

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan *wine* belimbing manis yang diberi variasi perlakuan kombinasi jumlah penambahan rimpang jahe emprit dan lama pemeraman. Rempah jahe ditambahkan sebanyak 2 g, 3 g dalam 1 liter *wine*, serta tanpa jahe emprit sebagai kontrol, sedangkan pemeraman yang dilakukan selama dua minggu dan empat minggu. Analisis fisiko-kimiawi yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi Analisis kekeruhan, pH, kandungan gula, etanol dan metanol, aktivitas antioksidan, kandungan tanin, serta kadar SO₂. Dalam penelitian ini juga dilakukan Analisis mikrobiologi yang dilakukan menggunakan metode *spread plate* dan pewarnaan gram. Pengujian tingkat kesukaan pada lima sampel *herbal wine* juga dilakukan untuk mengetahui preferensi oleh 23 panelis dalam empat aspek sensori yaitu, warna, aroma, rasa, dan *aftertaste*.

4.1. Uji Fisiko-Kimiawi

Parameter yang diujikan dalam uji fisiko-kimiawi meliputi parameter pH, kekeruhan, kandungan gula, etanol & methanol, tanin, antioksidan, dan SO₂. Standar atau jumlah yang disarankan dalam *wine* dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Standar atau jumlah pH, kekeruhan, kadar gula, etanol, tanin, SO₂ yang disarankan dalam *wine*

sumber	Parameter					
	pH	Kekeruhan (NTU)	Kadar gula (°brix)	Etanol (%)	Tanin (mg/l)	SO ₂ (mg/kg)
Jackson, (2008)	3,1-3,6	-	8-18	-	-	-
SNI, (1996)	-	-	-	5-15	-	200
Vernhet, (2016)	-	50-150	-	-	-	-
AWRI, (2019)	-	26-40	-	-	-	-
Hornsey (2007)	-	-	-	-	200-4000	-

Asam organik yang terdapat dalam buah secara langsung mempengaruhi pH pada *wine* yang dihasilkan. Kandungan asam organik tiap buah berbeda – beda. Di dalam belimbing manis mengandung asam tartarat sebanyak 0,95 mg/ml, asam oksalat sebanyak 2,59 mg/ml, asam malat sebanyak 4,52 mg/ml, asam askorbat sebanyak 0,58 mg/ml, asam sitrat sebanyak 0,06 mg/ ml, dan asam α -keto glutarat sebanyak 0,09 mg/ml (Soumya & Bindu, 2014). Pada umumnya wine (*white wine* dan *red wine*) memiliki pH antara 3.1 hingga 3.6 (Jackson, 2008). Pada pengujian pH didapatkan pH *wine* sebesar 3,50 – 3,84. Selama pemeraman ada kemungkinan terjadi perubahan pH yang disebabkan oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat dapat mengubah komposisi asam organik di dalam *wine* dari asam malat menjadi asam laktat yang memiliki keasaman lebih rendah. Proses tersebut disebut fermentasi asam malolaktat yang mengakibatkan berkurangnya keasaman di dalam *wine* dan pH menjadi semakin tinggi (Jackson, 2008). Jahe mengandung asam – asam organik seperti asam malat dan asam oksalat, sehingga penambahan dalam jumlah banyak dapat menurunkan pH dari *herbal wine* (Ibrahim, 2015). Telah dilakukan penelitian oleh Chen (2009), yang menyatakan bahwa sari jahe berperan positif dalam pertumbuhan bakteri asam laktat. Hal ini dapat dikaitkan dengan meningkatnya pH *herbal wine* dalam penelitian ini.

Kekeruhan dalam *wine* dipengaruhi oleh komponen - komponen seperti protein, tanin, kristal tartrat, dan zat asam. Zat asam dapat melarutkan kandungan tembaga (Cu) dan besi (Fe) selain itu juga terlibat dalam presipitasi pektin dan protein. Kandungan protein sendiri merupakan komponen yang secara langsung menimbulkan kekeruhan dalam *wine* (Jackson, 2008). Kandungan protein dalam buah belimbing manis sendiri sebanyak 1,04 g dalam 100 gram buah (USDA, 2019). Setelah kekeruhan diuji menggunakan turbidimeter didapatkan nilai kekeruhan sebesar 206,33 – 234,66 NTU. Sampel dengan nilai kekeruhan tertinggi adalah sampel J1 dan terendah adalah sampel J3. Parameter kekeruhan menunjukkan hasil yang fluktuatif dan tidak sesuai dengan teori. Selama pemeraman akan terjadi sedimentasi padatan terlarut. Padatan terlarut tersebut adalah komponen tanin, polisakarida, dan protein (Jackson, 2008). Penambahan rimpang jahe emprit juga berpengaruh dalam nilai kekeruhan *wine* karena komponen – komponen dari jahe yang bercampur di dalam *herbal wine*. Sedimen pada dasar botol dapat bercampur kembali apabila terjadi guncangan pada preparasi sampel, sehingga dapat mempengaruhi

hasil. *Wine* dengan kekeruhan 50 – 150 NTU memiliki keunggulan dalam aroma, akan tetapi *wine* dengan turbiditas yang lebih tinggi lebih mudah mengalami *browning* (Vernhet, 2016). Menurut *Australian Wine Institute* (2019), kekeruhan *wine* yang diterima sebesar 26 – 40 NTU dan dinyatakan tidak terlihat sedimen dan tidak terdapat aktivitas mikroorganisme setelah disterilisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kekeruhan dari *herbal wine* masih di atas standar atau jumlah yang disarankan, akan tetapi standar tersebut ditetapkan untuk *wine* yang telah menggunakan *fining agent* sehingga lebih jernih.

Pada proses fermentasi, kandungan gula di dalam jus buah digunakan oleh *yeast* sebagai substrat yang akan dipecah menjadi energi, etanol, serta karbondioksida (Jackson, 2008). Kandungan gula pada jus belimbing manis sebelum proses fermentasi sebesar 30 °brix, sedangkan setelah fermentasi dan pemeraman menjadi 16,23 hingga 16,73 °brix. Penurunan kadar gula disebabkan oleh proses fermentasi oleh *yeast Saccharomyces cerevisiae* (merk fermivin) (Jackson, 2008). Proses penyaringan yang hanya menggunakan kain saring memungkinkan adanya *yeast Saccharomyces cerevisiae* yang lolos, sehingga dalam proses pemeraman masih terjadi proses fermentasi secara lambat. *Wine* pada umumnya memiliki brix sebesar 8 – 18 °brix. *Wine* di atas 20 °brix seperti “*Spätlese Riesling wine*” dari Jerman disebut *sweet wine* (Jackson, 2008).

Dalam SNI 01-4019-1996 tentang *fruit wine*, batas kadar etanol berkisar 5 – 15% dan metanol tidak boleh di atas 0,1%. Dalam penelitian ini kadar etanol dari sampel kontrol dan sampel dengan hasil sensori terbaik diuji menggunakan metode GCMS (*gas chromatography – mass spectrophotometry*). Sampel kontrol memiliki kandungan etanol sebesar 26,67% w/w dan metanol dinyatakan *nd* (*not detection*), sedangkan sampel J4 memiliki kandungan etanol sebesar 27,26% w/w dan metanol dinyatakan *nd*. Proses fermentasi alkohol mengubah gula menjadi etanol dan CO₂. Etanol merupakan salah satu senyawa yang membatasi aktivitas dari *yeast* yang digunakan, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Dalam pengolahan *wine yeast* tersebut sering digunakan karena memiliki ketahanan terhadap etanol hingga 15% (Clarke & Bakker, 2004). Asam organik dalam *wine* dapat beraksi dengan etanol yang kemudian menghasilkan ester yang berpengaruh dalam aroma. Dalam aspek sensori, alkohol memberikan rasa manis dan pahit,

mengurangi rasa asam (secara tidak langsung), dan dapat mengurangi rasa sepet yang diakibatkan kandungan tanin (Jackson, 2008).

Tanin merupakan komponen fenolik yang berperan dalam memberikan rasa sepet atau pahit di dalam *wine*. (Jackson, 2008). Kandungan tanin di dalam *wine* secara umum sebesar 200-4.000 mg/L (Hornsey, 2007). Kandungan tanin pada *wine* bervariasi tergantung jenisnya. *Wine Cabernet Sauvignon* memiliki tanin 672 mg/L, *wine pinot noir* memiliki kandungan tanin sebanyak 348 mg/L, *wine Bordeaux* memiliki tanin sebanyak 691 mg/L, lalu *merlot* memiliki tanin sebanyak 559 mg/L (Harbertson, 2008). Dalam penelitian ini, kandungan tanin di dalam *herbal wine* belimbing manis berkisar antara 5,17 hingga 5,63%. Kandungan tanin dalam buah belimbing manis bervariasi, tergantung kematangan buah yaitu sebesar 0,16 – 0,34 mg/g buah. Semakin matang buah belimbing maka kandungan tanin semakin berkurang (Soumya *et al.*, 2014). Dalam penelitian oleh Barghava *et al.*, (2012), hasil ekstraksi rimpang jahe emprit memiliki kandungan tanin yang terbilang cukup banyak. Tanin dapat berubah menjadi sedimen melalui proses oksidasi dan presipitasi protein selama pemeraman *wine*. Tanin dapat terbentuk melalui polimerisasi katekin menjadi prosianidin (*condensed tannin*). Prosianidin dapat membentuk tanin bersama dengan flavonoid (Jackson, 2008).

Aktivitas antioksidan dalam *herbal wine* belimbing manis berkisar antara 89,15 hingga 90,92 %. Aktivitas antioksidan *herbal wine* dengan penambahan rimpang jahe emprit memiliki nilai yang lebih tinggi. Rimpang jahe emprit sendiri memiliki kandungan 6-shogaol dan 6-gingerol yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Syafitri dkk, 2018). Antioksidan yang terdapat di dalam buah pada umumnya adalah polifenol, vitamin, tanin dan karotenoid. Belimbing manis memiliki total komponen fenolik sebanyak 131 mg/100 g buah (Lim *et al.*, 2007). Tanin yang terbentuk selama pemeraman juga dapat mengindikasikan bertambahnya aktivitas antioksidan. Komponen antioksidan di dalam *wine* berasal dari kelompok tanin (katekin dan epikatekin), tokoferol, asam askorbat (vitamin c), karotenoid, *quercetin*, dan *resveratrol* (Jackson, 2008).

Setelah pengujian kadar SO₂ dilakukan, pada semua sampel *herbal wine* sama sekali tidak terdapat SO₂. Menurut Clarke & Bakker (2004), SO₂ dalam *wine* dapat berperan penting

sebagai anti mikroba, khususnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat dan asam asetat. Untuk menghambat atau mengurangi *browning* pada komponen fenolik juga dapat dilakukan penambahan SO_2 . SO_2 juga berperan dalam menghambat pembentukan *quinones* (dari komponen fenolik) yang dapat mengoksidasi senyawa volatil. SO_2 dapat ditambahkan dalam bentuk potassium bisulfit (KHSO_3) atau dalam bentuk gas. Jackson (2008) menambahkan bahwa total SO_2 dapat berkurang karena perubahan dari senyawa sulfit menjadi senyawa sulfat yang diakibatkan oleh proses auto-oksidasi oleh O_2 . Total SO_2 dapat dipengaruhi oleh aldehid yang terdapat pada *wine* karena kemampuannya untuk mengikat SO_2 .

4.2. Uji Mikrobiologi

Setelah pengujian secara sensori dilakukan dan ditemukan sampel terbaik, kemudian dilakukan pengujian secara mikrobiologi. Sampel yang digunakan adalah sampel J4. media yang digunakan adalah media MRS A dengan penambahan CaCO_3 . Setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam, dapat diamati bahwa koloni yang muncul menampilkan zona bening disekitarnya. CaCO_3 dapat bereaksi dengan asam organik yang dihasilkan oleh bakteri asam asetat dan menghasilkan zona bening pada media (Chen *et al.*, 2017). Setelah pewarnaan gram dilakukan dapat diamati bahwa koloni yang nampak memiliki bentuk bulat/*coccus* dan berwarna merah, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif. Dari ciri – ciri diatas dapat dilakukan pendugaan bahwa bahwa koloni tersebut adalah bakteri asam asetat.

Kontaminasi bakteri asam asetat kemungkinan berasal dari kualitas buah yang memar dan kurang baik. Bakteri asam asetat kemungkinan dapat menggunakan akseptor hidrogen selain oksigen, sehingga dapat tetap bertahan dan menunjukkan aktivitas metabolisme yang terbatas dalam kondisi anaerob. Bakteri asam asetat dapat mengkontaminasi *wine* dengan mengoksidasi etanol menjadi etil asetat. Asam asetat dapat bereaksi secara non enzimatik dengan etanol dan membentuk etil asetat. Etil asetat dapat membentuk aroma asam cuka pada produk *wine*. Kombinasi dari keberadaan SO_2 , pH rendah, dan suhu dingin terbukti efektif dalam menghambat kerusakan oleh bakteri asam asetat (Jackson, 2008).

4.3. Uji Sensori

Pengujian sensori yang dilakukan menggunakan uji ranking hedonik dan meliputi 4 parameter, yaitu warna, rasa, aroma, dan *aftertaste*. parameter warna dengan hasil terbaik adalah sampel *herbal wine* dengan penambahan rimpang jahe emprit sebanyak 2 g/L dan pemeraman selama dua minggu. Buah belimbing manis memiliki kandungan karoten sehingga memiliki warna kuning dan sedikit jingga bila semakin matang. Buah belimbing matang memiliki kandungan karoten sebanyak 22% ($\mu\text{g/g}$) (Gross, 1983). Selama proses pemeraman karoten dalam *herbal wine* terpecah menjadi senyawa aromatik yang disebut *norisoprenoid* (Mendes-Pinto, 2009). Kandungan *6-dehydrogingerdione* dalam jahe emprit menimbulkan warna kuning pucat. *6-dehydrogingerdione* merupakan bentuk oksidasi dari 6-gingerol (Ijima, 2014). Semakin banyak jahe dan semakin lama pemeraman maka warna yang timbul semakin pucat.

Dalam pengujian sensori dengan parameter aroma, hasil terbaik diperoleh oleh sampel J4 yang memiliki kombinasi pemeraman paling lama (empat minggu) dan penambahan rimpang jahe emprit sebanyak 3 g/L. Hasil ini menunjukkan bahwa dalam aspek aroma, kebanyakan panelis menyukai aroma jahe yang kuat. Jahe emprit (*Zingiber officinale var. amarum*) dalam kuliner Indonesia telah lama dikenal sebagai pemberi aroma yang khas, sehingga cukup disukai oleh panelis. Aroma rimpang jahe emprit berasal dari minyak atsiri yang komponen utamanya adalah zingiberen (35%), kurkumin (18%), farnesene (10%) (Hapsoh dkk., 2010). *Wine* memiliki lebih dari 800 komponen yang membentuk aroma, diantaranya adalah thiols, ester, alkohol, polifenol, dan norisoprenoid (Mendes-Pinto, 2009). Selama pemeraman ester dapat terbentuk akibat reaksi antara alkohol dan asam organik. Ester memberikan aroma *fruity* pada wine, sebagai contoh etil butirrat dan etil hexanoat memberikan aroma seperti apel atau nanas. Pemeraman *wine* juga membentuk senyawa aromatik dari pemecahan karotenoid yaitu *norisoprenoid*, sehingga aroma *wine* setelah pemeraman meningkat (Jackson, 2008).

Rasa dihasilkan oleh reseptor aroma pada hidung dan reseptor rasa pada lidah (Tarwendah, 2017). Hasil terbaik dalam parameter rasa diperoleh oleh sampel J3 yang

diberi perlakuan pemeraman selama empat minggu dan penambahan rimpang jahe emprit sebanyak 2 g/L. Pemeraman dapat mengurangi rasa sepet (*astringent*) pada *wine*. kandungan tanin akan berikatan dengan protein dan membentuk endapan setelah proses pemeraman (Zoecklein *et al.*, 1999). Dari segi rasa *wine* dengan penambahan jahe emprit sebanyak 2 g/L lebih disukai oleh panelis daripada penambahan 3 g/L. Jahe mengandung oleoresin yang dapat memberi rasa pedas yang khas. Komponen penting dari oleoresin adalah gingerol dan shogaol (Hapsoh dkk, 2010). Gingerol memiliki rasa pedas yang lebih kuat daripada shogaol (Jayashree, 2014). Perendaman jahe yang lebih banyak dan lebih lama akan menimbulkan rasa jahe yang semakin kuat (Ibrahim, 2015). Rasa jahe yang terlalu kuat cenderung tidak disukai oleh panelis.

Hasil uji sensori dalam aspek *aftertaste* menunjukkan bahwa sampel J3 yang paling disukai oleh panelis. Penambahan jahe memberikan rasa pedas yang khas yang berasal dari kandungan oleoresin di dalamnya. *Wine* yang telah diperam dapat mempertahankan *aftertaste* yang timbul (Jackson, 2008). Dari parameter *aftertaste* menunjukkan bahwa penambahan rimpang jahe emprit sebanyak 2 g/L lebih disukai daripada 3 g/L yang kemungkinan memiliki *aftertaste* yang terlalu kuat bagi panelis.

Nilai rata – rata pada semua parameter menunjukkan bahwa penambahan rimpang jahe emprit dapat meningkatkan nilai sensori dari *herbal wine* belimbing manis dan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Shiradonkar *et. al* (2014). *Herbal wine* dengan penambahan jahe emprit sebanyak 2 g/L lebih disukai dalam segi rasa dan *aftertaste*, sedangkan dari segi aroma panelis lebih menyukai *herbal wine* dengan penambahan jahe emprit 3 g/L. Hasil sensori terbaik diperoleh oleh sampel J4 dengan penambahan rimpang jahe emprit sebanyak 3 g/L dan pemeraman selama empat minggu. Sampel dengan lama pemeraman empat minggu lebih disukai daripada lama pemeraman tiga minggu dalam semua aspek kecuali warna. Hal ini menunjukkan bahwa *wine* dengan rasa dan aroma yang lebih halus lebih disukai oleh panelis, yang dikarenakan kandungan tanin dalam *wine* berkurang selama pemeraman dan mengurangi rasa sepet pada *wine* (Jackson, 2008).