



## Analysis of Alcohol Content in Anaerobic Fermentation of Watermelon (*Citrullus lanatus*) and Orange (*Citrus sinesis*) using Fermipan

Firda Amanah , M. Reisa Andika, Lativa Restu Hapsari, Pujiati, Dinda Ayu Wijayanti, Triastuti Rahayu

Department Biology Education, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo 57162, Indonesia

 a420200115@students.ums.ac.id

 <https://doi.org/10.53017/ujhs.243>

Received: 11/03/2023

Revised: 27/03/2023

Accepted: 29/03/2023

### Abstract

*Fermentation is a process of chemical changes in organic substrates through enzymes obtained by microorganisms which is an anaerobic deassimilation of organic compounds and is caused by the activity of microorganisms. This study aims to determine the alcohol content in different formulations of fermipan addition used in orange and watermelon liquids. The research design method used in this study is a Complete Randomized Design (CRD) consisting of two factors. The first factor is the type of substrate (S): watermelon (S1) and orange (S2), while the second factor is the concentration of yeast/Fermipan: 0% (R1), 1% (R2), 2% (R3). Data analysis was done descriptively quantitative and descriptive qualitative. The results showed that alcohol content with orange substrate was higher than watermelon. Other alcohol fermentation activities such as pH, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O also corroborate the data that the orange substrate is more active than the watermelon substrate. More yeast concentration (up to 2%) resulted in higher alcohol content and alcoholic fermentation activity.*

**Keywords:** Alcohol; Fermentation; Yeast

## Analisis Kandungan Alkohol Pada Fermentasi Anaerob Semangka (*Citrullus lanatus*) dan Jeruk (*Citrus sinesis*) Menggunakan Fermipan

### Abstrak

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia pada substrat organik melalui enzim yang didapatkan oleh mikroorganisme yang merupakan deasimilasi anaerobik senyawa-senyawa organik dan ditimbulkan oleh aktivitas mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan alkohol dalam perbedaan formulasi penambahan fermipan yang digunakan di cairan jeruk dan semangka. Metode rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah jenis substrat (S) : semangka (S1) dan jeruk (S2), sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi ragi/Fermipan : 0% (R1), 1% (R2), 2 % (R3). Analisis data dilakukan secara deskriptif kuantitatif dan deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan kadar alkohol dengan substrat jeruk lebih tinggi dibanding semangka. Aktivitas fermentasi alkohol lain seperti pH, CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O juga menguatkan data bahwa substrat jeruk lebih aktif dibandingkan pada substrat semangka. Konsentrasi ragi semakin banyak (sampai 2%) menghasilkan kadar alkohol dan aktivitas fermentasi alkoholik lebih tinggi.

**Kata kunci:** Alkohol; Fermentasi; Yeast

# 1. Pendahuluan

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia pada substrat organik melalui enzim yang didapatkan oleh mikroorganisme yang merupakan deasimilasi anaerobik senyawa-senyawa organik dan ditimbulkan oleh aktivitas mikroorganisme [1]. Mikroba yang biasanya terlibat dalam proses fermentasi pangan yaitu bakteri, khamir dan kapang. Prinsip dasar fermentasi yaitu pengaktifan aktivitas mikroba tertentu supaya dapat merubah sifat bahan sehingga dihasilkan produk fermentasi yang berguna. Fermentasi dibedakan menjadi dua fermentasi alkoholik dan fermentasi non alkoholik. Fermentasi alkoholik menggunakan beberapa jenis mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi. Penggunaan beberapa mikroorganisme tersebut disesuaikan dengan substrat atau bahan yang akan difermentasi dan kondisi proses yang akan berlangsung. Mikroorganisme yang banyak digunakan dalam fermentasi alkohol salah satunya *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat melakukan aktivitasnya pada suhu 4 – 32 °C. *S. cerevisiae* merupakan organisme khamir amilolitik yang cukup berpotensi untuk menghasilkan amilase, selain itu juga berperan dalam memproduksi etanol. *S. cerevisiae* sudah banyak digunakan dalam proses bioteknologi konvensional maupun bioteknologi modern rekayasa genetika dan berfungsi mengubah gula menjadi alkohol [2], [3].

Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain mikroorganisme, substrat (medium), pH (keasaman), suhu, oksigen, dan aktivitas air [4]. Selain itu, kecukupan nutrisi di dalam substrat juga menjadi salah satu faktor. Nutrisi yang dapat dijadikan sebagai sumber pangan khamir adalah gula, yang merupakan sumber karbon. Namun, gula yang terkandung pada substrat belum tentu dapat digunakan sebagai sumber energi bagi khamir. Penambahan gula lain ke dalam substrat dimaksudkan untuk menunjang kebutuhan starter untuk berkembang, salah satu jenis gula yang dapat ditambahkan yaitu sukrosa. Sukrosa adalah jenis gula disakarida yang dibentuk dari glukosa dan fruktosa yang dapat dijadikan sebagai sumber energi bagi mikroba dalam khamir [5]. Prinsip kerja fermentasi adalah memanfaatkan mikroorganisme untuk memecah bahan yang sulit dicerna seperti selulosa menjadi gula sederhana yang mudah dicerna, dimana melalui proses fermentasi akan menghasilkan enzim yang dapat memperbaiki nilai nutrisi, pertumbuhan dan juga meningkatkan daya cerna serat kasar, protein dan nutrisi lainnya [6].

Bioteknologi dibagi menjadi dua yaitu bioteknologi modern dan konvensional. Dimana produk bioteknologi modern diantaranya dapat berupa enzim, glukosa hasil hidrolisis enzimatik, beberapa macam bahan tambahan pangan, dan juga produk hasil rekayasa genetika (*Genetic Modified Organism*), sedangkan produk bioteknologi konvensional di antaranya yaitu kecap, keju, yoghurt, kefir, nata, tape dan tempe. Produk bioteknologi konvensional dapat juga disebut sebagai makanan fermentasi, makanan fermentasi di Indonesia dapat dikategorikan menjadi empat berdasarkan prosesnya, yaitu fermentasi asam laktat contohnya pada fermentasi buah, sayur, susu, singkong, dan daging; fermentasi jamur contoh bahannya yaitu kedelai dan kacang; fermentasi alkohol bahannya dapat berupa beras dan singkong; dan fermentasi kadar garam tinggi pada ikan, kecap, dan tauco [7].

Jeruk (*Citrus sinensis*) merupakan tanaman khas Asia dan salah satu tanaman tahunan yang mampu beradaptasi dengan baik di daerah tropis pada ketinggian antara 900-1200 mdpl dengan kondisi udara yang lembab, serta ketersediaan air tertentu. Kandungan buah jeruk terdiri atas 70-92% air (bergantung kualitas buah), gula, asam organik, asam amino, vitamin, zat warna, mineral dan lain-lain. Pada saat jeruk masih cukup muda mengandung asam sitrat, tetapi setelah masak kandungan makin berkurang sampai dua pertiga bagian [8]. Pada buah semangka (*Citrullus lanensis*) merupakan buah yang tumbuh

di daerah tropis. Buah ini kaya akan air, renyah dan rasanya manis. Pada buah semangka merah memiliki rasa yang lebih manis dibandingkan semangka kuning. Kandungan gula pada semangka merah yaitu fruktosa (50 mg/g), glukosa (29,5 mg/g), dan sukrosa (35 mg/g) [9]. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini diperlukan untuk mengetahui kadar alkohol pada proses fermentasi substrat semangka dan jeruk.

## 2. Metode

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah jenis substrat (S) : semangka (S1) dan jeruk (S2), sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi ragi/Fermipan : 0% (R1), 1% (R2), 2 % (R3). Masing-masing perlakuan dibuat ulangan sebanyak 3 kali. Substrat fermentasi dibuat dengan cara membuat jus tanpa disaring kemudian disterilisasi secara pasteurisasi dengan penambahan gula 10% dan diatur pH 5. Inokulasi ragi dilakukan secara aseptik sesuai perlakuan kemudian tabung erlenmeyer ditutup rapat dan diinkubasi dalam oven inkubator suhu kamar selama 7 hari. Data kuantitatif yang diamati adalah pH substrat dan kadar alhokol menggunakan alkoholmeter setelah akhir inkubasi. Data kualitatif meliputi jumlah CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O pada hari ke-3 dan ke-7. Analisis data dilakukan secara deskriptif kuantitatif dan deskriptif kualitatif.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Fermentasi alkohol dari substrat semangka dan jeruk dengan perlakuan konsentrasi ragi hasilnya dapat diamati pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Fermentasi Substrat semangka dan jeruk setelah 7 hari inkubasi

Perlakuan	Rerata kadar alkohol (%)	Rerata nilai pH	CO <sub>2</sub>		H <sub>2</sub> O		Suhu (°C)	
			Hari ke-				3	7
			3	7	3	7		
S1R1	0	5	+++	+++	+	+	23,6	26,9
S1R2	0	4	++	+++	+++	+++	23,8	26,1
S1R3	0	4	++	++	+++	++	25,0	25,6
S2R1	0	4	+	+	++	++	26,9	26,9
S2R2	5	3	+	+	++	++	26,4	25,8
S2R3	6	4	++	+++	+++	+++	24,4	24,2

**Keterangan:** + Sedikit ., ++ banyak., +++ sangat banyak ., - tidak ada

Bahan alami yang dijadikan sebagai substrat fermentasi alkohol adalah bahan yang mengandung gula seperti cairan buah. Bahan polisakarida seperti leri, biji durian, biji nangka, maupun batang sorgum juga dapat dijadikan sebagai substrat tetapi harus dilakukan proses penguraian terlebih dahulu menjadi gula sederhana. Jasad yang berperan dalam fermentasi gula menjadi alkohol adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang tersedia dalam merk dagang seperti *Fermipan*. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi yang meliputi suhu, pH, penyediaan oksigen, waktu serta peranan gula. Prinsip proses fermentasi alkohol adalah:



Pada substrat jus semangka diperoleh hasil pada perlakuan kontrol (S1R1), CO<sub>2</sub> yang dihasilkan pada hari ke-3 sangat banyak, H<sub>2</sub>O sedikit dan pH 6. Setelah hari ke-7, kadar CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O sangat sedikit dengan pH 7 dan kadar alkohol 0%. Selanjutnya pada perlakuan

S1R2, CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O yang dihasilkan masing-masing banyak dan sangat banyak dengan pH substrat turun menjadi 6. Setelah hari ke-7, CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O yang dihasilkan sangat banyak dengan pH 4 dan kadar alkohol sebesar 5%. Pada perlakuan S1R3, setelah hari ke-3 CO<sub>2</sub> yang dihasilkan banyak, H<sub>2</sub>O sangat banyak dengan 6. Pada hari ke-7, kandungan CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O banyak dengan pH 4 dan kadar alkohol sebesar 0% (Tabel 1). Secara kualitatif ditinjau dari aroma pada ketiga sampel, pada perlakuan S1R1 memiliki bau yang sedikit basi, pada perlakuan S1R2 dan S1R3 berbau alkohol.

Pada substrat jus jeruk, perlakuan S2R1 menghasilkan CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O sedikit dengan pH 6 yang terlihat di hari ke-3. Pada perlakuan S2R2, kadar CO<sub>2</sub> sedikit dengan kadar H<sub>2</sub>O banyak, dan pH 6. Setelah hari ke-7, kadar CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan suhu pada perlakuan S2R1 tidak mengalami perubahan, namun kadar pH menurun menjadi 3 dan kadar alkoholnya sebesar 0%. Begitu pula pada perlakuan S2R2, kadar pH menurun menjadi 4, dan kadar alkoholnya sebesar 5%. Selanjutnya pada perlakuan S2R3 diamati pada hari ke-3 sampel mengandung kadar H<sub>2</sub>O sangat banyak dan kadar CO<sub>2</sub> banyak. Kemudian pada hari ke-7 setelah diamati, kadar H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub> dalam sampel sangat banyak dengan pH akhir 4. Kandungan alkohol pada S2R3 setelah diukur yaitu sebesar 6% (Tabel 1). Secara kualitatif ditinjau dari aroma pada ketiga sampel, pada perlakuan S2R1 memiliki bau yang sedikit basi, pada perlakuan S2R2 memiliki aroma menyerupai tape, sedangkan pada perlakuan S2R3 memiliki aroma menyerupai tape lebih kuat dari S2R2. Aroma tape tersebut menandakan adanya kandungan alkohol pada substrat.

### 3.1. Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH menjadi salah satu faktor penting dapat yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme serta pembentukan produk dalam proses fermentasi. Hal ini dikarenakan setiap mikroorganisme memiliki kisaran pH optimum terhadap kondisi lingkungan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan S1R1 hari ke-3 memiliki pH 6 sedangkan hari ke-7 menurun menjadi 5. Pada perlakuan S1R2 hari ke-3 pH 6 dan Hari ke-7 menurun menjadi 4. Perlakuan S1R3 hari ke-3 pH 6 dan hari ke-7 menurun menjadi 4. Sedangkan, pada perlakuan S2R1 memiliki pH 6 dan hari ke-7 menurun menjadi 4. Perlakuan S2R2 hari ke-3 memiliki pH 6 dan hari ke-7 menurun menjadi 3. Perlakuan S2R3 hari ke-3 pH 6 dan hari ke-7 menurun menjadi 4 (Tabel 1). Pada perlakuan yang mengalami penurunan dikarenakan proses fermentasi menghasilkan gas CO<sub>2</sub> yang terlarut bersifat asam (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Terjadinya penurunan pH dikarenakan fermentasi menghasilkan asam organik. Hal ini sejalan dengan penelitian Fadilah [10] bahwa akibat dari proses fermentasi yang menghasilkan asam organik oleh mikroba menyebabkan penurunan keasaman. Asam organik tersebut meliputi asam asetat, asam laktat dan asam sitrat. Peningkatan pH disebabkan oleh yeast yang mengalami fase pertumbuhan, sehingga terjadi perombakan gula menjadi etanol yang sangat cepat. Dampak dari hal ini yaitu jumlah gugus OH<sup>-</sup> meningkat sehingga pH juga meningkat yang mengakibatkan terjadinya penguraian gula menjadi etanol. Etanol memiliki gugus OH yang bersifat basa.

### 3.2. Produksi Gas (CO<sub>2</sub>)

Indikator terjadinya proses fermentasi ditandai dengan adanya produksi gas CO<sub>2</sub> pada substrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan S1R2 hari ke-3 memiliki kadar CO<sub>2</sub> yang sedikit, sedangkan hari ke-7 kadar CO<sub>2</sub> bertambah banyak. Pada perlakuan S1R3 hari ke-3 memiliki kadar CO<sub>2</sub> yang banyak dan tidak mengalami perubahan kadar CO<sub>2</sub> pada hari ke-7. Pada perlakuan S2R2 hari ke-3 memiliki kadar CO<sub>2</sub> yang sedikit dan tidak mengalami perubahan kadar CO<sub>2</sub> pada hari ke-7. Pada perlakuan S2R3 hari ke-3 memiliki kadar CO<sub>2</sub> yang banyak, sedangkan pada hari ke-7 berubah menjadi sangat banyak (Tabel 1). Menurut Azizah [11] menyatakan bahwa seiring bertambahnya waktu fermentasi

maka produksi gas CO<sub>2</sub> akan meningkatkan yang berbanding terbalik dengan kadar alkohol. Lamanya proses fermentasi, menyebabkan gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk akan semakin banyak. Banyaknya gelembung atau busa pada erlenmeyer tidak menandakan tingginya kadar alkohol. Gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi dapat menghambat aktivitas mikroba itu sendiri sehingga kadar alkoholnya menurun.

### 3.3. Suhu

Selain adanya produksi gas CO<sub>2</sub>, proses fermentasi ditandai dengan adanya kenaikan suhu pada substrat (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan S2R1 pada hari ketiga memiliki suhu sebesar 26,9 °C dan pada hari ke enam memiliki suhu yang sama hal ini terjadi karena pada perlakuan tersebut merupakan perlakuan kontrol dikarenakan tidak ada aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembentukan alkohol. Pada perlakuan S2R2 pada hari ketiga memiliki suhu 26,4°C dan pada hari ke enam memiliki suhu 25,8 °C dan pada perlakuan S2R3 pada hari ketiga memiliki suhu 24,4 °C dan pada hari ke enam memiliki suhu 24,2 °C pada kedua perlakuan S2R2 dan S2R3 dengan penambahan fermipan sehingga terjadi aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* sehingga terjadi penurunan suhu. Semakin rendah suhu fermentasi maka semakin banyak alkohol yang dihasilkan.

### 3.4. Kadar Gula

Kadar gula buah semangka lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar gula pada jeruk seharusnya kadar alkohol pada buah semangka lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar alkohol buah jeruk. Menurut Kusmawati [5], proses perombakan gula sukrosa untuk menghasilkan alkohol yang merupakan kelompok disakarida dilakukan secara bertahap dengan menggunakan dua enzim dari khamir. Khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* memiliki enzim yang dapat mencerna jenis gula disakarida dimana enzim invertase akan memecah gula disakarida menjadi monosakarida. Secara umum, terjadi peningkatan kadar alkohol selama fermentasi selama 7 hari dengan penambahan konsentrasi sukrosa yang semakin meningkat pula. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sukrosa bawaan pada buah dapat dimanfaatkan oleh khamir secara optimal. Faktor yang dapat mempengaruhi khamir dalam memproduksi alkohol adalah nutrisi dalam media selama media cukup sehingga enzim pada ragi aktif untuk membentuk alkohol.

### 3.5. Kandungan Alkohol

Kadar alkohol pada perlakuan kontrol (R1) atau tanpa fermipan pada kedua substrat jeruk dan semangka, tidak menghasilkan alkohol. Hal tersebut dikarenakan tidak ada pemberian Fermipan dan tidak ada pula proses fermentasi yang terjadi. Kemudian perlakuan S2R2 dan S2R3 menghasilkan alkohol dengan selisih 1%. Kandungan alkohol S2R2 sebesar 5% dan S2R3 sebesar 6%. Sedangkan pada sampel larutan semangka perlakuan R2 dan R3 menghasilkan 0% alkohol, dikarenakan pada pengukuran menggunakan alkoholmeter memang menunjukkan hasil 0. Hal ini tidak sejalan dengan hasil kualitatif meliputi aroma yang dibau saat pengamatan. Aroma pada S1R2 dan S1R3 yaitu menyerupai aroma tape yang seharusnya menandakan adanya alkohol yang dihasilkan pada proses fermentasi.

## 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa kadar alkohol dengan substrat jeruk lebih tinggi dibanding semangka. Aktivitas fermentasi alkohol lain seperti pH, CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O juga menguatkan data bahwa substrat jeruk lebih aktif dibandingkan pada

substrat semangka. Konsentrasi ragi semakin banyak (sampai 2%) menghasilkan kadar alkohol dan aktivitas fermentasi alkoholik lebih tinggi.

## Referensi

- [1] Suprihatin, *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA Press, 2010.
- [2] T. Khazalina, "Saccharomyces cerevisiae in making halal products based on conventional biotechnology and genetic engineering," *Journal of Halal Product and Research*, vol. 3, no. 2, p. 88, Nov. 2020, doi: 10.20473/jhpr.vol.3-issue.2.88-94.
- [3] K. Nifa, I. K. Dewi, and T. Lestari, "Uji aktivitas antioksidan lotion ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil)," *Borobudur Pharmacy Review*, vol. 3, no. 1, pp. 8–14, 2023, doi: 10.31603/bphr.v3i1.8835.
- [4] H. Afrianti, *Teknologi Pengawetan Pangan*. Bandung: Alfabeta, 2013.
- [5] S. Kusmawati, H. Rizqiati, Nurwantoro, and S. Susanti, "Analisis Kadar Alkohol, Nilai pH, Viskositas dan Total Khamir pada Water Kefir Semangka Semangka dengan Variasi Konsentrasi Sukrosa," *Jurnal Teknologi Pangan*, vol. 4, no. 2, pp. 127–130, 2020, doi: 10.14710/jtp.2020.24157.
- [6] H. Tandipayuk and S. Aslamyah, "Fermentasi tepung ampas tahu dengan cairan mikroorganisme mix. Sebagai bahan baku pakan," *Jurnal Agrokomples*, vol. 9, no. 1, pp. 9–15, 2020.
- [7] H. D. Faridah and S. K. Sari, "Pemanfaatan mikroorganisme dalam pengembangan makanan halal berbasis bioteknologi," *Journal of Halal Product and Research*, vol. 2, no. 1, pp. 33–43, 2019.
- [8] Pracaya, *Jeruk Manis, Varietas, Budidaya dan Pascapanen*. Jakarta: Penebar Swadaya, 2020.
- [9] M. F. Sari and R. H. Catarina, "Perbandingan Karakteristik Minuman Probiotik Semangka (*Citrullus lanatus*) Dengan Variasi Jenis Semangka Merah Dan Kuning Menggunakan Starter *Lactobacillus casei* Strain Shirota," *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, pp. 25–33, Jun. 2020, doi: 10.24002/biota.v5i1.2945.
- [10] U. Fadilah, I. M. M. Wijaya, and N. S. Antara, "Pengaruh pH Awal Media dan Lama Fermentasi pada Proses Produksi Etanol dari Hidrolisat Tepung Biji Nangka dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*," *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, vol. 6, no. 2, p. 92, Apr. 2018, doi: 10.24843/JRMA.2018.v06.i02.p01.
- [11] N. Azizah, A. N. Al-Barrii, and S. Mulyani, "Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas," *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, vol. 1, no. 3, 2012.



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