENGEPRESAN.

Buah yang akan dijadikan vinegar terlebih dahulu dihancurkan kemudian dipres untuk mengeluarkan sari buahnya. Pada bubur buah tertentu misalnya bubur buah apricot, pear, prune dan yang lainnya diberi enzim pektat agar terjadi hidrolisis zat pektat pada waktu proses fermentasi.

Pada pabrik pembuatan vinegar, kadar alkohol yang terbentuk sering rendah karena fermentasi berlangsung tidak sempurna. Untuk menghindari hal ini perlu diperlakukan dengan pemberian SO_2 atau garam-garamnya pada bubur buah sebelum berlangsung proses fermentasi. Pada sari buah apel yang difermentasi terbentuk alkohol sebanyak 6 % akan tetapi apabila diperlakukan dengan SO_2 kadar alkohol yang terbentuk meningkat menjadi 7%, bahkan ada yang lebih tinggi. Pemberian 125 ppm SO_2 ekuivalen dengan jumlah bisulfit atau metabisulfit sudah cukup. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan kapang, khamir liar, bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat. Tetapi sebaliknya mempercepat pertumbuhan, perkembangan biakan dan aktivitas khamir *Saccharomyces ellipsoides*. Apabila yang digunakan sulfite atau

bisulfit terlebih dahulu dilarutkan dalam air sehingga akan diperoleh larutan dalam ukuran konsentrasi. Jika diberi SO_2 atau metabisulfit pada sari buah atau pada bubur buah terlebih dahulu dibiarkan sekitar dua jam baru ditambahkan starter khamir. Dalam waktu dua jam ini akan dapat menyebabkan kematian khamir liar, kapang dan bakteri asam laktat maupun bakteri asam asetat.

Aerasi

Pertumbuhan khamir dapat ditingkatkan dengan aerasi dan agitasi pada permukaan cairan. Dengan aerasi dan agitasi akan terjadi pencampuran yang baik antara khamir dengan cairan dan CO_2 yang terdapat akan hilang karena CO_2 menghambat pertumbuhan. Umumnya di pabrik pembuatan vinegar aerasi yang cukup dapat diperoleh penghancuran, pengepresan dan pemompaan sari buah sebelum proses fermentasi berlangsung.

Pengaturan suhu

Pada waktu proses fermentasi berlangsung terjadi perubahan gula menjadi alkohol dan terbentuk energi. Pada waktu fermentasi gula menjadi alkohol untuk 1 gram gula akan terbebaskan 120 kalori. Satu gram gula per 100 cc sari buah secara teoritis akan menaikkan suhu $1,2^\circ\text{C}$. Pada suhu $35-40,5^\circ\text{C}$ khamir akan berhenti melakukan fermentasi. Sari buah anggur umumnya mengandung gula 22 % dalam proses fermentasi akan menaikkan suhu sekitar $8,6^\circ\text{C}$ jika yang terbentuk tidak hilang. Pada proses fermentasi kenaikan suhu harus diturunkan dengan melakukan pendinginan. Pendinginan dapat dilakukan dengan memasukkan pipa berlingkar ke dalam substrat yang difermentasi dan ke dalam pipa dialirkan air dingin. Sangat baik sekali apabila suhu fermentasi dapat dipertahankan pada suhu antara $75 - 85^\circ\text{F}$ ($23,9 - 29,4^\circ\text{C}$). Pada beberapa macam khamir suhu optimum dalam proses fermentasi adalah $26,7^\circ\text{C}$.

Sanitasi

Wadah yang digunakan untuk tempat fermentasi harus benar-benar bersih dari kotoran maupun organisme yang tidak dikehendaki. Sanitasi dapat dilakukan dengan larutan belerang sehingga dapat merusak spora-spora kapang maupun mikroba lainnya yang tidak dikehendaki. Alat-alat lain yang dapat sebagai sumber kontaminasi harus dilakukan sanitasi.

Pada tingkat pertama terjadinya perubahan gula menjadi alkohol oleh khamir berlangsung dengan cepat dan biasanya berlangsung selama 3-6 hari. Sedangkan pada tingkat

fermentasi berlangsung dengan lambat dan umumnya berlangsung 2-3 minggu. Pada fermentasi tingkat kedua mudah terkontaminasi oleh bakteri asam asetat.

Bakteri Asam Asetat

Bakteri asam asetat termasuk genus *Acetobacter* mampu memecahkan etanol menjadi asam asetat. Beberapa jenis bakteri yang termasuk genus *Acetobacter* adalah *Acetobacter aceti*, *A. xylinum*, *A. kutzingianum*, *A. pasteurianum* dan lain-lainnya. Jenis *A. schutzenbachii* dan *A. curvum* selnya berbentuk lonjong.

Pengendapan

Pada proses fermentasi sekunder khamir dan pulp buah akan mengendap dengan cepat, membentuk sendimen yang kompak pada wadah fermentasi. Fermentasi dalam keadaan normal kadar gula dalam sari buah menurun sampai dibawah 0,5 % dalam waktu fermentasi 3-4 minggu. Pada akhir minggu keempat jika kadar gulanya lebih tinggi dari 0,5 % berarti fermentasi berlangsung tidak sempurna. Hal ini disebabkan suhu terlalu tinggi atau terlalu rendah sehingga fermentasi yang dilakukan oleh bakteri dan menghambat fermentasi yang dilakukan oleh khamir atau dapat pula terjadi kadar gula terlalu tinggi pada sari buah sebelum fermentasi berlangsung. Beberapa macam khamir dapat melakukan fermentasi dengan sempurna pada sari buah yang mempunyai kadar gula lebih dari 30 ⁰balling. Setelah fermentasi berlangsung dengan sempurna dan khamir telah mengendap, cairannya dipisahkan dari endapan khamir sesempurna mungkin, karena endapan dapat mengalami dekomposisi membentuk citarasa yang tidak diinginkan atau akan dapat berkembang bakteri asam laktat bersamaan dengan terjadinya fermentasi asam asetat. Proses pemisahan dengan cara pengendapan disebut dengan istilah “**racking**”. Endapan tersebut banyak mengandung khamir sedangkan cairannya digunakan untuk pembuatan vinegar.

Penyimpanan Sari Buah yang telah Difermentasi. Pada beberapa pabrik pembuat vinegar sari buah yang telah difermentasi disimpan dalam tangki yang terbuka. Cara ini kurang baik karena dapat ditumbuhi oleh mikroba yang disebut *Mycoderma* atau “**wine flower**” menyebabkan berkurangnya kadar alkohol sehingga menghasilkan vinegar berkualitas rendah. Jika cairan ini disimpan beberapa bulan salah satu dari dua cara ini dapat digunakan yaitu sari buah yang telah terfermentasi disimpan dalam wadah yang tertutup untuk mencegah

pertumbuhan Mycoderma atau dapat dilakukan dengan penambahan vinegar ke dalam cairan tersebut untuk peningkatan keasamannya yaitu sekurang-kurangnya dengan konsentrasi asam asetat 1 %. Tetapi pada beberapa perusahaan pembuatan vinegar menyatakan bahwa konsentrasi asam asetat 1 % tidak dapat mencegah pertumbuhan Mycoderma seharusnya paling sedikit kadar asam asetatnya 2 %. Hasil fermentasi sari buah diharapkan kadar alkoholnya jangan terlalu tinggi karena kadar alkohol yang terlalu tinggi akan mencegah pertumbuhan bakteri asam asetat. Wine yang dibuat dari buah anggur pada umumnya kadar alkoholnya tinggi. Kalau kadar alkoholnya terlalu tinggi untuk pembuatan vinegar harus diencerkan sampai kadar alkoholnya 10 %, tetapi sari buah-buahan lain yang difermentasi umumnya kadar alkoholnya tidak terlalu tinggi tidak perlu dilakukan pengenceran.

IV. CARA PEMBUATAN VINEGAR

Ada dua cara pembuatan vinegar yaitu “Methoda lambat” (**Slow Method**) dan “Methoda Cepat” (**Quick Method**). Methoda lambat seperti methoda rumah tangga, French method, dan Orleans Method, sedangkan methoda cepat menggunakan generator. Dalam methoda lambat cairan dalam keadaan tidak bergerak (diam) dalam proses asetifikasi sedangkan dalam methoda cepat terjadi pergerakan cairan beralkohol. Pada methoda lambat menggunakan cairan buah atau cairan malt untuk difermentasikan menjadi asam asetat. Cairan buah atau malt mengandung zat makanan untuk aktivitas bakteri sedangkan pada methoda cepat karena alkohol yang difermentasikan maka perlu ditambahkan senyawa anorganik maupun organik untuk pertumbuhan bakteri atau kombinasi dari kedua zat tersebut seperti ammonium fosfat, urea, asparagin, peptone, ekstrak khamir, glukosa, malt, pati, dekstrin, garam-garam dan zat-zat lain.

Methoda Lambat (Slow Method)

Bila cairan buah misalnya cairan buah apel dibiarkan maka akan terjadi fermentasi alkohol secara spontan, biasanya dapat menghasilkan alkohol 11 sampai 13 %. Larutan alkohol dibiarkan untuk mengalami proses fermentasi asam asetat (asetifikasi) yang dilakukan oleh bakteri vinegar secara alami sampai dihasilkan vinegar.

Lapisan tipis (film) bakteri vinegar yang disebut induk vinegar atau mother of vinegar yang terbentuk pada permukaan cairan dan mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat. Akan

tetapi dengan cara ini hasil yang diperoleh bermutu rendah, karena tidak terdapat strain bakteri asam asetat yang produktif atau mungkin terjadi persaingan pertumbuhan khamir dan kapang pada permukaan yang merusak alkohol dan asam-asam. Adanya bakteri yang tidak dikehendaki dapat membentuk citarasa yang jelek. Proses berlangsung dengan lambat dan produk yang dihasilkan bermutu rendah.

Proses Orleans atau French yang dibuat di Eropa lebih disukai dan merupakan proses kontinyu. Cairan yang akan difermentasi dimasukan ke dalam barrel sebanyak tiga perempatnya. Ke dalam barrel tersebut juga dimasukkan bakteri asam asetat aktif untuk mengasamkan wine, cider atau cairan malt sehingga akan menghambat perkembangan mikroba lain yang tidak dikehendaki.

Bakteri asam asetat tumbuh pada lapisan atas cairan dan akan terjadi oksidasi alkohol menjadi asam asetat dalam waktu beberapa minggu sampai beberapa bulan. Pada proses fermentasi ini berlangsung pada suhu $21,1 - 29,4^{\circ}\text{C}$. Setelah terbentuk vinegar sebagian vinegar dikeluarkan untuk dibotolkan dan kemudian dimasukan kembali larutan alkohol sebanyak yang dikeluarkan demikian dilakukan berulang-ulang. Tetapi timbul masalah yaitu banyaknya bakteri yang ikut keluar pada waktu pengeluaran vinegar sehingga dapat menurunkan proses asetifikasi. Secara umum dapat digambarkan diagram alir methoda lambat dan cepat terlihat pada Gambar 1.

Methoda Cepat (Quick Methods)

Dalam methoda cepat ini proses asetifikasi menggunakan larutan alkohol. Methoda cepat ini disebut juga methoda generator dan cara ini saat ini umum digunakan. Bentuk generator adalah merupakan tangki silindris dengan berbagai macam ukuran dan umumnya terbuat dari kayu. Pada bagian dalam terbagi menjadi 3 bagian :

1. Bagian atas tempat untuk memasukkan alkohol.
2. Bagian tengah merupakan bagian paling luas tempat cairan dan pada bagian ini diisi dengan bahan yang dapat memperluas permukaan kontak dengan alkohol yang dimasukan. Untuk memperluas permukaan kontak dapat digunakan tatal kayu (kayu beech) atau potongan-potongan rotan.
3. Pada bagian bawah tempat mengumpulkan vinegar.

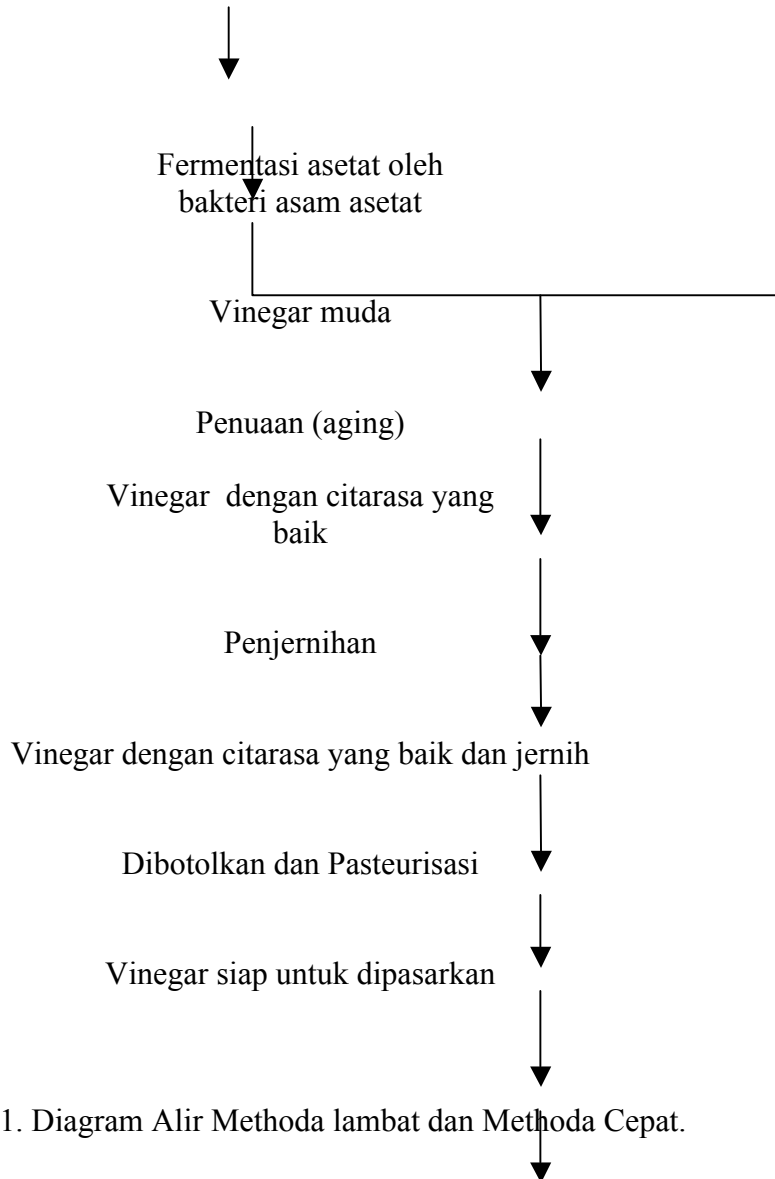
Cairan alkohol dimasukkan dari bagian atas dan melalui alat otomatis alkohol dipercikan ke bagian tengah tempat tatal kayu tersebut. Di bagian tengah ini akan tumbuh bakteri asam asetat yang akan mengoksidasi larutan alkohol menjadi asam asetat. Udara masuk dari bagian bawah mengalir ke bagian tengah tangki. Pada proses oksidasi akan terbentuk panas sehingga akan terjadi peningkatan suhu. Perlu dilakukan pengaturan suhu dan suhunya tidak boleh lebih tinggi dari $29,4^{\circ}\text{C}$ sehingga diperlukan pendinginan. Untuk pendinginan diperlukan koil pendingin. Alkohol sebelum masuk ke generator didinginkan atau dapat pula dilakukan pendinginan dalam proses asetifikasi. Pada penggunaan generator baru hendaknya pada bagian tengah dimasukkan vinegar yang mengandung bakteri asam asetat yang sedang aktif. Kemudian baru dimasukkan larutan alkohol ke bagian tengah tangki yang sudah terdapat tatal kayu. Mengenai skema generator terlihat pada Gambar 1.

Sari buah /malt

Larutan alkohol encer & substrat
untuk pertumbuhan bakteri asam asetat

Fermentasi alkohol oleh
khamir

Larutan mengandung alkohol



Gambar 1. Diagram Alir Methoda lambat dan Methoda Cepat.

Penjernihan vinegar

Vinegar perlu dijernihkan karena vinegar yang bening akan lebih menarik. Penjernihan dapat dilakukan dengan filtrasi atau dengan pemberian bahan penjernih (fining). Sebagai bahan penjernih dapat diberikan bahan kasein, gelatin, bentonit atau isinglass. Bubuk bentonit direndam dalam air atau vinegar beberapa hari kemudian akan hancur dan dengan pengadukan yang kuat akan terbentuk suspensi. Pemberian 1,5 gal 5 % suspensi ini untuk 100 gal. vinegar akan terjadi pengendapan. Kemudian yang jernih dipindahkan ke wadah yang lain demikian selanjutnya sehingga diperoleh vinegar yang lebih jernih.

Isinglass misalnya gelembung ikan direndam dalam air yang telah diberi asam sitrat. Satu oz isinglass dapat direndam dalam 0,5 gallon air yang telah diasamkan dengan waktu perendaman 24 jam. Larutan ini dapat ditambahkan ke dalam 50 gallon vinegar dengan disertai pengadukan. Wadahnya ditutup dan dibiarkan dalam waktu satu minggu atau selama 10 hari. Kemudian vinegarnya dipisahkan dari endapan dengan menggunakan pipa.

Kasein juga baik digunakan sebagai bahan penjernih. Kasein umumnya dijual sebagai larutan kasein dalam air merupakan K atau Na kasinat. Pembuatan larutan 2 % dapat dibuat dengan dengan melarutkannya dalam air panas. Penggunaan 1 gallon larutan kasein untuk 100 gallon vinegar.

Tannin dan Gelatin. Vinegar dapat pula dijernihkan dengan menggunakan tannin dan gelatin. Tannin yang digunakan dilarutkan dalam vinegar dan diaduk dengan kuat. Penggunaan gelatin dilakukan dengan memasukkan gelatin ke dalam air dengan dilakukan pemanasan. Untuk setiap gallon air dapat dimasukkan 4 oz gelatin. Campuran tannin dan gelatin dapat pula digunakan untuk penjernihan vinegar. Campuran ini dapat digunakan antara 2 sampai 4 oz untuk setiap 100 gallon vinegar.

Penjernihan dapat pula dilakukan dengan menggunakan filter. Beberapa macam filter yang dapat digunakan seperti Ertel, Seitz, Lomax dan sebagainya. Press filter dapat terdiri dari plat-plat dan bingkai (frame) dari baja tahan karat. Alat penyaringnya terbuat dari kain. Jangan menggunakan logam Cu atau logam yang mudah korosif oleh vinegar, karena logam tersebut dapat menyebabkan vinegar menjadi keruh.

Pasteurisasi

Setelah dilakukan filtrasi vinegar kadang-kadang menjadi keruh karena terjadinya pertumbuhan bakteri. Untuk mencegah terjadinya kekeruhan dapat dilakukan pasteurisasi pada suhu 60 °C dalam waktu beberapa detik. Botol yang sudah berisi vinegar dapat pula dilakukan pemanasan pada suhu 60 °C. Pertumbuhan bakteri pada botol yang akan dipakai dapat dicegah dengan menggunakan belerang dioksida sebesar 220 -250 ppm.

VI. KERUSAKAN VINEGAR

Kerusakan bukan oleh mikroba

Logam-logam dapat menyebabkan vinegar menjadi keruh. Logam ferro dapat teroksidasi menjadi ferri dan bereaksi dengan tannin, fosfat, atau protein dapat menimbulkan kerusakan. Besi yang teroksidasi menimbulkan warna gelap pada vinegar. “Casse” besi terjadi jika besi dalam bentuk ferro teroksidasi menjadi besi dalam bentuk ferri. Ion-ion ferri bereaksi dengan tannin, fosfat, dan dapat dengan protein membentuk colloid mengendap mengakibatkan vinegar menjadi keruh. Kekeruhan dapat juga disebabkan oleh garam-garam Cu atau Zn.

Kerusakan oleh mikroba dan organisme lainnya.

Ulat vinegar

Salah satu dari banyak hal yang dapat menyebabkan kerusakan vinegar adalah *Anguillula aceti* (ulat vinegar). Organisme ini mempunyai panjang 1/16 in berbentuk silindris sering terdapat pada pembuatan vinegar dengan methoda lambat. Ulat ini terdapat di dalam fermentor dan pada cairan yang beralkohol sebelum terjadi proses asetifikasi. Untuk mencegahnya dapat dilakukan dengan pasteurisasi wadah-wadah yang akan digunakan dengan uap. *Anguillula aceti* dapat dibunuh dengan pemanasan pada suhu 54,4 °C (130 °F). Ulat ini tidak mengganggu kesehatan manusia, tetapi jika terdapat pada vinegar member kesan kurang bagus dari segi estetika.

Lalat *Drosophila*

Lalat *Drosophila* antara lain lalat *Drosophila callaris* yang bertebaran dan bertelur di sekitar pabrik pengolahan vinegar memberikan rasa kurang estetika. Lalat ini merupakan lalat yang sangat kecil dapat berkembang pada bubur buah yang difermentasi atau pada buah-buahan yang busuk. Untuk mencegahnya dapat dilakukan dengan pembersihan fermentor baik tutupnya maupun bagian tengah dari fermentor tersebut. Disamping wadah yang digunakan selalu dibersihkan, tembok-tembok pabrik di cat atau disemprot dengan insektisida yang tidak berbahaya bagi manusia. Lalat ini tidak menurunkan kualitas vinegar.

Kerusakan oleh mikroba

Kerusakan oleh bakteri dapat menyebabkan kualitas vinegar menjadi rendah. Bakteri jenis *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* yang hidup pada cairan buah tidak hanya menimbulkan citarasa yang tidak disenangi tetapi juga dapat mengganggu fermentasi alkohol oleh khamir. Dalam keadaan anaerob bakteri asam butirat dapat menghasilkan asam-asam yang tidak dikehendaki. Kesulitan ini dapat diatasi dengan pemberian belerang dioksida pada cairan buah, tetapi zat ini dapat menghambat aktivitas mikroba pembentuk vinegar.

Terbentuknya lendir yang berlebihan pada massa bakteri dapat menyebabkan kerusakan asam asetat yang terbentuk. Salah satu mikroba yang membentuk lendir dapat berupa dextran adalah *Acetobacter xylinum*. Bakteri ini dikenal sebagai bakteri pembentuk “nata de coco”.

Oksidasi asam asetat pada vinegar menjadi karbon dioksida dan air dapat disebabkan oleh bakteri asam asetat sendiri sewaktu proses pembuatan vinegar terjadi aerasi berlebihan. Mikroba lain yang dapat mengoksidasi asam asetat dalam keadaan aerobik adalah kapang dan khamir.

DAFTAR PUSTAKA

- Crues, W.V. 1958. Commercial Fruit and Vegetable Products. McGraw Hill Book Company, Inc. New York
- Doyle, M.P., L.R Beuchat, T.J. Montville. 2001. Food Microbiology. ASM Press. Washington.
- Frazier, W.C. 1967. Food Microbiology. Tata McGraw Hill Publishing Company Ltd. New Delhi.
- Jay, J.M. 1992. Modern Food Microbiology. Chapman & hall. New York.
- Muljohardjo, M. 1990. Jambu Mete dan Pengolahannya. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Said, E.G. 1987. Bioindustri. Penerapan Teknologi Fermentasi. P.T. Mediyatama Sarana Perkasa. Jakarta.
- Salle, A.J. 1954. Fundamental Principle of Microbiology. McGraw Hill Book Company, Inc. New York.