

Formulasi Sediaan Cuka Buah Kopi Menggunakan Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Bakteri (*Acetobacter aceti*)

Fathan Said R^{*}, Gita Cahya Eka Darma

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*fathan021997@gmail.com, g.c.ekadarma@gmail.com

Abstract. Indonesia is the third largest coffee producing country in the world, with a variety of compounds that are beneficial to the body. Vinegar fermentation is one way to add value to the benefits of fruits and vegetables because it can form useful new chemical compounds. Vinegar has a variety of benefits that have been studied such as reducing hyperglycemia, hyperinsulinemia, hyperlipidemia and obesity. Previous research in 2013 had made acetic acid from Arabica coffee pulp waste. This study aims to obtain a coffee fruit vinegar formula that conforms to the quality standards of acetic acid SNI 01-4371-1996. The material used is whole coffee with a two-stage fermentation method, namely alcohol fermentation using *S. cerevisiae* for 4 days and vinegar fermentation using *A. aceti* for 3 days. The results showed that the formula with 25% coffee fruit and 20% sugar is the best formula compared to other formulas with organoleptic test results in brown, sour and sweet taste and a little distinctive aroma of coffee, 5.03% acetic acid content, 0% alcohol content, pH 3.242.

Keywords: Coffee, Vinegar, Fermentation.

Abstrak. Indonesia merupakan negara ketiga penghasil kopi terbesar di dunia, dengan berbagai kandungan senyawa yang bermanfaat bagi tubuh. Fermentasi cuka merupakan salah satu cara untuk menambah nilai manfaat dari buah dan sayur karena dapat membentuk senyawa kimia baru yang bermanfaat. Cuka memiliki berbagai manfaat yang telah diteliti seperti menurunkan hiperglikemia, hiperinsulinemia, hiperlipidemia dan obesitas. Penelitian sebelumnya pada tahun 2013 telah dilakukan pembuatan asam asetat dari limbah cair kulit kopi arabika. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula cuka buah kopi yang sesuai standar mutu asam asetat SNI 01-4371-1996. Bahan yang digunakan adalah buah kopi secara utuh dengan metode fermentasi dua tahap yaitu fermentasi alkohol menggunakan *S. cerevisiae* selama 4 hari dan fermentasi cuka menggunakan *A. aceti* selama 3 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formula dengan 25% buah kopi dan 20% gula merupakan formula terbaik dibandingkan dengan formula lain dengan hasil uji organoleptis berwarna coklat, rasa asam dan manis serta sedikit aroma khas kopi, kadar asam asetat 5,053%, kadar alkohol 0%, pH 3,242.

Kata Kunci: Buah Kopi, Cuka, Fermentasi.

A. Pendahuluan

Kopi merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Bahkan menurut Pranoto Soenarto Indonesia merupakan negara ketiga penghasil kopi terbesar di dunia setelah Brazil dan Vietnam (Radyjencole, 2011).

Kopi memiliki berbagai senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan seperti kafein dan asam klorogenat (Jhonston dkk, 2003). Kopi yang memiliki beragam manfaat lebih banyak digunakan setelah diproses dan dihasilkan biji kopi yang baik. Pengembangan produk yang dilakukan pun pada umumnya lebih berfokus untuk menghasilkan biji kopi dengan cita rasa yang baik. Untuk menambah nilai manfaat buah kopi dengan berbagai manfaat dapat dilakukan pengolahan yang bukan hanya berfokus pada biji namun buah kopi secara utuh. Salah satu metode pengembangan yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan metode fermentasi.

Fermentasi merupakan metode yang umum digunakan dalam mengolah makanan dan buah- buahan. Namun, tidak seluruh hasil fermentasi dapat dikonsumsi oleh seorang muslim diantaranya adalah Khomr. Salah satu hasil fermentasi yang diperbolehkan adalah fermentasi cuka. Cuka memiliki berbagai manfaat kesehatan seperti antihiperlikemia, antihiperinsulinemia, antihiper-lipidemia dan menurunkan obesitas (Mas, 2016). Fermentasi cuka dilakukan melalui dua tahap yaitu fermentasi alkohol dengan bantuan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan fermentasi cuka dengan bantuan bakteri *Acetobacter aceti*

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut: Apakah buah kopi dapat diolah menjadi bahan dasar pembuatan cuka serta bagaimana formulasi yang tepat untuk menghasilkan cuka buah kopi yang memiliki rasa dan nilai manfaat yang baik. Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini adalah untuk menghasilkan produk olahan kopi lain dengan nilai gizi dan manfaat yang lebih baik sehingga dapat menjadi alternatif pangan fungsional yang dapat meningkatkan kesehatan masyarakat sesuai SNI 01-4371-1996.

B. Landasan Teori

Buah kopi tersusun dari beberapa bagian yaitu kulit buah (pericarp), daging buah atau pulp (mesocarp) dan kulit tanduk (endocarp). Waktu yang dibutuhkan buah hingga matang selama 7-12 bulan. Pada umumnya, buah kopi memiliki dua biji kopi. Biji kopi dibungkus kulit keras disebut kulit tanduk (parchment skin) (Rahardjo, 2017:5-6). Buah kopi mengandung beberapa senyawa selain karbohidrat, protein dan lemak diantaranya vitamin B, tannin, alkaloid, flavonoid, kumarin, fenol, minyak atsiri serta lebih dari 700 senyawa volatil lainnya (Gray, 1998; Gunalan dkk, 2012). Secara umum kopi memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan diantaranya dapat menurunkan resiko diabetes melitus tipe 2, menurunkan resiko dan memperbaiki sistem kardiovaskuler, menurunkan asam urat (Lopstara-master et.al., 2011)

Fermentasi berasal dari kata ferver yang berarti mendidih menggambarkan aksi ragi pada ekstrak buah selama pembuatan minuman beralkohol. Arti paling umum dari fermentasi adalah konversi gula menjadi asam organik atau alkohol. Dalam pengertian yang lebih luas fermentasi diartikan sebagai proses yang melibatkan mikroorganisme seperti bakteri, ragi dan jamur untuk membuat produk yang bermanfaat bagi manusia (Paulová, 2014:89).

Fermentasi etanol adalah proses biologi yang melibatkan mikroorganisme untuk mengubah bahan organik menjadi komponen sederhana. Selama proses fermentasi mikroorganisme akan memproduksi enzim yang dapat menghidrolisis substrat menjadi komponen sederhana (gula) selanjutnya mengubahnya menjadi etanol. Mikroba yang sering digunakan dalam proses fermentasi adalah *S. cerevisiae* (Lin, 2005).

Asam asetat dihasilkan dari proses fermentasi etanol menjadi asam asetat menggunakan *Acetobacter aceti*. Menurut Effendi (2002), fermentasi asam asetat berlangsung dalam keadaan aerob menggunakan bakteri *A. aceti* dengan substrat etanol. Pertumbuhan *A. aceti* akan optimal pada kondisi aerob. Hal ini karena bakteri *A. aceti* termasuk dalam bakteri aerob obligatif yaitu bakteri yang tidak dapat hidup tanpa adanya oksigen.

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu fungi yang termasuk dalam golongan yeast (khamir). *S. cerevisiae* berasal dari kata *Saccharo* yang berarti sugar dan *myces* yang

berarti jamur, sehingga disebut cendawan gula (Buckle et al., 2010).

Bakteri *A. aceti* mempunyai kemampuan membentuk asam cuka dari etanol secara oksidasi diekspresikan ke dalam media. *A. aceti* termasuk bakteri gram negatif yang bergerak lambat dengan flagella peritrik, memiliki toleransi terhadap asam yang tinggi dan aktivitas peptolitik yang rendah. *A. aceti* termasuk dalam famili pseudomonadaceae yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut: sel berbentuk batang pendek atau bola, bakteri gram negatif, sel bergerak dan tidak bergerak, tidak mempunyai endospora, tidak bersifat patogen, bersifat aerob, energi diperoleh dari oksidasi etanol menjadi asam cuka, mampu hidup dalam air, padatan, daun, buah, dan lain-lain. *A. aceti* digolongkan menjadi peroksidan jika mampu menumpuk asetat (Buckle et al., 2010).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Fermentasi Buah kopi

Fermentasi buah kopi dilakukan pada 9 formula yang berbeda, yang dapat dilihat pada Tabel III.1 berikut,

Tabel 1. Formulasi Cuka Buah Kopi

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Gula (g)	40	40	40	30	30	30	20	20	20
Buah Kopi (g)	50	40	30	50	40	30	50	40	30
Starter <i>S. cerevisiae</i> (g)	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Starter <i>A. aceti</i> (g)	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Air (g)	ad 200	ad 200	ad 200	ad 200	ad 200	ad 200	ad 200	ad 200	ad 200

Fermentasi dilakukan selama 7 hari hingga dihasilkan cuka yang sesuai dengan standar. Waktu fermentasi minimum untuk menghasilkan cuka berkualitas menggunakan ragi dan bakteri *A. aceti* adalah 7 hari (Hardoyo, dkk. 2007).

Proses fermentasi dilakukan menggunakan dua jenis starter. *S. cerevisiae* sebagai starter dalam proses pembentukan bioetanol dan *A. aceti* sebagai starter pembentukan asam asetat. Keduanya ditambahkan dengan jumlah yang sama pada tiap formula. Hal ini berdasarkan penelitian serupa yang menunjukkan bahwa jumlah starter *S. cerevisiae* minimum untuk menghasilkan bioetanol yang optimum adalah 10% dari jumlah total larutan (Putri.2016). Sedangkan jumlah minimum starter *A. aceti* untuk menghasilkan asam asetat adalah 10% dari jumlah total larutan untuk menghasilkan asam asetat 4 % (Effendi, 2002).

Penggunaan gula dalam proses fermentasi bertujuan sebagai nutrisi tambahan dalam proses fermentasi. Gula digunakan karena memiliki pengaruh terhadap kualitas cuka yang dihasilkan (Silfia, 2014). Selain itu penggunaan gula pun bertujuan untuk memberi rasa manis pada larutan cuka yang dihasilkan sehingga cuka yang berasa asam dapat nyaman dikonsumsi secara langsung.

Sebelum proses fermentasi dilakukan, setelah seluruh bahan tercampur dilakukan pemanasan terlebih dahulu dengan tujuan untuk membunuh bakteri patogen yang terdapat dalam bahan serta membunuh bakteri yang akan menghambat proses fermentasi.

Uji Organoleptis

Uji organoleptis yang dilakukan meliputi warna, rasa dan bau dengan pengamatan secara visual yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptis

Formula	Parameter Uji				
	Warna	Aroma asam	Rasa		
			Kopi	Manis	Asam
1	Coklat	+++	+	++++	++++
2	Coklat muda	++	+	++++	+++
3	Coklat	++++	+	++++	++
4	Coklat tua	++++	+	+++	++++
5	Coklat	+++	+	+++	++
6	Coklat muda	+++	+	+++	+++
7	Coklat muda	+++	+	++	+++
8	Coklat muda	++	+	++	++
9	Coklat muda	++	+	++	++

Dari data diatas menunjukkan bahwa rata-rata larutan cuka yang diamati berwarna coklat dan hanya berbeda pada kepekatan warna. Kepekatan yang berbeda dipengaruhi oleh jenis bahan yang digunakan. Buah kopi yang menjadi bahan dasar memberikan peran yang sangat besar dalam memberikan warna pada larutan. Buah kopi yang terlalu matang lebih cenderung memberikan warna larutan yang lebih gelap sehingga membuat warna pada tiap sediaan berbeda.

Data aroma asam yang bervariasi pun dipengaruhi oleh buah kopi yang digunakan. Walaupun buah kopi diambil secara bersamaan namun terdapat beberapa buah yang telah matang terlebih dahulu sehingga terjadi fermentasi sejak di pohon dan membuatnya memberikan aroma asam lebih kuat dibandingkan dengan yang lainnya.

Rasa manis pada sediaan sangat dipengaruhi oleh penggunaan gula pada tiap formula. Semakin banyak konsentrasi gula yang digunakan maka semakin kuat rasa manis yang dihasilkan. Rasa asam yang dihasilkan lebih dipengaruhi oleh jumlah buah kopi yang digunakan, semakin banyak buah kopi yang digunakan maka rasa asamnya pun semakin kuat. Hal ini berkaitan dengan komponen organik lain yang terdapat dalam buah kopi yang bersifat asam sehingga memberikan rasa asam yang lebih pada sediaan.

Uji pH

Pengukuran pH dilakukan pada tiap formula dengan tujuan untuk mengetahui kualitas larutan cuka. Nilai pH yang terlalu asam akan berbahaya jika dikonsumsi secara langsung. Selain itu, nilai pH mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba karena mempengaruhi aktivitas enzim dan komponen lain didalamnya. pH pun berpengaruh terhadap aktivitas fermentasi dan dapat menghentikan aktivitas fermentasi (Waluyo, 2009). Hasil pengamatan pH dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji pH

Formula	pH
1	3,242
2	3,283
3	3,343
4	3,249
5	3,291
6	3,363
7	3,279
8	3,322
9	3,417

Data tersebut menunjukkan bahwa jumlah buah kopi yang digunakan mempengaruhi nilai pH. Untuk formula 1, 4 dan 7 dengan komposisi buah kopi yang paling banyak memiliki pH yang paling rendah jika dibandingkan dengan formula yang lain. Untuk formula 2, 5 dan 8 dengan komposisi buah kopi 40gram memiliki nilai pH lebih besar dari ketiga formula sebelumnya dan formula 3, 5 dan 9 dengan komposisi buah kopi paling sedikit memiliki pH dengan nilai yang paling tinggi dari formula lainnya.

Perbedaan pH pada tiap formula dipengaruhi oleh komposisi buah kopi dan gula. Semakin tinggi komposisi buah kopi maka semakin banyak senyawa organik yang bersifat asam yang ikut terlarut. Selain itu semakin banyak buah kopi yang digunakan maka semakin banyak pula gula dari buah kopi yang ikut terlarut yang dihidrolisis menjadi alkohol oleh *S. cerevisiae* lalu dioksidasi oleh *A. aceti*. selain itu jumlah gula yang ditambahkan mempengaruhi nilai pH sediaan. Hal ini berkaitan dengan semakin banyak nya gula yang digunakan maka semakin banyak bioetanol yang dihasilkan. Semakin banyak bioetanol yang dihasilkan maka semakin banyak pula asam asetat yang dibentuk. Semakin banyak asam asetat yang terbentuk maka pH yang dihasilkan semakin rendah.

Uji Kadar Asam Asetat

Pengujian kadar asam asetat dilakukan menggunakan metode titrasi asam basa. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah asam asetat yang terbentuk selama proses fermentasi sehingga dapat diketahui kualitas larutan cuka yang dihasilkan. Cuka fermentasi berdasarkan ketentuan pada SNI 01-4371-1996 sekurang kurangnya harus mengandung 4% asam asetat. Dari hasil percobaan didapatkan kadar asam asetat untuk tiap formula yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengujian kadar asam asetat

Formula	Kadar Asam Asetat (%)	Kadar Asam Asetat Menurut SNI (%)	Keterangan
1	5,053	4	memenuhi syarat
2	5,053	4	memenuhi syarat
3	4,262	4	memenuhi syarat
4	4,45	4	memenuhi syarat
5	4,45	4	memenuhi syarat
6	4,161	4	memenuhi syarat
7	4,161	4	memenuhi syarat
8	4,161	4	memenuhi syarat
9	3,864	4	tidak memenuhi syarat

Tabel diatas menunjukkan bahwa jumlah gula mempengaruhi asam asetat yang

terbentuk. Formula yang mengandung gula lebih banyak memiliki kadar asam asetat yang lebih banyak dibandingkan dengan formula dengan gula lebih sedikit. Pada formula 1, 4 dan 7 memiliki komposisi buah kopi sebanyak 50 gram tetapi berbeda beda pada komposisi gula di tiap formula. Formula 1 memiliki kadar asam asetat lebih tinggi dibandingkan dengan dua formula lainnya karena memiliki kadar gula lebih tinggi sedangkan formula 7 memiliki kadar asam asetat paling kecil karena memiliki komposisi paling sedikit diantara dua lainnya. Hal serupa pun terjadi pada formula lainnya dengan jumlah kopi yang sama namun berbeda pada jumlah gula yang digunakan. Namun dari data diatas, 8 dari 9 formula yang dibuat memenuhi syarat SNI dan hanya 1 yang tidak memenuhi syarat. Hal tersebut terjadi karena bahan kopi dan kandungan gula pada formula 9 paling sedikit diantara yang lainnya sehingga asam asetat yang terbentuk kurang dari seharusnya.

Asam asetat yang terbentuk merupakan hasil proses oksidasi bioetanol oleh bakteri *A. aceti*. Selama proses fermentasi khamir dan bakteri melakukan metabolisme terhadap gula sehingga menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat (Afifah, 2010).

Larutan cuka fermentasi dilakukan secara bertahap hingga dihasilkannya asam asetat. Pada tahap awal ragi mengkonversi gula menjadi alkohol secara anaerob lalu setelah kadar etanol pada larutan menjadi tinggi dan tidak memungkinkan lagi bagi ragi untuk terus hidup maka etanol dioksidasi oleh bakteri *A. aceti* secara aerob. Dengan demikian konsentrasi etanol pada fermentasi sangat ditentukan oleh kandungan gula, sehingga semakin banyak gula yang digunakan maka semakin banyak pula gula yang dirombak menjadi asam asetat (Adam dan Moss, 2005).

Proses pembentukan asetat dimulai dari proses oksidasi yang tidak sempurna dimana daya reduksi dipindahkan ke molekul oksigen, tahap pertama terjadi oksidasi dari alkohol menjadi asetaldehid dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase. Kemudian terjadi hidrasi menjadi asetaldehidrat dan oksidasi kedua oleh asetaldehida dehidrogenase menjadi asam asetat (Effendi, 2002)

Uji Kadar Alkohol

Pengujian kadar alkohol dilakukan pada seluruh formula sediaan. pengujian kadar alkohol dilakukan untuk mengetahui kandungan alkohol yang menjadi salah satu faktor penentu kualitas larutan cuka yang dihasilkan. Hasil pengujian kadar alkohol dapat dilihat pada Tabel III.5,

Tabel 5. Hasil Pengujian Kadar Asam Asetat

Formula	Kadar Alkohol (%)	Kadar Alkohol Menurut SNI (%)	Keterangan
1	0	<10	memenuhi syarat
2	0	<10	memenuhi syarat
3	0	<10	memenuhi syarat
4	0	<10	memenuhi syarat
5	0	<10	memenuhi syarat
6	0	<10	memenuhi syarat
7	0	<10	memenuhi syarat
8	0	<10	memenuhi syarat
9	0	<10	memenuhi syarat

Penggunaan ragi *S. cerevisiae* memiliki kemampuan yang tinggi untuk menghasilkan alkohol (Gorgie, 2009:8). Namun berdasarkan data diatas kadar alkohol yang diperoleh adalah 0%. Hal ini disebabkan oleh proses pasteurisasi sehingga menyebabkan alkohol yang terbentuk selama proses fermentasi menguap. Hal ini terjadi karena titik didih etanol lebih rendah dari titik didih air sehingga pada saat dipanaskan, etanol menguap lebih dulu dibandingkan dengan air. Penurunan kadar alkohol dilakukan untuk membuat

larutan cuka yang halal untuk dikonsumsi bagi umat muslim sehingga manfaat dari larutan cuka ini dapat dirasakan oleh siapapun kecuali pada beberapa orang dengan kondisi pencernaan yang tidak baik.

Jika dibandingkan dengan data kadar alkohol dengan data kadar asam asetat sebelumnya, maka akan terlihat bahwa sebenarnya larutan cuka hasil fermentasi mengandung alkohol. Hal ini berkaitan dengan proses pembentukan asam asetat yang melibatkan etanol. Asam asetat yang terbentuk merupakan hasil oksidasi etanol oleh *A. aceti*. Etanol terbentuk melalui proses hidrolisis. Kadar alkohol pada awal fermentasi meningkat menjadi 62% selama 72 jam dan menurun pada 82 jam konsentrasi etanol menurun menjadi 40,3% (Raudah dan Ernawati, 2012)..

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa larutan cuka buah kopi dengan kandungan gula sebanyak 40 g (20%) dan buah kopi sebanyak 50 g (25%) merupakan formula terbaik dengan kadar asam asetat, pH dan kadar alkohol yang memenuhi persyaratan SNI 01-4371-1996 untuk cuka hasil fermentasi serta formula ini memiliki rasa dan bau yang lebih baik dibandingkan dengan formula lainnya.

E. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengujian aktifitas farmakologi cuka buah kopi dan dilakukan pula perbandingan cuka buah kopi dengan cuka buah yang dijual dipasaran serta pengujian cemaran mikroba dan waktu simpannya terkait dengan keamanan dan nilai manfaat dari sediaan tersebut.

Daftar Pustaka

- [1] Afifah, N. 2010. Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombucha (Teh. Kopi. Rosela) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Pathogen (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri.
- [2] Buckle, K.A. dkk. 2010. Ilmu Pangan. Terjemahan Hari Purnomo A. Jakarta: UI press.
- [3] Effendi, M.S.. 2002. Kinetika Fermentasi Asam Asetat (Vinegar) Oleh Bakteri *Acetobacter aceti* B127 dari Etanol Hasil Fermentasi Limbah Cair pulp Kakao. Teknologi dan Industri Pangan, Fakultas Teknik Jurusan Teknologi Pangan Universitas Pasundan XIII (2) 2002 : 125-135.
- [4] Gorie, M.B.D.2009. Pembuatan Cuka apel Fuji (Malus‘Fuji’) menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan *acetobacter aceti* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- [5] Gray, J. 1998. Caffeine, coffee and health. Nutrition and Food Science. MCB University press.
- [6] Johnston, K. L., Clifford M.N., Morgan L.M. 2003. Coffee Acutely Modifies Gastrointestinal Secretion and Glucose Tolerance in Human : Glycemic Effect of Chlorogenic Acid and Caffeine [abstract]. Am J Clin Nutr, 78(4):728-33.
- [7] Lin, Y. dan Tanaka, S. 2005. Pengantar Ilmu Komunikasi. Ethanol Fermentation from Biomass Resoure: Current State and Prospects [abstract], Appl Microbiol Biotechno, 69(6):627-42, 6th Dec.
- [8] Loopstara-Master, R.C. 2011. Associations Between The Intake Of Caffeinated And Decaffeinated Coffee And Measure Of Insulin Sensitivity And Beta Cell Function [abstract], Diabetologia, 54.320-328.
- [9] Mas, A.,MJ Torija, AM Troncoso and MC Garcia-Parilla.2016. Vinegar. Spain: Universitat Rovira.
- [10]Paulová,Leona Petra Patáková, Tomáš Brányik. 2014. Advanced Fermentation Processes. Prancis: CRC press.
- [11]Putri, A.A.S.I. M., G.P.G. Putra, W. Arnata. 2016. Pengaruh Penambahan Inokulum

- Saccharomyces Cerevisiae* dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Cuka Fermentasi Dari Cairan pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, Vol. 4. No. 3.
- [12] Rahardjo, P. 2017. *KOPI Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [13] Rosmiati, M. Yunus, Raudah. (2013). Pembuatan Asam Asetat Dari Limbah Cair Kulit Kopi Arabika (*Coffea Arabica* Dp), *Jurnal Reaksi (Journal of science and Technology)*, vol. 11, Politeknik Negeri Lhokseumawe.
- [14] SNI 01-4371-1966. Standar Nasional Indonesia (SNI) Cuka Fermentasi. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional (BSN).
- [15] Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press..
- [16] Pedro M. Gutierrez, Aubrey N A, Bryle Adrian L., Eugenio, and Santos MFL. 2014. Larvicidal Activity of Selected Plant Extracts against the Dengue vector *Aedes aegypti* Mosquito. *Int. Res. Journal Biological Sci*3(4), 23-32.
- [17] Pradani F. Y. 2009. Indeks Pertumbuhan Larva *Aedes aegypti* L. Yang Terdedah Dalam Ekstrak Air Kulit Jengkol (*Pithecellobium lobatum*). *Jurnal Kesehatan*1(2): 81-85 Widoyono. *Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasannya*, II. Jakarta: Erlangga, 2008.
- [18] Sutanto, Inge, Ismid, S., Syarifudin P., Saleha, Sungkar. 2008. *Parasitologi Kedokteran*. Edisi Keempat. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- [19] Widoyono. *Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasannya*, II. Jakarta: Erlangga, 2008.
- [20] World Health Organization. 2005. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*. Geneva