

PUSAT ANTAR UNIVERSITAS PANGAN DAN GIZI  
UNIVERSITAS GADJAH MADA

**TEKNOLOGI**  
**PENGOLAHAN**  
**MINUMAN**  
**BERALKOHOL**



ENDANG SUTRISWATI RAHAYU  
KAPTI RAHAYU KUSWANTO

PUSAT ANTAR UNIVERSITAS PANGAN DAN GIZI  
UNIVERSITAS GADJAH MADA

*J. Sutriswati*

6/5/1991

**TEKNOLOGI**  
**PENGOLAHAN**  
**MINUMAN**  
**BERALKOHOL**

ENDANG SUTRISWATI RAHAYU  
KAPTI RAHAYU KUSWANTO

## KATA PENGANTAR

Salah satu program kegiatan akademik Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi adalah pengembangan bahan tulisan untuk keperluan proses belajar mengajar di Perguruan Tinggi. Bahan-bahan tulisan yang dikembangkan tersebut termasuk buku teks, bahan kuliah dan petunjuk analisa laboratorium.

Di samping bahan-bahan tulisan tersebut, dikembangkan juga bahan pengajaran berupa model (mesin pengolahan, program komputer, model struktur kimia dan lain-lain) dan audio visual aids.

Untuk penyebarluasan bahan tulisan yang sudah siap, maka dilakukan penggandaan yang hasilnya seperti buku ini. Penyebarluasan buku ini juga dimaksudkan sebagai usaha uji coba, sehingga diharapkan masukan dari para pemakai mengenai isinya. Dengan rendah hati kami mohon para pemakai untuk menyampaikan komentar, usul atau kritik demi perbaikan buku ini kepada Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.

Atas partisipasi dan perhatian saudara semua, saya ucapkan terima kasih. Semoga usaha kita bersama dalam peningkatan pendidikan tinggi ada hasilnya.

Yogyakarta, Juni 1988

**Slamet Sudarmadji**

Direktur

Alamat :

PAU Pangan dan Gizi  
Fakultas Pasca Sarjana Unit IV  
Universitas Gadjah Mada  
Bulaksumur - Yogyakarta  
Telpon : (0274) 88688 psw 409.

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
I. PENDAHULUAN .....	1
A. Mikrobia Penghasil Etanol .....	3
B. Substrat Fermentasi Etanol .....	5
C. Metabolisme Fermentasi Etanol .....	8
II. MINUMAN BERALKOHOL TANPA DISTILASI .....	13
A. Bir .....	15
B. Anggur .....	45
C. Brem Bali .....	60
D. <b>Pulque</b> .....	62
III. MINUMAN BERALKOHOL HASIL DISTILASI .....	64
A. Wiski .....	65
B. Brendi .....	86
C. Rum .....	91
DAFTAR PUSTAKA .....	96

## DAFTAR TABEL

Halaman

1. Khamir penghasil etanol (1% w/v) dan karbohidrat utama yang digunakan sebagai substrat .....	4
2. Bakteri penghasil etanol (1 % w/v) dan karbohidrat utama yang digunakan sebagai substrat .....	5
3. Komposisi kecambah <b>barley</b> .....	21
4. Daftar enzim yang terdapat di dalam kecambah <b>barley</b>	22
5. Komposisi kimia zat padat pada cairan fermentasi ..	40
6. Hasil analisis komposisi bir dan ale .....	43
7. Komposisi cairan buah anggur dan anggur .....	49
8. Spesifikasi <b>pulque</b> .....	63
9. Komposisi melase .....	92

## DAFTAR GAMBAR

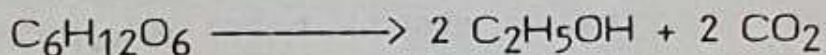
### Halaman

1. Penggunaan senyawa gula oleh genus <i>Saccharomyces</i>	7
2. Pembentukan etanol dari glukosa melalui jalur Embden Meyerhof-Parnas .....	9
3. Pembentukan etanol dan laktat dari glukosa dan xilosa melalui jalur fermentasi heterolaktik .....	11
4. Jalur perubahan D-xilosa menjadi D-xilulosa .....	11
5. Pembentukan etanol dari glukosa melalui jalur Entner-Doudoroff .....	12
6. Klasifikasi minuman beralkohol tanpa distilasi .....	14
7. Diagram alir volume pada proses perbanyakan sel khamir <i>S. carlbergensis</i> .....	25
8. Grafik hubungan antara suhu dan waktu pada proses pemasakan .....	33
9. Beberapa perubahan yang terjadi selama fermentasi bir .....	35
10. Diagram alir proses pembuatan anggur .....	46
11. Klasifikasi minuman beralkohol dengan distilasi .....	66

## PENDAHULUAN

Produksi etanol oleh mikrobia selama proses fermentasi pada substrak gula atau bahan berpati telah ada sejak jaman dahulu kala, sebagai contoh pada proses pembuatan anggur, bir dan roti. Dari catatan sejarah proses pembuatan anggur<sup>anggur</sup> maupun roti telah ada pada tahun 2000 Sebelum Masehi. Istilah fermentasi, yang dalam bahasa Latinnya disebut **fervere**, pada mulanya berarti buah (**to be boiled**). Istilah ini digunakan untuk peristiwa berbuih yang terjadi pada perubahan air buah-buahan menjadi anggur secara spontan. ✓

Fermentasi alkohol ini untuk pertama kalinya dipelajari oleh ahli kimia bangsa Perancis, Lavoiser pada tahun 1789, yang pada waktu itu terjadi secara alami. Di dalam studi kuantitatifnya, pada fermentasi ini ditemukan bahwa selain dihasilkan alkohol dan karbon dioksida, terdapat pula produk lain yang disebut sebagai asam asett. Dari 95,5 % bagian gula diperoleh hasil fermentasi 57,5 % etil alkohol, 33,3 % karbon dioksida dan 2,5 % asam asetat. Lebih lanjut pada tahun 1810 Gay Lussac memperkenalkan persamaan reaksi yang dikenal sebagai persamaan Gay lussac, yaitu :



Dengan diperolehnya persamaan ini, maka istilah fermentasi kemudian diartikan sebagai perubahan gula menjadi alkohol dan gas karbon dioksida.

Para ahli juga menduga bahwa pada proses fermentasi ada suatu kehidupan, yaitu dengan adanya **Saccharomyces**. Kata ini berasal dari Mesir, **sakharos** artinya gula dan **mycos** artinya fungi (jamur). Namun demikian seorang ahli kimia bangsa Jerman, Liebig menganggap bahwa khamir tidak berperan di dalam proses fermentasi, sampai akhirnya Pasteur orang Perancis pada tahun 1857 membuktikan bahwa memang ada sesuatu yang hidup di dalam proses fermentasi. Dia juga membuktikan kebenaran persamaan Gay Lussac, tetapi juga

menunjukkan adanya hasil samping lain yang tidak terhitung di dalam persamaan tersebut. Di antara hasil samping tersebut, yang sering ada adalah gliserol, asam asetat, asam laktat dan aldehida. Pasteur menunjukkan bahwa dari 100 bagian sukrosa dipecah menjadi 105,4 bagian gula invert, yang lebih lanjut dihasilkan 51,1 bagian alkohol, 49,4 bagian karbon dioksida, 3,2 bagian gliserol, 0,7 bagian asam suksinat dan 1 bagian substansi alkohol yang lain. Dari hasil penelitiannya lebih lanjut diperoleh hasil bahwa udara (oksigen) tidak berperan dalam proses fermentasi, sehingga istilah fermentasi diartikan sebagai kehidupan tanpa oksigen (*life without air*). Walaupun ternyata istilah ini kemudian kurang tepat karena ada beberapa strain khamir yang tidak mampu hidup pada kondisi yang anaerob.

Pada tahun 1879, Buchner menemukan bahwa proses fermentasi ternyata tidak harus dilakukan oleh sel hidup, ekstrak bebas sel yang diambil dari khamir juga mampu mengubah glukosa menjadi etanol. Penelitian ini sangat penting artinya karena penelitian menggunakan sistem bebas sel relatif lebih mudah apabila dibandingkan dengan menggunakan sel hidup. Pada penelitian menggunakan sel hidup kemungkinan ada beberapa komponen yang tidak dapat dipindahkan ke dalam membran sel sehingga reaksi juga tidak terjadi.

Pada awal abad ke 20, setelah melalui berbagai penelitian yang banyak menggunakan ekstrak bebas sel, para ahli biokimia menemukan bahwa perubahan glukosa menjadi etanol berlangsung dalam beberapa tahap reaksi, yang masing-masing tahap dikatalisis oleh enzim. Perubahan ini dikenal dengan nama jalur glikolisis dan fermentasi alkohol yang disusun oleh Embden, Meyerhof dan Parnas, yang lebih lanjut dikenal dengan istilah jalur EMP. Istilah fermentasi sendiri kini lebih diartikan sebagai proses metabolisme, yaitu proses terjadinya perubahan kimia pada substrat organik oleh karena aktivitas enzim yang dihasilkan mikrobia.

Pada mulanya alkohol hanya dikenal sebagai minuman dengan konsentrasi etanol relatif rendah sesuai dengan etanol yang dihasilkan selama fermentasi misalnya pada anggur maupun bir. Tetapi setelah dikembangkan pula teknik distilasi



sehingga konsentrasi etanol dapat ditingkatkan kegunaan etanol elbih bervariasi. Kecuali sebagai minuman etanol murni hasil distilasi dapat digunakan sebagai solven untuk kepentingan laboratorium, obat-obatan maupun kosmetika, sebagai ko-surfaktan pada mikroemulsi antara minyak dan air, sebagai antiseptik dan bahkan kini digunakan pula sebagai bahan bakar baik dalam bentuk alkohol murni atau setelah dicampur dengan gasolin. Namun demikian konsumsi alkohol yang paling besar adalah dalam bentuk minuman.

Kini ilmu fermentasi telah berkembang dengan cepat dan proses metabolisme pada mikrobia yang aktif berperanan dapat digunakan secara efisien. Hasil nyata telah diperoleh dari berbagai studi tentang fermentasi alkohol antara lain : kecepatan pembentukan produk fermentasi dapat ditingkatkan, kualitas dan keseragaman produk dapat dipelihara serta diperoleh keseragaman proses.

### A. Mikrobia Penghasil Etanol

Khamir yang dalam bahasa Inggris disebut **yeast** dan bahasa Jerman disebut **gist** berasal dari istilah Greek yaitu **zestos** yang berarti mendidih, pada mulanya istilah ini digunakan untuk pembentukan buih yang disebabkan oleh timbulnya gas karbon dioksida selama fermentasi. Khamir pada awalnya lebih diartikan sebagai sesuatu yang mempunyai kemampuan untuk melakukan fermentasi. Namun kini istilah khamir digunakan untuk salah satu jenis mikrobia yang termasuk dalam jamur yang ber sel tunggal, yang biasanya bereproduksi melalui **budding** atau kadang-kadang fision. Khamir ini merupakan salah satu jenis mikrobia yang paling efektif sebagai penghasil etanol. Walaupun ternyata diketemukan pula beberapa bakteri dan jamur yang juga mempunyai kemampuan menghasilkan etanol.

Di dalam produksi etanol, agar diperoleh proses yang benar-benar efektif, mikrobia yang digunakan harus mempunyai karakteristik, antara lain :

1. Mempunyai kemampuan fermentasi yang cepat terhadap karbohidrat yang relevan.

2. Mempunyai kemampuan melakukan flokulasi dan sedimentasi.
3. Genetiknya stabil.
4. Osmotoleran, terutama terhadap larutan karbohidrat dengan konsentrasi tinggi.
5. Toleran terhadap etanol dan mempunyai kemampuan untuk menghasilkan etanol dengan konsentrasi tinggi.
6. Sel mempunyai kemampuan hidup yang tinggi sehingga dapat digunakan berulang-ulang.
7. Toleran terhadap suhu. *tinggi*

Ada sejumlah mikrobia yaitu khamir dan bakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghasilkan etanol ( 1% w/v) seperti terlihat pada tabel 1 dan 2. Namun demikian, pada saat ini 95 % dari fermentasi etanol melibatkan penggunaan

Tabel 1. Daftar khamir, penghasil etanol ( 1 % w/v) dan karbohidrat utama yang digunakan sebagai substrat.

Khamir	Karbohidrat
<b>Saccharomyces cerevisiae</b> dan <b>S. uvarium</b> ( <b>S. carlbergensis</b> ) <b>S. diastaticus</b>	Glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, maltotriosa dan xilulosa
<b>S. rouxii</b> (osmofilik)	Glukosa, fruktosa, maltosa, dan sukrosa.
<b>Kluyveromyces fragilis</b> dan <b>K. lactis</b>	Glukosa, galaktosa dan laktosa.
<b>Candida tropicalis</b>	Glukosa, xilosa dan xilulosa.
<b>C. pseudotropicalis</b>	Glukosa, galaktosa dan laktosa.
<b>Pachysolen tannophilus</b>	Glukosa dan xilulosa
<b>Schwanniomyces alluvius</b>	Dekstrin dan pati
<b>S. castellii</b>	Dekstrin dan pati
<b>Endomycopsis fibuligera</b>	Dekstrin dan pati

Sumber : Stewart dkk, 1984.

spesies **Saccharomyces cerevisiae** dan spesies yang ada hubungannya dengan spesies ini.

Sumber lain menyebutkan bahwa khamir **Pichia wickerhamii** juga mempunyai kemampuan untuk memfermentasi D-xilosa dan selobiosa menjadi etanol, khamir yang lain yaitu **Kluveromyces marxianus** bahkan mampu menghidrolisis inulin menjadi etanol. Beberapa jamur ternyata juga mempunyai kemampuan sebagai penghasil etanol, misalnya **Fusarium sp.** dan **Rhizopus sp** dan bahan dasar D-xilosa, **Mucor sp** dari D-xilosa dan L-arabinosa serta **Monilia sp** dari selulosa dan xilan.

Tabel 2. Bakteri penghasil etanol ( 1% w/v) dan karbohidrat utama yang digunakan sebagai substrat

Bakteri	Karbohidrat
<b>Zymomonas mobilis</b>	Glukosa, fruktosa dan sukrosa
<b>Clostridium thermocellum</b> (termofilik)	Glukosa, selobiosa dan selulosa
<b>C. thermohydrosulfuricum</b> (termofilik)	Glukosa, xilosa, selobiosa, sukrosa dan pati.
<b>Thermoanaerobium brockii</b>	Glukosa, sukrosa, selobiosa dan pati.
<b>Thermobacteriodes acetoethylicus</b> (termofilik)	Glukosa, sukrosa dan selulosa

Sumber : Stewart dkk, 1984.

### B. Substrat Fermentasi Etanol

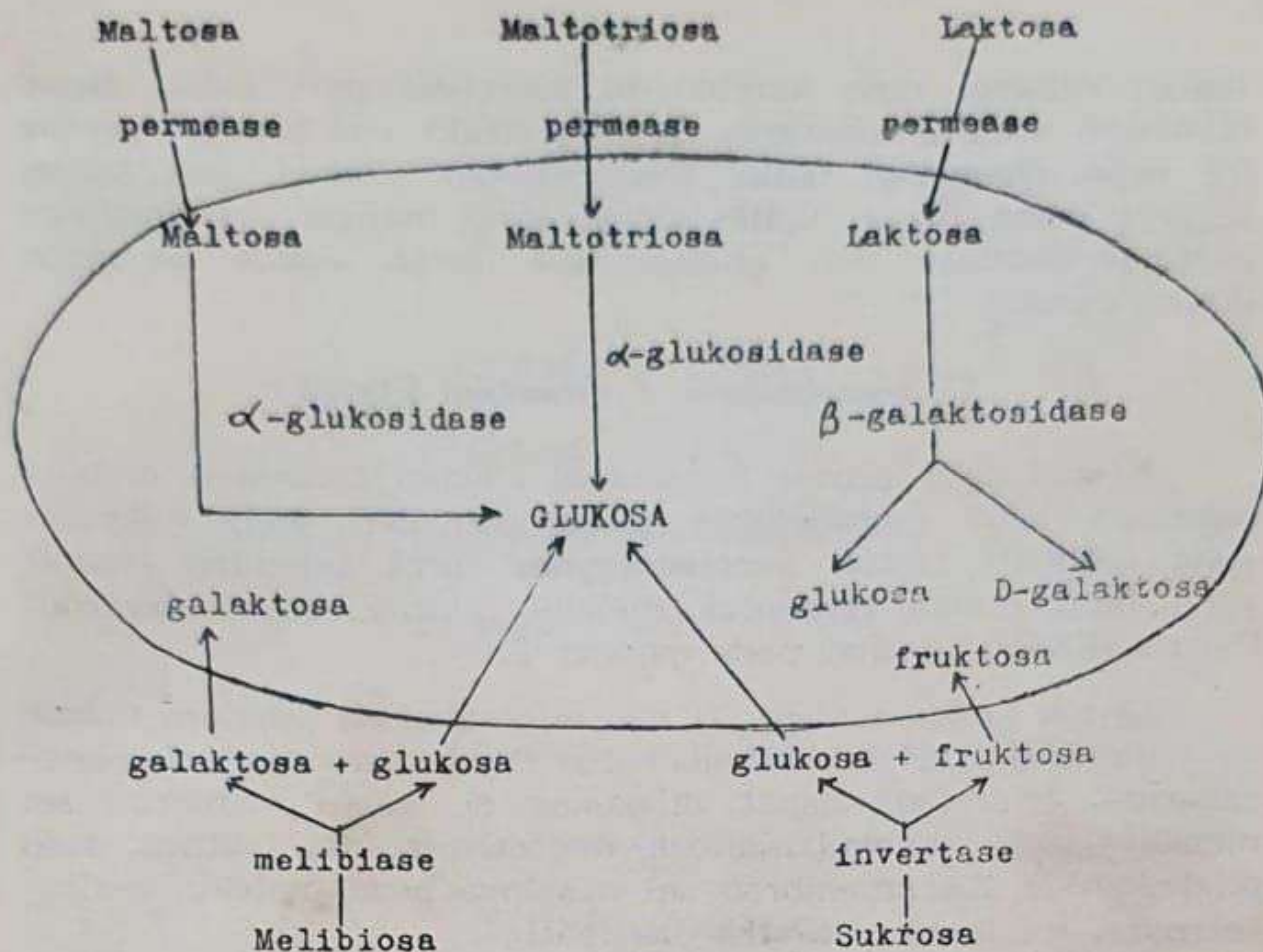
Bahan dasar yang dapat digunakan untuk fermentasi alkohol dapat dibagi dalam tiga golongan. Pertama, bahan yang mengandung sakarida sederhana misalnya air buah-buahan, gula tebu, gula bit, tetes dan madu. Kedua bahan berpati misalnya biji-bijian, kacang, ubi jalar dan ketela pohon. Ke-

tiga, bahan yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin. misalnya tanaman berserat dan ampas tahu.

Dari tabel 1 terlihat bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces* yang lain mempunyai kemampuan untuk mengfermentasi bermacam-macam gula yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, galaktosa, manosa, maltosa dan maltotriosa. Bahkan *S. diastaticus* mampu menggunakan dekstrin. Tahap permulaan penggunaan gula oleh khamir dilakukan melalui dua cara, pertama yaitu pemindahan senyawa gula ke dalam membran sel, kedua menghidrolisis senyawa gula di luar sel dan diikuti dengan pemindahan hasil hidrolisis ke dalam membran sel. Maltosa dan maltotriosa merupakan gula yang langsung dapat dipindahkan ke membran sel dengan sistem permiasis. Di dalam membran sel, maltosa dan maltotriosa dipecah menjadi glukosa oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase. Demikian pula laktosa, yang dapat digunakan oleh *Kluyveromyces fragilis* dan *K. lactis*, dapat langsung dipindahkan ke membran sel oleh sistem laktosa permeasis. Laktosa lebih lanjut dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim  $\alpha$ -galaktosidase.

Melibiosa dan sukrosa adalah contoh gula yang tidak dapat dipindahkan langsung ke dalam membran sel. Melibiosa dihidrolisis terlebih dahulu oleh enzim melibiase menjadi galaktosa dan glukosa sedang sukrosa oleh enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa, lebih lanjut monosakarida hasil hidrolisis ini dipindah dalam membran sel (gambar 1).

Malt<sup>R</sup>otiosa, dekstrin dan pati ternyata juga tidak dapat dipindahkan ke dalam membran sel, namun demikian ada beberapa jenis mikrobia yang mampu menghasilkan enzim-ekstraseluler pemecah senyawa ini. Enzim yang mampu menghidrolisis pati ada beberapa jenis, yaitu enzim  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -1,4 glukon 4-glukanohidrolase) yang menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 glukosidik secara random dengan hasil glukosa, maltosa, maltotriosa, maltotetraosa maupun polisakarida yang berat molekulnya lebih rendah (dekstrin). Enzim  $\beta$ -amilase ( $\alpha$ -1,4 glukon maltohidrolase) menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 glukosidik mulai dari terminal yang tidak reduktif dengan hasil unit maltosa. Baik enzim  $\alpha$  maupun  $\beta$  amilase tidak mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis ikatan cabang  $\alpha$ -1,6 gluco-



Gambar 1. Penggunaan senyawa gula oleh genus **Saccharomyces**  
 Sumber : Stewart dkk, 1984.

sidik pada molekul pati. Namun demikian ada beberapa enzim misalnya pululanase dan R-enzim yang mampu menghidrolisis ikatan cabang  $\alpha$  -1,6 glukosidik yang terdapat pada amilopektin. Yang terakhir adalah enzim glukoamilase yang disebut juga amiloglukosidase ( $\alpha$  -1,4 glukon glukonohidrolase) yang mempunyai kemampuan memecah ikatan  $\alpha$  -1,4 pada pati mulai dari terminal tidak reduktif dengan hasil glukosa.

**Saccharomyces diastaticus** adalah spesies khamir yang mempunyai kemampuan menggunakan dekstrin dan pati, karena spesies ini mampu memproduksi enzim glukoamilase ekstraseluler. Karena enzim glukoamilase ini tidak mampu memecah ikatan  $\alpha$  -1,6 glukosidase pada amilopektin dan khamir ini tidak menghasilkan enzim  $\alpha$  -amilase dan enzim pemecah

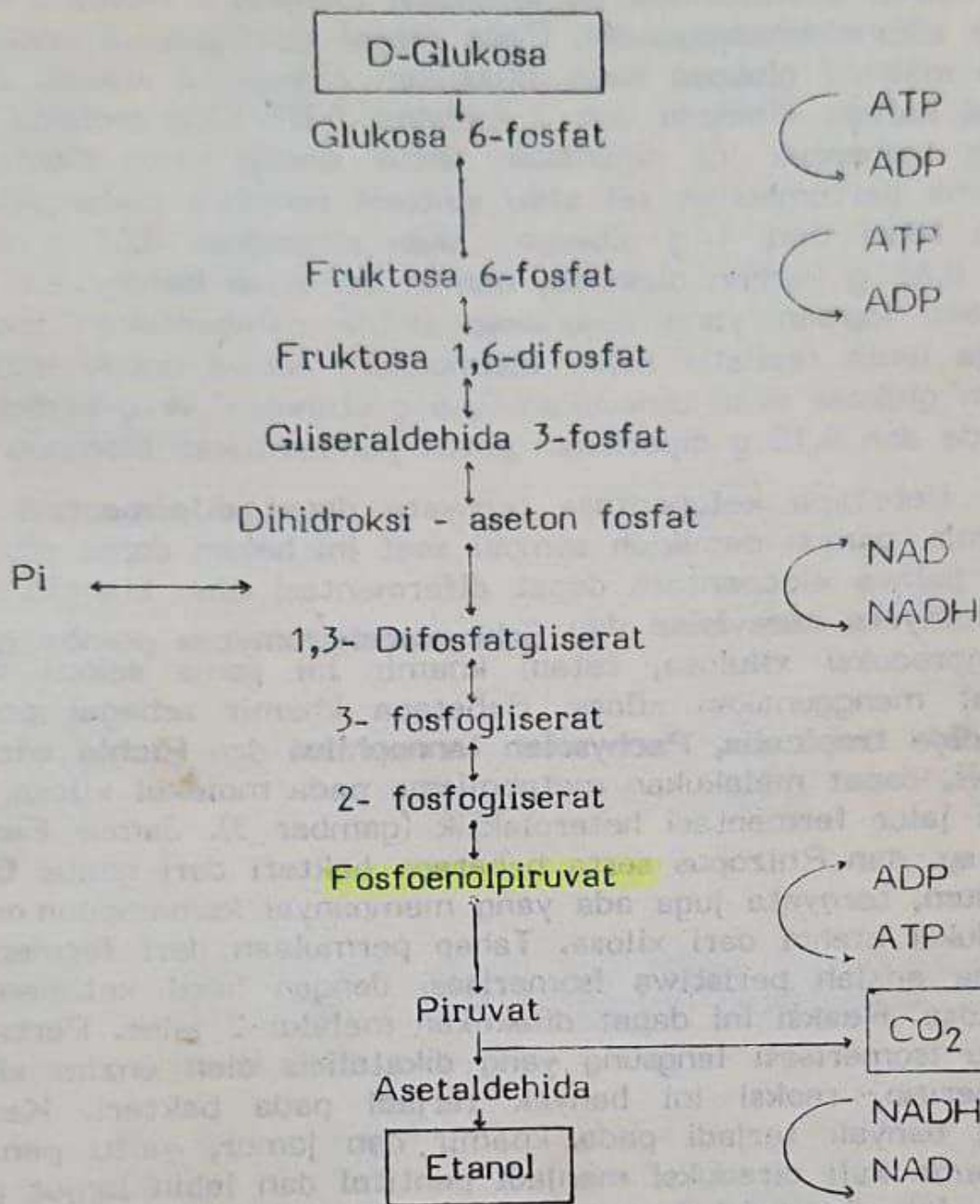
ikatan cabang, oleh karena itu hidrolisis pati tidak dapat dilakukan secara sempurna. Apabila strain dari **Saccharomyces** ini akan digunakan untuk menghasilkan alkohol dari bahan berpati maka harus dipilih strain yang mampu menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase serta enzim pemecah ikatan cabang.

### C. Metabolisme Fermentasi Etanol

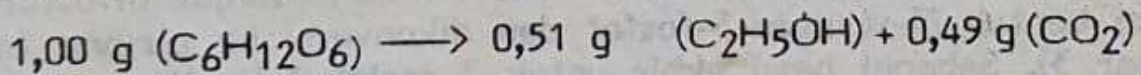
Etanol pada proses fermentasi alkohol terbentuk melalui beberapa jalur metabolisme tergantung dari jenis mikrobia yang terlibat. Untuk **Saccharomyces** serta sejumlah khamir yang lain, etanol terbentuk melalui jalur Embden Meyerhof Parnas (EMP), terlihat pada gambar 2.

Untuk komponen di, tri dan oligosakarida sebelum masuk ke jalur EMP terlebih dahulu harus dihidrolisis menjadi monosakarida. Hidrolisis dapat dilakukan di dalam membran sel misalnya pada molekul maltosa, maltotriosa, dan laktosa, atau dilakukan di luar membran sel misalnya pada molekul malto-tetraosa, melibiosa, dekstrin dan pati.

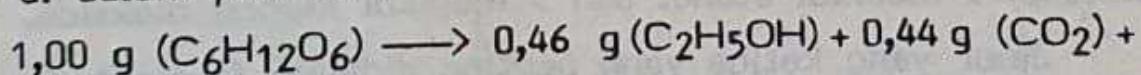
Monosakarida D-glukosa, D-fruktosa dan D-manosa setelah terdapat di dalam membran sel lebih lanjut mengalami fosforilasi oleh enzim yang disebut yeast-heksokinase, dengan hasil heksosa-6-fosfat. Kecepatan transportasi dan fosforilasi dari monosakarida ini tergantung pada jenis monosakaridanya serta strain khamir yang digunakan. Heksosa lain yang dapat difermentasi adalah D-galaktosa, namun diperlukan enzim yang spesifik sebelum masuk ke dalam jalur EMP. Setelah heksosa ini difosforilasi menjadi heksosa-6-fosfat, yaitu reaksi yang membutuhkan 1 molekul ATP, lebih lanjut senyawa ini diubah ke bentuk fruktosa-6-fosfat oleh enzim fosfoheksosa isomerase. Senyawa fruktosa-6-fosfat selanjutnya diubah menjadi fruktosa 1,6 difosfat dengan adanya 1 molekul ATP. Dari reaksi lebih lanjut, dihasilkan 2 molekul asam piruvat dan 4 molekul ATP, sehingga di dalam reaksi glikolisis ini, untuk setiap 1 molekul glukosa dihasilkan 2 molekul ATP. Dua molekul piruvat lebih lanjut dikarboksilasi menghasilkan 2 molekul karbon dioksida dan 2 molekul asetaldehida. Akhirnya



Hasil secara teori :



Hasil di dalam praktek :



Gambar 2. Pembentukan etanol dari glukosa melalui jalur Embden Meyerhof Parnas (EMP)

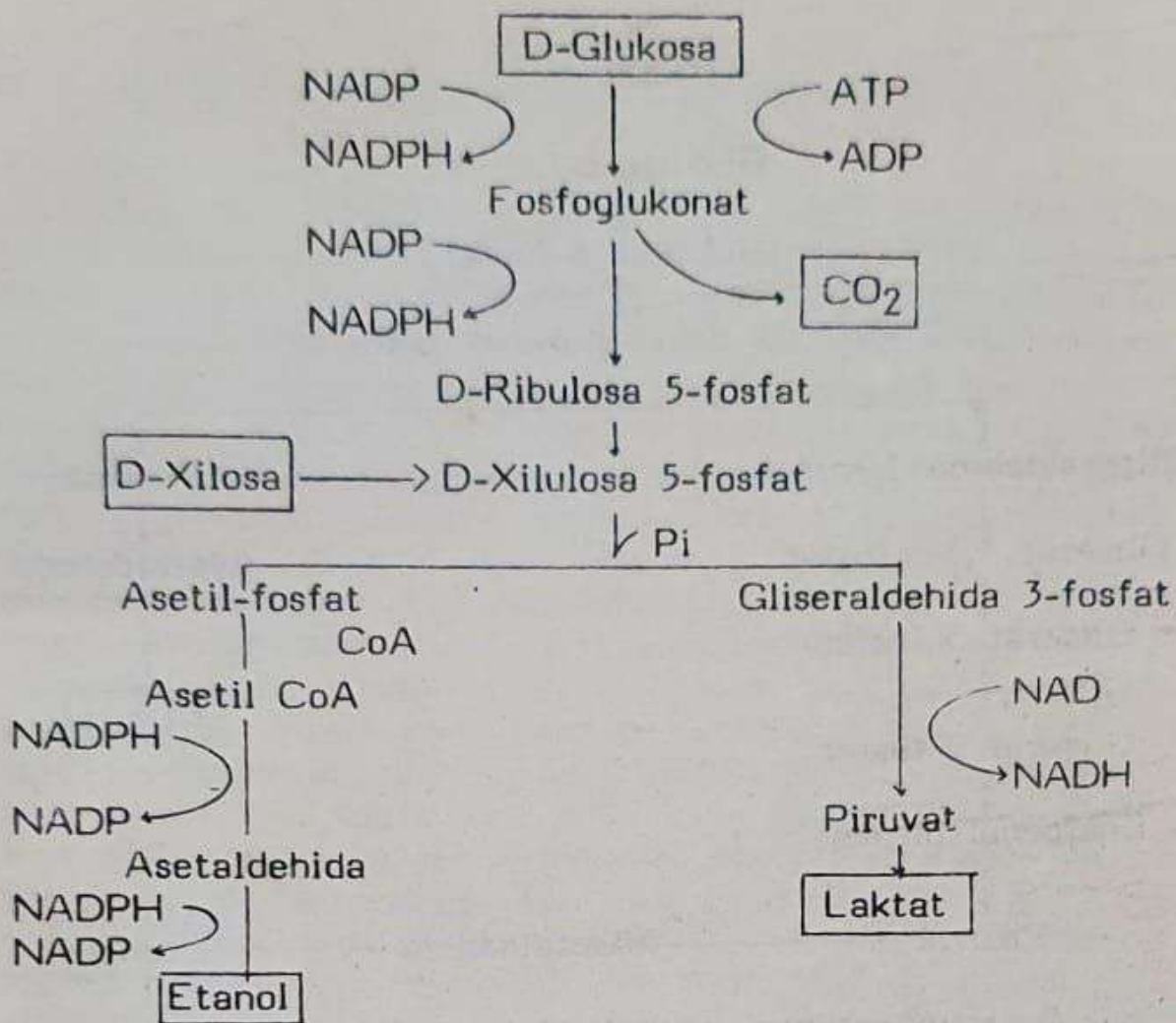
Sumber : Stewart dkk, 1984.

2 molekul esetaldehida ini direduksi menjadi 2 molekul etanol oleh alkoholdehidrogenase. Pada reaksi glikolisis ini untuk setiap molekul glukosa akan dihasilkan 2 molekul etanol, 2 molekul karbon dioksida dan 2 molekul ATP. Dua molekul ATP yang terbentuk ini digunakan untuk energi yang dibutuhkan selama pertumbuhan sel atau sintesis senyawa cadangan. Secara teori dari 1 g glukosa akan dihasilkan 0,51 g etanol dan 0,49 g karbon dioksida, namun demikian karena ada juga sumber karbon yang digunakan untuk pembentukan biomas, maka lebih realistis kalau disimpulkan bahwa untuk setiap 1 gram glukosa akan dihasilkan 0,46 g etanol, 0,44 g karbon dioksida dan 0,10 g diperlukan untuk pembentukan biomas.

Beberapa ketopentosa ternyata dapat difermentasi oleh khamir, namun demikian sampai saat ini belum dapat dibuktikan bahwa aldopentosa dapat difermentasi oleh khamir. **Saccharomyces cerevisiae** dan **Schizosaccharomyces pombe** dapat memproduksi xilulosa, tetapi khamir ini sama sekali tidak dapat menggunakan xilosa. Beberapa khamir sebagai contoh **Candida tropicalis**, **Pachysolen tannophilus** dan **Pichia wickerhamii**, dapat melakukan metabolisme pada molekul xilosa melalui jalur fermentasi heterolaktik (gambar 3). Jamur **Fusarium sp.** dan **Rhizopus** serta beberapa bakteri dari genus **Clostridium**, ternyata juga ada yang mempunyai kemampuan memproduksi etanol dari xilosa. Tahap permulaan dari fermentasi xilosa adalah peristiwa isomerisasi dengan hasil ketopentosa xilulosa. Reaksi ini dapat dilakukan melalui 2 jalur. Pertama, yaitu isomerisasi langsung yang dikatalisis oleh enzim xilosa isomerase, reaksi ini banyak terjadi pada bakteri. Kedua, yang banyak terjadi pada khamir dan jamur, yaitu pentosa pertama kali direduksi menjadi pentitol dan lebih lanjut pentitol ini direoksidasi menjadi pentulosa (gambar 4). Xilulosa yang dihasilkan dalam fermentasi ini lebih lanjut difosforilasi ke bentuk D-xilulosa-5-fosfat dan dikonversi ke piruvat (gambar 3). Sebagai hasil akhir untuk 3 molekul D-xilosa akan dihasilkan 5 molekul etanol dan 5 molekul karbon dioksida.

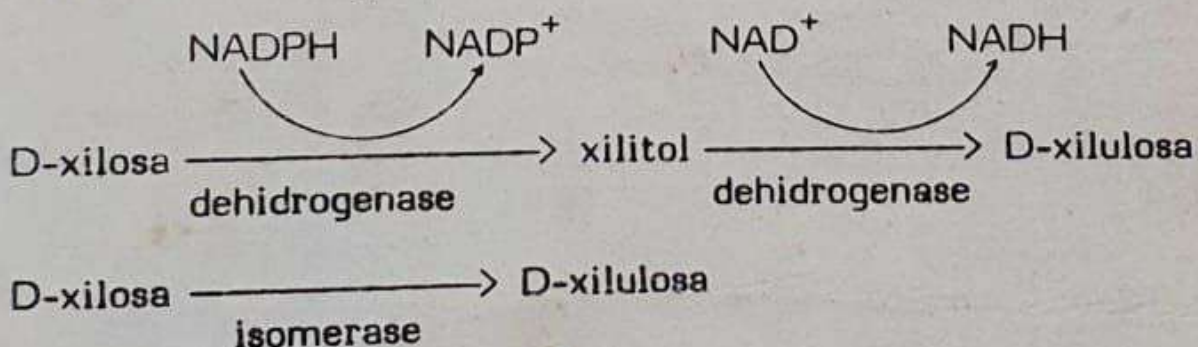
Jalur yang ketiga yang penting didalam fermentasi alkohol adalah jalur Entner-Doudoroff yang dijumpai pada bakteri **Zymomonas mobilis** (gambar 5).





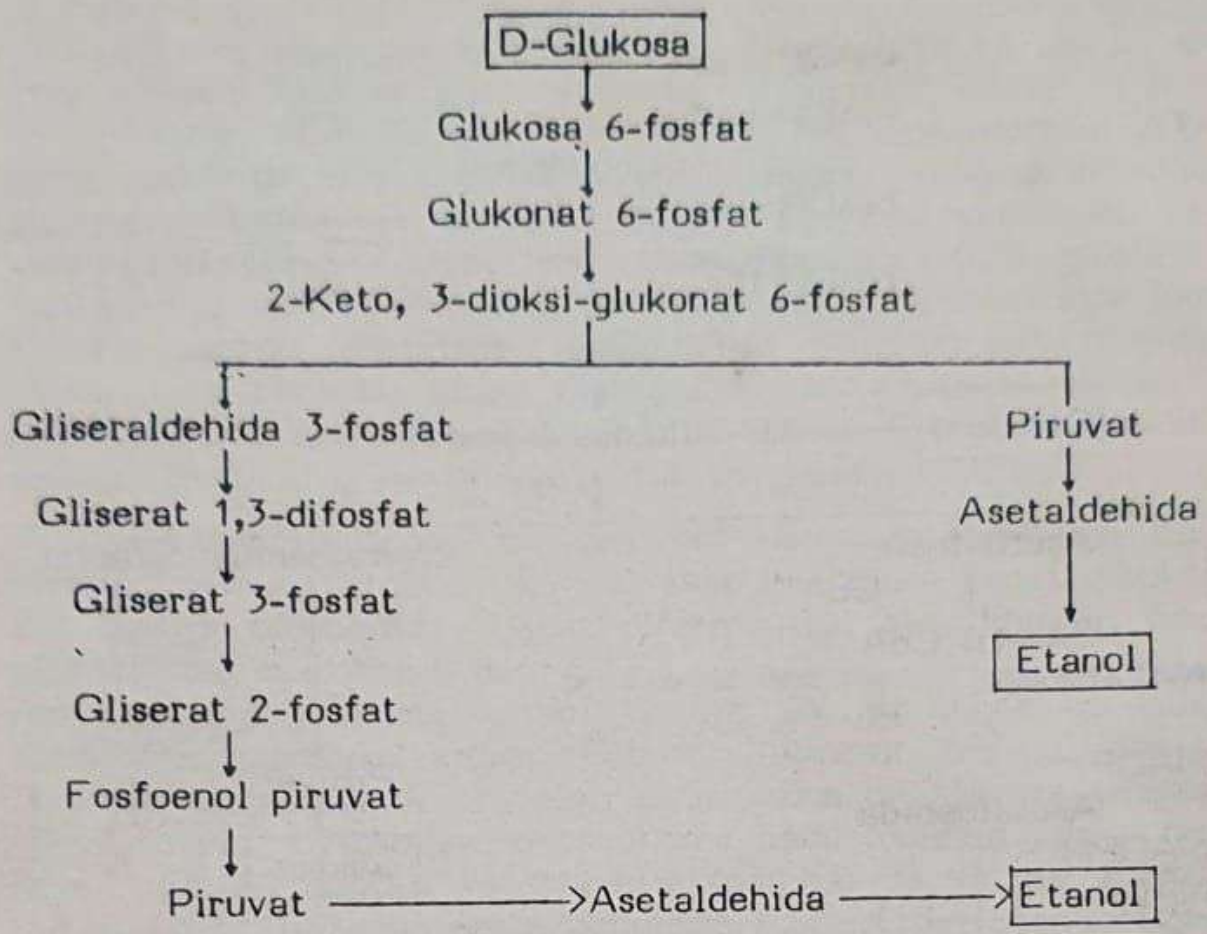
Gambar 3. Pembentukan etanol dan laktat dari glukosa dan xilosa melalui jalur fermentasi heterolaktik.

Sumber : Stewart, 1984.



Gambar 4. Jalur perubahan D-xilosa menjadi D-xilulosa.

Sumber : Enari dan Suihko, 1984.



Gambar 5. Pembentukan etanol dari glukosa melalui jalur Entner-Doudoroff.

Sumber : Stewart dkk, 1984.

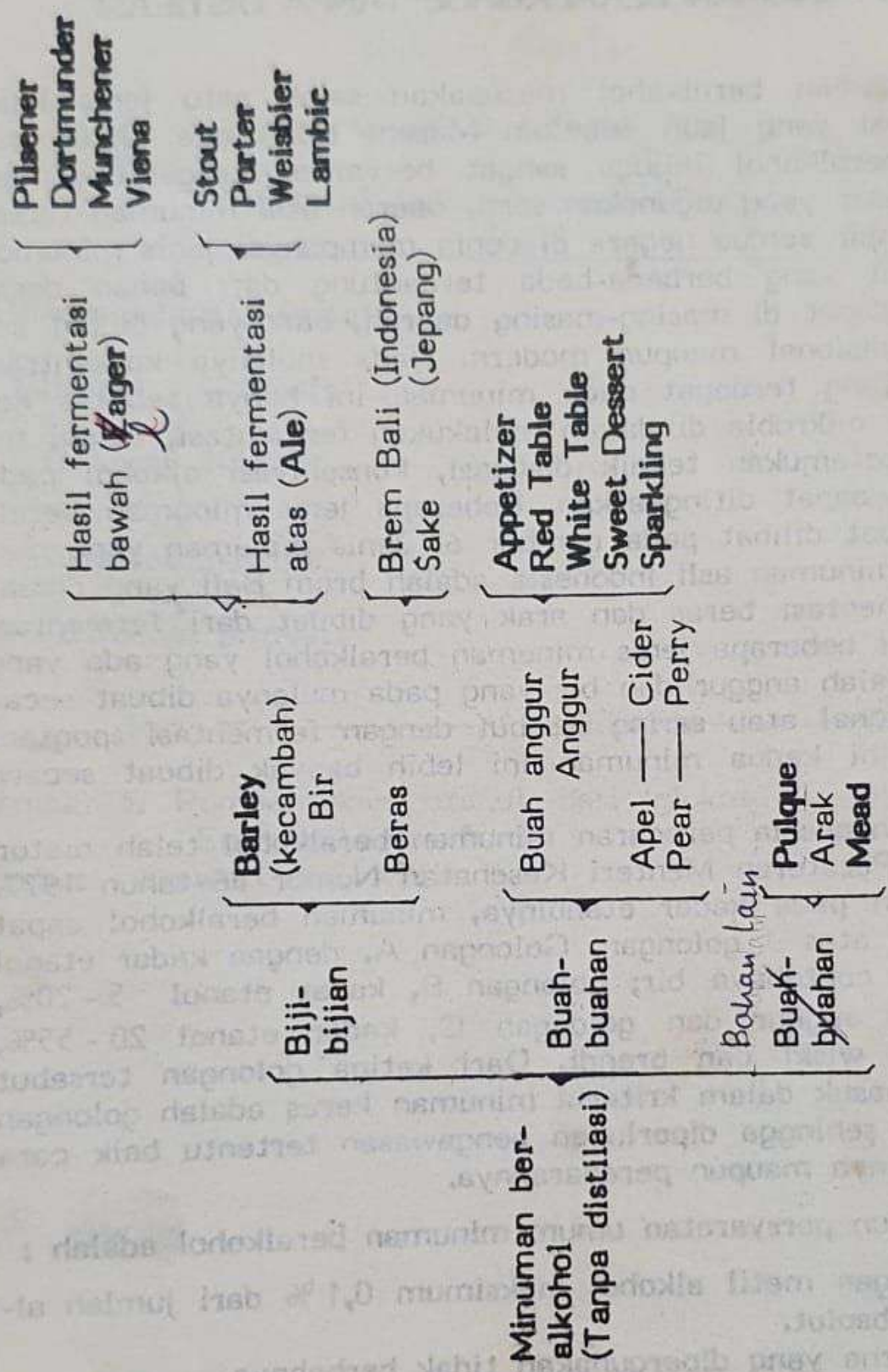
## II. MINUMAN BERALKOHOL TANPA DISTILASI

Minuman beralkohol merupakan salah satu jenis hasil fermentasi yang jauh Sebelum Masehi telah ada. Jenis minuman beralkohol ini juga sangat bervariasi tergantung dari bahan dasar yang digunakan serta daerah asal minuman tersebut. Hampir semua negara di dunia mempunyai jenis minuman beralkohol yang berbeda-beda tergantung dari bahan dasar yang terdapat di masing-masing daerah, baik yang dibuat secara tradisional maupun modern. Pada mulanya konsentrasi alkohol yang terdapat pada minuman ini hanya sebatas kemampuan mikrobial di dalam melakukan fermentasi, tetapi setelah diketemukan teknik distilasi, konsentrasi alkohol pada minuman dapat ditingkatkan. Beberapa jenis minuman beralkohol dapat dilihat pada gambar 6. Jenis minuman yang merupakan minuman asli Indonesia adalah brem Bali yang dibuat dari fermentasi beras dan arak yang dibuat dari fermentasi nira. Dari beberapa jenis minuman beralkohol yang ada yang tertua adalah anggur dan bir yang pada mulanya dibuat secara tradisional atau sering disebut dengan fermentasi spontan. Namun kini kedua minuman ini lebih banyak dibuat secara modern.

Di Indonesia peredaran minuman beralkohol telah diatur menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 86 tahun 1977. Didasarkan pada kadar etanolnya, minuman beralkohol dapat dibedakan atas 3 golongan. Golongan A, dengan kadar etanol 1 - 5%, contohnya bir; golongan B, kadar etanol 5 - 20%, contohnya anggur dan golongan C, kadar etanol 20 - 55%, contohnya wiski dan brendi. Dari ketiga golongan tersebut yang termasuk dalam kriteria minuman keras adalah golongan B dan C, sehingga diperlukan pengawasan tertentu baik cara pembuatannya maupun peredarannya.

Adapun persyaratan umum minuman beralkohol adalah :

1. Kandungan metil alkohol maksimum 0,1% dari jumlah alkohol absolut.
2. Zat warna yang dipergunakan tidak berbahaya.



Gambar 6. Klasifikasi minuman beralkohol, tanpa distilasi

3. Tidak mengandung logam berbahaya seperti Pb, Cu, Hg, dan Ag.
4. Kandungan zat pengawet sulfit maksimum 200 ppm, SO<sub>2</sub> bebas maksimum 50 ppm, benzoat maksimum 300 ppm.
5. Kandungan asam volatil (asam asetat) maksimum 0,2 %.
6. Bau dan rasa normal.

Minuman beralkohol dikatakan sebagai minuman berenergi tinggi karena etanolnya dapat langsung digunakan oleh tubuh, namun demikian dalam jumlah yang besar minuman ini sangat berbahaya karena etanolnya dapat melemahkan jaringan saraf otak.

### A. Bir

Bir telah dikenal oleh manusia sejak berabad-abad yang lalu. Bahkan dikatakan seperti halnya anggur dan <sup>8</sup>toti, bir ini termasuk produk fermentasi yang paling kuno. Ahli sejarah telah membuktikan bahwa bangsa Mesir (**Egyptian**) telah memiliki cara pembuatan minuman hasil fermentasi biji **barley** maupun biji-bijian yang lain paling tidak 6000 tahun yang lalu.

Pada mulanya bir dibuat dengan cara yang sangat sederhana. Biji **barley** dan biji-bijian yang lain dikecambahkan, kemudian digiling menjadi tepung, dibuat adonan dan dikeringkan. Adonan yang telah disiapkan dipotong-potong dan dicampur dengan air, lebih lanjut didiamkan agar terjadi proses fermentasi secara spontan. Bir yang manis disiapkan dari hasil fermentasi 1 - 2 hari, sedang bir yang lebih berasa alkohol dan asam disiapkan dengan memperpanjang waktu fermentasi. Pada waktu itu penambahan hop belum dilakukan, namun penambahan beberapa jenis rempah-rempah untuk tujuan tertentu telah dilakukan. Penambahan ~~hop~~ hop pada bir ternyata tidak tercatat sampai kira-kira abad ke 8. Pada mulanya penambahan ~~hop~~ hop ini lebih ditujukan untuk pengawetan dan tujuan medis, namun ternyata praktek penambahan hop ini kemudian tersebar ke mana-mana, dan pada abad ke-17 penambahan hop pada bir di Eropa merupakan hal yang umum dilakukan.

Bir kini diartikan sebagai minuman yang dihasilkan dari fermentasi alkohol pada kecambah biji-bijian (terutama **barley**) dengan penambahan hop. Kadar alkohol yang terdapat pada bir berkisar antara 3 - 10 % tergantung dari jenisnya.

## 1. Klasifikasi bir

Pada mulanya pemberian nama beberapa tipe bir disesuaikan dengan asal daerah yang memproduksi bir tersebut, misalnya Pilsen dan Munich. Diperkirakan bahwa bahan dasar (**barley**, hop, air dan khamir) serta kondisi cuaca setempat juga mempunyai peranan pada flavor karakteristik bir. Tetapi kini dengan menggunakan bahan dasar dan cara pembuatan yang sama ternyata dapat pula dibuat bir dengan tipe tertentu di tempat yang lain.

Didasarkan pada proses fermentasinya dikenal dua macam bir. Pertama yaitu bir hasil fermentasi bawah (**bottom fermentation beers**), bir ini sering juga disebut bir **lager**. Kata **lager** berasal dari kata Jerman **lagern** yang artinya disimpan. Disebut sebagai bir **lager** karena di dalam pembuatannya dilakukan pemeraman. Adapun contoh bir hasil fermentasi bawah yaitu Pilsener, Munchener, Dormunder serta Viena. Kedua, bir hasil fermentasi atas (**top fermentation beers**) yang sering juga disebut **ale** meliputi stout, Porter, Weisbier dan Lambic.

### a. Bir hasil fermentasi bawah (bir **lager**)

**Pilsener**, adalah bir jernih yang berasal dari Pilsen, mempunyai kandungan etanol berkisar antara 3,4-3,8 %, kandungan zat padat 11 - 12 %, diperoleh dari fermentasi sempurna mungkin. Spesifikasi bir ini terdapat pada pewarnaan yang jernih, kadar alkoholnya dan flavor dari hop. Hop yang ditambahkan pada bir ini cukup banyak, yaitu 400 g atau lebih setiap hektoliter.

**Munchener**, bir dengan warna gelap, flavor dari kecambah dan dari hop yang ditambahkan dalam jumlah sedikit, mempunyai kandungan zat padat 16 - 18 %, dihasilkan dari fermentasi yang tidak sempurna, sehingga mempunyai rasa

yang sedikit manis. Warna gelap bir ini disebabkan oleh proses pemasakan pada suhu tinggi sehingga terbentuk senyawa melanoidin. Bir ini berasal dari Munich, Jerman dan di dalam pembuatannya dilakukan pemeraman selama 3 bulan.

**Dortmunder**, bir jernih berasal dari Dortmund, Jerman, mirip dengan Pilsener, tetapi rasanya tidak begitu pahit. Hop yang ditambahkan lebih sedikit bila dibandingkan pada Pilsener tetapi lebih besar daripada Muchener. Kadar alkoholnya berkisar antara 4 - 5 % dan kandungan zat padatnya 10 - 12 %. Pada pembuatannya juga dilakukan pemeraman.

**Viena**, bir ini mempunyai warna di antara Muchener dan Pilsener, dengan aroma dari kecambah, hop yang ditambahkan sedikit, kadar alkoholnya berkisar antara 6 - 10 %. Bir ini berasal dari Itali dan Perancis dan hampir tidak dikenal lagi di pasaran.

#### b. Bir hasil fermentasi atas (**ale**)

**Stout**, bir yang dibuat dari campuran kecambah barley serta 7 - 10 % kecambah yang telah disangrai (**roasted malt**) dan hop sebanyak 600 - 700 g/hl, dengan kadang-kadang ditambah karamel. Warna gelap bir ini disebabkan oleh kecambah yang telah disangrai dan karamel. Bir yang dikenal dengan bodi yang berat (**heavy body**) ini mempunyai kandungan zat padat 12 - 20 %.

**Porter**, bir yang mirip dengan stout, tetapi bodinya lebih ringan (**light body**) dengan kadar zat padat sekitar 12%.

**Weisbier**, yaitu bir yang diproduksi di Jerman terutama di sekitar Berlin. Bir ini lebih banyak dibuat dari kecambah gandum (**wheat**) daripada kecambah barley, warnanya jernih dengan bodi ringan. Bir ini dipasarkan dengan sisa khamir yang masih terdapat di dalam botol.

**Lambic**, bir yang diproduksi di daerah Eropa di sekitar Brussel. Dibuat dari campuran 60 % kecambah **barley** dan 40 % biji gandum. Fermentasi berlangsung secara spontan dan sebagian flavor yang terbentuk berasal dari mikroflora asli di daerah Brussel. Mikrobial yang aktif selama fermentasi adalah

**Brettanomyces** dan khamir yang lain, bakteri asam laktat dan bakteri yang lain. Produk ini aromanya sangat kuat dan sangat asam, pHnya sekitar 3,2 - 3,5.

## 2. Bahan dasar pembuatan bir.

Bir dibuat dari bahan dasar utama kecambah **barley** (**malt**), hop, air, khamir, bahan dasar pengganti (**malt adjunct**), serta bahan tambahan yang lain misalnya agensia **chillproofing** dan penjernih.

### a. Kecambah barley (malt)

**Barley** merupakan komponen utama pembuatan bir. Dipilihnya **barley** sebagai bahan dasar yang lebih disukai dibandingkan dengan biji-bijian yang lain adalah karena biji **barley** ini tertutup oleh sekam yang tidak terpisah pada waktu penumbukan (**threshing**) untuk mendapatkan biji. Sekam ini juga akan melindungi embrio atau kecambah pada waktu dilakukan pembalikan selama proses perkecambahan berlangsung, sehingga embrio tidak akan rusak. Apabila embrio ini mengalami kerusakan, perkecambahan tidak berlangsung dengan baik dan biji kemungkinan menjadi berjamur. Lebih lanjut sekam juga akan membantu di dalam proses penyaringan masakan pada waktu pembuatan bir, yaitu dengan terbentuknya lapisan penyaring oleh sekam ini pada panci saringan sehingga terjadi pemisahan antara cairan masakan yang jernih (**wort**) dengan ampas (**spent grain**). Alasan yang terakhir bahwa **barley** merupakan tanaman yang tersebar di seluruh dunia dan mempunyai toleransi yang cukup besar dengan adanya perbedaan kondisi cuaca, sinar matahari maupun hujan. Kini dengan teknik yang lebih maju, biji-bijian yang tak bersekam seperti **wheat** dan **rye** dapat juga dikecambahkan dengan kondisi optimum, namun biasanya istilahbir hanya digunakan untuk minuman beralkohol yang bahan dasarnya **barley**.

**Barley** termasuk tumbuh-tumbuhan rumput atau **Gramineae**. Berdasarkan pada terdapatnya biji untuk masing-masing simpul pada bilur dibedakan dua jenis **barley** yaitu **Hordeum distichum** (dengan dua biji tiap simpul) yang banyak terdapat di Eropa dan **Hordeum hexastichum** (dengan enam biji tiap simpul) yang banyak terdapat di Amerika Utara.



**Hordeum distichum** atau disebut juga two-rowed **barley** merupakan barley yang paling baik untuk pembuatan bir karena bijinya dapat berkembang dengan baik. Sekam biji ini juga lebih tipis, sehingga senyawa yang tidak dikehendaki yang terekstrakk dari sekam yang mempengaruhi rasa bir juga sedikit. **Barley** ini juga dikenal sebagai **barley** musim semi sebab biasa ditanam pada akhir musim dingin atau awal musim semi.

**Hordeum hexastichum** atau disebut **six-rowed barley** karena tiap simpul biji dalam bulir terdapat enam biji sehingga masing-masing bijinya tidak dapat berkembang dengan baik dan sekamnya juga tebal sehingga kurang baik apabila dibuat bir. **Barley** ini juga dikenal sebagai **barley** musim dingin karena ditanam serta tumbuh pada musim gugur dan musim dingin.

Proses perkecambahan **barley** biasanya dilakukan oleh pabrik yang terpisah dengan pabrik bir. Dengan adanya perkecambahan akan dihasilkan sistem enzim yang lengkap yang penting untuk merombak komponen kompleks pada proses pemasakan di dalam pembuatan bir. Adapun tahapan yang penting di dalam proses perkecambahan yaitu perendaman, perkecambahan dan inaktivasi kecambah (**kilning**).

Pertama-tama **barley** direndam dalam air untuk memberi kesempatan biji menyerap air dan oksigen. Pada akhir perendaman, kandungan air pada biji harus berkisar antara 42 - 47 %, dan sudah mulai tampak adanya perkecambahan. Proses perendaman ini berlangsung antara 60 - 80 jam.

Pada proses perkecambahan, embrio mulai mengeluarkan enzim yang didifusi ke dalam endosperm. Enzim ini diperlukan untuk memecah makanan cadangan dalam bentuk senyawa kompleks yaitu pati, protein, lipida serta komponen yang lain yang terdapat di dalam endosperm menjadi molekul yang lebih kecil yang kemudian didifusi ke dalam embrio untuk aktivitas metabolismenya.

Di dalam proses perkecambahan terdapat sejumlah besar sistem enzim yang jumlahnya sebanding dengan substrat yang dihidrolisis. Adapun sistem enzim utama yang terdapat di dalam perkecambahan adalah **amilase, maltase, sitase, protease, phitase dan oksidase.**

**Enzim amilase** dalam kecambah terdiri dari  $\alpha$  dan  $\beta$  amilase. Enzim  $\beta$  amilase terdapat dalam biji **barley** dalam bentuk terikat dengan fraksi protein albumin dan adanya aktivitas proteolitik selama perkecambahan dapat membebaskan enzim amilase ini. Sedang enzim  $\alpha$  amilase terbentuk selama perkecambahan. Kedua enzim ini berperanan penting dalam pemecahan pati menjadi senyawa maltosa, maltotriosa, maltotetraosa maupun dekstrin. Enzim ini juga sangat penting pada tahap pembuatan bir. **Maltase** yang mempunyai kemampuan memecah maltosa menjadi glukosa juga terdapat di dalam kecambah.

**Enzim proteolitik** dalam kecambah dapat dibedakan menjadi dua yaitu **proteinase** yang menghidrolisis protein menjadi polipeptida dan peptida serta **peptidase** yang menghidrolisis polipeptida dan peptida menjadi asam-asam amino. Enzim ini juga sangat penting di dalam proses lebih lanjut.

**Enzim sitase** merupakan kompleks enzim yang mampu menghidrolisis komponen hemiselulosa dan melarutkan dinding sel endosperm, sehingga sifat dinding sel lebih permeabel terhadap enzim-enzim yang lain. Enzim ini dibagi menjadi dua group, group **enzim sitoklastik** yang memecah hemiselulosa dan gum menjadi produk yang berat molekulnya masih besar dan group **enzim sitolitik** yang memecah komponen berat molekul besar menjadi senyawa yang lebih sederhana.

**Enzim phitase** yaitu enzim yang menghidrolisis phitin menjadi fosfat organik dan inositol. Sedang **enzim oksidase** yaitu enzim yang mengkatalisis beberapa reaksi oksidasi, enzim oksidase ini dapat menyebabkan terbentuknya reaksi oksidasi yang tidak dikehendaki dalam pembuatan bir.

Pembentukan enzim pada perkecambahan merupakan bagian dari proses fisiologis secara umum pada embrio dan kondisi yang berpengaruh pada perkecambahan ini juga merupakan kondisi yang penting di dalam produksi enzim, misalnya kelembaban, oksigen, suhu. Namun demikian enzim ini tidak mengalami kerusakan pada kondisi yang tidak menguntungkan misalnya dalam keadaan kering maupun panas, walaupun proses perkecambahannya sendiri berhenti. Oleh karena itu pada

saat produksi enzim di dalam kecambah telah mencapai maksimum, perkecambahan dihentikan (kilning) dengan pemanasan sedang enzim yang lebih tahan terhadap panas tidak banyak mengalami kerusakan. Proses perkecambahan biasanya berlangsung selama 7 - 8 hari dan perkecambahan dihentikan dengan pemanasan dengan suhu 70°C sampai kadar air kecambah kurang lebih 5 %.

Komposisi kecambah **barley** dapat dilihat pada tabel 3. Kecambah juga mengandung komponen warna, tanin, resin dan inositol dalam jumlah yang relatif kecil. Sedang enzim yang penting serta kondisi optimum aktivitasnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 3. Komposisi kecambah **barley**

Komponen	% *)
Pati	58 %
Gula reduksi	4 %
Sukrosa	5 %
Pentosa yang larut	1 %
Pentosa dan heksosa yang tak larut	9 %
Selulosa	6 %
Protein (N x 6,25)	10 %
Protein yang tidak larut	3 %
Protein yang larut dalam alkohol	2 %
Protein yang larut dalam garam	5 %
Protein yang tidak terkoagulasi	2,5 %
Nitrogen formol	0,7 - 1,0 %
Lipida	2,5 %
Komponen mineral	2,5 %

\*) Terhitung sebagai persen berat kering.

Sumber : Hopkins dan Krause (1950) dalam de Clerck (1957).

Kecambah **barley** yang di dalam pembuatan bir ditambahkan sebesar 10 % dari jumlah masakan berfungsi sebagai sumber karbohidrat, protein dan komponen yang lain serta enzim pemecah karbohidrat dan protein. Kecambah juga me-

Tabel 4. Daftar enzim yang terdapat di dalam kecambah berley

Enzim	Optimum	
	pH	Suhu °C
Amilofosfatase	4,7	65 - 70
a-amilase	5,7	65
b-amilase	4,7	55
Proteinase	4,3	50
Peptidase I	7,8	40 - 45
Peptidase II	8,6	40 - 45
Sitase (kompleks enzim)	5,0	35 - 45
Pitase	5,2	60

Sumber : Hopkins dan Krause (1950) dalam de Clerck (1957).

ngandung gula sederhana dan asam amino yang penting sebagai sumber nutrisi khamir.

#### b. Hop

Hop adalah bunga dari tanaman **Humulus lupulus**, merupakan tanaman merambat yang berserat dan berumah dua, artinya tanaman yang mempunyai bunga betina dan bunga jantan yang tumbuh pada dua tanaman yang berlainan. Pada pembuatan bir, bunga hop betina penting artinya dalam pembentukan rasa dan aroma, sehingga dalam perkebunan hop selalu dijaga supaya bunga jantannya tidak ada, karena hop yang telah mengalami penyerbukankualitasnya lebih rendah.

**Minyak esensial** yang terdapat pada hop merupakan campuran dari beberapa komponen, dan lebih dari setengahnya adalah senyawa hidrokarbon, terutama terpena seperti **merse-na**, **farnesena**, **humulena** dan **kariopilena**. Sisanya adalah **senyawa ester**, **alkohol** dan **karbonil**. Jumlah minyak esensial hop kira-kira hanya satu persen, namun minyak ini penting di dalam pembentukan aroma bir.

**Resin** yang jumlahnya di dalam hop kira-kira 15 % merupakan senyawa yang penting di dalam rasa pahit bir. Dida-

sarkan pada sifat kelarutannya pada heksan, resin ini dibagi menjadi dua bagian yaitu resin yang tidak larut (**hard resin**) yang tidak penting didalam bir dan resin yang larut (**soft resin**). Resin yang larut masih dibagi lagi menjadi dua bagian, pertama yaitu  $\alpha$ -resin yang terdiri dari senyawa humulon, kohumulon dan adhumulon, yang paling penting di dalam flavor bir. Kedua yaitu  $\beta$ -resin yang terdiri dari senyawa lupulon, kolupulon dan adlupulon. Adanya reaksi oksidasi pada hop dapat menurunkan kualitasnya.  $\beta$ -resin mudah teroksidasi menjadi hulupon dan  $\alpha$ -resin menjadi resin yang tidak larut. Untuk menjaga agar kualitas hop tetap baik sebagai bahan dasar bir, maka setelah hop dipanen dilakukan pengeringan sampai kadar air sekitar 10 - 12 %.

Tanin juga terdapat di dalam hop yang jumlahnya berkisar antara 2 - 5 %, senyawa ini akan mengendap bersama-sama dengan protein pada waktu proses pendidihan serta pada waktu proses tahap akhir dalam pembuatan bir.

Hop yang ditambahkan dalam pembuatan bir dapat berupa hop utuh yang telah dikeringkan, pelet hop yang dibuat dari hop kering yang dihaluskan kemudian dibentuk pelet, dan ekstrak hop.

### c. Air

Kualitas air yang digunakan untuk pembuatan bir sangat ditentukan oleh kemurnian dan komposisi mineralnya. Air harus bersih, jernih, tidak berwarna, tidak berasa, tidak berbau, bebas dari komponen organik, mikrobia kontaminan, besi, metal berat, sulfida dan nitrit.

Komposisi mineral yang terdapat di dalam air biasanya dinyatakan dalam tingkat kesadahan. Adapun tingkat kesadahan dapat dinyatakan dalam dua cara, tingkat kesadahan sementara atau kesadahan karbonat yaitu kesadahan yang didasarkan pada kandungan garam karbonat ( $\text{CO}_3$ ) dan bikarbonat ( $\text{HCO}_3$ ) dari kalsium dan magnesium. Disebut sebagai kesadahan sementara karena jumlahnya dapat dikurangi dengan pemanasan. Kesadahan tetap atau kesadahan bukan karbonat yaitu kesadahan yang didasarkan pada kandungan garam klorida ( $\text{Cl}$ ) dan asam sulfat ( $\text{SO}_4$ ) dari kalsium dan magnesium.

Tipe dan konsentrasi garam terlarut mempunyai pengaruh pada aktivitas enzim, stabilitas selama pemasakan, ekstraksi hop, presipitasi protein tanin dan pertumbuhan serta metabolisme khamir. Oleh karena itu komposisi air terutama perbandingan antara kesadahan sementara dan kesadahan total sangat berpengaruh pada tipe bir yang diproduksi, beberapa tipe bir mempunyai persyaratan tingkat kesadahan tertentu. Misalnya bir Pilsener mempunyai persyaratan tingkat kesadahan yang dinyatakan sebagai mg/l  $\text{CaCO}_3$  untuk kesadahan karbonat 15 dan kesadahan bukan karbonat 10 (total kesadahan 25), Dortmunder, kesadahan karbonat 450 dan bukan karbonat 295 (kesadahan total 745), sedang Munchener, kesadahan karbonat 275 dan kesadahan bukan karbonat 5 (total kesadahan 280) (Helbert, 1983).

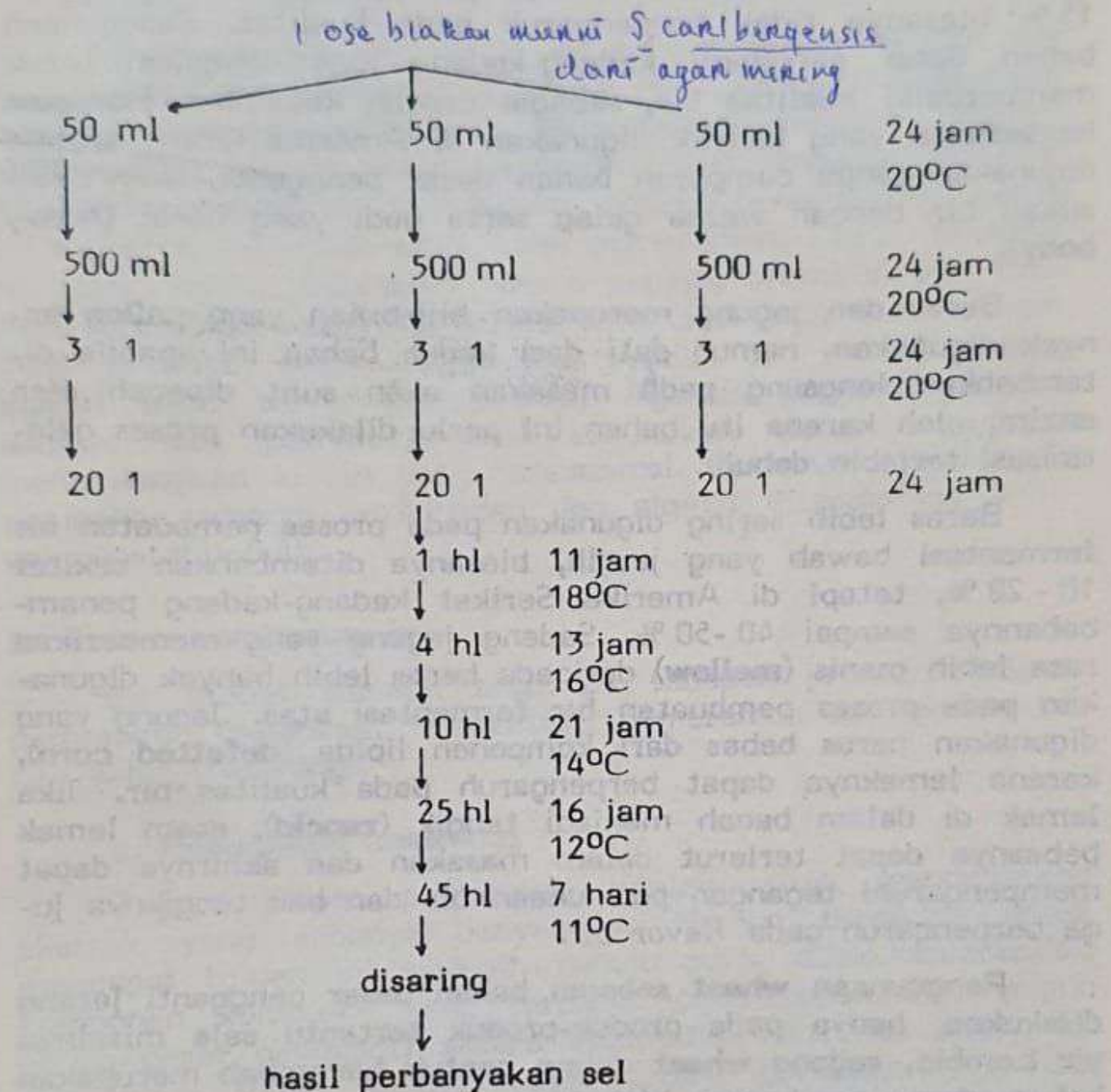
#### d. Khamir

Khamir merupakan mikrobial sel tunggal yang ukurannya lebih besar dari bakteri. Asal khamir yang penting di dalam proses fermentasi bir tidak diketahui dengan pasti, mungkin dari buah-buahan atau karena terkontaminasi dari lingkungan. Telah beribu-ribu tahun khamir ini diisolasi dari satu pabrik bir ke pabrik bir yang lain, khamir yang menghasilkan fermentasi yang baik dipelihara dan diawetkan sedang khamir yang tidak baik untuk fermentasi dibuang. Dari proses seleksi ini kini hanya ada dua species yang sering digunakan oleh pabrik-pabrik bir dan kedua species ini juga hampir sama, yaitu ***Saccharomyces uvarum* (*S. carlbergensis*)** dan ***S. cerevisiae***. Khamir ini berbentuk bulat atau ellips dengan diameter sekitar 5-10  $\mu\text{m}$ .

Didasarkan pada khamir yang digunakan ada dua macam fermentasi. Pertama, fermentasi bawah yaitu menggunakan khamir yang cenderung mengendap ke bawah pada akhir fermentasi, yaitu ***Saccharomyces uvarum* (*S. carlbergensis*)**. Kedua, fermentasi atas, yaitu menggunakan khamir yang cenderung mengumpul di permukaan cairan fermentasi selama aktivitasnya, yaitu ***Saccharomyces cerevisiae***.

Khamir yang digunakan di dalam proses fermentasi bir dapat berupa inokulum baru dari hasil perbanyakan sel yang

salah satu cara pembuatannya dapat dilihat pada gambar 7, atau khamir yang berasal dari fermentasi sebelumnya. Penggunaan inokulum yang berulang-ulang ini dilakukan tidak 1 ose biakan murni *S. carlbergensis* dari agar miring lebih dari 8 kali, karena khamir yang digunakan berulang-ulang akan mengalami kemunduran sifat.



Gambar 7. Diagram alir volume pada proses perbanyakan sel khamir *S. carlbergensis*.

#### e. Bahan dasar pengganti

Tujuan penambahan bahan pengganti kecambah (**malt adjunct**) adalah untuk mengurangi biaya produksi dan untuk memperbaiki komponen ekstrak. Penambahan bahan pengganti kecambah yang jumlahnya berlebihan memang dapat berpengaruh pada kualitas bir, tetapi penambahan sebanyak 10 - 15 % biasanya tidak berpengaruh pada kualitas. Penggunaan bahan dasar pengganti kadang-kadang juga ditujukan untuk memperbaiki kualitas bir, sebagai contoh kecambah **Hordeum hexastivum** yang banyak digunakan di Amerika Utara apabila digunakan tanpa campuran bahan dasar pengganti, akan dihasilkan bir dengan warna gelap serta bodi yang berat (**heavy body**).

Beras dan jagung merupakan biji-bijian yang paling banyak digunakan, namun pati dari kedua bahan ini apabila ditambahkan langsung pada masakan akan sulit dipecah oleh enzim, oleh karena itu bahan ini perlu dilakukan proses gelatinisasi terlebih dahulu.

Beras lebih sering digunakan pada proses pembuatan bir fermentasi bawah yang jernih, biasanya ditambahkan sekitar 10 - 20 %, tetapi di Amerika Serikat kadang-kadang penambahannya sampai 40 - 50 %. Sedang jagung yang memberikan rasa lebih manis (**mellow**) daripada beras lebih banyak digunakan pada proses pembuatan bir fermentasi atas. Jagung yang digunakan harus bebas dari komponen lipida (**defatted corn**), karena lemaknya dapat berpengaruh pada kualitas bir. Jika lemak di dalam banah menjadi tengik (**rancid**), asam lemak biasanya dapat terlarut dalam masakan dan akhirnya dapat mempengaruhi tegangan permukaan bir dan bau tengiknya juga berpengaruh pada flavor bir.

Penggunaan **wheat** sebagai bahan dasar pengganti jarang dilakukan, hanya pada produk-produk tertentu saja misalnya bir Lembic, sedang **wheat** dalam bentuk kecambah merupakan bahan utama pembuatan Weisbier.

Gula sering digunakan pula sebagai bahan pengganti kecambah, biasanya penambahannya dilakukan pada waktu pendidihan, namun sering juga ditambahkan sebelum pemeraman



untuk aktivasi proses fermentasi selama diperam. Apabila penambahan gula ditujukan untuk memberikan rasa manis penambahannya dilakukan pada tahap akhir pembuatan bir. Gula yang ditambahkan dapat berupa glukosa, gula invert ataupun sukrosa, sedang untuk tujuan pewarnaan ditambahkan karamel.

#### f. Bahan yang lain

Tujuan penggunaan bahan ini sangat bervariasi dan tergantung dari kepentingannya. Untuk mempercepat proses fermentasi biasanya dilakukan penambahan mineral. Agen **chillproofing** seperti enzim proteolitik dan senyawa tanin paling sering digunakan di Amerika, adapun penambahan agen ini biasanya dilakukan pada awal pemeraman. Enzim proteolitik yang sering digunakan adalah papain, bromelin dan fisin. Pada proses pemeraman, karena dilakukan pada suhu rendah, maka aktivitas enzim inipun juga rendah dan enzim ini akan inaktif pada waktu pasteurisasi. Agen penjernih seperti isinglas dan polivinilpirolidin digunakan untuk membantu menghilangkan koloid yang tersuspensi. Potasium metabisulfid digunakan sebagai antioksidan dan alginat ditambahkan sebagai penstabil buih.

## 2. Proses pembuatan bir

Bir dibuat melalui beberapa tahapan proses, meliputi pemasakan (**mashing**), fermentasi, pemeraman dan proses tahap akhir (**finishing**).

### a. Pemasakan (**mashing**)

Tujuan proses pemasakan adalah untuk mendapatkan ekstrak yang sebanyak-banyaknya. Namun demikian untuk mencapai tujuan ini terlebih dahulu perlu dilakukan hidrolisis komponen kompleks yang terdapat pada kecambah maupun bahan dasar pengganti secara enzimatik. Aktivitas enzim ini sebetulnya sudah dimulai sejak proses perkecambahan dan reaksi ini dipercepat pada proses pemasakan dengan pengaturan suhu optimum serta adanya air dalam jumlah besar. Perbandingan produk hasil hidrolisis selama perkecambahan dan proses pemasakan untuk komponen pati berkisar antara 10 : 1

sampai 14 : 1, sedang untuk komponen nitrogen 1 : 1,6 sampai 1 : 1.

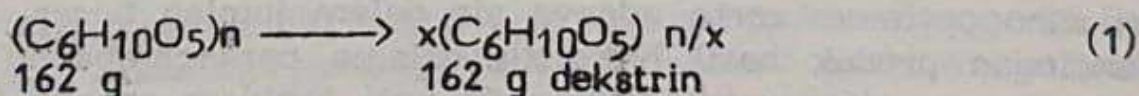
Proses pemasakan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti terlihat berikut ini (de Clerk, 1957).

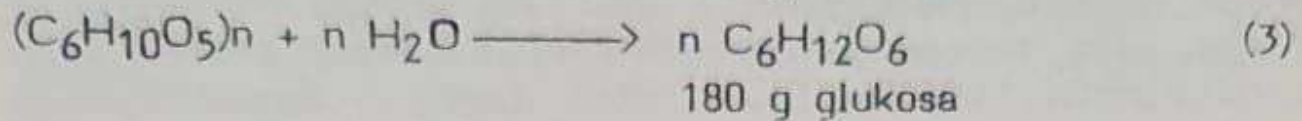
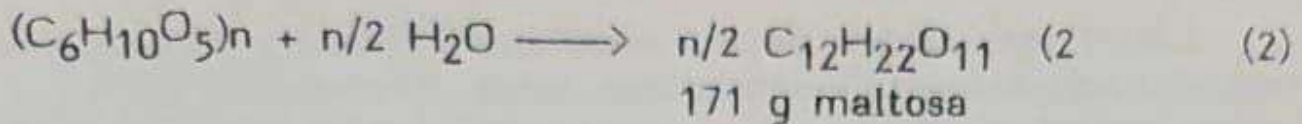
**Temperatur**, berpengaruh aktivitas enzim. Masing-masing enzim mempunyai suhu optimum untuk aktivitasnya. Degradasi protein yang optimum terjadi pada suhu 45 - 60°C, sedang konversi pati menjadi gula yang dapat difermentasi optimum terjadi pada suhu 60 - 65°C. Pemecahan pati sebetulnya lebih banyak terjadi pada suhu 70 - 75°C daripada suhu 60 - 65°C, namun pemecahan pada suhu lebih tinggi terbentuknya dekstrin yang tidak dapat difermentasi juga lebih banyak. Kecepatan hidrolisis komponen kompleks pada kecambah dapat diatur dengan pengaturan suhu selama pemasakan pada periode waktu tertentu.

**Terjadinya kerusakan enzim.** Pada proses dekoksi, sebagian dari masakan diambil, dididihkan dan dicampur kembali ke dalam panci masakan, karena peristiwa ini beberapa enzim mengalami kerusakan.

**pH**, berpengaruh pada aktivitas enzim. Masing-masing enzim mempunyai pH optimum yang berbeda. Selama proses pemasakan terjadi kenaikan pH karena adanya garam-garam yang terlarut pada masakan. Adanya kenaikan pH masakan dapat berpengaruh pada beberapa aktivitas enzim. Beberapa kerugian yang diakibatkan oleh pH masakan yang tinggi yaitu proses hidrolisis berjalan lambat, masakan keruh, mengandung komponen nitrogen yang tidak cocok untuk proses degradasi, terjadinya pewarnaan, rasa yang tajam dan stabilitasnya kurang. Oleh karena itu pada proses pemasakan perlu dilakukan pengaturan pH.

**Pati.** Perubahan utama yang terjadi adalah adanya hidrolisis oleh enzim dan amilase dengan hasil dekstrin, maltosa maupun glukosa dengan persamaan reaksi sebagai berikut :





Persamaan (1) dan (2) merupakan reaksi utama yang terjadi pada proses pemecahan pati karena aktivitas dan amilase.

Pati dalam tanaman biasanya digunakan sebagai makanan cadangan dan banyak terdapat dalam biji-bijian sebagai granula pati. Adapun bentuk granula untuk masing-masing tanaman adalah spesifik dan ukurannya juga bervariasi dalam sel yang sama. Pati dalam bentuk aslinya tidak terdapat sebagai suatu kesatuan yang homogen, tetapi selalymengandung sejumlah kecil komponen mineral, biasanya potasium, kalsium dan silikat. Pati yang mengandung mineral lebih tinggi ternyata proses konversinya juga lebih sulit dilakukan dan granula pati yang kecil ternyata mengandung mineral yang lebih banyak daripada granula yang lebih besar. Pati biji **barley** yang ukuran granulanya kecil mengandung mineral sekitar 0,14 - 0,19 %, sedang yang granulanya lebih besar kandungan mineralnya sekitar 0,12 - 0,15 %. Mineral ini terdapat pada permukaan granula dan berfungsi untuk melindungi pati dari serangan amilase.

Molekul pati yang memberikan warna biru dengan adanya yodium tersusun dari dua komponen polisakarida yaitu amilosa, komponen tanpa ikatan cabang dan amilopektin, komponen tanpa ikatan cabang dan amilopektin, komponen dengan ikatan cabang yang lebih sulit dihidrolisis. Pada hidrolisis pati secara enzimatik oleh amilase kira-kira 80 % akan dihasilkan maltosa dan sisanya terdiri dari dekstrin yang merupakan hasil degradasi tidak sempurna dari amilopektin.

Proses hidrolisis pati dibagi menjadi tiga tahap yaitu gelatinisasi, likuifikasi dan sakarifikasi. Suhu gelatinisasi pati bervariasi untuk masing-masing jenis pati sesuai dengan tipe dan ukuran granulanya.

Likuifikasi adalah proses enzimatis. Beberapa pengarang menyebutkan bahwa likuifikasi terutama dikarenakan aktivitas enzim amilofosfatase yaitu enzim yang mampu mendegradasi fosfat, yang merupakan komponen mineral yang terbesar pada pati. Namun kini likuifikasi lebih diartikan sebagai proses pencairan karena aktivitas enzim  $\alpha$  amilase.

Sakarifikasi adalah proses konversi pati yang telah terlikuifikasi menjadi dekstrin dan maltosa karena adanya aktivitas  $\alpha$  maupun  $\beta$  amilase. Pada proses ini molekul pati terdegradasi secara bertahap menjadi molekul yang lebih kecil.

Produk utama dari hidrolisis pati adalah amilodekstrin atau  $\alpha$  dekstrin yang memberikan warna ungu kemerah-merahan tua, kemudian diikuti terbentuknya eritrodekstrin yang dengan yodium berwarna merah tua ke violet dan akrodekstrin (tidak bereaksi dengan yodium) dan terakhir akrodekstrin terdegradasi menjadi maltosa dan dekstrin berberat molekul rendah. Sakarifikasi yang terjadi secara sempurna pada proses pemasakan akan memberikan reaksi yang tak berwarna dengan adanya yodium.

$\alpha$  dan  $\beta$  amilase pada proses pemasakan mempunyai suhu dan pH optimum yang berbeda untuk masing-masing aktivitasnya. de Clerck (1957) menyebutkan bahwa enzim  $\alpha$  amilase mempunyai suhu optimum sekitar  $70^{\circ}\text{C}$  dan pH optimum 5,8 sedang pada suhu  $80^{\circ}\text{C}$  enzim ini mengalami kerusakan. Enzim  $\beta$  amilase mempunyai suhu optimum  $60 - 65^{\circ}\text{C}$  dan pH optimum 5,4, enzim ini rusak pada suhu  $75^{\circ}\text{C}$ . Oleh karena itu pemasakan pada suhu yang tinggi akan menghasilkan dekstrin yang lebih banyak, sedang pada suhu masakan sekitar  $60 - 65^{\circ}\text{C}$  maltosa akan dihasilkan lebih banyak.

Bir yang mengandung dekstrin dalam jumlah yang besar mempunyai rasa yang lebih manis dan viskositasnya juga lebih besar, namun kandungan alkoholnya lebih kecil.

**Senyawa nitrogen.** Berbeda dengan pati, komponen nitrogen tidak terdegradasi secara sempurna menjadi substansi yang lebih kecil pada proses pemasakan, kira-kira yang terdegradasi hanya sekitar  $1/3 - 1/5$  dari total nitrogen.

Enzim proteolitik yang terdapat dalam kecambah dapat diklasifikasikan menjadi 2 golongan, yaitu enzim proteinase yang mampu memecah protein menjadi komponen nitrogen yang masih kompleks seperti proteosa, peptone, polipeptida dan enzim peptidase yang mampu memecah polipeptida dan peptida ke bentuk asam-asam amino.

Enzim peptidase lebih tidak tahan panas dan banyak yang rusak selama proses pemanasan pada waktu inaktivasi kecambah (**kilning**) dan enzim ini juga mempunyai pH optimum yang cukup tinggi yaitu sekitar 8, sehingga aktivitasnya pada proses pemasakan tidak begitu besar.

Suhu optimum untuk proses degradasi protein adalah sekitar 45 - 45°C, suhu ini juga disebut suhu peptonisasi. Namun demikian pada suhu 60°C juga masih terjadi degradasi walaupun sangat lambat. Hasil degradasi protein ini penting untuk sumber nutrisi bir maupun flavor bir.

Selama proses pemasakan juga terjadi proses koagulasi terutama selama pendidihan pada metoda dekoksi, juga selama ini terjadi prepsipitasi protein yang terkombinasi dengan tanin yang berasal dari sekam.

Tahap awal dari proses pemasakan adalah penggilingan, yang ditujukan untuk memperkecil ukuran kecambah serta bahan dasar pengganti (beras atau jagung), sehingga hidrolisis enzimatik dan proses ekstraksi berlangsung dengan sempurna. Proses penggilingan dilakukan sedemikian rupa sehingga sekam kecambah tidak seluruhnya hancur. Sekam ini nantinya penting digunakan sebagai media penyaring pada tangki penyaringan.

Tahap kedua adalah pemasakan yang ditujukan untuk mengaktifkan enzim-enzim yang terdapat di dalam kecambah **barley** dan dengan pengaturan suhu yang tepat enzim-enzim ini akan merombak komponen kompleks pati maupun protein menjadi senyawa yang lebih sederhana.

Pada pembuatan bir dikenal 2 macam cara pemasakan, yaitu metoda infusi dan metoda dekoksi. Sedang di dalam prakteknya banyak yang sudah dimodifikasi.

**Metoda infusi**, yaitu pemasakan dengan cara mencampur kecambah giling dan air serta bahan dasar pengganti pada panci masakan, suhu dinaikkan perlahan-lahan, tanpa pendidihan. Pemasakan dengan cara ini biasanya dipersiapkan untuk proses fermentasi atas dan banyak dikerjakan di Inggris.

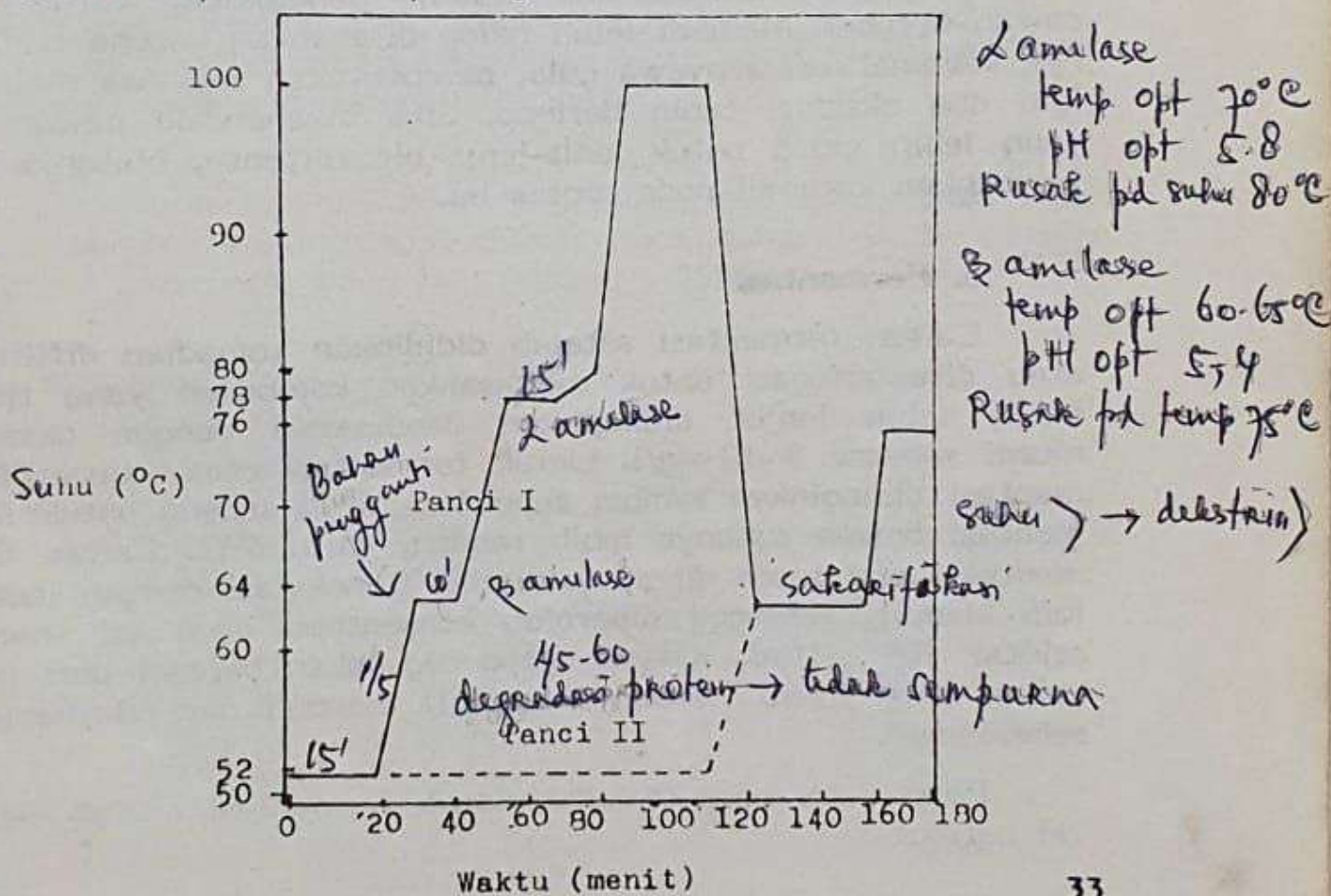
Salah satu cara pemasakan dengan metoda infusi, kecambah dicampur dengan air pada suhu 38 - 50°C. Masakan ini dipertahankan kira-kira selama 1 jam untuk memberi kesempatan pada aktivitas proteolitik. Kemudian suhu dinaikkan menjadi 65 - 70°C dengan penambahan bahan dasar pengganti yang telah mendidih. Masakan ini dipertahankan pada suhu ini beberapa menit untuk proses sakarifikasi pati. Setelah proses sakarifikasi selesai suhu dinaikkan menjadi 75°C untuk inaktivasi enzim dan lebih lanjut masakan disaring.

*Ferm bawah* ← **Metoda dekoksi**, yaitu pemasakan dengan cara mencampur gilingan kecambah dan air pada suhu tertentu, lebih lanjut sebagian dari masakan diambil dan dididihkan kemudian dikembalikan lagi kemasakan semula dengan tujuan untuk menaikkan suhu. Proses pengambilan sebagian masakan dan dididihkan kemudian dikembalikan lagi ke masakan semula dapat dilakukan beberapa kali. Pemasakan dengan cara ini biasanya dipersiapkan untuk proses fermentasi bawah dan banyak dikerjakan di Eropa Tengah.

Salah satu cara pemasakan dengan metoda dekoksi yang menggunakan bahan dasar pengganti beras dan jagung adalah sebagai berikut; Pertama kali gilingan kecambah ditambah air panas sehingga suhunya mencapai 52°C, suhu masakan ini dipertahankan selama 15 menit, lebih lanjut seperlima bagian dari masakan diambil, ditambah dengan bahan dasar pengganti dan suhunya dinaikkan menjadi 64°C, suhu ini dipertahankan 10 menit, pada suhu ini enzim amilase aktif melakukan hidrolisis walaupun belum terjadi secara sempurna. Sebagian masakan ini selanjutnya dipanaskan pada suhu 78°C, dipertahankan selama 15 menit dan dinaikkan lagi sampai 80°C. Suhu 78 - 80°C penting untuk proses gelatinisasi pati yang terdapat pada kecambah dan bahan dasar pengganti. Pemilihan suhu masakan ini dipengaruhi oleh sumber pati yang digunakan, karena masing-masing sumber pati mempunyai suhu gelatinisasi-

si yang berbeda. Setelah masakan dipertahankan pada suhu gelatinisasi lebih lanjut dididihkan agar terjadi gelatinisasi yang sempurna. Masakan yang telah mendidih ini kemudian dikembalikan ke masakan semula, suhu campuran masakan diatur mencapai  $64^{\circ}\text{C}$ , masakan dipertahankan pada suhu ini selama 10 menit, untuk proses hidrolisis pati oleh enzim amilase. Pada suhu ini terjadi proses likuifikasi oleh aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada molekul amilosa dan amilopektin dan selanjutnya diikuti oleh proses sakarifikasi oleh  $\alpha$ -amilase dan  $\beta$ -amilase dengan hasil maltosa dan glukosa.

Untuk mengetahui bahwa pati yang terdapat pada masakan sudah terhidrolisis sempurna dapat dilakukan uji dengan yod. Apabila sedikit masakan yang ditetesi yod sudah tidak berwarna biru, berarti patinya telah terhidrolisis semua menjadi sakarida yang lebih sederhana. Setelah proses sakarifikasi selesai, suhu masakan dinaikkan menjadi  $76^{\circ}\text{C}$  untuk inaktivasi enzim. Grafik hubungan antara suhu dan waktu pada proses pemasakan dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Grafik hubungan antara suhu dan waktu pada proses pemasakan.

Tahap ketiga dari proses pemasakan (**mashing**) adalah proses penyaringan, yang ditujukan untuk pemisahan ekstrak dengan komponen yang tidak larut. Caranya, masakan dengan suhu  $76^{\circ}\text{C}$  dilewatkan pada panci saringan, yaitu panci yang di dasarnya terdapat saringan. Pada permulaan penyaringan, filtrat yang diperoleh masih belum jernih sehingga disirkulasikan kembali ke panci saringan. Sirkulasi ini juga ditujukan untuk memberi kesempatan sekam kecambah mengendap di saringan, sekam ini berguna sebagai media penyaring. Hasil filtrat yang jernih lebih lanjut dididihkan.

Proses pendidihan, adalah tahap akhir dari proses pemasakan, tujuannya adalah untuk sterilisasi filtrat, inaktivasi enzim-enzim yang ada, ekstraksi senyawa penting dari hop yang ditambahkan selama proses ini, presipitasi senyawa protein, polifenol (tanin), hop resin serta ion metal. Senyawa ini, khususnya protein dan polifenol perlu dihilangkan karena berpengaruh pada kualitas bir. Selama pendidihan, warna dari cairan berubah menjadi lebih gelap disebabkan karena terjadinya karamelisasi senyawa gula, pembentukan senyawa melanoidin dan oksidasi tanin dari hop. Jika dikehendaki pewarnaan yang lebih gelap untuk jenis-jenis bir tertentu, biasanya ditambahkan karamel pada proses ini.

### **b. Fermentasi**

Cairan fermentasi setelah dididihkan kemudian difiltrasi atau disentrifugasi untuk memisahkan komponen yang tidak larut, lebih lanjut didinginkan dan diaerasi dengan oksigen murni sebesar 8-10 mg/l. Untuk fermentasi atas, cairan fermentasi didinginkan sampai suhu  $14 - 16^{\circ}\text{C}$ , sedang untuk fermentasi bawah suhunya lebih rendah, yaitu  $6^{\circ}\text{C}$ . Cairan fermentasi yang telah dingin kemudian diinokulasi dengan inokulum khamir, sehingga diperoleh konsentrasi awal sel khamir sekitar  $10^6$  sel/ml. Khamir yang digunakan berasal dari inokulum baru (hasil perbanyakan sel) maupun dari fermentasi sebelumnya.

Perubahan yang terjadi selama fermentasi adalah sebagai berikut :



**Pertumbuhan dan perbanyakan sel khamir.** Sel khamir seperti kebanyakan mikrobia uniseluler yang lain di dalam medium cair akan mengalami empat fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi (**lag phase**), fase pertumbuhan logaritmik atau fase eksponensial, fase tetap dan fase menurun atau fase kematian.

Selama fase eksponensial, kecepatan pertumbuhan sel khamir adalah konstan, dan hanya pada fase inilah pertumbuhan sel khamir dapat dinyatakan dalam persamaan matematik. Kecepatan pertumbuhan yang spesifik ( $\mu$ ) dapat dinyatakan sebagai berikut :

$$\mu = \frac{1}{n} \frac{dN}{dt} = d(\ln N) / dt \dots \dots \dots (1)$$

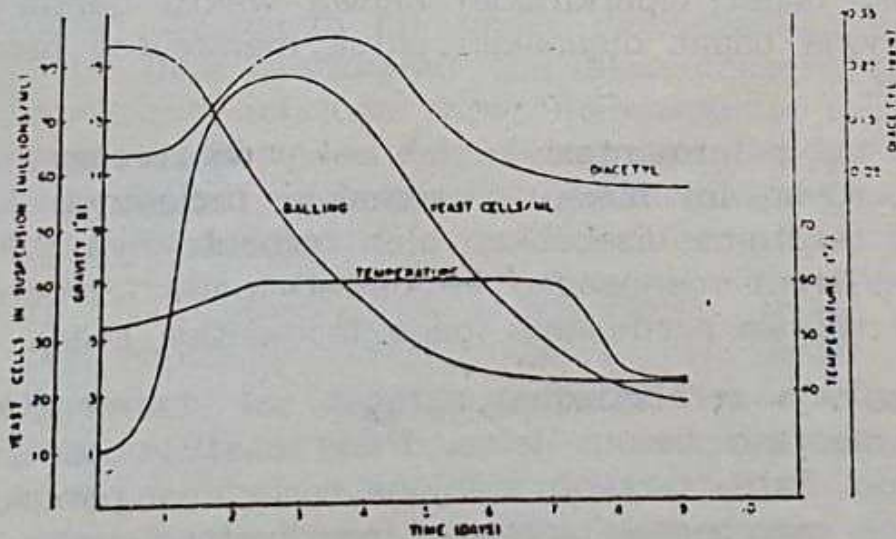
N adalah konsentrasi sel khamir pada waktu ke t dan ln N adalah nilai logaritma N, dari persamaan (1) diperoleh persamaan berikut ini :

$$d(\ln N) = \mu dt \dots \dots \dots (2)$$

Apabila nilai ln N versus t digambar pada grafik akan dihasilkan garis miring yang mencerminkan nilai  $\mu$ . Dari persamaan ini juga dapat diperoleh estimasi waktu ganda ( $t_d$ ) atau rata-rata waktu b generasi ( $g$ ) yaitu :

$$g = t_d = 0,693 / \mu \dots \dots \dots (3)$$

Pertumbuhan sel khamir selama fermentasi pada salah satu pembuatan bir dapat dilihat pada gambar 9, bandingkan dengan parameter yang lain (Helbert, 1983).



Gambar 9. Beberapa perubahan yang terjadi selama fermentasi bir.

Sumber : Helbert, 1983.

Perlu diketahui bahwa jumlah sel yang terhitung merupakan jumlah sel yang tersuspensi. Adapun alasan tidak dilakukan perhitungan jumlah sel total adalah karena pada beberapa sel cenderung mengendap ke bawah dan sel yang mengendap ternyata kurang penting di dalam proses fermentasi bir. Namun pada fase pertumbuhan eksponensial karena proses metabolisme berlangsung dengan cepat ternyata jumlah sel yang tersuspensi sama dengan jumlah sel total.

Selama 48 jam akan tampak buih yang sangat banyak pada tangki fermentasi disebabkan karena gas karbon dioksida yang dihasilkan selama fermentasi. Pada saat ini fermentasi berlangsung sangat cepat dan pertumbuhan khamir mencapai fase logaritmik, jumlah khamir meningkat sampai 4 - 5 kalinya dari jumlah awal untuk fermentasi bawah sedang pada fermentasi atas jumlahnya bisa mencapai 8 - 10 kalinya.

Berdasarkan persamaan (1), (2) dan (3), proses fermentasi seperti yang terlihat pada gambar 9 dapat diperkirakan sel khamirnya mempunyai kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) = 0,045/jam pada waktu gandanya ( $g$ ) = 15 jam. Nilai  $\mu$  dan  $g$  pada proses fermentasi kadang-kadang kurang tepat, apalagi kalau terjadi perubahan kondisi fermentasi seperti terjadinya perubahan suhu, nilai  $\mu$  dan  $g$  dianggap konstan apalagi kondisi fermentasinya juga konstan. Pembuatan bir yang diatur menggunakan khamir, cairan fermentasi dan kondisi fermentasi yang sama, dapat diperkirakan bahwa waktu gandanya juga sama sehingga dapat digunakan untuk memonitor proses fermentasinya.

Pada akhir fermentasi jumlah sel yang tersuspensi mengalami penurunan ini bukan dikarenakan terjadinya kematian sel, tetapi terutama disebabkan oleh terbentuknya agregat sel yang lebih lanjut mengendap ke bawah (pada fermentasi bawah) atau naik ke permukaan (pada fermentasi atas).

Mekanisme terbentuknya agregat sel khamir (terjadinya flokulasi) memang belum jelas. Pada saat konsentrasi gula turun sampai batas tertentu dan juga terjadinya penurunan pH, khamir akan membentuk agregat. Ion divalensi yaitu ion kalsium maupun magnesium ternyata memegang peranan penting.

dalam proses ini. Diperkirakan ion-ion ini akan membentuk ikatan jembatan antara permukaan sel khamir sehingga menyebabkan sel-sel khamir berikatan dengan yang lain. Agregat yang terbentuk ini sifatnya sementara, pencucian menggunakan air destilat maupun cairan fermentasi yang baru pada agregat akan menyebabkan sel khamir tersuspensi kembali.

Pada pembuatan bir, pemilihan sel khamir dalam hubungannya dengan pembentukan agregat ini sangat penting, sel yang mudah membentuk agregat (**flocculent strain**) dapat menyebabkan proses fermentasi berlangsung kurang sempurna, sedang penggunaan sel khamir yang tidak mudah membentuk agregat (**powder strain**) akan menyulitkan proses filtrasi pada penjernihan bir.

**Penurunan berat jenis.** Reaksi utama yang terjadi pada proses fermentasi adalah perubahan gula menjadi alkohol dan gas karbon dioksida. Gula yang mempunyai berat jenis lebih besar dari air berubah menjadi alkohol dengan berat jenis yang lebih kecil, oleh karena itu selama fermentasi terjadi penurunan berat jenis.

Di dalam pabrik bir, penurunan berat jenis ini selalu diikuti dan yang paling penting bahwa penurunan berat jenis ini harus semaksimal mungkin. Penurunan berat jenis maksimum atau **attenuation limit** dapat dicapai dengan menfermentasi seluruh gula yang ada dalam cairan fermentasi. Gula yang masih terdapat di dalam bir dapat menyebabkan bir mudah terkontaminasi baik oleh khamir liar atau bakteri. Gula yang tidak terfermentasi ini juga dapat mengakibatkan rasa manis pada bir yang sebetulnya tidak dikehendaki. Hanya bir manis tertentu saja seperti Munchener, fermentasinya tidak dilakukan semaksimal mungkin.

Proses fermentasi yang berlangsung tidak sempurna (**sticking fermentation**) diperkirakan karena beberapa sebab, pertama bahwa cairan fermentasi mungkin mengandung oligosakarida yang sulit difermentasi oleh khamir, kedua karena sel khamir terlapisi oleh protein dan hop resin yang terserap. Adanya pelapisan ini dapat mengganggu transfer nutrisi dari cairan fermentasi yang dibutuhkan oleh sel khamir. Kemung-

kinan yang lain adalah yang berkaitan dengan sifat fisiologis sel khamir. Sel khamir yang mudah membentuk agregat dan lebih lanjut mengendap atau mengumpul di permukaan cairan fermentasi akan menyebabkan proses fermentasi berlangsung tidak efisien.

**Perubahan pH.** pH cairan fermentasi akan menurun selama fermentasi berlangsung, penurunan pH ini dikarenakan terbentuknya gas karbon dioksida dan asam organik, terutama asam laktat oleh khamir. Normal pH akhir pada fermentasi bawah adalah 4,2 - 4,4 sedang beberapa fermentasi atas kadang-kadang mempunyai pH akhir 3,8 atau 3,9, bahkan bir Lambic kadang-kadang pH nya sampai di bawah 3 karena adanya aktivitas bakteri pembentuk asam.

Asam-asam yang mudah menguap yang terbentuk selama fermentasi adalah asam lemah yang jumlahnya juga sangat sedikit sehingga kurang berpengaruh pada perubahan pH, namun asam-asam ini penting di dalam flavor bir yaitu dengan terjadinya proses esterifikasi. Proses esterifikasi yang penting dalam flavor bir lebih banyak terjadi pada proses pemeraman.

**Perubahan yang lain.** Selama proses fermentasi kandungan senyawa nitrogen berkurang sebesar 1/3-nya, ini dikarenakan adanya asimilasi asam amino dan peptida berat molekul oleh khamir, juga adanya presipitasi protein karena turunnya pH.

Diperkirakan selama dua hari fermentasi, khamir akan menyerap seluruh oksigen yang terdapat di dalam cairan fermentasi dan menggunakannya untuk proses metabolismenya. Aerasi harus dilakukan secukupnya karena oksigen yang berlebihan dapat menyebabkan reaksi oksidasi yang tidak dikehendaki.

Selama fermentasi terjadi kenaikan suhu karena panas yang dihasilkan, sehingga tangki fermentasi yang digunakan harus dilengkapi dengan koil pendingin. Pada akhir fermentasi suhu diturunkan kira-kira 0°C. Pada suhu rendah ini khamir akan mengendap dan lebih lanjut bir muda dipindahkan ke tangki yang lain untuk diperam sedang endapan khamir digunakan kembali untuk inokulasi cairan fermentasi yang baru.

### **c. Pemeraman dan proses tahap akhir**

Tujuan dari proses pemeraman adalah untuk memberi kesempatan pada khamir agar mengendap seluruhnya, proses saturasi bir dengan gas karbon dioksida yang dihasilkan selama fermentasi kedua ataupun pada waktu karbonatasi, memperbaiki flavor serta presipitasi komponen yang menyebabkan kekeruhan.

Apabila fermentasi lanjutan dikehendaki merupakan bagian dari proses pemeraman, maka bir mulai diperam sebelum proses fermentasi berlangsung secara sempurna, sehingga sisa khamir yang terdapat di dalam bir muda akan melakukan fermentasi pada sisa gula. Fermentasi ini berlangsung lambat dan biasanya dilakukan pada tangki tertutup sehingga terjadi proses karbonatasi. Kadang-kadang sebelum proses pemeraman ditambahkan gula atau sirup atau cairan fermentasi yang masih aktif pada bir muda, dengan tujuan agar terjadi fermentasi lanjutan.

Proses tahap akhir meliputi proses klarifikasi dan karbonatasi. Klarifikasi ditujukan untuk memisahkan sisa yeast dan agregat molekul dengan berat molekul yang besar, misalnya kompleks protein-tanin yang merupakan koloid yang tidak stabil pada suhu rendah. Oleh karena itu bir diperam pada suhu sekitar 0°C untuk mempercepat terjadinya pengendapan agregat molekul ini. Klarifikasi dapat pula dilakukan dengan penambahan agensia penjernih (isinglas, polivinilpirolidon) yang dapat menyerap molekul agregat, atau dengan penambahan enzim proteolitik yang dapat menghidrolisis protein ke bentuk terlarut.

Bir setelah selesai diperam dan melalui proses tahap akhir lebih lanjut disaring dan dikemas baik menggunakan botol atau kaleng.

## **3. Komposisi cairan fermentasi (wort) dan bir**

### **a. Komposisi cairan fermentasi**

Komponen yang terdapat di dalam cairan fermentasi, terutama adalah karbohidrat, yang lainnya komponen nitrogen,

Tabel 5. Komposisi kimia zat padat pada cairan fermentasi<sup>1</sup>

Komponen		Komposisi <sup>2</sup>
Karbohidrat		90 - 92 %
Maltosa	43 - 46 %	
Maltotriosa	10 - 13	
Glukosa	4 - 8	
Sukrosa	1 - 3	
Fruktosa	1 - 2	
Gula yang tak dapat di-fermentasi	22 - 25	
Komponen N (N x 6,25)		3 - 6 %
Asam amino bebas	1,0 - 1,5	
Peptida dan protein	1,5 - 3,0	
Derivat asam nukleat	0,5 - 1,0	
Ion anorganik		1,5 - 2,0 %
Kalsium	40 - 200 mg/l	
Sodium	10 - 100	
Potassium	200 - 500	
Magnesium	30 - 150	
Mangan	0,05 - 0,25	
Seng	0,10 - 0,30	
Tembaga	0,02 - 0,15	
Besi	0,01 - 0,05	
Fosfat	400 - 800	
Klorida	100 - 400	
Sulfate	100 - 600	
Komponen yang lain		
Vitamin	2,5 - 3,5 mg/l	
Polifenol	0,1 - 2,0 %	
Komponen hop	0,05 - 0,1 %	
Lipida	10 - 50 mg/l	
Oksigen	8 - 12 mg/l	

1. Komposisi ini diperoleh dari analisis cairan fermentasi untuk pembuatan bir lager di Amerika Utara yang dibuat dari kecambah dengan penambahan bahan dasar pengganti bervariasi dari 0 - 40 %.
2. Persentase adalah berat/berat, dengan dasar berat kering.

40 Sumber : Helbert, 1983.

ion anorganik, vitamin, polivenol, komponen hop, lipida dan gas karbondioksida, seperti terlihat pada tabel 5.

Karbohidrat yang terdapat di dalam cairan fermentasi dengan jumlah 90 - 92 % berat kering (bk) dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu karbohidrat yang dapat difermentasi dan yang tidak dapat difermentasi oleh khamir. Karbohidrat (gula) yang dapat difermentasi yang penting adalah glukosa, maltosa, maltotriosa yang merupakan hasil hidrolisis selama proses pemasakan, fruktosa dan sukrosa yang telah ada pada kecambah. Maltosa adalah komponen gula utama yang jumlahnya hampir 50 % dari jumlah gula yang ada. Senyawa gula yang lain adalah galaktosa, rafinosa dan melibiosa. Jenis gula yang dapat dihidrolisis oleh khamir tergantung dari jenis khamir yang digunakan, misalnya *Saccharomyces uvarum* mampu menghidrolisis melibiosa dan refisecara sempurna, sedang *S. cerevisiae* tidak.

Senyawa gula yang tidak dapat difermentasi yang jumlahnya berkisar antara 22 - 25 % (bk), paling banyak adalah  $\alpha$ -glukan dengan derajat polimerisasi lebih dari tiga. Contohnya maltotetraosa, maltopentaosa dan dekstrin. Dekstrin dan beberapa senyawa peptida dan protein penting untuk menentukan rasa dan bodi bir. Senyawa gula yang jumlahnya tidak begitu banyak yaitu  $\alpha$ -glukan, arabinosa, robisa, xilosa dan senyawa pentosa. Senyawa gula ini menyokong rasa manis yang terdapat dalam bir.

Komponen nitrogen yang ada di dalam cairan fermentasi jumlahnya sekitar 3,6 % (bk), terdiri dari asam amino bebas, peptida, protein dan derivat asam nukleat. Asam amino ini penting sebagai sumber nutrisi khamir dan flavor bir. Fraksi protein asam dengan adanya tanin akan membentuk senyawa kompleks dan sebagian dari senyawa ini dapat menyebabkan kekeruhan bir. Fraksi glikoprotein netral akan membentuk senyawa kompleks dengan komponen hop, yang dapat menstabilkan buih. Sedang beberapa peptida dengan berat molekul kecil dapat digunakan oleh khamir. Asam nukleat dan derivatnya yang terdapat di dalam cairan fermentasi dalam jumlah yang kecil kadang-kadang berpengaruh pada flavor.

Senyawa amina yang kebanyakan asam amino bereaksi dengan gula reduksi seperti glukosa, fruktosa dan maltosa untuk memproduksi senyawa kompleks yang disebut melanoidin yang penting di dalam pewarnaan bir. Komponen dengan flavor karamel juga dihasilkan reaksi ini.

Ion mineral yang terdapat di dalam cairan fermentasi berasal dari kecambah maupun air yang digunakan. Ion kalsium, sodium, klorida dan sulfat kebanyakan berasal dari air yang mencerminkan tingkat kesadiahannya, ion-ion ini berpengaruh pada sifat-sifat organoleptik bir. Ion kalsium, mangan, tembaga, besi dan seng dibutuhkan untuk kofaktor beberapa enzim. Ion magnesium dibutuhkan oleh enzim kinase untuk mengkatalisis transfer group fosfat. Ion mangan dan seng dibutuhkan oleh **biotincoupled carboxylases** dalam aktivitasnya, sedang ion seng dibutuhkan oleh beberapa enzim dehidrogenase.

Kebutuhan beberapa ion di dalam pembuatan bir adalah sebagai berikut, untuk ion seng 0,2 - 0,5 mg/l; ion tembaga 0,010 - 0,015 mg/l, dan besi 0,070 - 0,080 mg/l. Kekurangan ion yang biasanya sering terjadi pada cairan fermentasi adalah kekurangan ion seng dan sebagai akibatnya pertumbuhan khamir dan fermentasinya terhambat serta kerusakan pada sifat-sifat organoleptik.

Komponen yang lain adalah vitamin, polifenol, komponen hop, lipida dan oksigen, jumlahnya berkisar antara 0,5 - 1,5%. beberapa komponen ini penting untuk pertumbuhan dan fermentasi khamir maupun flavor bir.

#### b. Komposisi bir

Komponen yang terdapat di dalam bir sangat tergantung dari jenisnya. Alkohol merupakan komponen utama yang jumlahnya tergantung dari konsentrasi gula awal serta proses fermentasinya. Alkohol tinggi dan ester juga terdapat di dalam bir. Alkohol tinggi terbentuk melalui deaminasi maupun dekarboksilasi asam amino sedang ester terbentuk dari proses esterifikasi antara asam dan alkohol yang berlangsung selama pemeraman. Gliserol yang merupakan hasil samping proses



fermentasi terdapat di dalam bir sekitar 0,2 - 0,3 %. Komponen lain yang terdapat di dalam bir adalah senyawa karbohidrat yang tidak dapat difermentasi, komponen mineral, hop resin, tanin, komponen warna, asam organik misalnya asam laktat, suksinat, tartarat, oksalat serta beberapa jenis vitamin B kompleks, misalnya thiamin, riboflavin serta asam suksinat.

Adapun komposisi bir secara umum dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil analisis komponen bir dan **ale**.

Karakteristik	Bir	Ale
Warna, derajat Lovibond	4,20	5,11
Indikasi sakarometer, Balling	3,59	3,08
Alkohol, % <b>by weight</b>	3,49	4,15
Alkohol, % <b>by volume</b>	4,47	5,32
Ekstrak, %	5,19	4,95
Gula reduksi, %	1,48	1,58
Keasaman (sebagai asam laktat), %	0,15	0,17
Protein, %	0,36	0,37
pH	4,35	4,19
Karbon dioksida, %	0,47	0,46
Berat jenis awal, Balling	12,0	13,0
Derajat fermentasi yang nyata	56,7	61,9

#### 4. Kerusakan bir

Kerusakan bir biasanya disebabkan oleh bakteri terutama group asam laktat dan khamir liar (**wild yeasts**) dari genus **Saccharomyces**.

Bakteri yang sering menyebabkan kerusakan bir adalah bakteri asam laktat, bakteri asam asetat dan **Zymomonas anaerobia**. Dua spesies bakteri asam laktat yang sering dijumpai dalam bir yang telah rusak adalah **Laktobacillus pastorianus** dan **L. distaticus**. Keduanya mempunyai sifat morfologi dan fisiologi yang sangat mirip, perbedaannya hanya pada kemam-

puan menghidrolisis dekstrin dan pati yang dipunyai oleh *L. pastorianus*. Kedua nama species ini bahkan mempunyai nama species ini bahkan mempunyai nama sinonim yaitu *L. brevis*. Bakteri ini dapat menyebabkan kekeruhan karena pertumbuhannya dan menghasilkan asam laktat yang berlebihan. Bakteri asam laktat yang lain adalah dari genus *Pediococcus*, yaitu *P. damnosus* (*P. cerevisiae*), sebelumnya bakteri ini disebut *Sarcina* sehingga kerusakan yang disebabkan oleh bakteri ini biasanya disebut penyakit *Sarcina* (*Sarcina sickness*), ditandai dengan produksi diasetil yang berlebihan.

Bakteri asam asetat yang bersifat aerob hanya menyerang pada bir apabila terjadi kebocoran, yaitu genus *Gluconobacter* dan *Acetobacter*, dengan adanya oksigen keduanya mampu mengoksidasi etanol menjadi asam asetat, sehingga kerusakan yang disebabkan oleh bakteri ini ditandai dengan timbulnya asam asetat yang berlebihan.

*Zymomonas anaerobia* yang kadang-kadang juga menyebabkan kerusakan bir, tidak dapat hidup setelah dipanaskan pada suhu 60°C selama 5 menit, sehingga bakteri ini jarang tumbuh pada bakteri yang telah dipasterurisasi.

Khamir liar juga merupakan jenis mikrobial yang sering menyebabkan kerusakan bir, terutama adalah genus *Saccharomyces*, yaitu *S. diastaticus*, genus lainnya di antaranya *Pichia*, *Candida*, *Torulopsis*, *Hansenula*, *Rhodotulura*. Kerusakan yang disebabkan oleh khamir liar ini ditandai dengan timbulnya asam yang berlebihan, *off flavor* dan *off odor*, keruh karena adanya suspensi sel.

Kekeruhan yang terjadi pada bir ternyata tidak hanya disebabkan oleh adanya mikrobial tetapi juga karena komposisi kimianya. Senyawa koloid yang terdapat pada bir cenderung membentuk koagulan yang semakin lama semakin besar sehingga menyebabkan kekeruhan dan pada akhirnya mengendap. Senyawa utama yang menyebabkan kekeruhan ini adalah protein dan juga tanin. Timbulnya kekeruhan ini adalah protein dan juga tanin. Timbulnya kekeruhan ini bisa diatasi dengan penambahan enzim proteolitik yang dapat mendegradasi kompleks protein menjadi bentuk sederhana leut.

## B. Anggur

Anggur adalah minuman beralkohol yang paling tua yang dibuat secara fermentasi dari cairan buah, biasanya cairan buah anggur (**must**). Minuman ini dapat digolongkan menjadi 5 golongan seperti tersebut berikut ini dan dari golongan ini ada beberapa tipe yang terkenal, sedang cara pembuatannya secara umum dapat dilihat pada gambar 10.

**Appetizer wine**, adalah anggur yang digunakan sebagai pembuka makan atau untuk merangsang selera makan, contohnya **sherry** dan **vermouth**.

**Red table wine**, adalah anggur yang berwarna merah dengan kandungan alkohol maksimum 14%. Warna merah disebabkan oleh pigmen antosianin yang terdapat pada kulit buah anggur varietas ungu atau merah. Dengan mengikutsertakan kulit buah anggur selama fermentasi, pigmen antosianin akan terekstrak oleh alkohol yang terbentuk. Tingkat pewarnaan tergantung dari jumlah zat warna ini oleh alkohol selama selama fermentasi. Contoh anggur golongan ini **claret** dan **Burgundy**.

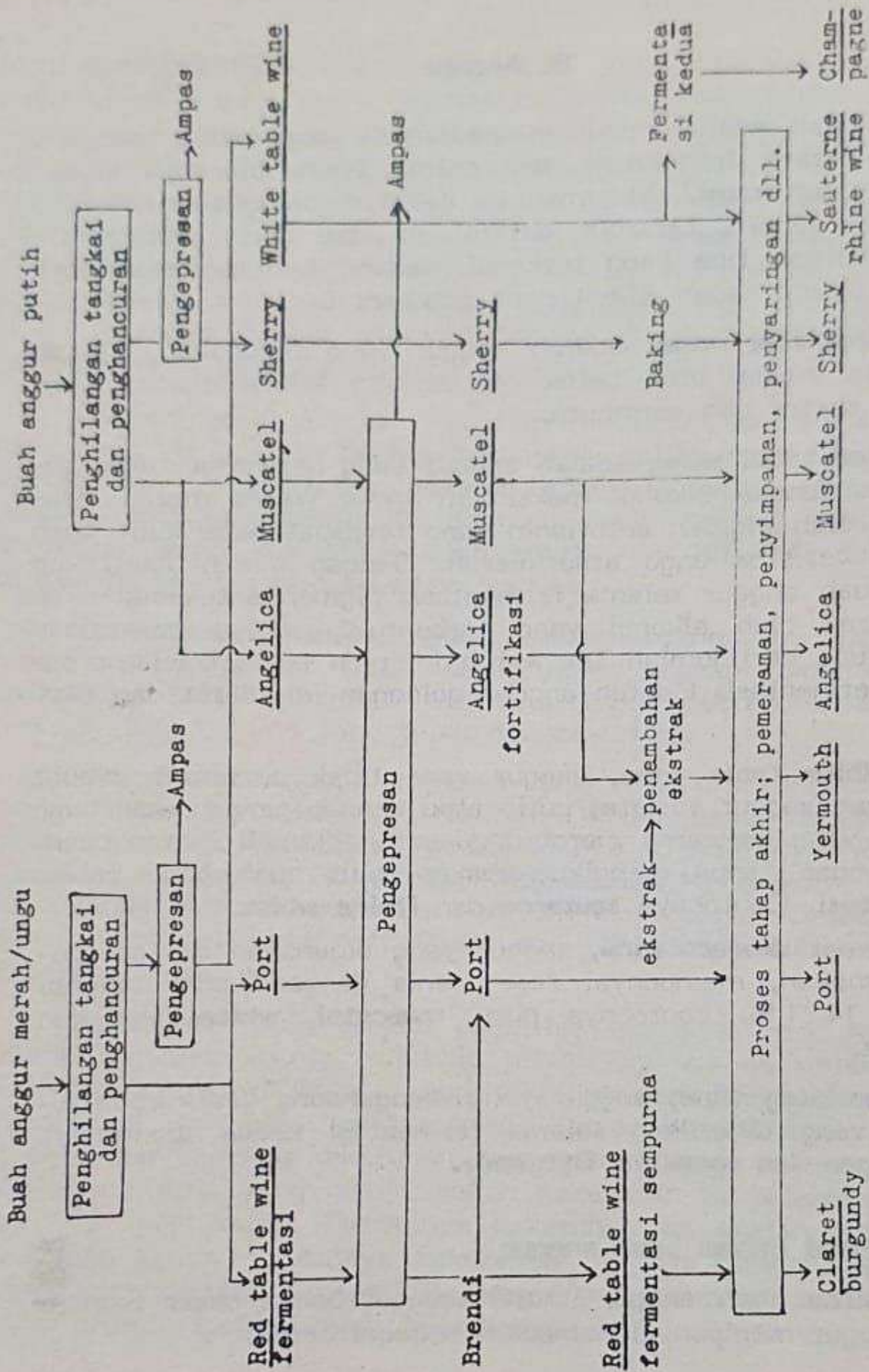
**White table wine**, anggur yang tidak berwarna, dibuat dari buah anggur varietas putih atau dengan pengepresan buah anggur yang berwarna merah/ungu untuk diambil cairannya dengan tanpa mengikutsertakan kulit buah pada proses fermentasi. Contohnya **sauterne** dan **Rhine whine**.

**Sweet dessert wine**, anggur yang digunakan sebagai penutup makan, mempunyai rasa manis dengan kadar alkohol antara 14-21%, contohnya **port**, **muscatel**, **white port** dan **angelica**.

**Sparkling wine**, anggur yang mengandung gas karbon dioksida yang dihasilkan selama fermentasi kedua, contohnya **champagne** dan **sparkling Burgundy**.

### 1. Komposisi cairan buah anggur

Cairan buah anggur (**must**) sebagai bahan dasar pembuatan anggur mempunyai komposisi sebagai berikut :



Gambar 10. Diagram alir proses pembuatan anggur.

**Air**, merupakan komponen utama yang jumlahnya berkisar antara 70 - 85 %.

**Karbohidrat (gula)**, jumlahnya sekitar 15 - 25 %. Gula yang penting di dalam cairan buah adalah glukosa dengan jumlah 8 - 13 % dan fruktosa 7 - 12 %. Perbandingan antara glukosa dan fruktosa antara 0,71 - 1,45 (biasanya 1 : 1). Perbandingan kedua gula ini kadang-kadang sangat penting karena fruktosa mempunyai sifat lebih manis daripada glukosa sehingga untuk pembuatan anggur yang manis biasanya digunakan buah anggur dengan kandungan fruktosa yang lebih tinggi dan khamir yang bersifat glukofilik sehingga diharapkan masih tersisa fruktosa yang tidak difermentasi khamir yang dapat menyebabkan rasa manis pada anggur.

Senyawa karbohidrat yang lain yaitu pentosa, inositol dan pektin. Senyawa pentosa yang utama adalah arabinosa dan ramnosa yang jumlahnya mencapai 0,1 %, merupakan senyawa gula yang tidak dapat difermentasi oleh khamir. Pektin dapat menyebabkan kekeruhan pada anggur, sehingga untuk memperkecil jumlahnya kadang-kadang dilakukan penambahan enzim pektolitik yang akan merubah pektin menjadi metanol dan asam galakturonat.

**Asam organik**, yang terdapat dalam cairan buah terutama adalah asam tartarat, asam malat dan sedikit asam sitrat. Total asam dalam cairan dihitung sebagai asam tartarat yang jumlahnya sekitar 0,3 - 1,5 %. Kandungan asam ini berpengaruh pada pH cairan fermentasi.

**Komponen nitrogen**, yang terdapat dalam cairan buah berupa asamamino, peptida, protein, komponen amonium, dan senyawa nitrogen yang lain dengan jumlah seluruhnya sekitar 0,03 - 0,17 %. Asam amino di dalam cairan fermentasi penting sebagai sumber nitrogen dan untuk mempercepat pertumbuhan khamir. Kebanyakan cairan buah mengandung nitrogen yang cukup untuk fermentasi sehingga penambahan nitrogen jarang dilakukan kecuali pada keadaan tertentu, misalnya pada pembuatan anggur yang mengandung gas CO<sub>2</sub> (sparkling wine), dilakukan penambahan amonium sulfat atau amonium fosfat selama fermentasi kedua.

**Mineral**, jumlahnya di dalam cairan buah di sekitar 0,3 - 0,5 %. Mineral ini penting di dalam fermentasi alkohol yaitu sebagai katalisator reaksi-reaksi perubahan gula menjadi alkohol. Beberapa mineral yang penting adalah magnesium, kalsium, seng, tembaga, besi fosfat dan sulfat.

**Senyawa lain**, yang terdapat di dalam cairan buah adalah polifenol. Tanin merupakan polifenol yang paling banyak yang jumlahnya sekitar 0,01 - 0,10 %, senyawa ini penting sebagai penghambat pertumbuhan bakteri dan stabilisator pigmen antosianin yang banyak terdapat pada anggur varietas merah atau ungu yang berfungsi sebagai zat warna wine. Komposisi cairan buah anggur seluruhnya dapat dilihat pada tabel 7 yang disampaikan bersama-sama dengan komposisi anggur.

## 2. Proses pembuatan anggur

Anggur dibuat melalui beberapa tahapan proses, utama meliputi pemilihan anggur, penghilangan tangkai dan penghancuran buah (**stemmer and crusher**), sulfitasi, pasteurisasi, fermentasi dan proses tahap akhir. Sedang proses lainnya untuk tipe anggur tertentu adalah fortifikasi, proses **baking** dan fermentasi kedua.

a. **Pemilihan buah anggur**. Syarat buah anggur yang digunakan sebagai bahan dasar adalah tidak cacat, matang, segar dan komposisinya cocok untuk pembuatan anggur dengan tipe tertentu. Contohnya pembuatan **dry table wine** digunakan buah anggur dengan konsentrasi gula 18 - 23 °Balling, asam sekitar 0,65 % dan pH 3,3 pada cairan buahnya. Pada pembuatan **dessert wine** digunakan buah anggur dengan konsentrasi gula pada cairannya lebih besar 24 %, asam 0,4 - 0,6 % dan pH 4. Komposisi buah anggur sangat dipengaruhi oleh iklim. Buah anggur yang tumbuh pada kondisi dingin proses kematangannya lebih lambat, konsentrasi asam lebih tinggi, pH lebih rendah, pigmen antosianinnya lebih stabil dan lebih banyak. Buah anggur tipe ini menghasilkan cairan buah yang baik sebagai bahan dasar **table wine** terutama **red table wine**. Sedang buah anggur yang tumbuh di daerah panas lebih cepat matang dan konsentrasi gulanya lebih tinggi, buah anggur jenis ini cocok sebagai bahan dasar **dessert wine**.

Tabel 7. Komposisi cairan buah anggur dan anggur

Komponen	Cairan buah anggur	Anggur
Air	70-85	80-90
Karbohidrat	12-25	0,1-0,3
Glukosa	8-13	0,05-0,1
Fruktosa	7-12	0,05-0,1
Pentosa	0,08-0,20	0,08-0,20
Pektin	0,01-0,10	T
Inositol	0,02-0,08	0,03-0,05
Alkohol dan senyawa sejenis		
Etil alkohol	T	8,0-15,0
Metil alkohol	0,0	0,01-0,02
Alkohol tinggi	0,0	0,008-0,012
Gliserol	0,0	0,30-1,40
2,3 butilin glikol	0,0	0,01-0,15
Asetoin	0,0	0,000-0,003
Diasetil	0,0	T -0,0006
Aldehida	T	0,001-0,050
Asam organik	0,3-1,5	0,3-1,1
Tartarat	0,2-1,0	0,1-0,6
Malat	0,1-0,8	0,0-0,6
Sitrat	0,01-0,05	0,0-0,05
Suksinat	0	0,05-0,15
Laktat	0	0,1-0,5
Asetat	0,00-0,02	0,03-0,05
Polipenol		
Antosianin	T	T
Tanin	0,01-0,10	0,01-0,30
Komponen nitrogen	0,03-0,17	0,01-0,09
Komponen mineral	0,3-0,5	0,15-0,40

Sumber : Amerine dkk., 1971.

b. **Penghilangan tangkai dan penghancuran.** Tujuan dari tahap ini adalah untuk mendapatkan cairan buah. Pada pembuatan anggur putih, setelah penghancuran dilakukan pemisahan cairan buah dengan kulit dan biji sebelum dilakukan fermentasi. Sedang pada produksi anggur merah dilakukan ekstraksi warna terlebih dahulu sebelum kulit buah dipisahkan. Ekstraksi warna dari kulit buah anggur dapat dilakukan 2 cara, pertama, kulit dan biji diikutsertakan dalam proses fermentasi, kedua, buah yang telah dihancurkan dipanaskan pada suhu  $85^{\circ}\text{C}$  selama beberapa jam sampai ekstraksi warna dianggap cukup.

c. **Sulfitasi.** Pada kulit buah anggur banyak terdapat mikrobia baik jamur, khamir maupun bakteri. Pada mulanya anggur dihasilkan dari fermentasi spontan diberi mikrobia yang terdapat pada kulit buah ini terutama oleh jenis khamir. Anggur yang dihasilkan secara spontan ini kualitasnya memang tidak dapat diperkirakan terlebih dahulu. Sehingga dalam pembuatan anggur, sebelum proses fermentasi perlu dilakukan sulfitasi yang ditujukan untuk menghambat serta mematikan mikrobia yang tidak dikehendaki pertumbuhannya dalam pembuatan anggur, terutama bakteri asam asetat dan asam laktat yang mempunyai kemampuan tumbuh pada rendah pH. Penambahan  $\text{SO}_2$  ke dalam cairan buah berkisar antara 100 - 150 ppm, tergantung dari tingkat kematangan buah, kontaminasinya dengan jamur dan suhu pemetikan. Jumlah  $\text{SO}_2$  yang besar biasanya ditambahkan pada cairan buah yang kelewat masak, berjamur dan relatif lebih panas.

d. **Pasteurisasi,** proses ini tidak selalu dikerjakan pada setiap pembuatan anggur, hanya cairan buah yang dianggap perlu saja yang dilakukan pasteurisasi, misalnya yang terkontaminasi dengan mikrobia yang tidak dikehendaki.

e. **Fermentasi.** Secara alamiah terutama dalam pembuatan anggur jumlah kecil, setelah buah anggur dipres sehingga dihasilkan cairan buah, lebih lanjut dibiarkan terjadi fermentasi secara spontan, tanpa penambahan inokulum. Karena khamir yang dibutuhkan telah terdapat dalam jumlah banyak dan dominan pada kulit buah. Juga kadang-kadang adanya bakteri tertentu justru menguntungkan, contohnya bakteri asam laktat



yang dapat merubah asam malat menjadi asam laktat, ini menguntungkan kalau cairan buah mengandung asam malat yang cukup tinggi, adapun fermentasi perubahan asam malat menjadi asam laktat ini disebut fermentasi malolaktat (**malo-lactic fermentation**).

Di bawah kondisi yang baik fermentasi spontan ini dapat menghasilkan anggur yang baik pula, karena dalam fermentasi ini tumbuh bervariasi khamir dengan kemampuan membentuk alkohol, ester dan lain-lain yang berbeda. Tetapi karena pertimbangan-pertimbangan sebagai berikut yaitu; kurangnya pengetahuan yang berhubungan dengan asosiasi dan efek-efek kompetitif dari campuran kultur pada kualitas fermentasi anggur, kesukaran terbentuknya flavor yang dikehendaki serta kemungkinan terjadinya pembusukan, maka kini dalam pembuatan wine banyak digunakan khamir **Saccharomyces cerevisiae** bahkan telah digunakan pula hasil mutasinya, misalnya strain Burgundy dan champagne.

Proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu suhu, konsentrasi gula, aerasi dan pH.

**Saccharomyces cerevisiae** yang banyak digunakan dalam pembuatan anggur mampu tumbuh pada suhu tinggi sekitar 40 - 45°C dan pada suhu rendah sekitar 0°C. Namun demikian proses fermentasi pada pembuatan anggur biasanya dilakukan pada suhu antara 10 - 30°C. Produksi anggur putih biasanya dilakukan pada suhu 10 - 20°C, adapun beberapa keuntungan fermentasi menggunakan suhu rendah yaitu anggur lebih segar dengan rasa buah, terbentuk etanol lebih banyak dengan kehilangan etanol yang lebih sedikit, kemungkinan terjadinya kontaminasi lebih kecil sehingga produksi asam volatil juga lebih sedikit. Anggur merah biasanya diproduksi pada suhu yang lebih tinggi 22 - 30°C, yaitu pada waktu kulit buah disertakan dalam fermentasi, sehingga ekstraksi warna lebih efektif.

Konsentrasi gula pada cairan buah juga berpengaruh pada proses fermentasi. Cairan buah yang mempunyai konsentrasi lebih besar dari 300 g per liter dapat menghambat pertumbuhan dan fermentasi oleh khamir, hanya beberapa khamir dari genus **Saccharomyces** yang osmofilik dan osmotoleran

yang mampu tumbuh, misalnya *S. ballii* var. *osmophilus*, *S. rouxii* dan *S. italicus*.

Aerasi yang ditujukan untuk pertumbuhan dan perkembangan-biakan sel khamir penting dilakukan pada pembuatan anggur terutama apabila pertumbuhan khamirnya lambat. Aerasi ini harus dilakukan secukupnya, karena apabila berlebihan akan menyebabkan penurunan hasil alkohol, rasa tawar, oksidasi warna dan flavor, karena terbentuknya asam asetat, asam suksinat dan aldehida yang berlebihan.

Keasaman juga berpengaruh pada proses fermentasi. Khamir mampu tumbuh dan melakukan fermentasi dengan baik pada pH cairan buah sekitar 3,1 - 3,9; sedang di bawah pH 3 fermentasinya agak terlambat. Khamir juga tidak dipengaruhi oleh senyawa asam yang terdapat dalam cairan buah (asam tartarat, asam malat dan asam sitrat), tetapi asam yang dihasilkan sebagai hasil samping proses fermentasi yaitu asam asetat, asam butirat dan asam propionat dapat berpengaruh pada pertumbuhan khamir. Fermentasi pada pH rendah ini sangat menguntungkan karena dapat mengurangi kontaminasi oleh bakteri yang biasanya mempunyai pH optimum di sekitar netral, hanya bakteri asam asetat dan asam laktat saja yang mampu tumbuh pada pH rendah.

f. **Pemeraman dan penyimpanan.** Pemeraman anggur biasanya dilakukan pada tangki yang terbuat dari beton maupun kayu, yaitu jenis bahan yang dapat menjaga kestabilan temperatur anggur selama beberapa tahun. Perubahan yang penting selama proses pemeraman dan penyimpanan adalah terjadinya penjernihan anggur dan terbentuknya flavor. Setelah proses pemeraman selesai lebih lanjut dilakukan penyaringan dan anggur yang jernih kemudian dibotolkan. Cara pembuatan anggur seperti ini berlaku pada proses pembuatan anggur dengan kadar alkohol lebih kecil 14 %, baik yang berwarna merah atau putih (*red/white table wine*) misalnya *claret*, *Burgundy*, *sauterne* dan *Rhine wine*.

Untuk pembuatan anggur tipe-tipe tertentu dilakukan proses yang spesifik sebelum diperam yaitu proses fortifikasi, proses *baking*, fermentasi kedua maupun penambahan ekstrak.

g. **Fortifikasi.** Untuk pembuatan **sweet dessert wine**, contohnya **port**, **muscatel**, **angelica** dan **white port** dilakukan fortifikasi dengan brendi untuk menaikkan kadar alkoholnya sekitar 17 - 21 %. Pada proses ini juga dilakukan penambahan gula yang ditujukan untuk memberikan rasa manis yang jumlahnya disesuaikan dengan jenis anggur yang dihasilkan.

h. **Proses baking.** Proses ini dilakukan pada pembuatan **sherry** adapun tujuannya untuk membentuk flavor yang spesifik. Hasil fermentasi setelah difortifikasi dengan brendi sampai kadar alkoholnya berkisar 17 - 21 % dan konsentrasi gulanya diatur 10 - 100 g setiap liter tergantung dari jenisnya, lebih lanjut dipanaskan pada suhu 60°C selama 10 - 20 minggu. Khamir yang mengendap selama fortifikasi harus dipisahkan, karena adanya endapan khamir dapat menstimulasi pertumbuhan **Lactobacillus trichodis** yang selanjutnya dapat menyebabkan pembusukan. Selama proses **baking** terjadi karamelisasi dan beberapa reaksi oksidasi yang penting pada pembentukan flavor **sherry**.

i. **Fermentasi kedua.** Fermentasi ini dikerjakan pada pembuatan anggur yang mengandung gas CO<sub>2</sub> (**sparkling wine**) yang ditujukan untuk karbonatasi. Anggur putih yang merupakan bahan dasar pembuatan **champagne**, ditambah sukrosa sebanyak 25 g setiap liter dan diinokulasi dengan biakan murni khamir. Fermentasi kedua ini dilakukan pada botol dengan posisi terbalik dan berlangsung selama beberapa bulan, dengan suhu 9 - 12°C. Setelah fermentasi selesai dilanjutkan dengan pemeraman sampai beberapa tahun. Selama ini, khamir akan mengendap di leher botol. Setelah proses pemeraman selesai, khamir dibuang yang mengendap di leher botol dibuang dan pada saat ini juga ditambahkan larutan sukrosa serta flavor kalau diperlukan yang disesuaikan dengan tipe **champagne** yang dihasilkan.

j. **Penambahan ekstrak.** Proses ini dilakukan pada pembuatan **vermouth**, adalah ekstrak yang ditambahkan yaitu ekstrak **herb** (tanaman rumput-rumputan), contohnya **angelica**, **cinchoa**, **marjoram**, **coriander**, **thyme**.

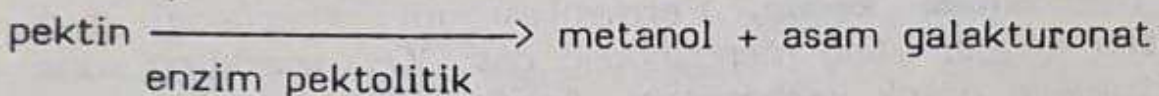
### 3. Komposisi anggur

Komponen yang terdapat pada anggur merupakan komponen yang sudah terdapat pada buah anggur dan komponen yang terbentuk selama pembuatan anggur, seperti terlihat pada tabel 7.

a. **Air**, merupakan komponen utama yang jumlahnya berkisar antara 80/- 90 %, berasal dari air buah anggur.

b. **Komponen alkohol**. Etanol (etil alkohol) yang jumlahnya bervariasi tergantung dari jenisnya anggur, merupakan komponen penting yang terdapat dalam minuman beralkohol. Etanol hasil fermentasi cairan buah anggur biasanya berkisar antara 8 - 15 %.

Metanol (metil alkohol), biasanya terdapat pada anggur yang dibuat dari buah-buahan dengan konsentrasi yang cukup tinggi, diperoleh dari hidrolisis pektin oleh enzim pektolitik. Enzim ini kadang-kadang ditambahkan dalam pembuatan anggur sebagai agensia penjernih, dengan reaksi sebagai berikut :



Pektin ini banyak diperoleh pada fermentasi dengan kulit buah yaitu pada pembuatan anggur merah.

Alkohol tinggi (**higher alcohol**), yang terdapat di dalam anggur di antaranya 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, 1-pentanol dan 1-heksanol. Senyawa ini kebanyakan merupakan deaminasi asam amino. Pembentukannya dapat dikurangi dengan penambahan amonium fosfat pada awal fermentasi. Dalam jumlah yang cukup dapat menimbulkan flavor yang dikehendaki namun demikian apabila konsentrasinya cukup tinggi dapat berpengaruh pada bau.

Gliserol, merupakan hasil samping proses fermentasi, senyawa ini penting dalam pembentukan flavor sebab sifatnya yang agak manis dan **oiliness**. Pembentukan gliserol lebih banyak terjadi pada suhu rendah, kandungan asam tartarat

yang tinggi dan adanya SO. Gliserol kebanyakan terbentuk pada tahap awal fermentasi.

2,3 butilen glikol, asetoin dan diasetil, senyawa ini merupakan hasil aktivitas khamir, dalam jumlah kecil penting pada sifat sensoris anggur, tetapi dalam jumlah besar berpengaruh pada bau.

c. **Asam organik.** Asam tartarat, asam malat dan asam sitrat merupakan asam yang telah ada pada buah anggur dan jumlahnya menurun pada anggur. Asam ini terjadinya pembusukan dan mempertahankan warna.

Penurunan asam tartarat terutama disebabkan karena terbentuknya potasium asam tartarat yang bersifat kurang larut pada alkohol sehingga senyawa ini akan mengendap selama dan setelah fermentasi. Sedang penurunan asam malat terutama disebabkan karena adanya fermentasi malo-laktat oleh bakteri asam laktat. Penurunan asam sitrat lebih banyak terjadi karena diserang oleh bakteri asam asetat.

Terdapatnya asam suksinat di dalam anggur karena diproduksi selama fermentasi alkohol, sedang asam laktat terutama karena hasil fermentasi malo-laktat namun ada juga yang merupakan hasil samping fermentasi alkohol. Asam asetat yang terdapat di dalam anggur sebagian kecil merupakan hasil samping fermentasi alkohol tetapi dalam jumlah yang berlebihan dikarenakan adanya pertumbuhan bakteri penghasil asam asetat.

d. **Karbohidrat.** Glukosa dan fruktosa yang masih terdapat dalam anggur dengan jumlah yang sangat kecil penting sebagai sumber rasa manis. Pentosa (arabinosa dan rhamnosa) yang merupakan gula yang tidak dapat difermentasi, jumlahnya hampir tidak banyak berubah baik pada cairan buahnya maupun anggur. Hanya ada sedikit arabinosa yang berubah menjadi furfural selama pasteurisasi. Pektin, jumlahnya menurun karena senyawa ini akan mengendap selama pembuatan anggur atau dipecah menjadi metanol dan asam galakturonat oleh enzim pektolitik.

e. **Senyawa yang lain.** Aldehida, yang penting adalah asetaldehida, merupakan hasil samping proses fermentasi. Jumlahnya meningkat dengan adanya SO<sub>2</sub>, aerasi pada anggur yang fermentasinya kurang sempurna. Senyawa ini penting di dalam sifat sensoris anggur.

Asetal, merupakan hasil reaksi asetaldehida dan etil alkohol, mempunyai bau aldehida yang kuat, jumlahnya sangat kecil yaitu kurang dari 5 mg per liter.

Hidroksi metil furfural, merupakan hasil pemanasan fruktosa dalam larutan asam, mempunyai bau seperti karamel jumlahnya kurang dari 300 mg per liter.

Ester, merupakan hasil esterifikasi asam dan alkohol, yang penting adalah etil asetat. Senyawa ini penting di dalam flavor anggur, apabila jumlahnya kurang dari 200 mg per liter, tetapi apabila konsentrasinya lebih besar dapat menyebabkan bau yang busuk.

Senyawa nitrogen, yang terdiri dari protein, pepton, polipeptida, amida, asam amino serta amonia.

#### 4. Kerusakan anggur

Pada dasarnya kerusakan anggur dapat digolongkan menjadi dua bagian yaitu kerusakan karena mikrobia baik yang bersifat aerob maupun anaerob (fakultatif anaerob) dan kerusakan bukan karena mikrobia.

a. **Kerusakan karena mikrobia.** Kerusakan karena mikrobia aerob. Mikrobia ini tumbuh baik dengan adanya udara. Ini terjadi apabila ada kontak langsung antara anggur dengan udara misalnya dalam pemindahan dari satu tangki ke tangki lain. Sehingga kontak ini harus dicegah, misalnya dengan pemberian tekanan gas CO<sub>2</sub>. Mikrobia yang sering menyebabkan kerusakan yaitu *Mycoderma vini* (**wine flavor**) yang membentuk lapisan film di permukaan, menyerang ekstrak, alkohol dan kadang-kadang asam organik. Mikrobia yang lain yaitu bakteri asam asetat yang menghasilkan asam asetat. Total asam yang terdapat di dalam anggur dapat dikurangi jumlahnya dengan penambahan basa, tetapi asam yang mudah menguap, khususnya asam asetat jumlahnya tidak berkurang. Salah

satu cara untuk mengatasi kerusakan anggur karena terbentuknya asam asetat yang tinggi yaitu dengan mencampur anggur ini dengan anggur yang asam asetatnya rendah.

Kerusakan karena mikrobia anaerob atau fakultatif anaerob. Kerusakan yang terkenal adalah **tourne disease**, merupakan kerusakan yang berbahaya. Penyebabnya adalah bakteri bentuk panjang, biasanya tumbuh pada anggur merah dan putih atau anggur yang difortifikasi dengan kadar alkohol tinggi. Bakteri ini menyerang gula dan nutrisi yang lain. Tanda-tanda penyerangannya yaitu terjadinya kenaikan asam volatil, penurunan kadar asam tetap (asam tartarat, asam malat dan asam sitrat), terjadinya kekeruhan (**silky**) dan timbul bau dan rasa yang mousey. Cara mengetahui adanya kerusakan ini dengan pengamatan mikroskopis maupun analisis asam volatilnya. Cara pencegahannya dengan penambahan sulfur dioksida 75 ppm atau metabisulfit, pasteurisasi pada suhu 145°F selama 30 menit, ditambah penjernihan serta dilakukan sterilisasi alat-alat. Cara mengatasi anggur yang telah diserang yaitu dengan klarifikasi menggunakan tanah diatome atau bentonit.

Kerusakan oleh bakteri asam laktat misalnya **Lactobacillus hilgardii** yang membentuk asam laktat, menyebabkan kekeruhan **silky** dan bau **mousey** serta rasa asam.

Kerusakan yang lain karena bakteri pembentuk manitol ( $C_6H_{14}O_6$ ), kecuali manitol juga dibentuk asam volatil dan asam laktat, bakteri ini tumbuh baik pada suhu 100°F. Pencegahannya dengan mengatur suhu di bawah suhu 100°F, penambahan  $SO_2$ , menambah asam (asam sitrat atau asam tartarat).

b. **Kerusakan bukan karena mikrobia.** Kerusakan ini biasanya disebabkan oleh metal dan penggunaan agensia penjernih yang berlebihan. Metal yang sering menyebabkan kerusakan adalah besi dan tembaga. Metal dalam jumlah yang berlebihan dan adanya oksigen, ini akan menyebabkan karat dan endapan.

Besi dapat menyebabkan kerusakan yang disebut **ferric case**, ditandai dengan adanya endapan abu-abu biru serta kekeruhan pada anggur. Besi ini membentuk presipitat dengan

tanin dan senyawa polifenol yang lain. Cara yang digunakan untuk mengatasi adanya **ferric case**, pertama besi dioksidasi ke bentuk feri dengan aerasi kemudian ditambah tanin (0,05%), setelah terjadi presipitan dilakukan klarifikasi dengan kasein atau bentonit. Kedua besi dioksidasi kemudian ditambah tanin dan gelatin lebih lanjut dilakukan pengendapan, pengetapan, filtrasi dan pengasaman dengan asam sitrat. Ketiga, dengan penambahan asam tartarat pada anggur, setelah anggur didinginkan akan terjadi presipitan **cream of tartar** dan garam-garam besi.

### 5. Anggur apel (cider)

Anggur sering pula dibuat dari buah apel yang disebut **cider**. Anggur ini merupakan anggur yang banyak diproduksi setelah anggur dari buah anggur (**wine**). Proses pembuatan anggur dari buah apel atau dari buah-buahan yang lain misalnya ceri, **pear**, **plum** pada prinsipnya sama. Setelah buah melalui proses penghancuran dan sulfitasi, lebih lanjut cairan buahnya ditambah gula secukupnya sehingga pada akhir fermentasi diperoleh kandungan alkohol sebesar 12 - 13%.

Proses pembuatan anggur apel sedikit berbeda, karena apel ini banyak mengandung pektin sehingga memerlukan perlakuan khusus. Adapun salah satu metoda proses pembuatan anggur apel adalah sebagai berikut :

Buah apel yang masak setelah dihancurkan didiamkan selama 3-24 jam yang ditujukan untuk pembentukan warna dan flavor, lebih lanjut dipress untuk memisahkan cairan buahnya. Setelah dilakukan penambahan sulfur dioksida atau metabisulfit sebesar 50 - 100 ppm lebih lanjut cairan buah didinginkan pada suhu 32 - 46<sup>o</sup>F. Tujuan dari proses pendinginan ini (**keeving**) adalah untuk penjernihan cairan buah serta untuk mengaktifkan enzim pektinase yang sudah terdapat di dalam buah apel, selama proses ini kadang-kadang juga dilakukan penambahan enzim pektinase, enzim ini akan merombak senyawa pektin menjadi asam galaktorunat dan metanol. Setelah diperoleh cairan buah yang jernih kemudian dilakukan pemisahan dengan endapannya, cairan buah lebih lanjut diinokulasi dengan kultur khamir murni dan difermentasikan.



Proses fermentasi pada pembuatan anggur apel biasanya dilakukan pada suhu yang rendah kira-kira 40 - 50°F. Pada suhu yang rendah proses fermentasinya berlangsung lebih lama tetapi ternyata anggur apel yang diperoleh kualitasnya lebih baik. Setelah gula yang ada difermentasi seluruhnya, maka selanjutnya dilakukan pemisahan cairan hasil fermentasi dengan endapan khamir, dan dilanjutkan dengan proses pemeraman.

Proses pemeraman cairan fermentasi biasanya dilakukan pada suhu rendah yaitu sekitar 40°F, selama beberapa bulan pada tangki-tangki pemeraman atautong kayu. Selama ini akan terbentuk flavor yang spesifik serta terjadi penjernihan anggur apel. Anggur apel dibotolkan setelah dilakukan penyaringan.

## 6. Anggur madu (mead)

Anggur madu merupakan minuman hasil fermentasi yang telah dikenal beribu-ribu tahun yang lalu. Kini anggur madu diproduksi di Amerika, juga di Inggris dan Perancis. Bahkan di beberapa negara misalnya Polandia pembuatannya masih dilakukan secara tradisional.

Komposisi utama madu adalah gula. Madu dari **Apis mellifera** mengandung 38,19 % fruktosa; 31,28 % glukosa; 7,31 % maltosa dan 1,31 % sukrosa, pH-nya sekitar 3,9. Madu terutama yang berwarna kuning muda, kandungan nitrogennya maupun faktor tumbuh yang diperlukan khamir kurang jumlahnya, sehingga fermentasi alamiah pada madu ini memerlukan waktu yang lama. Sedang madu yang berwarna gelap lebih banyak mengandung tepung sari (pollen) dan faktor tumbuh untuk khamir sehingga proses fermentasi alamiahnya berlangsung lebih cepat. Kecepatan fermentasi pada madu dapat dipercepat dengan penambahan senyawa nitrogen dan faktor tumbuh yang dapat menstimulasi pertumbuhan khamir.

Madu dapat juga dibuat **dry table wine**, adapun salah satu caranya adalah sebagai berikut:

Pertama kali madu diencerkan sampai 22° Balling, kemudian setiap liter madu yang encer ditambah 5 g asam si-

trat; 1,5 g diamonium monohidrogen fosfat; 1 g potasium bitartrat; 0,25 g magnesium klorida dan 0,25 g kalsium klorida. Setelah dilakukan sulfitasi dengan sulfur dioksida 100 ppm atau metabisulfit 200 ppm, lebih lanjut diinokulasi dengan kultur khamir. Proses berikutnya adalah fermentasi dan diikuti dengan pemeraman seperti halnya pada pembuatan anggur yang lain.

### C. Brem Bali

Brem Bali merupakan produk minuman beralkohol asli daerah Bali, yang dibuat dari fermentasi ketan (*Oryza sativa* L.), baik ketan putih maupun ketan hitam menggunakan ragi. Spesifikasi minuman ini berupa cairan jernih, dengan warna merah kecoklatan, flavor alkohol dan asam yang kuat, sedang konsentrasi alkoholnya sekitar 7 - 8 %.

Pada mulanya brem Bali hanya digunakan untuk pelengkap upacara keagamaan **tetabuhan** sebagai pengganti korban darah hewan yang dipersembahkan kepada **Bhuta Kala** agar upacara doa agama Hindu ini dapat berlangsung dengan baik dan lancar. Namun kini brem Bali juga telah dikonsumsi sebagai minuman, apalagi dengan banyaknya wisatawan asing yang datang ke Bali, konsumsi brem Bali semakin meningkat.

Proses pembuatan brem Bali meliputi pemasakan ketan, fermentasi dan pemeraman.

**Pemasakan ketan.** Ketan yang akan dimasak (ditanak) terlebih dahulu direndam selama beberapa jam agar terjadi hidrasi air oleh pati ketan. Pemasakan ketan dilakukan menggunakan **dandang**, pada waktuketan setengah masak dilakukan penambahan air (pengaruan). Tujuan penambahan air ini untuk meningkatkan hidrasi air sehingga diperoleh ketan yang benar-benar tanak. Ketan masak selanjutnya dihamparkan di atas rak-rak yang beralaskan plastik dan setelah dingin diinokulasi dengan ragi. Ragi terlebih dahulu dihaluskan untuk memudahkan Inokulasi, diperkirakan untuk 1 kg ketan diperlukan 1 butir ragi.

Ragi yang digunakan sebagai inokulum berisi bermacam-macam mikrobia amilolitik serta penghasil alkohol, misalnya

jamur *Amylomyces rouxii*, dan khamir *Endomycopsis burtonii*, *Candida* dan *Hansenula*.

**Fermentasi.** Proses fermentasi ketan biasanya dilakukan pada **dandang** dengan tujuan agar cairan yang dihasilkan selama fermentasi dapat menetes ke bagian bawah **dandang**. Proses ini serupa dengan pada pembuatan tape ketan. Selama proses fermentasi terjadi perombakan senyawa kompleks pada ketan terutama komponen pati menjadi gula sederhana dan dilanjutkan dengan terbentuknya alkohol. Fermentasi berlangsung selama 4 - 7 hari.

**Pemeraman.** Setelah proses fermentasi selesai dilanjutkan dengan proses pemeraman cairan hasil fermentasi (brem muda). Untuk mendapatkan cairan yang sebanyak-banyaknya dilakukan pengepresan pada tape ketannya. Proses pemeraman lebih ditujukan untuk proses penjernihan dan pembentukan flavor brem. Selama proses ini akan terjadi pengendapan senyawa yang menyebabkan keruh terutama partikel pati yang tidak larut. Pemeraman berlangsung selama 6 - 8 bulan, pada akhir pemeraman akan diperoleh brem yang benar-benar jernih.

Kerugian yang kadang-kadang terjadi selama pemeraman adalah terbentuknya asam asetat yang berlebihan. Ini dimungkinkan terjadi karena dengan menggunakan ragi sebagai inokulan, jenis mikrobial yang tumbuh selama fermentasi lebih sulit dikontrol dan sebelum dilakukan pemeraman tidak dilakukan pemanasan cairan fermentasi terlebih dahulu, sehingga selama pemeraman masih terjadi aktivitas mikrobial terutama bakteri asam asetat yang merupakan mikrobial kontaminan. Juga penggunaan tangki pemeraman yang kurang bersih menyebabkan kontaminasi khususnya dengan bakteri asam asetat ini lebih mudah terjadi.

Salah satu cara untuk mencegah terjadinya kontaminasi adalah dengan sterilisasi peralatan maupun tangki yang digunakan untuk fermentasi ataupun pemeraman, atau dengan memanaskan brem muda sebelum diperam. Keuntungan lain dengan adanya pemanasan ini adalah proses klarifikasi lebih cepat terjadi, karena adanya koagulasi protein menyebabkan senyawa ini lebih cepat mengendap.

Selama pemeraman juga terjadi pewarnaan cairan fermentasi karena adanya reaksi pencoklatan antara gula dan asam amino. Namun demikian warna merah kecoklatan yang merupakan warna khas produk brem Bali terutama berasal dari ketan hitam yang sudah mempunyai pigmen warna antosianin.

Setelah proses pemeraman selesai dilakukan pemisahan antara cairan brem yang jernih dengan endapan. Diperkirakan dari 1 kg ketan diperoleh 1,2 liter cairan fermentasi dengan endapan sebanyak 6 % nya.

Komposisi brem Bali secara umum adalah sebagai berikut; kadar alkohol 7,5 % (v/v); gula reduksi (sebagai glukosa) 22,9 %, jumlah gula (sebagai sukrosa (21,9 % dan keasaman (ml N NaOH/100 g) 26,6. Adapun spesifikasi yang lain; metanol negatif; zat pewarna sintetis negatif, logam berat (Pb, Cu, Hg, As) negatif.

## PULQUE

Pulque adalah minuman beralkohol asli daerah Meksiko, dibuat dari ekstrak tanaman **agave**, warnanya putih, kental dan rasanya asam-alkoholis.

Pembuatan **pulque** meliputi persiapan cairan fermentasi, pasteurisasi, fermentasi, dan tahap akhir proses.

Cairan fermentasi dipersiapkan dari ekstraksi tanaman **agave** yang telah tua (8 - 10 tahun) dengan cara memotong primordia batang dari tanaman tersebut dan ditampung dengan wadah. Cairan fermentasi ini disebut **aguamel**, mengandung gula sebesar 8<sup>o</sup>briks dan pH 6 - 7. Proses berikutnya adalah fermentasi, biasanya dilakukan secara spontan atau dengan inokulasi menggunakan inokulum yang diperoleh dari fermentasi sebelumnya sebanyak 5 - 10 %.

Mikrobia yang aktif selama fermentasi **pulque** ada beberapa jenis. **Leuconostoc mesenteroides** dan **L. dextranicum** merupakan bakteri pembentuk asam laktat yang sering digunakan dalam inokulum. Asam yang terbentuk dapat menaikkan keasaman **aguamel** pada fermentasi tingkat pertama.

Bakteri ini juga membentuk dekstran yang menyebabkan **pulque** bersifat kental. Pada pembuatan **pulque** yang tidak dikehendaki adanya sifat kental kedua bakteri ini tidak digunakan. Bakteri pembentuk asam laktat yang lain yang terdapat di dalam fermentasi **pulque** adalah **Lactobacillus plantarum** dan **L. brevis**.

Khamir **Saccharomyces cerevisiae** merupakan penghasil utama alkohol di dalam **pulque**. Pada fermentasi secara spontan sering pula dijumpai **Endomycopsis, Pichia, Torulopsis sp.**

Bakteri lain yang penting di dalam fermentasi ini adalah **Zymomonas mobilis**. Di bawah kondisi anaerob, bakteri ini merubah glukosa maupun fruktosa dan sukrosa menjadi etanol dan gas CO<sub>2</sub>. Bakteri ini mempunyai suhu optimum untuk pertumbuhannya sekitar 30°C, toleran pada konsentrasi gula yang tinggi sekitar 25 % b/b dan juga menghasilkan asam laktat dan metil karbinal.

Proses tahap akhir meliputi, pengetapan, pencampuran, pembotolan maupun pengalengan. Adapun spesifikasi **pulque** dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Spesifikasi **pulque**

Spesifikasi	Keterangan
pH	3,5 - 4,0
Etanol	4,0 - 6,0 % v/v
Total asam (asam laktat)	400-7-- mg/100 ml
Asam tetap (asam laktat)	200-400 mg/100 ml
Berat jenis	0,9960-1,000
Gula reduksi (glukosa)	200-500 mg/100 ml
Protein Nx6,25)	300-500 mg/100 ml
Total zat padat	2,0-3,0 g/100 ml
Abu	200-500 mg/100 ml
Ester (etil asetat)	20-30 mg/100 ml
Aldehida (asetaldehida)	2,5 mg/100 ml
Alkohol tinggi (fusel oil)	80-100 mg/l

Sumber : Steinkraus (ed), 1983.

### III. MINUMAN BERALKOHOL HASIL DISTILASI

Minuman beralkohol yang dihasilkan melalui proses distilasi telah dikenal sejak dahulu kala, yaitu sejak teknik distilasi ini mulai dikembangkan. Minuman jenis ini yang pertama dibuat adalah hasil distilasi anggur dan bir. Pada waktu itu ekstrak penting yang terdistilasi hanya sedikit, karena peralatan distilasinya juga masih sederhana. Uap distilasi yang diperoleh dari pemanasan dikondensasikan lewat pipa yang panjang suhunya lebih rendah. Setelah berabad-abad, dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, dibuatlah peralatan distilasi yang lebih besar dilengkapi dengan tabung kondensasi yang dilapisi pendingin air.

Pada mulanya distilasi dilakukan secara **batch**, yaitu cara distilasi yang dikerjakan dengan menempatkan cairan fermentasi ke dalam **still (pot still)**, kemudian didistilasi tanpa dilakukan penambahan cairan fermentasi yang baru. Distilasi dinyatakan selesai apabila komponen yang mudah menguap dalam cairan fermentasi sudah habis atau tinggal sedikit sehingga tidak menguntungkan lagi untuk didistilasi lebih lanjut. Namun sejak awal abad 19 untuk produksi minuman beralkohol distilasi kontinyu lebih banyak digunakan, walaupun masih ada beberapa tipe minuman yang masih mempertahankan distilasi secara **batch** sebagai salah satu sifat yang spesifik, contohnya yaitu **Cognac**.

Distilasi kontinyu yang paling terkenal adalah distilasi menggunakan **Coffey still**, yaitu nama yang diambil dari penemunya, Aeneas Coffey. Aslinya **Coffey still** terdiri dari 2 kolom, yaitu kolom penguapan cairan fermentasi dan kolom pemurnian, sehingga dapat dihasilkan alkohol yang konsentrasinya lebih tinggi. Proses distilasi kontinyu ini kini berkembang lebih pesat, dengan menambah kolom pada **still** akan dihasilkan alkohol dengan konsentrasi yang semakin tinggi. Dengan berkembangnya teknik distilasi kontinyu ini telah dihasilkan pula minuman beralkohol dengan tipe yang baru.

Distilasi kontinyu dikerjakan dengan terus menerus menambahkan cairan fermentasi yang akan didistilasi secara tetap (kontinyu) selama distilasi berlangsung. Operasi ini dapat diatur dalam keadaan **steady** yaitu saat keadaan banyaknya penambahan cairan fermentasi tetap sama dengan cairan yang menguap dalam **still**.

Bahan dasar yang digunakan untuk pembuatan minuman beralkohol ini sangat bervariasi tergantung dari daerah penghasil minuman ini dan didasarkan pada bahan dasarnya minuman ini dapat diklasifikasikan seperti terlihat dalam gambar 11.

## A. Wiski

Wiski atau **whisky (whiskey)** adalah minuman beralkohol dari hasil fermentasi biji-bijian yang kemudian dilakukan pemeraman dalam tong kayu. Minuman ini diproduksi di banyak negara, tetapi yang terkenal adalah wiski yang diproduksi oleh negara-negara Skotlandia, Irlandia, Kanada, Amerika, dan akhir-akhir ini Jepang. Istilah aslinya **whisky** atau **whiskey** sebetulnya sama. **Whiskey** biasanya hanya digunakan untuk produk Amerika dan Irlandia sedang produk dari negara lainnya disebut **whisky**.

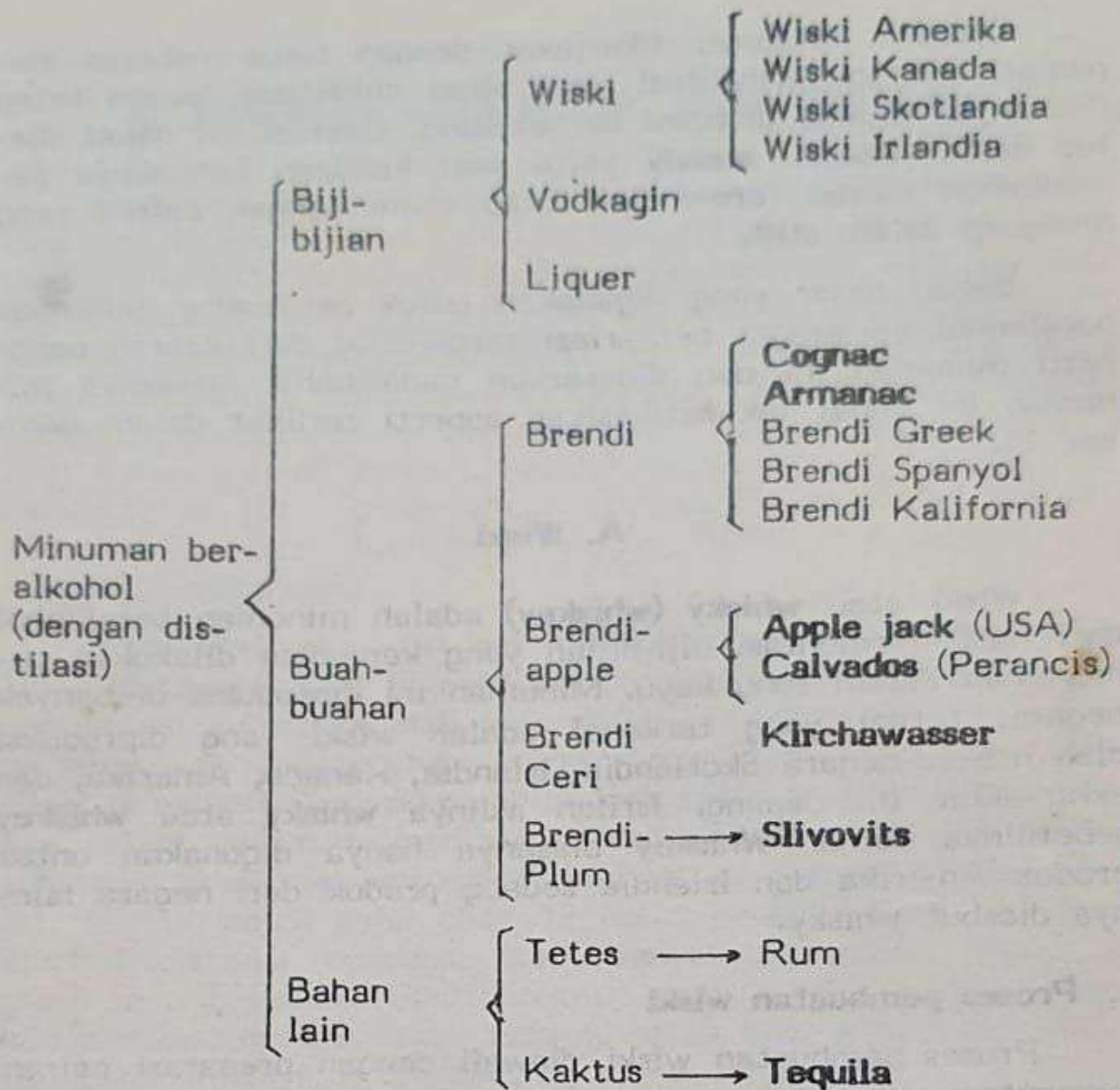
### 1. Proses pembuatan wiski

Proses pembuatan wiski diawali dengan preparasi cairan fermentasi, kemudian proses fermentasi, distilasi dan pemeraman.

#### a. Preparasi cairan fermentasi

Pada pembuatan wiski, yang bahan dasarnya terdiri dari biji-bijian, preparasi cairan fermentasinya ditujukan untuk hidrolisis pati menjadi gula sederhana yang dapat difermentasi oleh khamir.

Kecambah **barley (malt)** sebagai sumber enzim amilase yang penting di dalam proses konversi pati menjadi gula dibuat melalui beberapa tahapan proses. Biji **barley** setelah dibersih-



Gambar 11. Klasifikasi minuman beralkohol, dengan distilasi

kan direndam kira-kira selama 2-3 hari, kemudian biji diti-riskan dan ditempatkan di atas lantai atau boks untuk proses perkecambahan. Selama perkecambahan (10-12 hari) dilaku-kan pembalikan biji secara kontinyu (periodik). Setelah proses perkecambahan selesai, kecambah lebih lanjut dikeringkan un-tuk inaktivasi (kilning). Adapun tujuan utama dari proses per-kecambahan adalah untuk produksi atau aktivasi enzim amila-se yang penting di dalam proses konversi pati biji-bijian men-jadi gula sederhana sehingga dapat difermentasi khamir.



Bahan dasar yang digunakan untuk pembuatan wiski biasanya jagung, **rey**, **barley**, pertama kali digiling, kemudian dimasak. Selama pemasakan ini terjadi gelatinisasi pati. Masakan ini lebih lanjut didinginkan pada suhu 60 - 65°C, dan ditambah kecambah atau enzim. Kecambah **barley (malt)** yang merupakan sumber enzim biasanya ditambahkan sebanyak 10 - 15% dari masakan yang ada. Enzim  $\alpha$  dan  $\beta$  amilase yang terdapat pada kecambah akan menghidrolisis pati biji-bijian menjadi senyawa gula sederhana. Kecambah ini juga penting untuk pembentukan flavor wiski.

Di dalam pembuatan wiski jenis tertentu yang tidak dilakukan larangan penambahan enzim. Enzim  $\alpha$  amilase yang tahan panas dari **Bacillus** sering ditambahkan pada saat pemasakan atau pada saat pendinginan sebelum terjadi proses sakarifikasi (konversi pati menjadi gula sederhana), tujuannya yaitu untuk menaikkan likuifikasi pati. Sedang enzim yang sering digunakan untuk proses sakarifikasi adalah amiloglukosidase (gluko amilase), meskipun kadang-kadang ditambahkan juga  $\alpha$ -amilase. Apabila biji yang digunakan banyak mengandung  $\alpha$ -glukan seperti biji **barley**, maka enzim  $\beta$ -glukanase kadang ditambahkan untuk mengurangi viskositas masakan.

Pada mulanya sebelum difermentasi, masakan hasil proses sakarifikasi ini terlebih dahulu disaring untuk memisahkan ampasnya, namun kini proses penyaringan jarang dilakukan. Seluruh masakan hasil sakarifikasi setelah didinginkan lebih lanjut difermentasikan, dengan cara ini ternyata diperoleh hasil alkohol yang lebih tinggi.

Pada proses sakarifikasi yang menggunakan enzim amiloglukosidase dari jamur, proses sakarifikasi lebih banyak dilakukan bersama-sama proses fermentasi, sehingga glukosa yang dihasilkan langsung digunakan oleh khamir, dengan cara ini adanya penghambatan umpan balik (**feedback inhibition**) dapat dikurangi.

#### b. Proses fermentasi

Beberapa minuman beralkohol hasil distilasi pada mulanya diproduksi dengan fermentasi spontan, pada cara ini kha-

mir yang memang telah ada pada bahan dasarnya akan melakukan proses fermentasi. Pada awal fermentasi yang tumbuh yaitu khamir yang aerofilik dan alkohol intoleran seperti **Kloeckera**, **Candida**, **Hansenula**, **Torulopsis** dan **Pichia** tetapi berikutnya strain **Saccharomyces** juga **Schizosaccharomyces** ternyata akan tumbuh dominan dan melakukan fermentasi. Namun demikian proses fermentasi secara spontan ini banyak kelemahannya, kecuali tidak efisien juga hasilnya kadang-kadang tidak konsisten. Oleh karena itu fermentasi menggunakan kultur murni terutama dari strain **Saccharomyces** banyak digunakan di dalam proses fermentasi saat ini.

Fermentasi yang berlangsung cepat dengan hasil tinggi sangat diperlukan di dalam pembuatan minuman beralkohol hasil distilasi. Adapun kecepatan fermentasi sangat tergantung pada : komposisi bahan dasar; kecepatan pemindahan nutrisi ke dalam membran sel; kondisi suhu, pH dan oksigen terlarut; tingkat inokulasi; kondisi fisiologi inokulum khamir; aktivitas enzim yang penting di dalam jalur EMP dan toleransi khamir pada kondisi ekstrem yaitu terhadap kadar gula tinggi pada awal fermentasi dan konsentrasi alkohol tinggi pada akhir fermentasi. Dari syarat ini ternyata kultur khamir hasil perbanyakan aerob dapat memberikan fermentasi yang cepat.

### c. Proses distilasi

Pembuatan minuman beralkohol ini dapat dilakukan melalui 2 cara distilasi yaitu secara **batch** maupun kontinyu. Adapun cara distilasi yang dipilih tergantung dari jenis minuman yang dihasilkan. Untuk wiski yang mempunyai flavor yang tajam digunakan sistem **batch**, sedang sistem kontinyu menggunakan beberapa kolom digunakan untuk produksi wiski yang lebih netral atau ringan.

Beberapa tahun terakhir ini konsentrasi alkohol hasil distilasi cenderung meningkat. Produk tertentu ada yang masih dibuat dari distilasi bir pada 110 - 115<sup>o</sup>US proof (55 - 57,5 % alkohol), tetapi dengan menggunakan distilasi 2 kali dapat dihasilkan wiski dari 120 - 145<sup>o</sup>US proof (60 - 72,5 % alkohol), tergantung dari komponen flavor yang dikehendaki pada masing-masing jenis wiski.

Dengan berkembangnya teknik distilasi menggunakan multi kolom dihasilkan distilat dengan bodi atau flavor yang lebih ringan sehingga proses pemeramannya dapat dilakukan lebih cepat dibanding dengan wiski dengan flavor yang lebih tajam.

#### d. Proses pemeraman

Proses pemeraman wiski pada tong kayu ditujukan untuk memperlunak (**mellowing**) flavor serta pewarnaan wiski. Flavor wiski yang pada mulanya relatif masih tajam/keras (**harsh**) setelah pemeraman akan berubah menjadi lebih enak. Waktu pemeraman untuk masing-masing jenis wiski berbeda tergantung dari jenisnya. Reaksi yang terjadi selama pemeraman adalah adanya interaksi antara komponen yang terdapat dalam wiski, pemecahan polimer kayu dan ekstraksinya, interaksi antara komponen kayu dan wiski serta reaksi oksidasi.

Zat warna, asam-asam, ester-ester, furfural, zat padat dan tanin jumlahnya meningkat selama pemeraman. Reaksi-reaksi yang terjadi pada pemeraman tergantung pada komposisi distilat serta kadar etanolnya; lama proses pemeraman; perbandingan antara permukaan dan volume tong; porositas dan ketebalan kayu; tipe kayu yang digunakan dan komposisinya; beberapa kali tong tersebut telah digunakan dan terdapatnya komponen yang berasal dari proses pemeraman sebelumnya; dilakukan atau tidaknya pencucian tong sebelah dalam; suhu dan kelembaban relatif pada ruang pemeraman; konsentrasi alkohol dan oksigen pada ruang penyimpanan dan adanya pengadukan.

Pada kondisi panas, air akan menguap sedang pada kondisi dingin dengan kelembaban relatif yang tinggi akan terjadi kehilangan alkohol. Beberapa reaksi yang terjadi selama fermentasi dan distilasi akan terjadi juga selama proses pemeraman walaupun dengan kecepatan yang lebih lambat. Alkohol dapat teroksidasi menjadi aldehida kemudian menjadi asam, yang lebih lanjut akan bereaksi dengan alkohol yang lain membentuk ester, contohnya etanol akan teroksidasi menjadi asetaldehida selanjutnya berubah menjadi asetat dan dengan adanya etanol akan membentuk etilasetat. Namun demikian se-

nyawa asam yang berperanan pada proses esterifikasi dapat juga berasal dari tong kayu tempat pemeraman. Konsentrasi alkohol tinggi tidak mengalami perubahan yang nyata selama pemeraman.

Pemeraman biasanya dilakukan pada kayu **oak**. Komponen spesifik yang penting di dalam flavor juga terekstraksi dari tong kayu, termasuk isomer dari 4-metil- $\sigma$ -oktala-ktona, -nonalaton, monoterpena, sesquiterpena, tanin, asam dikarboksilat, furfural dan sterol seperti  $\beta$ -sitosterol dan glukosidanya. Fraksi hemiselulosa akan terdegradasi dengan hasil gula pentosa dan heksosa, arabinosa, xilosa, rhamnosa, glukosa dan galaktosa. Pembentukan gliserol dimungkinkan karena adanya degradasi senyawa gliserida kayu. Aldehida aromatik dan senyawa alkohol terbentuk karena pemecahan lignin.

Proses ekstraksi komponen yang terdapat pada tong kayu yang lebih lanjut diikuti dengan terjadinya reaksi antara komponen tersebut dengan distilat sangat dipengaruhi oleh konsentrasi air yang terdapat pada distilat. Di dalam pembuatan wiski sebelum dilakukan pemeraman distilat terlebih dahulu diencerkan sampai kadar tertentu sesuai dengan jenis minuman yang dihasilkan, kira-kira kadar alkoholnya sekitar 60 - 65 %. Reaksi yang terjadi selama pemeraman berlangsung lebih lambat pada konsentrasi alkohol yang lebih tinggi.

Penggunaan tong kayu yang telah digunakan akan menyebabkan komponen kayu yang terekstrak lebih sedikit, sehingga kadang-kadang dihasilkan wiski yang warnanya lebih jernih serta flavor enak yang belum terbentuk setelah proses pemeraman selama beberapa tahun. Pada proses pembuatan wiski dengan menggunakan tong kayu baru, biasanya terlebih dahulu dilakukan pencucian (**charring**) menggunakan distilat pada tongnya. Proses pencucian ini akan membantu pemecahan komponen seperti furfural, pencucian juga memungkinkan terserapnya komponen yang tidak dikehendaki. Efek dari pencucian ini berkurang pada tong kayu yang telah digunakan.

Faktor yang lainnya seperti suhu yang tinggi maupun perbandingan permukaan dan volume berpengaruh pada kecepatan reaksi yang terjadi selama pemeraman.

## 2. Klasifikasi wiski

Ditinjau dari bahan dasar yang digunakan ada tiga jenis wiski yaitu wiski kecambah (**malt whisky**), wiski yang dibuat hanya dari kecambah **barley**, wiski biji-bijian (**grain whisky**) yang dibuat dari campuran biji-bijian dan wiski campuran (**blended whisky**) yang dibuat dari campuran beberapa tipe wiski. Di Amerika wiski campuran harus mengandung paling sedikit 20 % dari **straight** wiski dengan konsentrasi alkohol 50 %. **Straight** wiski yaitu wiski yang dibuat dengan pemeraman sedikitnya selama 2 tahun. Di Skotlandia wiski campuran dibuat dari campuran wiski kecambah dan wiski biji-bijian, dan wiski ini paling banyak diproduksi di negara ini.

Wiski lebih sering diklasifikasikan berdasarkan negara penghasilnya, yaitu wiski Amerika, wiski Kanada, wiski Skotlandia dan wiski Irlandia.

### a. Wiski Amerika

Di Amerika terdapat bermacam-macam wiski tergantung dari campuran bahan dasar yang digunakan maupun metoda distilasinya. Wiski biji-bijian yang diproduksi di Amerika meliputi wiski **rye**, wiski **bourbon**, wiski **wheat** dan wiski jagung. Kecuali wiski jagung, wiski ini dibuat dari fermentasi biji-bijian yang bersangkutan yang jumlahnya tidak kurang dari 51 %, distilasi dilakukan tidak lebih dari 160 US proof (80 % alkohol), wiski ini lebih lanjut dilakukan pemeraman pada tong kayu yang baru dengan konsentrasi alkohol tidak lebih dari 125<sup>o</sup>US proof (62,5 %). Apabila pemeraman dilakukan lebih dari 2 tahun, wiski ini dapat dikategorikan sebagai **straight whisky**, namun apabila pemeraman dilakukan kurang dari 2 tahun istilah **straight** harus dihilangkan. Wiski ini dibotolkan dengan konsentrasi alkohol sekurang-kurangnya 40 %.

Khusus untuk wiski jagung, dibuat paling sedikit dari 80 % jagung. Komposisi bahan dasar yang sering digunakan adalah 92 % jagung dan 8 % kecambah **barley**. Pemeraman untuk wiski jagung ini sering dilakukan pada tong kayu yang telah digunakan.

Wiski **bourbon** adalah wiski Amerika yang paling terkenal, dibuat dari jagung paling sedikit 51%. Komposisi lama yang biasa digunakan terdiri dari 60% jagung, 30% biji **rye** dan 10% kecambah **barley**. Pada mulanya metoda distilasi yang digunakan tidak dilakukan fraksinasi dan wiski yang diperam mengandung seluruh perubahan biokimia yang terjadi selama fermentasi sebagai contoh fusel oil, ester, asam asetat, propionat, butirat, laktat dan asam organik yang lain.

**Bourbon** kini diproduksi dengan komposisi bahan dasar 80 - 85% jagung, 8 - 10 biji **rye** dan 8 - 12% biji kecambah. Pada proses fermentasi lebih banyak digunakan hasil perbanyakan kultur murni khamir sedang penggunaan kembali khamir dari fermentasi terdahulu jarang dilakukan. Pada proses distilasi juga dilakukan fraksinasi untuk memisahkan komponen **head** dan **tail**. **Bourbon** banyak digunakan untuk pembuatan wiski campuran, **cordial** dan **liquor**.

Di Amerika juga dikenal wiski **Tennessee**, yaitu wiski yang dibuat dari bahan dasar dan cara yang mirip dengan wiski yang lain. Spesifikasi dari wiski ini adalah adanya proses pengasaman. Biji-bijian setelah dimasak lebih lanjut difermentasi menggunakan bakteri asam laktat, apabila jumlah asam laktatnya telah cukup, proses fermentasi asam laktatnya telah cukup, proses fermentasi asam laktat ini dihentikan. Proses selanjutnya adalah proses konversi dari pati menjadi gula sederhana dan dilanjutkan dengan proses fermentasi dan distilasi. Spesifikasi yang lain dari wiski ini adalah adanya proses pemurnian (**leaching**) menggunakan arang (**charcoal**). Arang ini akan menyerap beberapa molekul ester dengan berat molekul yang besar yang terdapat pada distilat. Proses distilasi dilakukan dua kali, distilasi yang kedua ditujukan untuk memisahkan **head** dan **tail**.

Tipe wiski yang lain adalah wiski ringan (**light whisky**), bahan dasar yang digunakan tidak ada batasannya secara khusus, spesifikasi wiski ini yaitu dibuat dari hasil distilasi cairan fermentasi pada 160 - 190 US proof (80 - 95% alkohol), kemudian diperam menggunakan tong kayu yang baru maupun yang telah digunakan pada konsentrasi alkohol lebih besar dari 62,5% (125 °US proof).

**Grain neutral spirit** yaitu alkohol hasil distilasi dengan konsentrasi lebih besar dari 190 °US proof (95 %). Alkohol ini hampir tidak mempunyai bau dan rasa dari komponen flavor. Bahan dasarnya dari biji-bijian, sedang untuk proses konversinya yaitu perubahan pati biji-bijian menjadi gula sederhana dapat dilakukan dengan penambahan 5 % kecambah **barley**, 0,5 % campuran kecambah **barley** dan enzim amiloglukosidase, atau dengan penambahan enzim dari jamur. Alkohol ini lebih banyak digunakan untuk pembuatan wiski campuran, gin, vodka maupun **cordial**.

#### b. Wiski Kanada

Wiski Kanada yaitu wiski yang didistilasi hanya di Kanada dari fermentasi campuran jagung, **rye** dan kecambah **barley**. Proses pembuatan wiski ini serupa dengan proses pembuatan wiski pada umumnya dan hampir 90 % dari wiski yang diproduksi dibuat dari hasil distilasi pada derajat proof tinggi atau sama dengan wiski ringan yang diproduksi di Amerika. Wiski ini mempunyai flavor yang lebih ringan. Beberapa flavor yang terdapat pada wiski ini berasal dari pemeraman pada tong kayu yang baru maupun yang telah digunakan dengan kapasitas 189 liter (barel). Spesifikasi yang lain dari wiski ini adalah waktu pemeraman paling sedikit 3 tahun.

#### c. Wiski Skotlandia

Wiski Skotlandia mempunyai 2 tipe yang utama yaitu wiski kecambah dan wiski biji-bijian. Proses distilasi kadangkala masih dilakukan menggunakan **pot still**, dilakukan 2 kali dengan hasil distilat akhir sekitar 115 - 120 °US proof (57,5 - 60 %). Untuk wiski kecambah sebelum diperam diencerkan terlebih dahulu sampai konsentrasi alkoholnya sekitar 110 °US proof. Perendaman dilakukan pada tong kayu dengan kapasitas barel (189 liter/50 US gallon), **hogshead** (208 - 360 liter/55 - 95 US gallon) sampai ke **puncheon** (378,5 - 416 liter/100 - 110 US gallon).

Tipe wiski yang lain adalah wiski biji-bijian yang dibuat dari jagung dan kecambah **barley**. Jagung digiling kemudian dimasak dan didinginkan lebih lanjut dilakukan proses sakarifi-

kasi oleh enzim yang berasal dari kecambah dan kemudian diikuti dengan proses fermentasi dan distilasi.

Pada awal tahun 1800, seorang bangsa Skotlandia yang bernama Aeneas Coffey menciptakan alat distilasi kontinyu yang terdiri dari 2 kolom, alat ini tidak hanya lebih ekonomis tapi juga dimungkinkan untuk melakukan fraksinasi hasil distilat dengan flavor yang lebih ringan. Dengan fermentasi yang bersih, distilasi yang tepat dan pemeraman yang baik akan menghasilkan wiski yang benar-benar baik dalam waktu pemeraman 3-4 tahun, sebaliknya wiski dengan bodi yang lebih berat dan flavor yang tajam memerlukan waktu pemeraman 3-5 kalinya lebih lama.

#### d. Wiski Irlandia

Wiski Irlandia berkembang mulai dari minuman beralkohol dengan flavor yang berat sampai ke minuman dengan flavor yang ringan, lebih halus dan lebih enak, di negara ini diproduksi 2 tipe wiski yaitu wiski kecambah dan wiski biji-bijian. Pada sekitar tahun 1960 wiski biji-bijian biasanya dibuat dari komposisi bahan dasar kecambah **barley** 60%, biji **barley** 25%, **rye** 5% dan yang lainnya biji **wheat** atau **oat**. Proses distilasinya dilakukan menggunakan **pot still**. Kini wiski Irlandia dibuat dari campuran kecambah **barley** dan biji-bijian dengan komposisi yang berbeda-beda juga dengan metoda distilasi yang berbeda pula.

Pada pembuatan wiski kecambah distilasi dilakukan berulang-ulang menggunakan **pot still** sehingga diperoleh didistilat dengan konsentrasi 72%, lebih lanjut dilakukan pemeraman pada konsentrasi alkohol 62,5 - 63% selama paling sedikit 9 tahun. Untuk wiski biji-bijian kini biasanya dibuat dari campuran 30% kecambah **barley** dan 70% biji **barley**. Distilasi dilakukan sampai diperoleh distilat dengan kadar alkohol 87%. Untuk pemeraman konsentrasi alkohol diturunkan menjadi 71% dan pemeraman dilakukan paling tidak selama 4 tahun.

### 3. Vodka

Vodka adalah minuman beralkohol yang kebanyakan dibuat dari biji-bijian, misalnya **wheat**, **rye**, jagung, namun de-



mikian minuman ini kadang dibuat juga dari kentang, melase maupun buah-buahan.

Secara tradisional vodka dibuat dari pemurnian hasil distilasi menggunakan **charcoal** atau karbon aktif. Tetapi sekarang tidak demikian, karena alkohol murni hampir dapat dicapai dengan teknik distilasi maka pemurnian kadang tidak dilakukan, kecuali untuk negara-negara tertentu yang masih mempunyai peraturan bahwa vodka harus dihasilkan dari proses pemurnian menggunakan **charcoal** atau karbon aktif.

Di negara Barat, vodka sebagian besar dibuat dari pengenceran **grain neutral spirit**, yaitu hasil distilasi menggunakan **still** multi kolom pada 95% alkohol, sehingga komponen flavornya hampir tidak ada.

Di Eropa Timur, khususnya Polandia dan Uni Soviet, vodka merupakan minuman hasil distilasi yang utama. Beberapa produk ini masih didistilasi menggunakan **pot still**, namun pada umumnya vodka ini dihasilkan dari distilasi secara kontinyu. Beberapa vodka di kedua negara ini masih mempertahankan flavor yang berasal dari bahan dasar maupun proses fermentasinya, tetapi ada juga yang mempunyai flavor yang berasal dari **herb** atau buah-buahan, bahkan ada juga yang diperam menggunakan tong kayu.

**Aguavit** yang diproduksi di Skandinavia dan Korn yang diproduksi di Jerman, merupakan produk yang menyerupai vodka hanya di dalam pembuatannya tidak dilakukan pemurnian menggunakan **charcoal**.

#### 4. Gin

Pada abad 17 ditemukan sejenis tanaman (**juniper**) yang lebih lanjut digunakan sebagai flavor pada minuman beralkohol hasil distilasi dari biji-bijian. Minuman ini disebut gin sedang flavor yang spesifik merupakan ekstrak minyak esensial dari buah **juniper**. Tetapi kini di dalam pembuatan gin sering pula ditambah flavor dari tanaman yang lain misalnya **angelica, coriander, cardamom, dan caraway**.

Tipe gin yang terkenal adalah **London Dry** yang dibuat di London dari **grain neutral spirit**, seperti halnya vodka yang

diproduksi di negara Barat. Tipe yang lain adalah **Geneva** yang diproduksi di Belanda dari distilasi secara **batch** sehingga masih terdapat flavor yang berasal dari fermentasi biji-bijian.

Ekstraksi flavor pada pembuatan gin dilakukan dengan memasukkan buah **juniper** pada hasil fermentasi sebelum proses distilasi. Sedang untuk gin yang dibuat dari **grain neutral spirit**, setelah distilat diencerkan sampai kadar alkohol 50 - 60 % kemudian ditambah buah **juniper** dan lebih lanjut didistilasi kembali. Distilasi biasanya dilakukan pada kadar alkohol 70 - 80 %, dan juga dilakukan pemisahan **head** dan **tail**. Untuk mencegah degradasi komponen flavor karena suhu tinggi, dapat dilakukan distilasi vakum atau dengan menempatkan buah **juniper** pada baki berlubang di atas **still**, sehingga uap alkohol yang melewati bahan ini akan mengekstraksiminyak esensial yang penting di dalam flavor gin.

## 5. Liquer

Liquer (**liquer**) yang dikenal di Eropa, Perancis, Itali dan London sama dengan **cordial** yang dikenal di Belanda. Merupakan minuman beralkohol yang dibuat dari campuran atau hasil distilasi kembali **grain neutral spirit**, brendi, gin atau minuman beralkohol yang lain dengan buah-buahan, bunga atau bagian tanaman yang lain yang merupakan komponen flavor, dengan penambahan gula (sukrosa) sedikitnya 2,5 %.

### B. Brendi

Brendi adalah minuman beralkohol yang dibuat dari distilasi hasil fermentasi buah-buahan, misalnya anggur, apel, ceri, **pear** dan **plum**. Minuman ini dikenal setelah pada tahun 1313 seorang ahli kimia bangsa Perancis merancang alat untuk mendistilasi anggur menjadi brendi. Proses pembuatan brendi diawali dengan proses fermentasi cairan buah yang prinsipnya sama seperti pada pembuatan anggur kemudian diikuti proses distilasi sampai diperoleh kadar alkohol tertentu dan dilanjutkan dengan proses pemeraman (aging) dalam tong-tong kayu. Sebelum brendi dibotolkan terlebih dahulu dilakukan klarifikasi.

Di dalam pembuatan brendi hasil distilasi di dalam **pot** (secara **batch**) lebih banyak mengandung karakter brendi. Pada awal distilasi diperoleh **heads** yang banyak mengandung asetaldehida juga  $SO_2$ , sedang pada akhir distilasi didapatkan **tail** yang banyak mengandung alkohol tinggi yaitu komponen dengan suhu penguapan yang tinggi. Sehingga distilasi di dalam **pot** sering dipisahkan ke dalam 3 bagian yaitu **heads**, brendi dan **tail**. Distilasi ini jarang dilakukan di atas 160 °proof. Distilasi secara kontinyu kini lebih banyak dilakukan di dalam pembuatan brendi karena lebih cepat dan lebih efisien dan kapasitasnya juga lebih besar.

Brendi hasil distilasi dengan kadar alkohol sekitar 160 - 170 °proof lebih lanjut diencerkan terlebih dahulu dengan sirup karamel atau air sehingga kadarnya mencapai 110 °proof kemudian dilakukan pemeraman di dalam tong-tong kayu baik yang masih baru atau yang bekas dipakai.

Perubahan yang terjadi selama pemeraman meliputi perubahan fisik dan kimia. Perubahan fisik yaitu terjadinya perubahan konsentrasi yang disebabkan karena banyak zat-zat yang hilang selama evaporasi serta adanya pelarutan substansi dari tong kayu. Sedang perubahan kimia yang banyak terjadi yaitu karena adanya reaksi oksidasi.

Faktor-faktor yang berpengaruh selama perubahan pada proses pemeraman yaitu : Pertama, komposisi bahan dasar, proses fermentasi serta proses distilasinya, meliputi konsentrasi alkohol, kandungan asam,  $SO_2$ . Kedua tempat pemeraman meliputi bentuk dan tipe, perbandingan antara volume dan permukaan, porositas dan ketebalan kayu, komposisi kayu, kondisi kayu (baru atau lama). Ketiga, faktor lingkungan meliputi temperatur, kelembaban relatif, tekanan uap alkohol dalam tong, sirkulasi udara. Keempat, lamanya pemeraman.

Brendi dapat diklasifikasikan berdasarkan bahan dasarnya yaitu brendi anggur, brendi apel, brendi ceri dan brendi **plum**.

### 1. **Brendi anggur**

Tipe brendi anggur yang terkenal adalah **cognac** dan **armenac**, yang berasal dari Perancis dan brendi **Greek**, brendi Spanyol dan brendi Kalifornia.

**Cognac**, dibuat dari distilasi anggur yang tidak disaring terlebih dahulu sehingga masih mengandung sedikit khamir dengan menggunakan **pot still** dari tembaga menggunakan api langsung. Hasil distilasi pertama yang mengandung alkohol sekitar 28 % kemudian dilakukan distilasi ulang. **Heads** yang mengandung aldehida dengan konsentrasi tinggi dan **tails** yang berisi fusel oil yang merupakan hasil distilasi kedua dipisahkan, sedang fraksi utama yang mengandung alkohol sekitar 70 % lebih lanjut diperam pada tong kayu **Limosin** yang baru dan kemudian pemeraman dilanjutkan dalam tong kayu yang telah dipakai untuk mencegah terjadinya ekstraksi tanin yang berlebihan. Pemeraman berlangsung selama 15-20 tahun. **Cognac** yang dijual dengan konsentrasi alkohol sekitar 40 % ini mempunyai flavor spesifik yang diperoleh dari distilasi berulang menggunakan api langsung.

**Armanac**, dihasilkan dari distilasi satu kali pada anggur yang tidak mengandung sisa khamir menggunakan distilasi kontinyu. Hasil distilasi dengan konsentrasi alkohol sekitar 52 - 53 % lebih lanjut diperam.

**Brendi Greek**, dibuat secara **batch** menggunakan **pot still** atau secara kontinyu. Hasil distilasi dilakukan pemeraman di dalam tong kayu. Beberapa brendi ini dilakukan penambahan karamel untuk pewarnaan, yang merupakan karakteristik brendi ini.

**Brendi Spanyol**, pada mulanya brendi Spanyol dibuat dalam **stil-stil** kecil, namun kini sering dikerjakan pada derajat proof yang tinggi, sehingga hampir tidak mempunyai flavor buah-buahan. Di dalam pembuatannya sering ditambah **sherry** atau komponen lain yang merupakan spesifikasi dari brendi ini.

**Brendi Kalifornia**, brendi yang dibuat di Amerika hampir semuanya dikerjakan secara kontinyu. Hasil distilasi sering ditambah karamel untuk pewarnaan dan pemeraman dilakukan pada tong kayu putih yang baru.

Komposisi brendi secara umum adalah sebagai berikut:

**Etil alkohol**, merupakan komponen utama yang terdapat di dalam brendi yang konsentrasinya dinyatakan dalam derajat

proof. Konsentrasi alkohol pada **cognac** sekitar 89,1<sup>o</sup> proof, Armanag : 84,6<sup>o</sup>proof, brendi Greek : 89,1<sup>o</sup>proof, dan brendi Kalifornia : 103,7<sup>o</sup>proof.

**Metil alkohol**, jumlahnya sekitar 0,188%. Metanol ini banyak terdapat pada brendi yang dibuat dari buah anggur yang banyak mengandung pektin atau dari buah yang telah berjamur. Untuk brendi yang distilasinya mengikutsertakan ampas (**pomace**) kadar metanolnya bisa mencapai 2,86%.

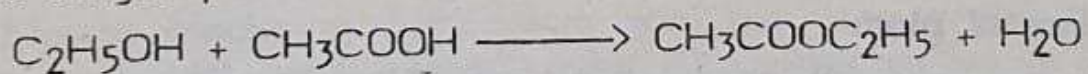
**Fusel oil**, jumlahnya maksimum 0,3%, berasal dari senyawa alkohol tinggi yang penting di dalam flavor brendi. **Fusel oil** mempunyai titik didih yang lebih tinggi daripada etanol dan dapat dipisahkan dengan mudah dari etanolnya sendiri baik pada distilasi secara **batch** sehingga kandungannya harus serendah mungkin sehingga tidak membahayakan kesehatan.

**Aldehida**, jumlahnya sekitar 17 - 28 %, terutama asetaldehida, yang lain propanol, butiraldehida dan heptanal. Selama distilasi dan pemeraman terbentuk asetaldehida hasil oksidasi senyawa etanol yang reaksinya sebagai berikut :



Beberapa aldehida yang berasal dari tong kayu yang mempunyai aroma penting di dalam brendi misalnya vanilin, coniferil, siriagenil aldehida dan p hidroksi-bensaldehida.

**Ester**, selama distilasi dan pemeraman alkohol bereaksi dengan asam untuk membentuk sejumlah ester, contohnya etil asetat dengan persamaan reaksi sebagai berikut :



**Asam total**, jumlahnya berkisar antara 4,8 - 110,4 gram per liter, terdiri dari asam asetat, asam laktat, asam propionat maupun asam butirat.

## 2. Brendi apel

Di Amerika dikenal dengan nama **apple jack** sedang di Perancis **calvados**. Minuman ini dibuat dari distilasi anggur

apel. Distilasi dilakukan dua kali pada **pot still**. Pada distilasi pertama dihasilkan distilat dengan konsentrasi alkohol 60 °proof sedang distilasi kedua dihasilkan 110 - 130 °proof. Namun saat ini brendi apel banyak pula yang diproduksi menggunakan distilasi kontinyu. Pemeraman dilakukan dalam waktu yang pendek di dalam tong kayu. Karena kandungan pektin pada apel tinggi maka di dalam pembuatan brendi apel perlu dipilih **cider** dengan kadar metanol yang rendah.

### 3. Brendi ceri

Brendi ini disebut juga kirschawasser yang merupakan hasil distilasi anggur ceri, minuman ini dikenal di Eropa Tengah (Alaska), Jerman dan Switzerland. Ada sedikit perbedaan pembuatan brendi ceri di negara tersebut. Di Jerman dan Switzerland buah ceri hitam difermentasi tanpa dilakukan penghancuran terlebih dahulu, sedang di Alaska, sebelum buah ceri difermentasi terlebih dahulu dihancurkan. Setelah proses fermentasi selesai dilakukan distilasi dalam **pot still** sampai diperoleh distilat yang tidak berwarna dengan aroma **spirit** yang kuat.

Pada pembuatan brendi ceri di Jerman dan Switzerland karena buah ceri tidak dihancurkan, maka ekstraksi senyawa pahit yang ada di dalam biji hanya dalam jumlah yang kecil. Berbeda dengan pembuatan brendi ceri di Alaska, terjadi ekstraksi senyawa pahit terutama amigdalinal dalam jumlah besar. Senyawa pahit **almond like** oil dan substansi lain (asam prusik) memberikan rasa dan aroma yang spesifik.

### 4. Brendi plum

Brendi hasil fermentasi **plum** disebut **slivovits**, merupakan minuman beralkohol asli daerah Yugoslavia, Rumania dan Hongaria. Di dalam proses pembuatannya, buah masak dengan sepertiga bijinya digiling. Adanya biji ini dapat menyebabkan rasa pahit yaitu adanya senyawa HCN. Setelah cairan buah pulm difermentasi kemudian didistilasi baik secara batch dalam **pot still** atau secara kontinyu. **Head** dan **tail** dipisahkan. Pemeraman dilakukan di dalam kayu. Jumlah HCN yang terdapat di dalam brendi yang diisyaratkan sekitar 0,008 %.

### C. Rum

Rum merupakan distilat alkohol campuran distilasi dari fermentasi air tebu (gula tebu), sirup gula tebu, melase dan hasil samping pembuatan gula tebu yang lain. Distilasi dilakukan pada 190 proof atau kurang dengan tujuan supaya hasil distilasinya masih mempunyai rasa dan aroma yang spesifik pada rum. Adapun yang sering digunakan di dalam pembuatan rum adalah **blackstrap molasses**.

Rum dapat diklasifikasikan di dalam tiga golongan, yaitu **light body**, **full body** dan **medium body**.

**Light body**, yang terkenal dari Kuba dan Puerto Rico. Dibuat dari distilasi kontinyu pada 160 - 180 °proof, kadang-kadang bahkan sampai 190 °proof sehingga hanya mempunyai sedikit karakter rum. Pemeraman dilakukan di dalam kayu yang kadang telah digunakan.

**Full body**, berasal dari Jamaica merupakan produk rum yang tertua. Pertama kali dibuat dengan fermentasi spontan (fermentasi liar). Distilasi dilakukan pada 140 - 160 proof di dalam **pot still**.

**Medium body**, banyak diproduksi di Amerika, distilasi dilakukan pada 160 proof atau kurang baik secara **batch** atau kontinyu, pemeraman dilakukan di dalam kayu.

Melase (tetes) yang merupakan bahan dasar pembuatan rum adalah hasil samping pabrik gula. Didasarkan pada proses pembuatan gula ada 2 macam melase yaitu melase **blackstrap** dan melase **high test**.

Melase **blackstrap** merupakan hasil sisa proses kristalisasi dan evaporasi pada industri gula. Kedua proses ini di dalam pembuatan gula biasanya diulang sampai 3 kali sampai gula inversi, komponen organik bukan gula dan melase yang viskositasnya tinggi tidak dapat dikristalkan menjadi sukrosa. Sisa dari proses yang berulang-ulang inilah yang disebut melase **blackstrap**. Oleh karena itu melase ini agak kasar dan tercampur dengan senyawa bukan gula.

Melase **blackstrap** kecuali mengandung senyawa yang dapat difermentasi contohnya sukrosa, glukosa, fruktosa dan ra-

finose, juga mengandung senyawa yang tidak dapat difermentasi yang terbentuk karena suhu tinggi misalnya karamel, melanoidin dan hasil dekomposisi gula (hidroksi metilfurfural, asetoln, asam format dan asam levulinat). Komposisi melase **blackstrap** dapat dilihat pada tabel 9. Kira-kira 90 % dari total gula yang ada pada difermentasi oleh khamir.

Melase **high test** merupakan hasil sisa evaporasi dari industri gula. Karena evaporasi ini dilakukan pada suhu di bawah 100°C maka komponen pembentuk warna gelap tidak terjadi, juga komponen-komponen yang terbentuk karena suhu tinggi sedikit sekali. Adapun komposisi melase **high test** dapat dilihat pada tabel 9. Kira-kira 95 % dari senyawa gula di dalam melase ini dapat difermentasi oleh khamir.

Proses fermentasi alkohol dari bahan melase lebih sederhana dibanding dengan fermentasi alkohol dari biji-bijian, adapun tahapan prosesnya meliputi preparasi cairan fermentasi, penyediaan inokulum, fermentasi dan distilasi.

Tabel 9. Komposisi melase

Komponen	Melase (%)	
	Blackstrap	High test
Zat padat	83 - 85	80 - 85
Sukrosa	30 - 40	15 - 35
Gula inversi	12 - 18	60 - 40
Abu	7 - 10	2 - 4
Senyawa organik bukan gula	20 - 25	4 - 8

Sumber : Underkofler dan Hickey, 1954.

**Preparasi cairan fermentasi**, meliputi pengenceran melase dengan air sampai konsentrasi gula di dalam cairan sekitar 14 - 18 %. Biasanya cairan fermentasi ini tidak disterilisasi, hanya kadang-kadang saja dilakukan pasteurisasi. Lebih lanjut pH cairan fermentasi diatur sehingga mencapai 4 - 5 (4,8 - 5,0), pengaturan pH dilakukan dengan penambahan asam sulfat atau asam klorida.



Melase **blackstrap** mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan dan fermentasi khamir. Tetapi kadang-kadang juga ditambahkan garam amonium dalam jumlah kecil, seperti penambahan amonium sulfat sebanyak 0,5 - 3,0 lb setiap 1000 galon cairan fermentasi untuk meningkatkan kecepatan fermentasi dan efisiensi fermentasi. Pada melase **high test** karena nutrisinya lebih sedikit dan kandungan buffernya juga sedikit, maka sulit difermentasi oleh khamir. Amonium sulfat yang ditambahkan lebih besar dari melase **blackstrap** yaitu 3 - 6 lb setiap 1000 galon. Kecuali penambahan amonium sulfat sering juga ditambahkan garam fosfat dan amonia cair (**aqua ammonia**) untuk mempertahankan pH yang dikehendaki dan menstimulasi proses fermentasi.

**Penyediaan inokulum**, khamir yang sering digunakan untuk proses fermentasi alkohol dari melase adalah **Saccharomyces cerevisiae**. Khamir ini langsung menggunakan senyawa gula yang ada pada melase, terutama sukrosa dan glukosa baik untuk pertumbuhannya atau difermentasi menjadi alkohol. Karena di dalam melase terdapat senyawa-senyawa yang sering menghambat pertumbuhan khamir, maka khamir yang digunakan harus memenuhi persyaratan tertentu, yaitu : toleran terhadap zat terlarut, terutama senyawa bukan gula yang merupakan inhibitor, toleran terhadap suhu tinggi, kadar gula tinggi, kadar alkohol tinggi dan dapat tumbuh dan melakukan fermentasi dengan cepat.

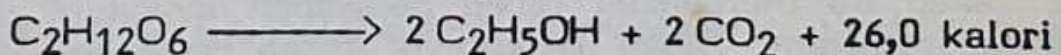
Penyediaan inokulum untuk inokulasi cairan fermentasi pertama kali dibuat dalam skala laboratorium, diawali dengan menumbuhkan khamir pada 100 - 150 ml media cair yang mengandung 12 - 15 % ekstrak kecambah (**malt extract**). Inokulum ini lebih lanjut diinokulasikan pada cairan inokulum yang volumenya lebih besar, sampai kira-kira 4 liter yang komponennya merupakan campuran dari ekstrak kecambah dan melase. Tahap ini merupakan tahap penyiapan inokulum dalam skala laboratorium. Tahap berikutnya adalah penyiapan inokulum skala pabrik (**plant stage**) yang terdiri dari tahap prainokulum (**preseed stage**) dan tahap inokulum akhir (**final seed stage**).

Tahap prainokulum yaitu tahap pembuatan inokulum sampai volume 300 galon. Di dalam proses ini digunakan cairan melase steril dengan kandungan gula sekitar 8 - 12 %. Tahap inokulum akhir yaitu pembuatan inokulum sampai volume 10.000 galon, yang selanjutnya digunakan untuk inokulasi pada tangki fermentasi.

Di dalam penyiapan inokulum sering digunakan sistem **seeding back** yaitu penambahan cairan melase steril ke dalam sejumlah besar inokulum. Sebagai contoh dari 10.000 galon inokulum setelah diinkubasikan selama 8 jam kemudian dibagi dua, 5.000 galon digunakan untuk inokulasi cairan fermentasi dan 5.000 galon ditambah 5.000 galon cairan melase steril sebagai inokulum baru. Inokulum baru sejumlah 10.000 galon setelah diinkubasikan selama 8 jam dibagi lagi, 5.000 galon untuk inokulasi cairan fermentasi dan 5.000 galon yang lainnya ditambah cairan melase steril, demikian seterusnya. Penggunaan **seeding back** yang terus menerus akan menyebabkan turunnya efisiensi fermentasi, karena khamirnya makin lama makin lemah. Maksimum penggunaan **seeding back** adalah 3 hari, setelah 3 hari inokulum sebaiknya dibuat lagi mulai dari skala laboratorium.

**Proses fermentasi**, inokulum yang digunakan untuk inokulasi pada proses ini besarnya 2 - 4 % dari jumlah cairan fermentasi. Jumlah cairan fermentasi pada proses ini bisa sampai 150.000 galon.

Suhu optimum fermentasi alkohol dari melase ini adalah sekitar 70 - 80°F. Apabila suhu fermentasi telah mencapai 90 - 92°F tangki fermentasi harus segera didinginkan baik dilakukan dengan penyemprotan air dingin pada tangki bagian luar atau dengan sirkulasi air dingin di dalam tangki melalui pipa-pipa pendingin. Jumlah panas yang dikeluarkan selama proses fermentasi adalah :



Sebagai contoh, panas yang dikeluarkan dari cairan fermentasi sebesar 150.000 galon adalah 39.000.000 Btu, sehingga apabila tangki tidak didinginkan suhunya akan naik sebesar 30°F.

Waktu yang diperlukan dalam proses fermentasi bervariasi antara 2 - 3 hari, tergantung dari melase yang digunakan. Setelah proses fermentasi selesai hasil fermentasi dengan kadar alkohol 6 - 9 % didistilasi.

**Distilasi.** Untuk pembuatan rum, distilasi dikerjakan baik secara **batch** maupun kontinyu tergantung dari rum yang dihasilkan. Rum dengan bodi yang berat distilasinya dilakukan pada kadar alkohol yang lebih rendah secara **batch**, sedang rum yang ringan distilasinya dilakukan pada kadar alkohol yang lebih tinggi secara kontinyu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amerine, M.A., Berg, H.W. dan Cruess, W.V., 1972. The Technology of Wine Making, The Avi Publishing Company, Inc., Westport.
- de Clerk, J., 1957. A Textbook of Brewing, Chapman & Hall Ltd. London.
- Enari, T.M. dan Suihko, M.L., 1984. Ethanol Production by Fermentation of Pentoses and Hexoses from Cellulosic Materials, *Critical Reviews in Biotechnology*, 1,3.
- Helbert, J.R., 1982. Beer, dalam Prescott & Dunn's Industrial Microbiology, editor Reed, G., Macmillan, London.
- Steinkraus, K.H. (editor), 1983. Handbook of Indigenous Fermented Foods, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Stewart, G.G., Panchal, C.J., Russel, I. dan Sills, A.M., 1984. Biology of Ethanol-Producing Microorganisms, *Critical Reviews in Biotechnology*, 1,3.
- Underkofler, L.A. dan Hickey, R.J., 1954. Industrial Fermentations, Chemical Publishing Co., Inc., New York.

\*\*\*\*\*