

# Pengaruh *Rhizopus oryzae* dan *Aspergillus oryzae* terhadap kualitas kecap

Dewi Sabita Slamet<sup>1</sup>, Indrawati Ganjar<sup>2</sup>.

## Ringkasan

Telah diteliti pengganti fermentasi mikroorganisma *Aspergillus oryzae* *Rhizopus oryzae* dan campuran *Aspergillus* dan *Rhizopus oryzae*, dengan perendaman dalam larutan garam 20% dalam waktu yang berbeda terhadap kualitas kecap.

Lamanya perendaman dalam larutan garam 20% yang berbeda menghasilkan kadar protein kecap yang berbeda. *Aspergillus oryzae* lebih baik dalam menghasilkan enzima protease dari pada *Rhizopus oryzae*. Keduanya tidak menghasilkan aflatoxin B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub> pada substrat.

Uji organoleptik menunjukkan perbedaan tidak bermakna dalam hal rasa maupun aroma antar kecap yang dibuat dengan strain jamur yang berlainan serta waktu perendaman yang berbeda. Untuk membuat kecap, sebaiknya dilakukan perendaman dalam larutan garam 20% selama 14 hari.

## Pendahuluan

Di Indonesia yang beriklim tropik bermacam-macam mikroorganisma dapat tumbuh dengan subur. Penduduk memanfaatkan keadaan ini dengan menggunakan mikroorganisma untuk membuat pelbagai makanan hasil fermentasi yang terkenal seperti tempe, oncom dan kecap (1).

Di Indonesia kecap telah lama sekali dikenal sebagai penyedap makanan yang populer dipelbagai kalangan masyarakat, sehingga mudah dimengerti, bahwa dimana-mana ditemukan perusahaan kecap. Pembuatan kecap di Indonesia umumnya dilakukan secara tradisional (2, 3, 4) dengan menghasilkan kadar protein yang berbeda-beda (5). Rasa, aroma dan susunan zat gizi kecap tergantung atas beberapa faktor antara lain : mikroorganisma yang berperan dalam fermentasi, lama perendaman kedele dalam larutan garam, bumbu yang dipakai, dan pengenceran.

Pengaruh mikroorganisma terhadap kualitas kecap, terutama pada tingkatan proses fermentasi belum banyak diselidiki (6). Telah diketahui bahwa fermentasi kedele untuk menghasilkan kecap lebih mudah serta murah dibandingkan dengan cara lain (7).

Tulisan ini menyajikan hasil penelitian tentang pengaruh fermentasi *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oryzae* dan campuran kedua strain tersebut, serta lamanya perendaman kedele dalam larutan garam 20% terhadap rasa, aroma dan kadar nitrogen kecap.

1 Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan, R.I., Bogor.

2 Balai Penelitian Gizi Unit Diponegoro, Departemen Kesehatan, R.I., Jakarta.

## Bahan dan cara

Sebagai bahan baku dipakai kedele hitam yang diperoleh dari Lembaga Pusat Penelitian Pertanian Bogor. Untuk fermentasi digunakan dua strain fungi yang diseleksi dari hasil isolasi mikroorganisma yang dipakai disalah satu pabrik kecap di kota Bogor. Sebagai bumbu digunakan gula aren, daun salam (*Eugenia polyantha*), adas wangi (*Foeniculum vulgare*), sereh (*Andropogon ceriferus*), laos (*Alpinia galanga*), ketumbar (*Coriandrum sativum*).

Dalam pembuatan kecap dilaboratorium ini, 1 kg kedele dibersihkan, dicuci dan dibenamkan dalam 3 liter air semalam. Kedele ditiriskan lalu direbus selama satu jam. Sesudah diangkat dan ditiriskan, lalu didinginkan sampai 30°C, dibagi empat bagian, baru diinokulasi dengan spora suspensi strain. Satu bagian dengan *Aspergillus oryzae*, satu bagian yang lain dengan *Rhizopus oryzae*, yang lain lagi dengan campuran kedua strain itu, sedangkan sisanya digunakan sebagai kontrol. Masing-masing sebanyak 200 gram diletakkan pada cawan petri dan dimasukkan kedalam inkubator pada suhu kamar selama tiga hari.

Tempe dari hasil fermentasi dikeringkan dalam oven 50°C selama dua hari, lalu dimasukkan kedalam larutan NaCl 20% dalam labu Erlenmeyer bertutup kain kasa steril. Setiap hari rendaman dijemur dipanas matahari, seri pertama selama 14 hari dan seri kedua 30 hari.

Pada proses ekstraksi masing-masing seri rendaman direbus selama 30 menit, kemudian disaring dengan kain kasa. Residu direbus lagi selama 30 menit sebanyak 5 kali ulangan. Seluruh ekstrak dikumpulkan dan diuapkan sampai menjadi 130 ml.

Untuk memperoleh kecap, ekstrak yang telah diberi bumbu dicampur gula aren kental dalam perbandingan berat 1 : 2. Dalam percobaan dilaboratorium ini dihasilkan 8 macam kecap termasuk kontrol untuk diteliti.

Kadar Protein dan "Total Soluble N" ditentukan menurut cara AOAC (8) dan Jacobs (9). Kadar amino nitrogen ditentukan dengan cara titrasi formol dari Sörenson (8). Aktivitas enzima protease ditentukan dengan cara "gelatin liquafaction" menurut Hesseltine (9).

Uji organoleptik terhadap rasa dan aroma kecap dilakukan dengan "preference test" (10, 11) oleh 14 orang penilai masing-masing menilai semua kecap menurut "randomized block design" (12).

Strain genus fungi yang dipakai dalam fermentasi diperiksa kemampuannya dalam menghasilkan aflatoxin B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub> menurut cara Pons dan Goldblatt (13).

## Hasil dan pembahasan

Seleksi strain fungi yang diisolasi dari biakan untuk pembuatan kecap yang diambil dari salah satu pabrik kecap di Bogor telah dikuatkan pengidentifikasinya di Central Bureau voor Schimmelcultures di Baarn, Nederland sebagai *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn. dan *Rhizopus oryzae* (Went & Pr Geerl).

Perubahan fisik dan kimiawi dari kedele mentah sampai menjadi tempe untuk bahan pembuatan kecap dapat dilihat pada tabel 1.

TABEL 1.

Perubahan berat, kadar air dan nitrogen dari kedele mentah hingga menjadi tempe

	Berat semula	Berat sesudah inkubasi	Air	Total "Soluble N"	„Amino N“
	g	g	g	g	g
Kedele mentah	100	—	11.3	5.96	0.02
Kedele rebus	200	—	61.9	3.40	0
Kedele rebus tanpa fungi (kontrol)	200	201	63.9	2.90	0
Tempe dengan <i>A. oryzae</i>	200	215	66.9	2.85	0.61
Tempe dengan <i>R. oryzae</i>	200	225	67.8	2.90	0.42
Tempe dengan <i>A + R</i>	200	218	66.1	2.83	0.60

Ternyata dari kedele mentah rata-rata menjadi duakali beratnya setelah direbus dan setelah difermentasikan bertambah beratnya antara 7.5 sampai 12.5%. *Aspergillus oryzae* menghasilkan pertambahan berat terendah dan *Rhysopus oryzae* tertinggi dan yang terakhir ini tampak padat mycelianya.

Perubahan kadar "Total Soluble N" karena fermentasi, rupanya tidak terjadi, seperti terlihat dari tabel 1. Ini sesuai dengan hasil penelitian Van Veen dkk. (14). Fermentasi mengakibatkan terjadinya „Amino N“ yang berbeda antara strain (lihat tabel 1), karena kemampuan menghasilkan enzima protease yang tidak sama.

Pada tabel 2 diperlihatkan kemampuan masing-masing strain dalam menghasilkan enzima protease, yang ternyata *Aspergillus oryzae* lebih produktif. Di Jepang *Aspergillus oryzae* dipilih untuk membuat soysauce (15, 16).

TABEL 2.

Produktivitas *Aspergillus Oryzae* dan *Rhyzopus Oryzae* dalam membentuk enzima protease menurut lamanya inkubasi (cm)

Lama inkubasi (jam)	<i>Aspergillus oryzae</i>				<i>Rhyzopus oryzae</i>			
	1	2	3	4	1	2	3	4
48	0.6	0.7	0.6	0.5	±	±	±	±
72	0.8	0.8	0.9	0.8	0.3	0.3	0.3	0.3
144	1.6	1.6	1.5	1.5	0.8	0.8	0.9	0.9
192	2.1	2.2	2.2	2.2	1.0	1.1	1.1	1.0
264	2.1	2.2	2.2	2.2	1.3	1.3	1.3	1.3
480	2.6	2.7	2.8	2.7	2.0	2.0	2.0	2.0

Pada pembuatan kecap perendaman dalam larutan garam 20% berfungsi melanjutkan proses fermentasi. Larutan yang hipertonis ini akan menarik keluar zat-zat dari tempe, antara lain enzima, berpindah kedalam cairan perendam. Selama perendaman ini penguraian zat-zat berlangsung terus. Berbagai hasil analisa ini menentukan rasa dan aroma kecap. Dengan perendaman dalam larutan garam itu rasa kecap jadi asin. Dan selain itu larutan garam 20% akan menghambat dan mencegah tumbuhnya mikroorganisma yang tidak diinginkan, antara lain bakteri. Tabel 3 dan 4 memperlihatkan sifat fisik dan kimia dari ekstrak dan kecap, serta nilai citarasanya menurut lama perendaman dan jenis fungi yang dipakai.

Ternyata kandungan N ekstrak hasil rendaman selama 14 hari lebih tinggi dari 30 hari, kemungkinan perbedaan ini misalnya akibat penguapan amonia. Demikian halnya dengan kecap yang dihasilkan, sebab produk ini merupakan hasil pengenceran dari ekstrak tersebut. Kenaikan kadar N kecap, dalam g per 100 g bahan asal, tentunya disebabkan oleh bahan diluar bahan asal, yaitu dari bumbu yang digunakan.

Pada tabel 4 juga diperlihatkan nilai rasa dan aroma kecap, yang setelah diadakan analisa "variance" ternyata strain fungi dan lamanya perendaman dalam larutan garam 20% menghasilkan perbedaan citarasa yang tak bermakna. Dalam pembuatan kecap di laboratorium ini, dua pertiga bagian kecap terdiri dari gula aren yang dikentalkan yang memberi rasa manis. Sedang rasa sedap disamping berasal dari hasil autolisa dan adanya ikatan Na dari NaCl dan asam glutamat hasil proses fermentasi (2), juga dari bumbu yang digunakan. Rupanya faktor-faktor diluar bahan asal itu yang dominan dan mengakibatkan perbedaan tidak bermakna antar citarasa kecap yang diteliti.

TABEL 3.

Sifat fisik dan kimia kecap menurut lamanya perendaman dan jenis fungi

	B.J		Air		pH		„Total Sol N”		„Amino N”		Total Protein	
	14h	30h	14h	30h	14h	30h	14h	30h	14h	30h	14h	30h
	—		%		—		g/100 ml		g/100 ml		g/100 ml	
Tanpa fungi	1.329	1.319	47.0	45.2	4.9	5.0	0.18	0.28	0.01	0.01	1.1	1.8
Dengan <i>Aspergillus oryzae</i>	1.334	1.315	44.0	46.4	5.0	5.0	0.76	0.48	0.24	0.11	4.8	3.0
Dengan <i>Rhizopus oryzae</i>	1.334	1.296	48.0	47.8	5.1	5.1	0.48	0.42	0.10	0.05	3.0	2.7
Dengan campuran A + R	1.308	1.348	47.9	48.9	5.0	4.8	0.69	0.56	0.22	0.14	4.3	3.5

TABEL 4.

Kandungan nitrogen ekstrak dan kecap serta nilai citarasa kecap menurut lamanya perendaman dan jenis fungi

	Ekstrak				K e c a p				Nilai citarasa kecap			
	Tot Sol N		Amino N		Tot Sol N		Amino N		Rasa		Aroma	
	14h	30h	14h	30h	14h	30h	14h	30h	14h	30h	14h	30h
	g/100g bahan asal				g/100g bahan asal				skala hedonik			
Tanpa fungi (kontrol)	0.50	0.70	0.05	0.05	0.67	1.24	0.05	0.07	5.14	5.38	5.14	5.81
Dengan <i>Aspergillus oryzae</i>	2.87	1.37	0.65	0.32	3.03	1.90	0.97	0.44	5.57	6.00	5.71	6.50
Dengan <i>Rhizopus oryzae</i>	1.71	1.17	0.43	0.21	1.92	1.67	0.39	0.21	5.14	5.50	5.64	5.96
Dengan campuran A + R	2.50	1.58	0.74	0.33	2.75	2.30	0.90	0.55	5.25	5.96	6.32	6.00

Dari 100 g bahan asal diperoleh 130 ml ekstrak yang menghasilkan 400 ml kecap.

Bahan asal = kedele hitam mentah.

Nilai citarasa dinyatakan menurut skala hedonik 1-9 berkisar dari sangat tidak disukai sampai sangat disukai.

\* Total soluble N

Pemeriksaan atas tempe dari strain *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oryzae* serta campuran dari keduanya yang dipakai sebagai bakal pembuatan kecap dilaboratorium ini, tidak menemukan aflatoxin baik B<sub>1</sub> maupun B<sub>2</sub>.

### **Ucapan terima kasih**

Kepada Prof. Dr. A. Hendrixx, Direktur "International Course in Food Science and Nutrition" di "Catholic University of Louvain", Belgium dan kepada Direktur dari "Centraal Bureau voor Schimmel Cultures" di Baarn, Nederland, atas perantaraan dan segala bantuan untuk turut mengidentifikasi jamur-jamur yang diperoleh penulis dari hasil biakan bahan kecap dari pabrik kecap sekitar Bogor.

Kepada dr. Darwin Karyadi, Kepala Balai Penelitian Gizi Unit Semboja Bogor, beserta staf atas bantuan fasilitas dan membantu terlaksananya penelitian ini.

Kepada Dr. Soesono Saono, Kepala Mikrobiologi Lembaga Biologi Nasional atas bantuan fasilitas mengisolasi jamur-jamur.

### **Kepustakaan**

1. Ko Swan Djen. Tinjauan terhadap Penelitian Fermented Foods Indonesia. Dalam : Research di Indonesia II, Dep. Ur. Res. Nas.: 209 1945-1965.
2. Harsono Hardjohutomo. Sedikit Mengenai Kecap. Pewarta Balai Teknol. Makanan III, Th. I : 20-30, 1955.
3. Heine. K. De Nuttige Planten van Indonesia. Deel I, 3e druk. Bandung: 820, 1950.
4. Sasnito. Pembuatan Ketjap di Tangerang. Pewarta Balai Teknol. Makanan IV, Th. I : 32-34, 1955.
5. Sudigdo, P., S. A. Waworoentoc dan Ratna Sutarni. Penelitian Mengenai Komposisi dan Karakteristik Kecap, serta Proses Pembuatannya. Bandung, disajikan pada Science Meeting on Food Protein and Soysauce Processing, Juni 1-2, 1972.
6. Jutono dan Suhadi Darmosuwito. Proses Pembuatan Kecap. Bandung, disajikan pada Science Meeting on Food Proteins and Soysauce Processing, Juni 1-2, 1972.
7. Ibrahim. Soysauce Processing. Bandung, disajikan pada Science Meetings on Food Protein and Soybean Sauce Processing, Juni 1-2, 1972.

8. Association of Official Analytical Chemist Official Methods of Analysis II-th. ed. Washington, D. C. Franklin, 1970.
  9. Hesseltine, C. W., Mabel Smith, Barbara Bradle, and Ko Swan Djien, Investigations of Tempeh, an Indonesian Food. Devel. in Industr. Microbiology Vol. 4, 275, 1963.
  10. Howard, A. Taste Panel Techniques. Csiro Food Research Quarterly, 32, 4 : 80, 1972.
  11. Tarwotjo, Ig. Pengukuran daya penerimaan makanan. Gizi Indonesia, 2, 1-2 : 134, 1970.
  12. Goulden Gril, H. Methods of Statistical Analysis 2th ed. New York John Wiley & Sons, 1956.
  13. Pons, W. A. and L. A. Goldblatt, The determination of aflatoxin in cottonseed products, J. of the American Oil Chemists Society, 42 : 471, 1965.
  14. Van Veen, A. G. and K. H. Steinkraus, Nutritive Value and Wholesomeness of fermented food, J. Agr. Food Chem. 18, 4 : 526-578, 1970.
  15. Hesseltine, C. W. Research Laboratory of Fermented Foods. *Dalam* : Proceedings of Conference on Soybean Products for Protein in Human Foods, Peoria 74-82, 1961.
  16. Onaga, D.M., B.S. Luh, and S.J. Leonard, Quality evaluation and chemical compasition of soysauce. Food Research, 22, 83, 1957.
-

## Daftar peneliti

*Abu Nain, Djumadlas, M. Sc.*

Gizi  
Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Prapatan 10, Jakarta.

*Angkuw, Ch. W., dr. M. P, H,*

Kedokteran, Kesehatan Masyarakat  
Rumah Sakit Palang Merah Indonesia  
Jl. Oto Iskandardinata, Bogor.

*Djokosusanto, Ignatius, B. Sc., Drs.*

Gizi, Kesehatan Masyarakat  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Enoch, M. B. Sc.*

Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Gandjar, Indrawati, Dra.*

Mikrobiologi  
Balai Penelitian Gizi Unit Diponegoro, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Halim, Aris, dr.*

Kedokteran  
Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia  
Jl. Salemba 6, Jakarta.

*Herlinda, Judith, B. Sc.*

Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Diponegoro, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Hermana, B. Sc. Dip. App. Sc.*

Gizi, Teknologi Makanan  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Husaini, B. Sc. Drs.*

Gizi, Administrasi Negara  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Husaini, Jajah, K., B. Sc.*

Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Karjadi, Darwin, dr. Ahli Gizi.*

Kedokteran, Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Lie Goan Hong, dr. Ahli Gizi.*

Kedokteran, Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Diponegoro, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Martoatmodjo, Soekartijah, Dra. Dip. Nutr.*

Kesehatan Masyarakat, Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Maspaitella, Freddy, J., B. Sc., Drs,*

Gizi, Kesehatan Masyarakat  
Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Prapatan 10, Jakarta.

*Muhilal, B. Sc.*

Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kesehatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Oey Kam Nio, Dra. Dip. Nutr.*

Biokimia, Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Diponegoro, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Prawiranegara, Dradjat, D., Prof. dr. M.P.H.*

Gizi, Kedokteran, Kesehatan Masyarakat  
Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Prapatan 10, Jakarta.

*Rachmad, dr.*

Kedokteran  
Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia  
Jl. Salemba 6, Jakarta.

*Rudjito, Djiteng, Ir.*

Pertanian  
Bagian Gizi dan Makanan  
Departemen Ilmu Kesejahteraan Keluarga  
Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor  
Jl. Oto Iskandardinata, Bogor.

*Samsudin, dr., Ahli Gizi.*

Kedokteran, Kesehatan Anak, Gizi  
Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran  
Universitas Indonesia  
Jl. Salemba 6, Jakarta.

*Sastroamidjojo, Sumilah, dr. Ahli Gizi.*

Kedokteran, Gizi  
Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas  
Indonesia  
Jl. Salemba 6, Jakarta.

*Sibarani, Sujana B. Sc. Ir.*

Gizi, Pertanian  
Bagian Gizi dan Makanan  
Departemen Ilmu Kesejahteraan Keluarga  
Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor  
Jl. Oto Iskandardinata, Bogor.

*Sihombing, G.*

Kimia  
Balai Penelitian Gizi Unit Diponegoro, Departemen  
Kesehatan R.I.  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Slamet, Dewi Sabita, B. Sc. Dip. Nutr.*

Mikrobiologi, Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kese-  
hatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Soewondo, S. Dra.*

Psikologi  
Fakultas Psikologi Universitas Indonesia  
Jl. Diponegoro, Jakarta.

*Supardi, dr.*

Kedokteran  
Bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas  
Indonesia  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Sujardi, Arifin, dr.*

Kedokteran  
Bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas  
Indonesia  
Jl. Salemba 4, Jakarta.

*Sutedjo, S. Hasnah, B. Sc.*

Gizi  
Balai Penelitian Gizi Unit Semboja, Departemen Kese-  
hatan R.I.  
Komplek Gizi, Jl. Semboja, Bogor.

*Tarwotjo, Ignatius, M. Sc.*

Gizi  
Akademi Gizi, Departemen Kesehatan R.I.  
Jl. Hang Jebat, Kebayoran, Jakarta.

*Wirohusodo, Harlinah, S. P., B. Sc. Dra,*

Gizi, Kesehatan Masyarakat  
Institut Teknologi, Bandung.

