

Produksi *Coconut Vinegar* dari Limbah Air Kelapa dengan Model Fermentasi Cair Termodifikasi Sel *Yeast* Terimobilisasi Kalsium Alginat

Dini Nur Afifah¹, Abdul Haris Mulyadi², Hana Syifa Fadhila³, Yeti R. Hasanah⁴,
 Puput Wahyu Nita Savitri⁵

¹Mechanical Engineering Department, Faculty of Engineering and Science

^{2,3,4}Chemical Engineering Department, Faculty of Engineering and Science
 Universitas Muhammadiyah Purwokerto

ARTICLE INFO

Article history:

DOI:

[10.30595/pspfs.v6i.853](https://doi.org/10.30595/pspfs.v6i.853)

Submitted:

August 05, 2023

Accepted:

September 29, 2023

Published:

October 13, 2023

Keywords:

Coconut vinegar, Fermentasi Media Cair Simultan, *Yeast* Terimobilisasi Alginat

ABSTRACT

Coconut (*Cocos Nucifera L*) is one of the Indonesia's plantations comodities. Unfortunately, the abundance of raw materials has not had a significant impact on the export market for coconut products, especially functional food products. Based on that issue, research with the aim to produce diversified product of coconut was conducted. The product developed in this research was coconut vinegar produced by fermentation process of coconut waste water via liquid fermentation pathway. To increase efficiency and reduce production costs, the fermentation process was carried out simultaneously. In order to increase the yeast resistance to acetic acid produced by acetic acid bacteria (BAA), the process modification was conducted by using yeast immobilized formed by the calcium alginate matrix. The research results show that the optimum BAA inoculation time was 24 hours after the bead yeast inoculation. The maximum bead yeast mass obtained in this study was 25% ^m/_v. Fermentation that was carried out with the maximum time and bead mass was able to produce coconut vinegar with an acetic acid content of 5.1 g/L, an alcohol conversion of 22.73%.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



Corresponding Author:

Dini Nur Afifah

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik dan Sains, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Jl K.H Ahmad Dahlan PO.BOX 2021 Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

Email: dini.nurafifah@ump.ac.id

1. PENDAHULUAN

Coconut vinegar diproduksi melalui dua tahap proses fermentasi. Tahapan pertama adalah fermentasi alkoholik secara anaerobik oleh *yeast*. Tahap kedua adalah asetifikasi alkohol secara aerobik oleh bakteri asam asetat (BAA) (Krusong *et al.*, 2015). Selama ini proses fermentasi alkoholik dan asetifikasi dilakukan tahap demi tahap pada dua reaktor yang berbeda, sehingga dalam prosesnya dibutuhkan waktu yang cukup lama dan biaya yang besar jika akan diaplikasikan dalam industri (Poreda *et al.*, 2013). Berdasarkan pada permasalahan tersebut, maka diusulkan teknik produksi *vinegar* dengan proses fermentasi media cair secara simultan. Fermentasi simultan dilakukan dengan mengkontakkan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Acetobacter acetii* secara bersamaan dalam substrat cair. Gula yang dipecah oleh *Saccharomyces cerevisiae* akan menghasilkan etanol yang selanjutnya akan langsung dioksidasi oleh *Acetobacter acetii* menjadi asam asetat.

Produksi *vinegar* secara simultan pernah diteliti sebelumnya (Krusong *et al.*, 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel *yeast* menurun secara drastis pada hari ketiga belas. Penurunan jumlah sel *yeast* tersebut diakibatkan *yeast* resisten terhadap perubahan media akibat pembentukan asam asetat. Merujuk pada fakta

berikut, maka diperlukan kajian lanjutan untuk meningkatkan resistensi *yeast* terhadap asam, khususnya pada fermentasi simultan. Dalam rangka meningkatkan resistensi *yeast* terhadap kondisi asam, maka pada penelitian ini *yeast* diimobilisasi atau diperangkap pada sebuah matriks. Kelebihan penggunaan sel imobil adalah: densitas sel/volume yang lebih besar, kemudahan dalam proses separasi produk dan media, mempercepat fasa lag, dan meningkatkan konversi substrat. Teknik imobilisasi *yeast* pernah dilakukan oleh (Poreda *et al.*, 2013; Alwatanova *et al.*, 2015; Sroka *et al.*, 2017). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa imobilisasi *yeast* terbukti mampu meningkatkan resistensi *yeast* terhadap alkohol maupun asam.

Pada penelitian ini digunakan matriks calcium alginate. Alasan penggunaan alginat adalah aman digunakan pada produk pangan, murah, serta proses penyiapannya tidak memerlukan panas sehingga viabilitas dan aktivitas sel *yeast* tidak menurun (Garcia *et al.*, 2018). Dalam rangka meningkatkan efektivitas proses produksi *coconut vinegar*, maka pada penelitian ini dipelajari pengaruh massa *bead yeast* (% m/v) dan waktu inokulasi BAA (jam) terhadap profil perubahan konsentrasi asam asetat (g/L), konsentrasi alkohol (%) dan perubahan pH selama proses fermentasi simultan. Jenis sel *yeast* yang digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Jenis BAA yang digunakan adalah *Acetobacter acetii*.

2. METODE PENELITIAN

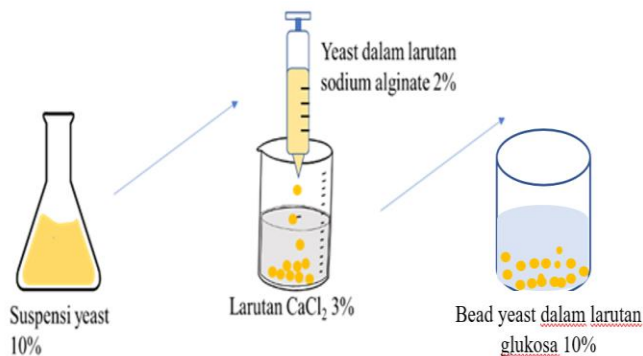
MATERIAL

KH_2PO_4 (Merck, pa), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Merck, pa), $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Merck, pa), MgSO_4 (Merck, pa), NaOH (Merck, pa), Nutrient Agar (Merck, Microbiology), D Glucose (Merck, pa), instant yeast (FERMIPAN™), Sodium Alginate (Technical Grade), *Acetobacter acetii* disediakan oleh Laboratorium Bioproses, Departemen Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Indonesia. Bakteri diremajakan pada media agar (NA) yang selanjutnya dikultur pada media air kelapa. Proses *pre-culture* dilakukan pada suhu 32°C selama 30 hari. Air kelapa segar diperoleh dari pasar tradisional yang kemudian disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Air kelapa langsung digunakan pada proses fermentasi tanpa penyimpanan

PROSEDUR

Imobilisasi *yeast* pada Ca-alginat.

Proses imobilisasi *yeast* pada alginate dilakukan dengan melarutkan larutan *yeast* 10% pada larutan calcium alginate 2%. Campuran tersebut kemudian diaduk hingga homogen. Suspensi selanjutnya diinjeksikan ke dalam syringe ukuran tip 23G (diameter dalam 1,2mm) untuk kemudian diekstrusi ke dalam larutan CaCl_2 3%. *Bead* selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin hingga mengeras. butiran *bead* kemudian dicuci dengan akuades lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam dalam larutan nutrisi yang terdiri dari 10 % glukosa, 0,4% urea dan 0,2% KH_2PO_4 . Butiran *bead* lalu dicuci dan disimpan dalam larutan glukosa 10%.



Gambar 1. Teknik Imobilisasi *Yeast* dengan Calcium Alginate

Penyiapan Starter Asetifikasi

Sebanyak 1 liter air kelapa yang telah disterilisasi ditambahkan dengan nutrisi yang terdiri dari 10% glukosa, 0,4% urea dan 0,2% KH_2PO_4 . Media selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah suhunya mencapai 35°C ditambahkan *yeast extract* sebanyak 10% dan didiamkan selama 24 jam hingga terbentuk alkohol. *Yeast* selanjutnya dipisahkan dari cairan dan ditambahkan biakan bakteri *Acetobacter acetii* untuk selanjutnya dinkubasi secara aerobik pada suhu 32°C selama 30 hari.

Produksi *Coconut Vinegar*

Sebanyak 1L air kelapa segar ditambahkan dengan nutrisi yang terdiri dari 0, gram KH_2PO_4 ; 0,05 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan 1 gram *yeast extract*. Substrat lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Substrat kemudian ditempatkan pada erlenmeyer dengan volume 250 ml. Sebanyak tertentu *bead yeast*

diinokulasikan ke dalam substrat. Proses fermentasi alkoholik dilakukan pada *incubation shaker* dengan suhu 35°C. Selang beberapa hari, sebanyak 15% v/v BAA diinokulasikan ke dalam media untuk mengkonversi alkohol menjadi asam asetat secara aerobik pada suhu 32°C. Penyediaan oksigen ke dalam media dilakukan menggunakan aerator dengan kapasitas 2x4 L/menit. Proses fermentasi dilakukan selama 5 hari. Massa *bead yeast* divariasikan menjadi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Waktu inokulasi BAA divariasikan menjadi 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam terhadap waktu inokulasi *yeast*.

Analisis Kadar Asam Asetat (SNI 3565:2009)

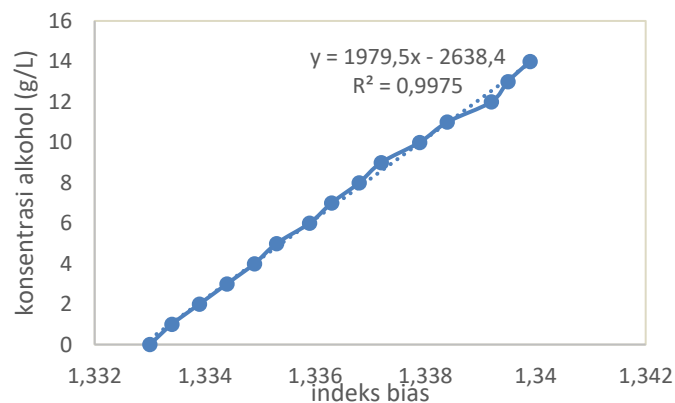
Analisis Asam asetat dilakukan secara titrimetri dengan pentiter NaOH 0,1 N.

$$\text{konsentrasi asam asetat (g/L)} = \left(V \times N \times 60 \times \frac{250}{1000} \right) \times 10 \quad (1)$$

dengan: V adalah volume titran (mL); N adalah normalitas titran (ek/L); 60 adalah berat equivalen asam asetat.

Analisis Kadar Alkohol

Sebanyak 1 ml larutan fermentasi dipipet kemudian diukur indeks biasnya dengan alat brix meter. Indeks bias kemudian dikonversi menjadi persentase alkohol berdasarkan grafik pada **Gambar 2**



Gambar 2. Grafik Koversi Indeks Bias ke dalam Konsentrasi Alkohol (g/L)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

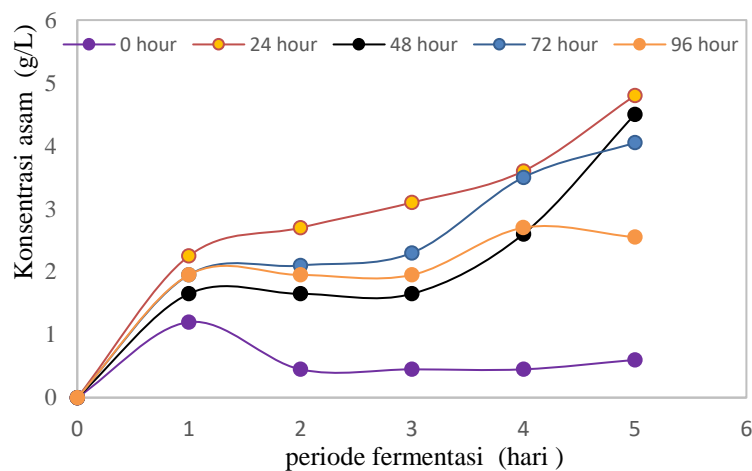
Pengaruh Variabel Waktu Inokulasi BAA

Penurunan aktivitas *yeast* akibat BAA pada proses fermentasi simultan disebabkan karena asam asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi berdifusi ke dalam sel *yeast*. Asam tersebut lalu terdisosiasi di dalam sel. Jika pH ekstraseluler lebih rendah dibandingkan pH intraseluler, maka akan terjadi peristiwa asidifikasi intrasel yang mampu menghambat pertumbuhan dan laju fermentasi (Sousa-Dias et al., 2021). Selain itu asam asetat juga mempengaruhi aktivitas enzim enolase dan NADH dehydrogenase yang berperan dalam tahap glikolisis, sehingga jumlah alkohol yang dihasilkan menurun (Zhao et al., 2008) Berdasarkan pada hal tersebut perlu dilakukan optimasi terhadap variabel waktu inokulasi BAA pada penelitian ini. Optimasi waktu inokulasi BAA dilakukan dengan bervariasi waktu inokulasi BAA menjadi 0, 24, 48, 72, dan 96 jam terhadap waktu inokulasi *yeast*. Proses fermentasi dilakukan selama 5 hari menggunakan *bead yeast* dan inokulum *Acetobacter acetii* (BAA) masing masing sebanyak 15%.

Efektifitas fermentasi dievaluasi dari kadar asam asetat (g/L), kadar alkohol (%), konversi alkohol (%) dan pH. Data profil perubahan konsentrasi asam asetat setiap harinya ditampilkan pada **Gambar 3**. Sedangkan nilai persen konversi alkohol ditunjukkan pada **Tabel 1**. Hasil penelitian pada **Gambar 3** menunjukkan bahwa waktu inokulasi BAA paling optimum tercapai pada 24 jam pertama setelah inokulasi *bead yeast*. Konsentrasi asam asetat yang dapat diperoleh adalah sebesar 4,8 g/L dengan konversi alkohol mencapai 79% pada kultivasi di hari kelima. Krusong *et al* (2010) berpendapat bahwa hal demikian dapat tercapai karena pada rentang waktu 24-48 jam *yeast* berada fasa eksponensial. Pada periode tersebut viabilitas sel optimal sehingga oksidasi alkohol berlangsung cepat. Alkohol dengan konsentrasi yang cukup tinggi selanjutnya segera dioksidasi lebih lanjut menjadi asam asetat oleh bakteri BAA.

Selang waktu yang berdekatan dengan inokulasi *yeast* diketahui dapat meningkatkan kecepatan BAA untuk mengaktifkan enzim *alcohol dehydrogenase* (ADH) dan *aldehyde dehydrogenase* (ALDH) yang digunakan untuk proses oksidasi alkohol (Krusong *et al.*, 2015; Xia *et al.*, 2016). Namun pada kondisi tertentu justru berdampak

sebaliknya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu inokulasi yang bersamaan antara *yeast* dan BAA justru menghasilkan *coconut vinegar* dengan konsentrasi paling kecil. Fermentasi yang dilakukan dengan waktu inokulasi tersebut hanya menghasilkan produk dengan kadar asam asetat sekitar 0.6 g/L. Siregar *et al* (2019) berpendapat bahwa kandungan substrat pada tahap awal fermentasi masih cukup tinggi. Pada fasa ini mikroorganisme dimungkinkan untuk bereplikasi dan bermetabolisme menghasilkan alkohol dengan laju yang cepat. Hal ini mengakibatkan pembentukan alkohol oleh *yeast* mencapai titik optimum pada rentang waktu 0 hingga 24 jam. Hasil penelitian (lihat **Tabel 1**) menunjukkan bahwa *bead yeast* mampu memproduksi alkohol sebesar 41.84 g/L beberapa saat setelah fermentasi alkoholik berlangsung. Alkohol dengan kadar tersebut ternyata mampu mempengaruhi kinerja BAA. Bakteri asam asetat seperti genus *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* atau *Gluconobacter* dilaporkan cukup rentan terhadap media beralkohol. Konsentrasi alkohol pada kisaran 48 g/L diketahui dapat mengakibatkan gangguan viabilitas sel dan mengalami autolisis (Jimenes-Hornero 2009). Hal inilah yang mengakibatkan menurunnya kadar asam asetat pada *coconut vinegar*. Selain itu, alkohol yang tersedia pada fase awal asetifikasi cenderung dimanfaatkan oleh BAA untuk beradaptasi. Fasa ini disebut sebagai fasa Lag. Pada Fasa Lag, mikroorganisme bermetabolisme untuk menghasilkan energi dan memperbanyak sel. Hal ini menyebabkan konsentrasi asetat tetap rendah walaupun konversi alkohol mencapai 80.42% pada percobaan dengan inokulasi BAA yang bersamaan dengan *yeast*.



Gambar 3. Profil Konsentrasi Asetat (g/L) pada Fermentasi Simultan dengan Variasi Waktu Inokulum BAA sebesar 0, 24, 48, 72 dan 96 Jam Terhadap Inokulum Bead Yeast.

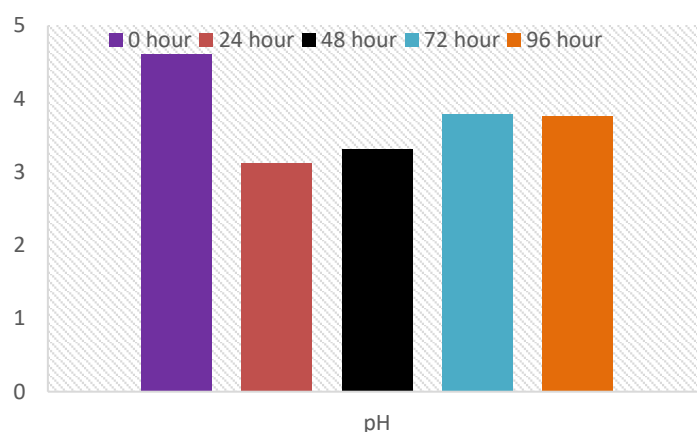
Semakin lama rentang waktu inokulasi *yeast* dan BAA maka konsentrasi asam asetat pada *coconut vinegar* semakin kecil. Konsentrasi asam asetat yang diperoleh pada hari dengan waktu inokulasi BAA sebesar 48, 72, dan 96 jam adalah sebesar 4.5 g/L, 4.05 g/L dan 2.55 g/L. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi asam asetat semakin kecil saat rentang waktu penambahan inokulasi BAA diperpanjang. Hasil ini dimungkinkan terjadi karena adanya perbedaan durasi pada fase Lag BAA di setiap percobaan.

Fase Lag BAA dipengaruhi oleh konsentrasi alkohol pada media fermentasi. Semakin besar konsentrasi alkohol, maka fase lag BAA juga akan semakin panjang (Tanamool *et al.*, 2020). Hal tersebut dibuktikan dari bentuk grafik pada **Gambar 3**. Fasa lag BAA pada percobaan dengan waktu inokulasi 48, 72, dan 96 memiliki bentuk grafik yang cenderung mendatar hingga hari ketiga. Sedangkan fasa lag pada percobaan dengan waktu inokulasi 24 jam lebih rendah, yaitu selama dua hari. Semakin lama fasa Lag, proses asetifikasi alkohol juga semakin panjang. Pada hari kelima fermentasi, nilai persen konversi alkohol untuk percobaan dengan waktu inokulasi BAA 48, 72, dan 96 jam adalah 73.80%, 70.02%, dan 70.49%.

Oksidasi alkohol oleh asam asetat mengakibatkan pH larutan semakin menurun (Kanchanarach *et al.*, 2010). Semakin tinggi kadar asam asetat, maka semakin rendah pula pH *coconut vinegar* yang dihasilkan. Pada penjelasan sebelumnya telah disebutkan bahwa kondisi optimum waktu inokulasi BAA adalah 24 jam. Pada kondisi tersebut dihasilkan *coconut vinegar* dengan konsentrasi asam asetat tertinggi. Sesuai dengan data tersebut, data pH pada Gambar 3 juga menunjukkan pola yang sama. pH terendah yang dapat dicapai adalah 3.2. Percobaan dengan inokulasi BAA 0, 48, 72, dan 96 jam menghasilkan produk dengan pH sebesar 4.61; 3.32; 3.79, dan 3.76.

Tabel 1. Profil Konsentrasi Alkohol (g/L) pada Fermentasi Simultan dengan Variasi Waktu Penambahan BAA sebesar 0, 24, 48, 72 dan 96 Jam.

Hari	Konsentrasi alkohol (%)					Konversi Alkohol (%)				
	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
0	41,84	13,54	14,33	14,53	17,30	0,00	67,65	65,76	65,28	58,66
1	11,16	10,96	14,53	14,33	17,50	73,33	73,80	65,28	65,76	58,19
2	9,58	10,17	13,73	13,73	16,31	77,11	75,69	67,18	67,18	61,03
3	8,98	9,38	13,14	12,55	13,93	78,53	77,58	68,60	70,02	66,70
4	8,19	9,38	12,94	12,55	11,95	80,42	77,58	69,07	70,02	71,43
5	8,19	8,79	10,96	12,55	12,35	80,42	79,00	73,80	70,02	70,49



Gambar 4. Nilai pH Coconut Vinegar pada Fermentasi Simultan dengan Variasi Waktu Inokulasi BAA sebesar 0, 24, 48, 72 dan 96 Jam Terhadap Inokulasi *Bead Yeast*

Pengaruh Variabel Massa *Bead Yeast*

Penggunaan *yeast* terimobilisasi pada proses fermentasi simultan dapat meningkatkan resistensi sel terhadap etanol (Sroka *et al.*, 2017). Selain itu, penggunaan *yeast* terimobilisasi juga dipercaya dapat menurunkan biaya produksi. Hal ini dikarenakan *sel yeast* yang terimobilisasi dapat digunakan berulang kali. Imobilisasi *yeast* pada penelitian ini dilakukan dengan bahan calcium alginate. Penambahan ion sodium menyebabkan gel yang terbentuk tidak mudah larut dalam media cair. Hal ini dikarenakan ion sodium berperan dalam merangkai jaringan polielektrolit dari rantai linear asam alginate. Makromolekul yang bersifat polielektrolit tersebut memungkinkan adanya peristiwa perpindahan dari dan keluar sel, sehingga viabilitas sel *yeast* dapat dipertahankan (Poreda *et al.*, 2013). Selama proses fermentasi, jumlah massa akan *yeast* mempengaruhi kecepatan pembentukan alkohol. Semakin banyak jumlah sel *yeast*, maka jumlah enzim akan meningkat. Hal ini berdampak pada peningkatan kadar alkohol yang dapat dihasilkan. Hasil penelitian Roni *et al* (2019) menyebutkan bahwa massa *yeast* optimum dalam proses pembentukan bioethanol dari sorgum adalah 2.5%. Penambahan massa yeast hingga 3% justru menurun.

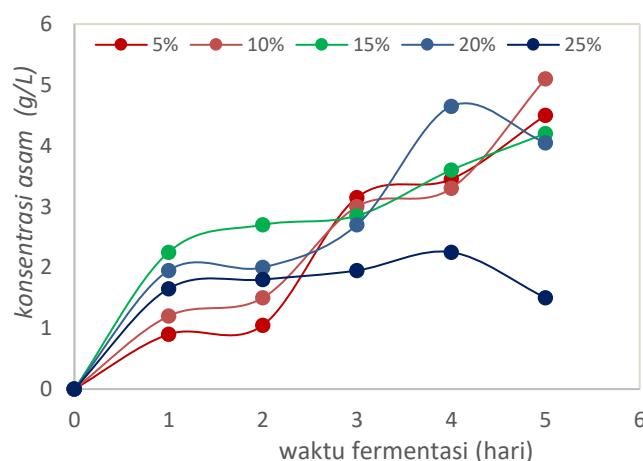
Sel *yeast* bebas dan *yeast* yang terimobilisasi memiliki tingkat kemampuan yang berbeda dalam hal metabolisme gula. Pada umumnya sel *yeast* yang terimobilisasi memiliki kemampuan bermetabolisme yang lebih lambat dibandingkan *yeast* bebas. Hal ini terjadi karena porositas material berpengaruh terhadap kecepatan metabolisme *yeast*. Jika pada penelitian Roni *et al* 2019 jumlah massa yeast bebas optimum adalah 2.5%, maka jumlah sel *yeast* dalam proses fermentasi dengan sel terimobilisasi dapat lebih banyak. Teori ini didukung dengan hasil penelitian (Alwatanava *et al* 2015). Fermentasi nipah untuk pembentukan etanol berlangsung optimal dengan massa bead yeast sebesar 20% selama 96 jam.

Pada penelitian ini optimasi terhadap massa *bead* dilakukan dengan bervariasi massa *bead* menjadi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, sedangkan massa BAA dibuat tetap sebanyak 15%. Fermentasi dilakukan selama 5 hari dengan waktu inokulasi BAA 24 jam setelah proses inokulasi *bead yeast*. Data produksi alkohol setelah 24 jam (**Tabel 2**) pada setiap variasi massa bead tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Alkohol yang dapat diproduksi pada fermentasi alkoholik dengan variasi massa bead sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% adalah 13.93%; 13,3%; 13.54%; 13.14%; 12.94%. Dari nilai tersebut terlihat bahwa penambahan massa bead lebih dari 10% tidak efektif bagi fermentasi simultan. Semakin besar massa *bead* yang digunakan, jumlah sel aktif juga semakin meningkat. Hal ini mengakibatkan lebih banyak gula yang dimetabolisme dibanding yang dikonversi menjadi alkohol.

Semakin sedikit alkohol yang dihasilkan maka semakin kecil pula konsentrasi asam asetat yang dapat diproduksi. Hal ini terlihat pada Grafik profil konsentrasi asam asetat pada **Gambar 5**. Kadar asam asetat pada *coconut vinegar* yang dihasilkan dari fermentasi dengan variasi massa bead sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% adalah 4.5 g/L, 5.1 g/L, 4.2%, 4.05g/L, 1.5g/L. Bentuk grafik pada Gambar 4 juga menggambarkan bahwa kecenderungan pembentukan asam asetat pada fermentasi dengan massa bead 5% dan 10% masih terus meningkat. Sedangkan pada fermentasi dengan massa bead lebih dari 10 % menunjukkan pola data yang mulai melandai pada hari keempat. Bahkan pada hari kelima konsentrasi asam asetat menurun. Hal tersebut dapat terjadi akibat adanya peristiwa *overoxidation*. Peristiwa *overoxidation* merupakan oksidasi lanjut asam asetat menjadi CO₂ dan H₂O melalui jalur siklus TCA (*tricarboxylic acid cycle*) (Adler, *et al* 2014). Reaksi *overoxidation* merupakan reaksi irreversible yang terjadi akibat BAA berada dalam kondisi stress akibat kekurangan etanol. Oleh karenanya BAA mengoksidasi asam asetat untuk dapat bertahan hidup. Dalam rangka mencegah terjadinya oksidasi lanjut pada produk fermentasi, maka perlu dilakukan kajian terhadap waktu fermentasi simultan yang optimum.

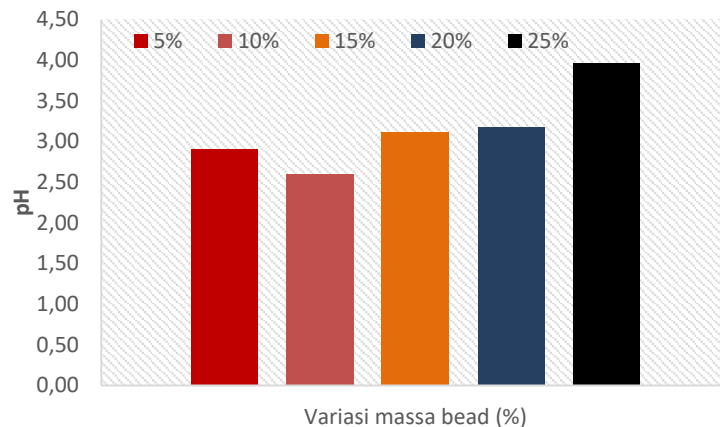
Tabel 2. Profil Konsentrasi Alkohol (%) pada Fermentasi Simultan dengan Variasi Massa *Bead Yeast* (% m/v) Sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, 25%

Hari	Konsentrasi alkohol (%)					konversi alkohol (%)				
	5%	10%	15%	20%	25%	5%	10%	15%	20%	25%
0	13,93	13,93	13,54	13,14	12,94	0,00	0,00	2,84	5,68	7,10
1	12,15	12,79	10,96	11,95	10,17	12,79	8,20	21,31	14,21	27,00
2	10,76	11,56	10,17	9,58	9,18	22,73	17,05	27,00	31,26	34,10
3	9,78	9,78	9,38	8,39	9,18	29,84	29,84	32,68	39,78	34,10
4	10,17	10,17	9,38	7,99	7,60	27,00	27,00	32,68	42,62	45,47
5	10,17	10,76	8,79	7,99	7,60	27,00	22,73	36,94	42,62	45,47

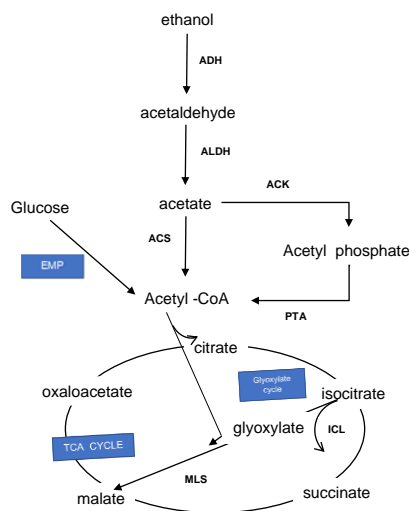


Gambar 5. Profil Konsentrasi Asetat (g/L) pada Fermentasi Simultan dengan Variasi Massa *Bead Yeast* (% m/v) Sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, 25%

Berdasarkan data penelitian, dapat diketahui bahwa pH larutan produk coconut vinegar mencapai 2.91; 2.60; 3.12; 3.18 dan 3.96 untuk percobaan dengan variasi massa bead 5% , 10%, 15%, 20%, dan 25%. Berdasarkan profil perubahan asam asetat harian yang ditampilkan pada **Gambar 5**, dapat disimpulkan bahwa jenis BAA yg digunakan pada penelitian ini cukup toleran pada kondisi asam. BAA dengan genus *acetobacter* dilaporkan cenderung toleran terhadap asam asetat. Hal ini karena bakteri tersebut mampu menghasilkan pellicle polisakarida berbentuk kapsul yang mampu melindungi dari kondisi asam (Kanchanarach *et al.*, 2010).



Gambar 6. Nilai pH *Coconut Vinegar* pada Fermentasi Simultan dengan Variasi Massa *Bead Yeast* (% m/v) Sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, 25%



Gambar 7. Metabolisme Asetat Melalui Siklus TCA. Enzim yang terlibat adalah: ACK: Acetate kinase; PTA: Phosphotransacetylase; ACS: Acetyl-CoA; ICL: Isositrat Lyase; MLS; Malate Sintetase (Saeki et al., 1997)

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dijabarkan, maka dapat disimpulkan bahwa *coconut vinegar* dapat diproduksi dengan proses fermentasi simultan media cair. Penggunaan *yeast* yang terimobilisasi dengan sodium alginate dilaporkan mampu untuk meningkatkan resistensi *yeast* terhadap asam asetat yang terbentuk dari aktivitas BAA. Waktu inokulasi optimum BAA berdasarkan hasil penelitian ini adalah 24 jam sejak inokulasi *bead yeast*. Fermentasi yang dilakukan dengan waktu inokulasi tersebut mampu menghasilkan *coconut vinegar* dengan kadar asam asetat sebesar 4,8 g/L, konversi alkohol sebesar 79% selama 5 hari. Massa *bead* optimum yang didapat dalam penelitian ini adalah sebesar 25% m/v. Fermentasi yang dilakukan dengan waktu dan massa *bead* optimum mampu menghasilkan *coconut vinegar* dengan kadar asam asetat sebesar 5,1 g/L, konversi alkohol sebesar 22,73% dan nilai pH produk mencapai 2,60. Pada hasil penelitian ini ditemukan potensi terjadinya reaksi *overoxidation* sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk menentukan waktu optimum fermentasi simultan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adler, P., Frey, L. J., Berger, A., Bolten, C. J., Hansen, C. E., & Wittmann, C. (2014). The key to acetate: Metabolic fluxes of acetic acid bacteria under cocoa pulp fermentation-simulating conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(15), 4702–4716. <https://doi.org/10.1128/AEM.01048-14>
- Awaltanova, Ella., Syaiful, Bahri., Chairul., 2015, "Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan Teknik Immobilisasi Sel *Saccharomyces Cerevisiae*", JOM FTEKNIK Volume 2 No. 2.

- Jiménez-Hornero, J. E., Santos-Dueñas, I. M., & García-García, I. (2009). Optimization of biotechnological processes. The acetic acid fermentation. Part I: The proposed model. *Biochemical Engineering Journal*, 45(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.01.009>
- Kanchanarach, W., Theeragool, G., Inoue, T., Yakushi, T., Adachi, O., & Matsushita, K. (2010). Acetic acid fermentation of acetobacter pasteurianus: Relationship between acetic acid resistance and pellicle polysaccharide formation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 74(8), 1591–1597. <https://doi.org/10.1271/bbb.100183>
- Krusong, W., Yaiyen, S., & Pornpukdeewatana, S. (2015). Impact of high initial concentrations of acetic acid and ethanol on acetification rate in an internal Venturi injector bioreactor. *Journal of Applied Microbiology*, 118(3), 629–640. <https://doi.org/10.1111/jam.12715>
- Krusong, W., & Vichitraka, A. (2010). An investigation of simultaneous pineapple vinegar fermentation interaction between acetic acid bacteria and yeast Warawut. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(01), 192–203.
- Poreda, A., Tuszyński, T., Zdaniewicz, M., Sroka, P., & Jakubowski, M. (2013). Support materials for yeast immobilization affect the concentration of metal ions in the fermentation medium. *Journal of the Institute of Brewing*, 119(3), 164–171. <https://doi.org/10.1002/jib.77>
- Roni, K. A., Kartika, D., Apriyadi, H., & Herawati, N. (2019). The effect of type and concentration yeast with fermentation time and liquifaction variations on the bioethanol concentration resulted by sorghum seeds with hydrolysis and fermentation processes. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 16(12), 5228–5232. <https://doi.org/10.1166/jctn.2019.8591>
- Saeki, A., Taniguchi, M., Matsushita, K., Toyama, H., Theeragool, G., Lotong, N., & Adachi, O. (1997). Microbiological aspects of acetate oxidation by acetic acid bacteria, unfavorable phenomena in vinegar fermentation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 61(2), 317–323. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.317>
- Siregar, J. S., Ahmad, A., & Amraini, S. Z. (2019). Effect of Time Fermentation and Saccharomyces Cerevisiae Concentration for Bioethanol Production from Empty Fruit Bunch. *Journal of Physics: Conference Series*, 1351(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1351/1/012104>
- Sousa-Dias, M. L., Paula, V. B., Dias, L. G., & Estevinho, L. M. (2021). Mead production using immobilized cells of saccharomyces cerevisiae: Reuse of sodium alginate beads. *Processes*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/pr9040724>
- Sroka, P., Satora, P., Tarko, T., & Duda-Chodak, A. (2017). The influence of yeast immobilization on selected parameters of young meads. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(2), 289–295. <https://doi.org/10.1002/jib.409>
- Tanamool, V., Chantarangsee, M., & Soemphol, W. (2020). Simultaneous vinegar fermentation from a pineapple by-product using the co-inoculation of yeast and thermotolerant acetic acid bacteria and their physiochemical properties. *3 Biotech*, 10(3), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2119-4>
- Xia, K., Zang, N., Zhang, J., Zhang, H., Li, Y., Liu, Y., Feng, W., & Liang, X. (2016). New Insights Into The Mechanisms Of Acetic Acid Resistance In Acetobacter Pasteurianus Using Itraq-Dependent Quantitative Proteomic Analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.016>
- Zhao, J., Wang, Z., Wang, M., He, Q., & Zhang, H. (2008). The inhibition of Saccharomyces cerevisiae cells by acetic acid quantified by electrochemistry and fluorescence. *Bioelectrochemistry*, 72(2), 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2007.11.015>
- Zulaikhah, S. T. (2019). Health Benefits Of Tender Coconut Water (Tcw) Siti Thomas Zulaikhah Department of Public Health, Faculty of Medicine, UNISSULA, Semarang, Central Java, Indonesia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), 474–480.