

PEMENCILAN DAN PENGENALPASTIAN MIKROFLORA DI DALAM MINUMAN  
TRADISIONAL TERFERMENTASI SABAH, TAPAI

RHEMMY ALLERON MOJOLOU

LATIHAN ILMIAH YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN  
DARIPADA SYARAT BAGI MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA  
SAINS MAKANAN DENGAN KEPUJIAN DALAM BIDANG SAINS  
MAKANAN DAN PEMAKANAN

SEKOLAH SAINS MAKANAN DAN PEMAKANAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH  
KOTA KINABALU

2003

## UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

JUDUL: Pemencilan dan Pengenalpastian mikroflora Di dalam Minuman Tradisional Terfermentasi Sabah, Tapai.

IJAZAH: Sarjana Muda Sains Makanan dan Pemakanan.

SESI PENGAJIAN: 2000/2003

Saya Rhemmy Alleron Mojolou  
(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/ Sarjana/ Doktor Falsafah) ini di simpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. \*\* Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: kg. Hungab, P/s 224,  
89507 Penampang,  
sabah.

Dr. chye Took Yee  
Nama Penyelia

Tarikh: 10/08/2006

Tarikh: 10/08/2006

CATATAN: \* Potong yang tidak berkenaan.

\* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampiran surat daripada pihak berkuasa/organsasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

\* Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



## PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang tiap- tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

14 Februari 2003



(RHEMMY ALLERON MOJOLOU)

HN 2000 - 3895



**PERAKUAN PEMERIKSA****DIPERAKUKAN OLEH****Tandatangan**

1. PENYELIA  
(DR. CHYE FOOK YEE)



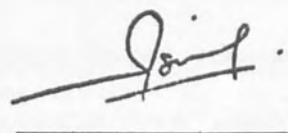
2. PEMERIKSA 1  
(EN. OTHMAN HASSAN)



3. PEMERIKSA 2  
(PN. RAMLAH GEORGE @ MOHD. ROSLI)



4. DEKAN  
(PROFESOR MADYA DR MOHD ISMAIL ABDULLAH)



## PENGHARGAAN

Terlebih dahulu saya ingin merakamkan penghargaan yang tidak terhingga kepada penyelia projek saya, Dr. Chye Fook Yee di atas segala tunjuk ajar, nasihat, bimbingan dan komen dalam membantu saya menyiapkan projek penyelidikan ini.

Ribuan terima kasih juga khas kepada keluarga tersayang dan rakan- rakan seperjuangan terutamanya teman kesayangan Mellisa Robert serta yang lain iaitu Eugene, Pooi Yen, Jun, Fabian, Tan Chun Cheang dan Tan Bee Eng. Tanpa bantuan dan dorongan daripada mereka projek penyelidikan ini tidak akan berjaya.

Tidak lupa kepada teman- teman sebilik saya yang banyak membantu, memberi semangat dan tunjuk ajar kepada saya terutamanya Fatah, Yusdy, Ayie dan Martin. Tanpa sahabat seperti kalian maka pengajian di kampus ini tidak akan menarik seperti yang mungkin.

Akhir sekali, terima kasih diucapkan kepada pembantu makmal Sekolah Sains Makanan dan Pemakanan, En. Taipin, En. Othman dan En. Mufti kerana banyak membantu dalam menyediakan peralatan dan bahan yang diperlukan untuk projek penyelidikan ini.



## ABSTRAK

Kebanyakan makanan yang di ambil di seluruh dunia adalah dihasilkan melalui proses fermentasi yang semulajadi. Namun terlalu sedikit maklumat yang wujud mengenai mikroorganisma yang terlibat dan ini mengakibatkan kualiti produk dan kawalan proses sukar. Di dalam kajian ini mikroflora bagi minuman tradisional terfermentasi Sabah iaitu tapai di kaji dan beberapa spesis yis dan bakteria asid laktik telah dikenalpasti serta dikuantifikasikan. Secara keseluruhannya, kaedah pemencilan piring curahan banyak digunakan di dalam kajian ini. Selain itu, analisis fizikokimia seperti nilai pH, keasidan dan kandungan alkohol dijalankan bagi mengkaitkan kehadiran mikroorganisma setiap hari fermentasi sehinggalah produk tapai dihasilkan. Sebelum kajian terhadap tapai dijalankan, pemencilan mikroorganisma turut dilakukan ke atas ragi (sasad) iaitu kultur pemula bagi tapai. Hasil daripada kajian tersebut mendapati kultur pemula ragi mengandungi mikroorganisma yang bertanggungjawab di dalam fermentasi tapai. Ujian biokimia dilakukan ke atas koloni- koloni tunggal yang berjaya dipencilkan dan spesis yang dikenalpasti adalah *Pichia fermentant*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora valbyensis* dan *Torulaspota delbrueckii*. Satu jenis koloni pula tidak dapat dikenalpasti selepas ujian biokimia tetapi dijangkakan sebagai kulat selepas diinokulasi semula ke dalam RBCA dan didapati tidak tumbuh. Bagi pemencilan mikroorganisma ke atas tapai mendapati koloni *Pichia fermentant*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora valbyensis*, *Torulaspota delbrueckii* dan *Candida stellata* bagi yis dan genera *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus* bagi bakteria asid laktik telah tumbuh. Selain itu, kehadiran kulat dan enterobacteriaceae juga telah di kesan. Namun demikian, kehadiran bakteria asid laktik, kulat dan enterobacteriaceae hanya di peringkat awal fermentasi sahaja iaitu dari hari 0 – 6. Kehadiran di peringkat awal fermentasi tersebut dikaitkan dengan kandungan alkohol yang semakin meningkat dan pH yang semakin menurun. Pertumbuhan kulat telah terbantut pada pH 4.4, bakteria asid laktik dan enterobacteriaceae pada pH 3.7. Disimpulkan bahawa bakteria asid laktik, kulat dan enterobacteriaceae tidak dapat tumbuh pada pH kurang daripada 4 dan kepekatan alkohol lebih daripada 15 peratus. Mikroorganisma yang didapati dominan pada peringkat awal fermentasi (0 – 8 hari) adalah kulat, *Kloeckera apiculata* dan *Hanseniaspora valbyensis* di mana kedominasian tersebut bertukar kepada spesis *Pichia fermentant*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspota delbrueckii* dan *Candida stellata* selepas hari ke 8. Apabila kandungan alkohol mencapai 26.04 %, dominasi fermentasi telah di ambil alih oleh *Saccharomyces cerevisiae* sahaja. Pertumbuhan yis lain pula semakin menurun. Peratus kandungan alkohol akhir bagi tapai adalah 26.22 % di mana ini telah melampaui peratusan yang telah ditetapkan oleh Peraturan Makanan Malaysia 1985 iaitu sebanyak 12 % alkohol untuk wain.



# ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MICROFLORA IN SABAH'S TRADITIONAL FERMENTED ALCOHOLIC BEVERAGE, TAPAI

## ABSTRACT

Many of the indigenous foods consumed around the world are produced by natural fermentation. Information is not always available about the microorganisms involved, which makes it very difficult to maintain product quality and processing controls. In this work the microflora of the traditional Sabah fermented alcoholic beverage, tapai was investigated and some of the yeast and lactic acid bacteria strains involved have been identified and quantified. As a whole, physicochemical analysis namely pH value, acidity and alcohol percentage value was determined to relate the microorganisms presence every fermentation day until the tapai product is produced. Before the isolation is done on the tapai, isolation of microorganisms is also conducted on the ragi (sasad) which is the starter culture for tapai. Results show that the starter culture for tapai consist of microorganisms responsible for the fermentation of tapai. Biochemical tests conducted on the isolated colonies revealed yeast species of *Pichia fermentant*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora valbyensis* and *Torulaspora delbrueckii*. One colony was unable to be identified after the series of biochemical tests but is suggested to be mould after it was reinoculated on RBCA and was unable to grow. For the isolation of microorganism in tapai, it was found that yeast species colonies of *Pichia fermentant*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora valbyensis*, *Torulaspora delbrueckii* and *Candida stellata* and lactic acid bacteria genus colonies of *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* grew well. Apart from that, mould and enterobacteriaceae presence was also found. But the presence of lactic acid bacteria, mould and enterobacteriaceae lasted only for the early stages of fermentation which is day 0 – 6 and is related to the increasement of alcoholic content and decreasement of the pH value. The growth of mould was inhibited at the pH value of 4.4, lactic acid bacteria and enterobacteriaceae at 3.7. It is summarized that lactic acid bacteria, mould and enterobacteriaceae colonies were unable to grow well at the pH value of less than 4 and alcohol content of more than 15 %. The predominant microorganisms during the early stages of fermentation (day 0 – 8) were mould, *Kloeckera apiculata* and *Hanseniaspora valbyensis* whereas the predomination switched to the species of *Pichia fermentant*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspora delbrueckii* and *Candida stellata* after day 8 of fermentation. When the alcoholic content reached 26.04 % the predominance of the fermentation was replaced by *Saccharomyces cerevisiae* alone. The other yeast species growth begins to decrease. The final alcohol content for tapai is 26.22 % which exceeds the standard percentage of Peraturan Makanan Malaysia 1985 which is 12 % for wine.



## SENARAI KANDUNGAN

	HALAMAN
PENGAKUAN	i
PENGESAHAN	ii
PENGHARGAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
SENARAI KANDUNGAN	vi
SENARAI JADUAL	xii
SENARAI RAJAH	xv
SENARAI LAMPIRAN	xvi
BAB 1 : PENDAHULUAN	1
BAB2 : ULASAN KEPUSTAKAAN	4
2.1    Makanan Terfermentasi	4
2.1.1    Proses Penapaian	5
2.2    Fermentasi Minuman Beralkohol	6
2.2.1    Piawaian Umum Minuman Berakohol	7
2.3    Minuman Beralkohol Di Peringkat Antarabangsa	9
2.3.1    Wain	9
2.3.2    Bir	10
2.3.3    Sake	12
2.3.4    Pito	13
2.3.5    Pachwai	13
2.4    Minuman Beralkohol Di Peringkat Asia Tenggara	14
2.4.1    Binuburan	14





2.4.2	Tuwak	14
2.4.3	Kefir	16
2.5	Minuman Beralkohol Di Sabah	16
2.5.1	Tapai	16
2.5.2	Montoku	18
2.5.3	Lihing	19
2.5.4	Bahar	19
2.5.5	Sikat	20
2.6	Bahan Mentah Penghasilan Tapai	21
2.6.1	Beras / Nasi	21
	2.6.1.1 Jenis- Jenis Beras	21
2.6.2	Sasad / Ragi	23
2.7	Kultur Pemula Yis Yang Lain	24
2.7.1	Yis Roti	24
2.7.2	Yis Minuman Malta	25
2.7.3	Yis Wain	26
2.7.4	Yis Penyulingan	26
<b>BAB 3 : BAHAN DAN KAEDAH</b>		<b>28</b>
3.1	Bahan	28
	3.1.1 Sampel	28
	3.1.2 Bahan Analisis	28
3.2	Analisis Mikrobiologi	29
	3.2.1 Penyediaan Sampel	30
	3.2.2 Pemencilan Mikroorganisma Di Dalam Sampel	31
	3.2.2.1 Pemencilan Yis Dan Kulat	31
	3.2.2.2 Pemencilan Bakteria Asid Laktik ( LAB )	32



3.2.3	Hitungan Jumlah Mikroorganisma Yang Tumbuh	33
3.2.4	Penentuan Ciri- Ciri Morfologi Koloni	33
3.2.5	Ujian Biokimia	34
3.2.5.1	Fermentasi Gula Ringkas	35
3.2.5.2	Asimilasi Gula Ringkas	35
3.2.5.3	Pertumbuhan Pada Suhu Yang Berbeza	36
3.2.5.4	Pembentukan Ammonia (NH <sub>3</sub> ) Daripada Arginin	36
3.2.5.5	MR-VP	37
3.2.5.6	Urease	37
3.2.5.7	Pertumbuhan Pada % Kepekatan NaCl Berbeza	37
3.2.5.8	Indole	38
3.2.5.9	Triple Sugar Iron Agar (TSIA)	38
3.2.5.10	Penentuan Sitokrom Oksidase	39
3.2.5.11	Penentuan Lysine Iron Agar (LIA)	39
3.2.5.12	Aktiviti Katalase	40
3.3	Analisis Fizikokimia Produk Tapai	
3.3.1	Nilai pH	40
3.3.2	Keasidan	40
3.3.3	Kandungan Alkohol	41
3.3.3.1	Penentuan Nilai Spesifik Graviti	41
3.3.3.2	Peratus Kiraan Alkohol	42
<b>BAB 4 : HASIL DAN PERBINCANGAN</b>		<b>43</b>
4.1	Pemprosesan Tapai	43
4.2	Mikroorganisma Yang Dipencilkan Di Dalam Ragi	44
4.3	Hasil Pemencilan Mikroorganisma Pada Tapai	45
4.3.1	Perubahan Mikroorganisma Sepanjang Fermentasi Tapai	51



4.3.1.1	Peringkat Awal Fermentasi	51
4.3.1.2	Peringkat Akhir Fermentasi	53
4.4	Hitungan Mikroorganisma Di Dalam Tapai	54
4.5	Mutu Produk Minuman Terfermentasi Tapai	55
4.5.1	Peratusan Kandungan Alkohol Bagi Tapai	55
4.5.2	Kesan Mikroorganisma Terhadap pH dan Keasidan	58
BAB 5 :	KESIMPULAN	61
	RUJUKAN	63
	LAMPIRAN	67



## SENARAI JADUAL

NO. JADUAL	HALAMAN
2.1 : Tiga kumpulan minuman beralkohol beserta dengan contoh	8
2.2 : Senarai substrat dan minuman yang dihasilkan mengikut negara	27
3.1 (a) : Senarai bahan kimia	29
3.1 (b) : Senarai media agar	29
3.2 : Pencairan desimal sepanjang proses fermentasi	31
4.1 : Bilangan koloni yang tumbuh pada agar PCA, PDA dan RBCA	44
4.2 : Ciri- ciri koloni yis yang di pencil dan ujian biokimia bagi ragi	46
4.3 : Ciri- ciri koloni yis yang di pencil dan ujian biokimia bagi Tapai	48
4.4 : Hasil ujian tindakbalas membezakan di antara <i>Lactobacillus</i> spp. dan <i>Leuconostoc</i> spp.	49
4.5 : Ciri- ciri tindakbalas biokimia oleh bakteria yang dikenalpasti pada agar VBRA ( <i>enterobacteriaceae</i> )	50
4.6 : Bilangan koloni yis, kulat, bakteria asid laktik dan <i>enterobacteriaceae</i>	56



## SENARAI RAJAH

NO. RAJAH	HALAMAN
2.1 : Aliran pemprosesan wain putih dan wain merah	11
2.2 : Aliran pemprosesan bir	15
2.3 : Aliran pemprosesan tapai	17
3.2 : Aliran pencairan desimal	31
4.1 : Graf perubahan yis sepanjang proses fermentasi	52
4.2 : Peratus kandungan alkohol di dalam minuman terfermentasi tapai	57
4.3 : Hubungan di antara pH dan peratus keasidan sampel	60



## SENARAI LAMPIRAN

NO. LAMPIRAN	HALAMAN
A : Jadual biokimia bagi genera yis	67
B : Jadual biokimia bagi genera yis	68
C : Senarai beberapa jenis produk terfermentasi dengan mikroorganisma yang terlibat	69
D : Jadual bagi spesifik graviti	70
E : Gambar bagi minuman tapai	75
F : Gambar bagi minuman montoku	75
G : Gambar bagi minuman lihing	76
H : Gambar bagi minuman bahar	77
I : Gambar bagi sasad ( ragi )	78
J : Gambar bagi hasil negatif ujian urea	78
K : Gambar bagi koloni yis yang tumbuh di atas RBCA selepas 10 hari fermentasi	79
L : Gambar bagi hasil positif fermentasi gula oleh yis	79



## BAB 1

### PENDAHULUAN

Tapai atau nasi terfermentasi adalah sejenis makanan asli di benua Asia Tenggara di mana ia juga dikenali sebagai *tape* di Indonesia, *binubudan* atau *binuburan* di Filipina dan *krachae* atau *khao* di Thailand. Ia biasanya digunakan sebagai hidangan pencuci mulut selepas menjamu selera dengan makanan berat. Sekiranya tapai dihasilkan daripada nasi pulut maka ia dikenali sebagai tapai pulut dan jika berasaskan daripada ubi kayu maka ia dikenali sebagai *tapai ubi* (Lam, 1989).

Di Sabah, tapai adalah sejenis minuman beralkohol terfermentasi yang sinonim dengan suku kaum terbesar di Sabah iaitu Kadazandusun dan Murut yang mana biasa menetap di bahagian kawasan pantai barat. Selain daripada menjadi pengasas kepada pembuatan minuman tapai, suku kaum ini juga sangat arif dengan selok- belok pembuatan minuman beralkohol terfermentasi tradisional ini di mana terdapat lebih kurang tujuh jenis minuman beralkohol yang lain iaitu *lihing*, *montoku / talak*, *sikat*, *bahar / tuak*, *sagantang*, *kinomol* dan *tapai*. Kesemua jenis minuman tersebut mempunyai rasa, tekstur dan kandungan alkoholnya yang tersendiri (Jackson, 1995). Minuman-minuman tersebut biasanya dihidangkan semasa majlis- majlis keramaian dan perayaan seperti hari lahir, perkahwinan, *Pesta Menuai*, pengkebumian atau acara lain. Pada waktu itu minuman tapai, montoku, lihing dan bahar amat mudah diperolehi. Selain itu, *tapai* juga boleh diperolehi di luar kawasan pantai barat seperti di kawasan pendalaman dan lain- lain lagi tetapi jumlahnya agak sedikit. Ini disebabkan saiz pasaran minuman



tradisional terfermentasi di Sabah adalah kecil dan tergolong di dalam *industri kecil sederhana* (Jackson, 1995).

Di Sabah, minuman beralkohol terfermentasi tidak dikomersialkan berbanding dengan negara- negara lain. Hal ini mungkin disebabkan oleh sikap pengusaha yang belum berani menceburkan diri ke bidang ini. Di negara lain seperti Jepun, minuman beralkohol terfermentasi yang hampir serupa dengan *tapai* adalah sake manakala di Indonesia pula adalah tuwak (Walker, 1999). Minuman- minuman beralkohol yang lain termasuklah *bir, wain, likuor, spirit* dan lain- lain lagi.

Asas yang digunakan dalam menghasilkan minuman *tapai* di Sabah dan minuman beralkohol lain di luar negara adalah sama tetapi perbezaan ketara di lihat pada bahan mentah, kekuatan kultur pemula dan teknik pemprosesan yang digunakan. Bagi minuman seperti *sake* dan *tuwak* terdapat dua bahagian proses utama iaitu pemeraman dan penyulingan manakala bagi *tapai* hanya melibatkan proses pemeraman sahaja. Langkah pemeraman tersebut melibatkan pencampuran nasi dengan ragi (kultur pemula) dan kemudian dieramkan. Walau bagaimanapun, proses ini merupakan satu proses yang tidak terkawal kerana ragi yang digunakan tidak mempunyai kandungan standard. Pembuatan ragi tersebut adalah bergantung kepada ramuan keluarga (turun- temurun). Proses pemeraman *tapai* pula tidak mempunyai jangka hayat tamat pemeraman dan tempoh minimum pemeraman adalah 1-2 minggu.

Walaupun terdapat kajian yang menguji peratusan kandungan alkohol di dalam *tapai* tetapi tiada kajian khusus tentang mikroflora yang terdapat di dalamnya. Oleh yang demikian, secara keseluruhannya objektif kajian ini adalah :





1. Memencilkan dan mengenalpasti mikroflora yang terdapat di dalam ragi (kultur pemula) yang digunakan untuk menghasilkan *tapai*.
2. Memencilkan dan mengenalpasti mikroflora yang terdapat di dalam *tapai*.
3. Mengkaji dan menganalisis komposisi kimia di dalam *tapai* seperti pH, keasidan, dan kandungan alkohol (peratus etanol).



## BAB 2

### ULASAN KEPUSTAKAAN

#### 2.1 Makanan Terfermentasi

Terdapat banyak mikroorganisma terutamanya bakteria yang boleh mengakibatkan kerosakan kepada makanan. Proses- proses yang boleh mengelakkan kerosakan makanan adalah seperti kaedah pengeringan, pengetinan, penyejukan dan fermentasi (Frazier, 1967). Teknologi yang kurang pada masa dahulu menjadikan kaedah fermentasi dan pengeringan sebagai kaedah utama untuk mengawet dan menyimpan lebihan makanan.

Proses fermentasi berlaku melalui pertumbuhan satu atau lebih mikroorganisma tetapi merencatkan pertumbuhan bakteria perosak lain (Frazier, 1967). Contohnya penambahan kultur pemula yis kepada nasi untuk menghasilkan alkohol. Yis yang bertindak sebagai mikroflora utama di dalam nasi merencatkan pertumbuhan mikroorganisma lain seperti kulat dan bakteria asid laktik melalui kepekatan alkohol yang semakin meningkat. Produk yang dihasilkan akan mengalami perubahan dari segi tekstur dan rasa. Makanan dan minuman terfermentasi yang lain adalah seperti yogurt, keju, pekasam dan lain- lain lagi.



Selain itu, proses fermentasi juga boleh berlaku dengan semulajadi di dalam makanan. Semua jenis makanan mempunyai mikroorganisma yang hadir secara semulajadi di dalamnya. Contohnya produk *sauerkraut*, sayur yang digunakan mempunyai mikroorganisma yang hadir secara semulajadi. Garam ditambahkan untuk merencatkan pertumbuhan mikroorganisma lain seperti yis dan kulat. Penambahan garam juga memberikan sedikit rasa kepada hasil akhir produk selepas fermentasi. Beberapa produk lain menambahkan cuka di mana ia berfungsi untuk menurunkan pH makanan supaya lebih rendah dan mampu untuk merencatkan pertumbuhan bakteria perosak yang mempunyai kerentanan terhadap asid yang rendah.

### 2.1.1 Proses Penapaian

Proses penapaian adalah sebahagian daripada proses fermentasi. Proses ini telah lama digunakan dahulu untuk menggunakan sepenuhnya nasi yang berlebihan dan menghasilkan produk makanan yang baru.

Proses penapaian di Sabah digolongkan ke dalam industri kecil sederhana (IKS) berdasarkan kepada jumlah penghasilan dan pemasaran yang tidak besar (Jackson, 1995). Walaupun keadaan pasaran yang tampak jelas dipenuhi dengan produk proses penapaian tetapi jumlah pengeksportan ke luar negara dan pengimportan negara asing adalah rendah (Jackson, 1995). Keadaan ini jelas membuktikan saiz industri yang kecil dan sifat peniaga bumiputera Sabah yang belum cukup pengalaman dalam perniagaan.

Proses penapaian berlaku dalam keadaan aerobik (tanpa oksigen) dan sebahagian pula berlaku secara anaerobik. Substrat karbohidrat kompleks nasi

dipecahkan kepada gula ringkas dan ditukarkan kepada produk sampingan lain seperti alkohol, karbon dioksida dan tenaga oleh yis. Mikroflora yis tidak hadir secara semulajadi di dalam nasi dan ditambahkan melalui kultur pemula dalam ragi (Lam, 1989). Langkah asas proses penapaian adalah ditunjukkan dalam persamaan kimia seperti berikut :



Selain daripada menghasilkan produk sampingan yang diinginkan, tindakbalas yis terhadap nasi juga mengakibatkan perubahan- perubahan yang lain. Tekstur substrat nasi yang digunakan akan menjadi lembut serta mengeluarkan cecair dan sebahagian daripadanya hancur (Lam, 1989).

## 2.2 Fermentasi Minuman Beralkohol

Minuman beralkohol wujud di seluruh pelusuk dunia di dalam bentuk, kandungan alkohol, warna dan rasa yang berlainan. Faktor yang mengakibatkan perbezaan tersebut adalah faktor geografi (kawasan dan negara) dan kebudayaan yang berbeza- beza (Birch *et. al.*, 1978). Namun, asas proses menghasilkan minuman beralkohol masih menggunakan proses penapaian sebagai tapak utama.

Dalam proses menghasilkan minuman terfermentasi beralkohol, hasil yang terbentuk adalah alkohol, karbon dioksida dan tenaga. Alkohol yang dihasilkan juga dikenali dalam istilah lain sebagai *etil alkohol*. Etil alkohol yang dihasilkan oleh tindakbalas yis dengan substrat gula ringkas adalah gabungan daripada unsur- unsur



kimia karbon, hidrogen dan oksigen (Birch *et. al.*, 1978). Substrat- substrat yang boleh ditindakbalaskan oleh yis adalah daripada sumber karbohidrat seperti nasi, bijirin, ubi-ubian, jagung, gandum dan lain- lain lagi. Selain itu, buah- buahan yang dihancurkan dan dieramkan dalam jangka masa tertentu juga mampu untuk menghasilkan alkohol. Menurut Foster (1979), alkohol yang dihasilkan dalam proses penapaian anggur untuk menghasilkan wain merah adalah baik untuk kesihatan jantung dan membekalkan lebih kurang 7 kalori per gram tenaga. Selain daripada hadir dalam bentuk minuman terfermentasi beralkohol, etil alkohol juga hadir dalam bentuk cecair yang digunakan dalam makmal, penyahasilan alkohol, farmasi, wangi- wangian dan sintesis organik.

Kesemua jenis minuman- minuman terfermentasi beralkohol boleh digolongkan di dalam 3 kumpulan utama iaitu bir, spirit dan wain (Foster, 1979). Walaupun proses yang digunakan untuk menghasilkan minuman- minuman tersebut hampir sama tetapi perbezaan ketara dapat di lihat dari segi bahan yang digunakan dan jangka masa fermentasi.

### 2.2.1 Piawaian Umum Minuman Beralkohol

Daripada piawaian yang disediakan di dalam Akta Makanan 1983 dan Peraturan Makanan Malaysia 1985, minuman beralkohol adalah likuor yang mengandungi lebih daripada 2 % i / i alkohol dan ini termasuk makanan yang standardnya ditetapkan di dalam peraturan 362 hingga 384 dan peraturan 386 tetapi spirit ternyahasil atau apa-apa sediaan yang mengandungi lebih daripada 2 % i / i alkohol yang di akui sifat perubatannya adalah dikecualikan.



Jadual 2.1 : Tiga kumpulan umum minuman beralkohol beserta dengan contoh.

JENIS	SUBSTRAT (PROSES)	PERATUS ALKOHOL	CONTOH
<i>Bir</i>	Gandum ( <i>Penapaian dan Pembruan</i> )	2 – 8 %	<i>Carlsberg, Anchor dan Tiger Beer</i>
<i>Spirit</i>	Gandum ( <i>Penapaian dan Penyulingan</i> )	40 – 50 %	<i>Wiski, Gin dan Vodka</i>
<i>Wain</i>	Buah anggur ( <i>Penapaian</i> )	8 – 12 %	<i>Red wine dan White wine</i>

Sumber : Aliah Abd. Rahim et. al., 1997.

Selain itu, minuman- minuman beralkohol hendaklah mempamerkan pernyataan bertulis dengan jelas pada pembungkusan. Perlabelan tersebut mesti menyatakan peratusan alkohol atau alkohol mutlak.



## 2.3 Minuman Beralkohol di Peringkat Antarabangsa

### 2.3.1 Wain

Wain adalah minuman terfermentasi yang berasal daripada benua Eropah. Ia melibatkan penggunaan buah- buahan sebagai substrat karbohidrat utama terutamanya buah anggur. Spesis buah anggur yang paling banyak digunakan adalah daripada jenis *Vitis Vinifera* (Amerine dan Berg, 1972).

Penghasilan wain melibatkan pengekstrakan jus buah (must) dengan menghancurkan buah, fermentasi alkohol oleh yis (kultur eksogenus atau endogenus), pematangan, klarifikasi dan pembungkusan. Proses menghancurkan buah akan diikuti dengan proses pelembutan di mana ia memudahkan pengekstrakan bahagian yang diperlukan daripada biji dan kulit. Pengekstrakan ini dimulakan oleh tindakbalas enzim hidrolitik yang dikeluarkan oleh sel yang telah tercedera semasa penghancuran.

Wain merah adalah dihasilkan daripada fermentasi jus anggur hitam, yang terkandung di dalam kulitnya. Sekiranya kulit anggur hitam dikeluarkan atau anggur putih digunakan maka wain putih akan dihasilkan. Wain *Rose* pula dihasilkan jika kesemua kulit anggur hitam dialihkan sebelum kesemua pigmen diekstrakkan. Fermentasi malolaktik boleh dijalankan untuk mendekarboksilasikan asid L- malik kepada asid L- laktik yang akan menyebabkan penurunan keasidan wain. Sifat organoleptik wain adalah bergantung kepada anggur yang digunakan dan aktiviti yis dan bakteria yang terlibat. Tindakbalas enzim anggur dan mikroorganisma semasa pematangan juga menyumbang kepada pencirian wain.



Fermentasi wain mengambil jangka masa selama 3 hingga 5 hari tetapi ada proses fermentasi yang diteruskan sehingga 3 dan 4 minggu pada suhu 21 °C hingga 32 °C. Mikroorganisma yang terlibat dalam proses fermentasi wain adalah seperti spesis *Candida*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *pichia*, *Schizosaccharomyces* dan *Torulopsis* (Amerine *et. al.*, 1966).

### 2.3.2 Bir

Bir adalah minuman beralkohol terfermentasi yang juga berasal daripada benua Eropah. Minuman bir merupakan minuman beralkohol yang paling kuat dan popular pada masa dahulu di mana ia adalah pengasas kepada minuman- minuman beralkohol yang dibungkus dan dipasarkan dalam jumlah yang besar (Foster, 1979).

Minuman bir menggunakan barli sebagai sumber karbohidrat di mana ia dibrukan bagi menghasilkan alkohol. Sumber karbohidrat tambahan biasanya ditambahkan iaitu *adjunk* dalam perkadaran yang berlainan (Ibrahim *et. al.*, 1996). Terdapat 5 langkah utama di dalam penghasilan bir iaitu proses pemaltan, pelumatan, fermentasi, pematangan dan kemasan (Smith, 1997).

Pada peringkat pemaltan, substrat barli di rendam di dalam air dan digaulkan di dalam tong berputar. Ini adalah bertujuan untuk percambahan barli tersebut di mana pembentukan enzim pendegredan kanji (amilase) dan pendegredan protein (protease) berlaku. Perlakuan pemanasan secara perlahan dilakukan di mana suhu meningkat



## RUJUKAN

- Ajimilah, Zainab & Rohimi. 1988. *Padi*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Ajimilah, Zainab & Rohimi. 1996. *Pengkelasan Beras serta Jenisnya*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Aliah Abdul Rahim, Hasnah Mohamad & Noor'Ashikin Selamat. 1997. *Bioteknologi*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Allen, H.W. 1961. *The History of Wine: Great Vintage Wine from the Homeric Age to the Present Day*. London: Faber & Faber Publishing.
- Amerine, M.A., Berg, H.W., and Cruess, W.V. 1972. *The Technology of Wine Making*, 3rd Ed. Wesport: AVI Publishing Co.
- Anon. 2000. *The History of Sake*. Japan: Kimihira & Taylor Associates, Inc.
- Anon. 2000. *The production of Sake*. Japan: Kimihira & Taylor Associates, Inc.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. Vol 1 & 2. USA : Association of Official Analutical Chemists Inc.
- Bull, A., Eccwood D.C. & Ratledge C. 1979. *The Society for General Microbiology. Microbial Technology: Current State, Future Prospects*. England: Cambridge University Press, Symposium 29.
- Birch, G.G., Cameron A.G. & Spencer M. 1978. *Food Science. 2nd Ed.*. Oxford, New York: Pergamon Press,
- Chatwal, G.R. 1993. *Encyclopedia of Biotechnology. 1st Ed.*. New Delhi : Anmol Publications.
- Ch'ng Boon Heng. 1992. *Fermentation- the bottom line in tapai making*. Perpustakaan Arkib Negeri Sabah: Daily Express ( Saturday 30th May ). Page 4-5.



- D'Amore, T., Celotto G., and G.G. Stewart. 1991. *Advances in the Fermentation of High Gravity Wort*. England: Europe Brewing Convention Process. 23rd congr. 1991: 331-334.
- D'Amore, T.1992. *Improving Yeast Fermentation Performances*. Journal Institute Brewing. 98:937-382.
- Duncan, R.E., & Philip, J.M. 1996. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 17. 208.
- Ensminger, M.E., Konklade, James E., Robson, John R.K., & Ensminger, Audrey H.1995. *The Concise Encyclopedia of Food and Nutrition*. Washington D.C.: CDC.
- FAO Food & Nutrition Paper. 1986. *Manuals of Food Quality Control 8. Food Analysis: Quality, Adulteration and Test of Identity*. Rome: FAO.
- Foster, T. 1979. *Dr. Foster's Book of Beer*. London: Hollen Street Press.
- Frazier, W.C. 1967. *Food Microbiology 2nd Ed*. New Delhi : Tata McGraw-Hill Publishing Co. Ltd.
- Gadaga, T.H., Mutukumira, A.N., Narvhus, J.A. 1999. A Review of Traditional Fermented Food and Beverages of Zimbabwe. Elsevier Science B.V.: Zimbabwe.
- Gutcho, M.H., 1976. *Alcoholic Beverages Process*. London, England: Noyes Data Corporation,
- Hammond, J.P.M., & K.W. Eckersley. 1984. *Fermentation Properties of Brewing Yeast with Killer Character*. Journal Institute Brewing. 90: 167-177.
- Henry C.J.K. 2000. *International Journal of Food Science and Nutrition*. Vol. 51, No.2. Page 135-143.
- Holter, H., and K.M. Moller. 1978. *The Carlsberg Laboratory 1876-1976*. Copenhagen: Rhodos International Science and Art Publishers.



- Hui, Y.H. & Khachatourians, George G. 1995. *Microorganisms*. USA: Wiley VCH Inc.
- Hunter, J.C., & Belt, A. 1996. *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry*. USA: Academic Press.
- Ibrahim Che Omar, Darah Ibrahim & Baharuddin Salleh. 1996. *Mikrobiologi Makanan*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Jackson Sawatan. 1995. *Tapai Bukan Kemestian Kadazandusun*. Perpustakaan Arkib Negeri Sabah: Akhbar Masyarakat ( Februari 24 ).
- Joslyn, M.A. 1970. *Methods in Food Analysis; Physical, Chemical and Instrumental Methods of Analysis 2nd Ed*. New York: Academic Press.
- Kockova, A.K. 1990. *Yeast and Yeast- Like Organisms*. New York: VCH Publishers.
- Krieg, N. R. & J.G.Holt (eds)., 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol1. Baltimore: Williams & Wilkins Publishing.
- Akta Makanan 1983 ( Akta 281 ) dan Peraturan- peraturan ( Hingga 10hb Mac 1997 )*. Kuala Lumpur: MDC Sdn. Bhd.
- Lam, C.L. 1989. *Traditional Malay Foods : A Review*. Kyoto University: Bulletin of the Research Institute for Food Science.
- Lee, F.A. 1975. *Basic Food Chemistry*. USA: The Avi Publishing Co.
- Lees, R. 1975. *Food Analysis; Analytical and Quality Control Methods for the Food Manufacturer and Buyer*. London: Leonard Hill Books.
- Lilicrap, D.R & Cousinc, J.A. 1994. *Food & Beverages Service 4th Ed*. London: Avon Press.
- McCance & Widdow Son's. 1991. *The Composition of Foods, 5th Ed*. London: Royal Society of Chemistry.
- Oda, Y., Ouchi, K. 1999. *Saccharomyces*. Scotland: Academic Press.



- Tusekwa, A.B., Mosha, T.C.E, Laswai, H.S. & Towao, E.E. 2000. *Traditional Alcoholic Beverages of Tanzania : Production, Quality and Changes in Attributes during Storage*. International Journal of Food Science and Nutrition, No. 51, p.135-143.
- Walker, G.M. 1999. *Yeast Physiology and Biotechnology*. Scotland: John Wiley & Sons.
- Walker, G.M. 1999. *Wines*. Scotland: Academic Press.
- Watson, C.A. 1994. *Official and Standardized Methods of Analysis 3rd Ed*. London: The Royal Society of Chemistry.
- Wolf, K. 1995. *Nonconventional Yeasts in Biotechnology*. Germany: Springer Publishing.
- Wood, B.J.B., Holzapfel, W.H., 1995. *The Genera of Lactic Acid Bacteria, Vol.2*. Glasgow: Blackie Academic and Professional.

