



ISSN 0126-1754

Volume 8, Nomor 5, Agustus 2007

Terakreditasi

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional



Diterbitkan Oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah Nasional yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian dan karya pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi (dosen) maupun pekaryasiswa sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun bulan April, Agustus dan Desember. Satu volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Achmad Dinoto, Tukirin Partomihardjo, Hari Sutrisno

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan

Distribusi

Budiarjo

Sekretaris Redaksi/Korespondensi/Kearsipan

(berlangganan dan surat-menyurat)

Enok

Ruswenti

Pusat Penelitian Biologi – LIPI
Jl. Ir. H. Juanda 18, PO Box 208, Bogor, Indonesia
Telepon (0251) 321038, 321041, 324616
Faksimili (0251) 325854; 336538
Email: herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depan: *Biodiversitas Nepenthes (kantong semar), salah satu kekayaan hayati hutan hujan tropik Indonesia, sesuai makalah di halaman 335* (Foto: koleksi LIPI-M Mansur).



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional

ISSN 0126-1754

Volume 8, Nomor 5, Agustus 2007

Terakreditasi A

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

KATA PENGANTAR

Hasil penelitian di bidang biologi oleh para peneliti kembali dikemas dalam Jurnal Berita Biologi Nomor 5 (Volume 8) ini. Studi keragaman genetik pada varietas lokal kacang hijau dimaksudkan untuk mendapatkan landasan pemuliaan sebagai langkah lanjut pengembangan salah satu komoditi penting Indonesia. Hasil studi menunjukkan adanya keragaman genetik yang cukup luas dari semua karakter kuantitatif yang diamati. Dalam bidang mikrobiologi dilaporkan hasil studi tentang pengayaan fosfat secara hayati melalui pemahaman lanjut komunitas mikroba pengakumulasi glikogen. Selain itu, dalam mikrobiologi pangan, dilaporkan hasil studi fermentasi kecap dengan menggunakan substrat dari beberapa jenis kacang-kacangan dengan ragi mutan, dilakukan untuk melihat kemungkinan penggunaan beberapa jenis kacang-kacangan sebagai bahan dasar untuk pembuatan kecap dengan menggunakan ragi yang berkualitas sebagai stater. Mikrobiologi lingkungan melaporkan hasil studinya tentang akumulasi amonia di perairan yang dipandang sangat berbahaya, diantisipasi dengan studi proses nitrifikasi oleh kultur mikroba untuk upaya pengendaliannya.

Keberadaan dan fungsi kumbang tinja Scarabaeidae (*scarabaeids dungbeetles*) dipandang komponen sangat penting dalam ekosistem hutan tropis; merupakan jenis kunci (*keystone species*), berfungsi sebagai perombak materi organik yang berupa tinja satwa liar (terutama mamalia), burung dan reptil (siklus hara). Juga sebagai penyebar pupuk alam, membantu aerasi tanah, pengontrol parasit dan penyerbuk bunga Araceae. Hasil studi keanekaragamannya di Hutan Taman Nasional Gunung Gede-Pangrango, dilaporkan peneliti zoologi.

Di bidang botani, selain studi genetika kacang hijau tersebut di atas, tentang tumbuhan obat dilaporkan hasil studi secara *in vitro* pertumbuhan dan perkembangan *Typhonium* (keladi tikus). Pengaruh media dasar terhadap perkembangan embrio somatik kultur meristem jahe juga dijadikan topik riset, dan dilaporkan bahwa pengaruh media dasar yang signifikan terhadap proliferasi kalus embriogenik, dan pematangan embrio somatik pada kultur meristem jahe. Demikian pula keanekaragaman genetik jenis tumbuhan obat tradisional, bahan bangunan dan furnitur pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br.) dipelajari pula, di mana hasil dendrogram memisahkan 2 klaster yang mengindikasikan adanya pemisahan individu ke dalam kelompok berbeda. Sementara itu, studi keanekaragaman suku Pandanaceae di kawasan Taman Nasional Lore Lindu (Poso, Sulawesi Tengah) juga dilaporkan sebagai rekor khusus, menemukan 6 jenis di kawasan itu. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamarck) dijadikan sebagai kasus dalam kajian etnotaksonomi di kalangan masyarakat tradisional Pegunungan Arfak, Papua, dan menemukan bahwa sistem tata nama buah merah sepadan dengan sistem tata nama ilmiah tumbuhan, sehingga kearifan lokal ini dapat merupakan alternatif dalam pemecahan masalah dalam taksonomi formal (taksonomi tumbuhan). Keanekaragaman *Nepenthes* (kantong semar) di Kalimantan Tengah diungkapkan sebagai salah satu kekayaan biodiversitas Indonesia, dan pesona keragaman tumbuhan karnivora ini kami angkat sebagai maskot cover nomor ini.

Selamat membaca!

Salam iptek,

Redaksi

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek “baru” dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik dan sebagainya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agro bioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri. *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.
Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, ditulis miring, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan*.
8. Pola penyiapan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto; pencantuman Lampiran seperlunya.
Gambar dan foto: harus bermutu tinggi, gambar pada kertas kalkir (bila manual) dengan tinta cina, berukuran kartu pos; foto berwarna, sebutkan programnya bila dibuat dengan komputer.
9. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulisnya). Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee secara elektronik. Jika memungkinkan, kirim juga filenya melalui alamat elektronik (E-mail) Berita Biologi: herbogor@indo.net.id.
10. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya selengkap mungkin; sedapat-dapatnya tidak disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal
Premachandra GS, Saneko H, Fujita K and Ogata S. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.
 - b. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya
Hamzah MS dan Yusuf SA. 1995. Pengamatan beberapa aspek biologi Sotong Buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan Pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993, 769-777. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting). Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and Walker DA. 1993. Chloroplast and Protoplast. Dalam: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
11. Kirimkan makalah serta copy file dalam CD (lihat butir 9) ke Redaksi. Sertakan alamat Penulis yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang mudah dan cepat dihubungi dan alamat elektroniknya.

Berita Biologi menyampaikan terima kasih kepada
para penilai (referee) Nomor ini

DM Puspitaningtyas – Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor -LIPI

HD Ariesyadi – Fakultas Teknik dan Lingkungan-Institut Teknologi Bandung

H Simbolon – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

H Yulistiyono – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

IN Sujaya – Universitas Udayana

Irawati – Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor –LIPI

JR Witono – Pusat Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor –LIPI

M Amir – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

R Ubaidillah – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Rugayah – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

YS Poerba – Pusat Penelitian Biologi-LIPI

DAFTAR ISI

GENETIC VARIABILITY AND HERITABILITY ESTIMATE OF QUANTITATIVE CHARACTERS IN LOCAL MUNGBEAN (<i>Vigna radiate</i> (L.) Wilczek) VARIETIES Keragaman Genetik dan Dugaan Heritabilitas Karakter Kuantitatif pada Varietas Lokal Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek) <i>Lukman Hakim</i>	311
KOMUNITAS MIKROBA PENGAKUMULASI GLIKOGEN [The Community of Glycogen Accumulating Microbe] <i>Dyah Supriyati, Rita Dwi Rahayu dan Hartati Imamuddin</i>	319
KERAGAMAN DAN DISTRIBUSI VERTIKAL KUMBANG TINJA SCARABAEIDS (Coleoptera: Scarabaeidae) DI HUTAN TROPIS BASAH PEGUNUNGAN TAMAN NASIONAL GEDE-PANGRANGO, JAWA BARAT [Diversity and Vertical Distributions of Scarabaeids Dungbeetles (Coleoptera: Scarabaeidae) in the Tropical Mountainous Rainforest of Gede-Pangrango National Park, West Java] <i>Sih Kahono</i>	325
KEANEKARAGAMAN JENIS <i>Nepenthes</i> (KANTONG SEMAR) DATARAN RENDAH DI KALIMANTAN TENGAH [Diversity of Lowland <i>Nepenthes</i> (Kantong Semar) in Central Kalimantan] <i>Muhammad Mansur</i>	335
PENGARUH MEDIA DASAR MS DAN N₆ TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO SOMATIK PADA KULTUR MERISTEM JAHE (<i>Zingiber officinale</i> Rosc.) [The Effect of MS and N₆ Basal Media to Somatic Embryo Development in Meristematic Culture of Ginger (<i>Zingiber officinale</i> Rosc.)] <i>Oti Rostiana dan Sitti Fatimah Syahid</i>	343
STUDI KERAGAMAN GENETIK <i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br. BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA [Study on Genetic Diversity of <i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br. Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers] <i>Yuyu Suryasari Poerba</i>	353
FERMENTASI KECAP DARI BEBERAPA JENIS KACANG-KACANGAN DENGAN MENGGUNAKAN RAGI BARU <i>Aspergillus</i> sp. K-1 DAN <i>Aspergillus</i> sp. K-1A [Fermentation of kecap (soy sauce) from different kind of beans by Using Improved Inoculum <i>Aspergillus</i> sp. K-1 and <i>Aspergillus</i> sp. K-1a] <i>Elidar Naiola dan Yati Sudaryati Soeka</i>	365
REKAMAN BARU PANDANACEAE, DI PEGUNUNGAN SEKITAR DESA SEDOA, TAMAN NASIONAL LORE LINDU, SULAWESI TENGAH [New Records on Pandanaceae from Mountainous Area, Sedoa Village, Lore Lindu National Park, Central Celebes] <i>Ary Prihardhyanto Keim dan Himmah Rustiami</i>	375
KAJIAN ETNOTAKSONOMI <i>Pandanus conoideus</i> Lamarck UNTUK MENJEMBATANI PENGETAHUAN LOKAL DAN ILMIAH [The Ethnotaxonomical study of Red Pandan (<i>Pandanus conoideus</i> Lamarck) to Link the Local Wisdom and Scientific Knowledge] <i>Eko Baroto Waluyo, Ary Prihardhyanto Keim dan Maria Justina S</i>	391

PROSES NITRIFIKASI OLEH KULTUR MIKROBA PENITRIFIKASI N-Sw DAN ZEOLIT [Nitrification by Mix Culture of Nitrifying Bacteria N-Sw and Zeolite] <i>Dwi Agustiyani, Hartati Imamuddin, Edi Gunawan dan Latifah K Darusman</i>	405
PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN TUNAS <i>Typhonium</i> SECARA IN VITRO [Shoots Growth and Development of <i>Typhonium</i> by In Vitro Technique] <i>Djadja Siti Hazar Hoesen</i>	413

**FERMENTASI KECAP DARI BEBERAPA JENIS KACANG-KACANGAN DENGAN
MENGUNAKAN RAGI MUTAN *Aspergillus* sp. K-1 DAN *Aspergillus* sp. K-1A
[Fermentation of Kecap (Soy Sauce) from Different Kinds of Beans by Using Improved
Inoculum *Aspergillus* sp. K-1 and *Aspergillus* sp. K-1a]**

Elidar Naiola[✉] dan Yati Soedaryati Soeka
Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong 16911

ABSTRACT

This study was focused on the selection of type of beans for kecap production. The mold fermentation or kecap koji making process was conducted in small scale at room temperature for 3 days and the brine fermentation for 2 weeks at room temperature. Product were analyzed for biochemical (total nitrogen, formol nitrogen, and total water soluble nitrogen) content. It was found that the final composition of kecap mash were mainly due to brain fermentation and by activities of strains showed varies effect to total nitrogen (TN), formol nitrogen (FN), and total water soluble nitrogen (WN). Kecap mash produced using kedelai, hiris and tolo inoculated with *Aspergillus* sp. K-1 containing formol nitrogen 0.58%, 0.65% and 0.57%, respectively. Meanwhile using *Aspergillus* sp. K-1A producing kecap mash with formol nitrogen were 0.75%, 0.75%, 0.65%, respectively. The ratio of WN to TN of the kecap mash from hiris and tolo were up to 50%, while the ratio of FN to TN varies, which was influenced by the koji used. Based on the chemical properties above, it can be recommended that hiris can be used for kecap production though requires extensive researches.

Kata kunci: Kecap, kacang-kacangan, ragi baru, *Aspergillus* sp.

PENDAHULUAN

Kecap merupakan salah satu makanan hasil fermentasi tradisional kedelai yang digunakan secara luas sebagai penyedap masakan di Indonesia. Proses pembuatannya sudah diwariskan secara turun-temurun dengan mempergunakan kedelai hitam sebagai bahan dasarnya. Secara tradisional starter atau inokulum yang dipergunakan umumnya berasal dari lingkungan tempat pembuatannya atau dari sisa produk sebelumnya. Dilaporkan oleh Judoamidjojo (1986) kapang yang diisolasi dari kecap koji umumnya merupakan genus *Aspergillus*. Menurut hasil penelitian Sadjono *et al.* (1992), sebanyak 15 dari 32 contoh kecap yang diproduksi di Indonesia mengandung aflatoksin meskipun dalam konsentrasi yang rendah. Aflatoksin merupakan racun yang dihasilkan oleh kapang seperti *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger* dan *Aspergillus wentii* (Makfoeld, 1993). Kapang dari genus *Aspergillus* ini sering mencemari produk hasil pertanian yang mengandung lemak seperti kacang tanah, gandum, dan jagung (Sulistyo dalam Suara Merdeka, 2001).

Dewasa ini selain cara-cara tradisional, fermentasi kecap sudah dilakukan dalam skala industri

dengan mempergunakan prinsip-prinsip tekno-ekonomi sehingga hasil yang diperoleh kualitasnya lebih bagus dan terjamin kestabilan mutunya. Untuk mendapatkan kecap dengan mutu yang baik perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam dengan mencari alternatif penggunaan bahan dasar selain kedelai, cara pengolahan, penanganan produk serta pengetahuan tentang peran mikroorganisme yang terlibat didalam proses fermentasi tersebut. Pada pembuatan kecap, mikroorganisme yang berperan adalah kapang, bakteri dan khamir. Genus *Aspergillus* memegang peranan penting dalam proses fermentasi kapang atau pembuatan *koji* disamping adanya peran genus *Rhizopus* dan *Mucor* (Yong dan Wood, 1974; Judoamidjojo, 1986). Pada tahap fermentasi larutan garam, mikroorganisme yang berperan adalah khamir dan bakteri yang toleran pada kadar garam tinggi, sehingga terbentuk flavor dan aroma yang spesifik produk fermentasi.

Seleksi terhadap mikroorganisme, terutama kapang yang mempunyai aktivitas proteolitik sudah banyak dilakukan. Sulistyo *et al.* (2005), meneliti tentang penggunaan biakan mutan *Aspergillus* sp. yang menghasilkan produk kecap bebas aflatoksin.

Selain mikroorganisme yang terlibat dalam proses pembuatannya, bahan dasar yang digunakan juga menentukan mutu kecap yang dihasilkan. Protein yang terkandung dalam bahan dasar akan dipecah menjadi komponen yang lebih sederhana secara enzimatis oleh kapang pada tahap fermentasi *koji* dan pelarutan senyawa hasil fermentasi kapang akan berlanjut pada tahap fermentasi dalam larutan air garam atau fermentasi *moromi* oleh mikroba halofilik.

Di Indonesia, selain kedelai sebetulnya ada beberapa jenis kacang-kacangan lain yang merupakan sumber protein nabati diantaranya kacang hiris (*Cajanus cajan* Mill.) dan kacang tolo (*Vigna unguiculata* Walp.); kedua jenis kacang tersebut sejauh ini belum dimanfaatkan secara maksimal, walaupun kacang hiris banyak ditanam sebagai tanaman selingan terutama di NTT.

Tujuan dari penelitian adalah untuk menjajagi kemungkinan penggunaan beberapa jenis kacang-kacangan selain kedelai untuk digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan kecap. Diharapkan dengan menggunakan ragi bebas aflatoksin sebagai starter akan dapat dihasilkan produk kecap dengan kualitas yang sesuai dengan standar mutu kecap (SNI) yang baik, aman dan menyehatkan.

BAHAN DAN CARA KERJA

Mikroba

Kapang yang dipergunakan adalah *Aspergillus* sp. K-1 dengan spora hijau kekuningan dan *Aspergillus* sp. K-1A dengan spora putih yang merupakan biak mutan hasil radiasi dengan UV dari *Aspergillus* sp. K-1 (Nikkuni *et al.*, 2002). Kapang tersebut diformulasikan dalam bentuk starter kering (ragi) dengan menggunakan beras yang telah dimasak sebagai medium pembawa yang dipersiapkan menurut metoda (Sulistyo dan Nikkuni, 2005) yang dijelaskan pada bagian lain naskah. Penggunaan ragi yang dibuat dari biak *Aspergillus* sp. K-1A memudahkan dalam pencegahan terhadap adanya kontaminasi dari kapang penghasil aflatoksin (Sulistyo dan Nikkuni, 2005). Ragi tersebut mengandung sekitar 10^8 spora/g *Aspergillus* sp. K-1A dan < 300 sel/g bakteri. Selanjutnya biakan *Pediococcus halophyllus* ditambahkan pada tahap fermentasi *moromi*.

Uji aktivitas protease

Larutan enzim kasar dipersiapkan dengan cara menumbuhkan biakan *Aspergillus* sp. K-1A pada media produksi (20% susu kedelai dan 5 % laktosa). Setelah diinkubasikan selama 3 hari pada suhu kamar diatas alat pengocok (130 rpm). Larutan enzim dipisahkan dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit.

Pengukuran aktivitas protease dilakukan menurut cara Enggel *et al.* (2004). Sebanyak 0,5 ml substrat (2% casein dalam 0,05 M larutan buffer fosfat pH 7) ditambahkan pada campuran 0,5 ml larutan 0,05 M buffer fosfat pH 7 dan 0,5 ml larutan enzim yang telah dipreinkubasikan pada suhu 37° C selama 5 menit. Campuran diinkubasikan selama 10 menit pada suhu 37° C. Reaksi distop dengan menambahkan 1 ml larutan Trichloroacetic acid (TCA 0,4 M). Selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring no. 1 (Wathman Ltd, Maidstone, UK). Sebanyak 0,5 ml filtrat ditambah dengan 2,5 ml 0,5 M natrium karbonat, diinkubasikan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,5 ml reagen Folin Ciocalteau. Setelah diinkubasikan selama 30 menit, dilakukan pembacaan OD pada panjang gelombang 660 nm. Satu unit aktivitas protease dinyatakan sebagai banyaknya enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 μ M tirosin.

Deteksi aflatoksin

Sepuluh ml medium GY (komposisi: glukosa 4 gr, yeast ekstrak 2 gr, Cz dox broth 3,34 gr, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 1,4 gr, $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1 gr, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,6 gr, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 35,2 gr dan akuades 200 ml) diinokulasi dengan biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A dan biak induknya *Aspergillus* sp. K-1, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 7 hari di tempat yang gelap. Setelah tumbuh, 5 ml kultur aktif diambil dan masukkan ke dalam tabung berisi 0,4-0,5 g KCl, ditambah 3 ml klorofom, dan didiamkan sampai fase metanol dan kloroform terpisah. Larutan fase kloroform diambil dan dimasukkan ke dalam gelas piala yang dibungkus kertas karbon dan didiamkan selama satu malam. Setelah ditambahkan toluena dan asetonitril (9:1) sebanyak 1 ml, selanjutnya diuji dengan Khromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan larutan pengembang toluena, etil asetat dan asam format 88% dengan perbandingan 60:30:10 (Gomi dalam Nikkuni *et al.*, 2002).

Cara pembuatan ragi kecap

Sebanyak 20 gr beras dengan kualitas rendah (IR 36) direndam selama satu malam dalam Erlenmeyer 300 ml. Setelah ditiriskan dan dicampur dengan 0,03% mineral abu (berasal dari kayu bambu), kemudian diautoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, selanjutnya didinginkan (sampai suhu mencapai 40°C), diinokulasi dengan 1 ml suspensi spora *Aspergillus* sp. K-1 dan K-1A (suspensi dipersiapkan dari biakan pada agar miring PDA (Potato Dextrosa Agar). Media beras diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, kemudian diaduk dengan cara menggoyang. Setelah diinkubasi selama 3 hari, kemudian dikeringkan pada suhu 42°C selama satu hari (Nomura dan Sasaki, 1992).

Cara pembuatan kecap

Pembuatan *koji*: Kacang-kacangan direndam dengan akuadest selama satu malam, kemudian ditiriskan dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dingin diinokulasi dengan 0,3% ragi dan diinkubasikan pada suhu kamar. Pada hari ke 2 bahan yang sudah mulai ditumbuhi kapang dibalik atau dicampur dengan cara menggoyang dan inkubasi dilanjutkan sampai hari ke 3.

Pembuatan *moromi*: Kacang-kacangan yang sudah kapang atau *koji* direndam dalam larutan garam (NaCl) 20%. Pada tahap ini dilakukan penambahan *Pediococcus halophyllus*, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 2-4 minggu.

Penentuan kandungan nitrogen

Sebanyak 10 gr moromi disuspensikan dengan 250 ml akuadest, dihancurkan dengan menggunakan blender kecepatan tinggi atau homogenizer, selanjutnya disaring dengan kertas saring. Terhadap filtrat yang diperoleh, dilakukan analisa kimia meliputi kandungan nitrogen total (TN), nitrogen terlarut (WN), formal nitrogen (FN) dan kandungan garam (NaCl).

Kandungan nitrogen total (TN) dan nitrogen terlarut (WN)

Kandungan total nitrogen dan kandungan nitrogen terlarut diuji terhadap 20 ml filtrat (cara mempersiapkan filtrat dijelaskan sebelumnya) dengan metoda Kjeldahl. Pengukuran dilakukan di Laboratorium Zoology, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong.

Formal nitrogen (FN)

Sebanyak 50 ml filtrat yang dipersiapkan dengan cara yang sama dengan yang dijelaskan sebelumnya, dinetralkan dengan larutan 0,1 N NaOH hingga nilai pH mencapai 8,5, yang ditandai dengan terbentuknya warna merah jambu setelah ditambah dengan beberapa tetes phenolptalin. Larutan ditambah dengan 4 ml formaldehida dan selanjutnya campuran dititrasi kembali dengan 0,1 N NaOH sehingga warna merah jambu terbentuk lagi (Institute of Miso Technologist (1968).

Penentuan kadar garam (NaCl)

Sebanyak 5 ml supernatan yang dipersiapkan dengan cara yang sama dengan yang dijelaskan sebelumnya, dititrasi dengan N/20 AgNO₃ yang mengandung 1 ml larutan kalium khromat 2% sebagai indikator (Shokuhin, 1982, dalam Nikkuni *et al.*, 2002).

HASIL

Biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A dengan spora putih merupakan hasil radiasi dengan UV dari biak induk *Aspergillus* sp. K-1 (Nikkuni *et al.*, 2002) (Foto 1). Biak mutan ini mudah dibedakan dengan biak induknya ataupun biak *Aspergillus* penghasil aflatoksin lainnya (Foto 2).

Hasil uji aktivitas enzimatis menunjukkan bahwa biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A mempunyai aktivitas protease lebih tinggi yaitu sebesar 20,63 µM/ml, sedangkan aktivitas protease dari biak *Aspergillus* sp. K-1 sebagai induknya adalah 13,08 µM/ml, sehingga biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Jumlah spora *Aspergillus* sp. pada ragi mutan yang dibuat dengan menggunakan beras yang dimasak sebagai substrat ditampilkan pada Tabel 1.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan air pada ragi yang dibuat menggunakan beras yang dimasak sebagai bahan pembawa adalah sekitar 7,7- 10,4% dan ragi tersebut mengandung spora kapang sekitar 2,3 - 5,8 x 10⁸ spora/g. Menurut Suteja *et al.* (1988), ragi yang mengandung spora kapang sekitar 10⁷ spora/g dapat dipergunakan untuk pembuatan kecap dalam skala kecil, namun untuk pembuatan kecap dalam skala besar dibutuhkan ragi dengan kandungan spora kapang diatas 10⁸ spora/g. Kemampuan ragi dalam menghasilkan produk kecap

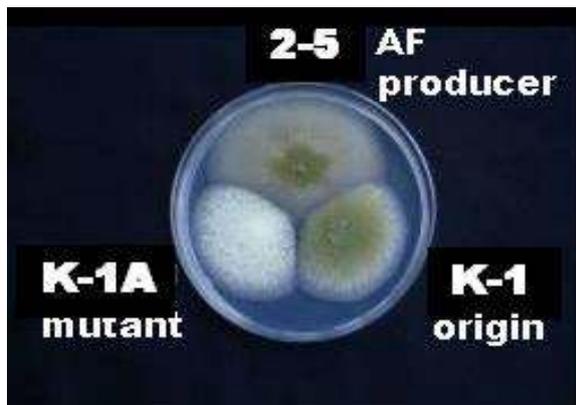


Foto 1. K-1A mutant (biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A); K-1 origin (biak induk *Aspergillus* sp. K-1); AF producer (*Aspergillus* penghasil aflatoksin).



Foto 2. Ragi biak induk *Aspergillus* sp. K-1 (kuning); ragi biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A (putih).

Tabel 1. Komposisi kimia kacang-kacangan dalam 100g biji kering (bk)*

Komponen	Kacang hiris (<i>Cajanus cajan</i> Mill.)	Kacang tolo (<i>Vigna unguiculata</i> Walp.)	Kacang kedelai (<i>Glycgrin max</i>)
Protein	20,7 g	22,9 g	34,9 g
Lemak	1,4 g	1,4 g	18,1 g
Karbohidrat	62,0 g	61,6 g	34,8 g

*Sumber: Direktorat Gizi-DepKes RI, 1979.

dari beberapa jenis kacang-kacangan dilakukan dalam skala kecil.

Fermentasi kapang

Tahap fermentasi kapang atau proses pembuatan koji merupakan suatu proses yang cukup menentukan dalam pembuatan kecap. Selama proses ini, enzim protease yang dihasilkan oleh kapang akan mengkonversi protein yang terkandung pada bahan dasar menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu berupa unsur asam amino dan peptida. Asam amino bebas dan asam glutamat dikenal sebagai unsur pemberi aroma dan citarasa kecap. Asam amino dapat dianalisis sebagai nilai formol nitrogen (FN) yang terdiri dari unsur ammonia dan amino nitrogen, sehingga nilai FN dan TN masing-masing moromi perlu ditentukan.

Dalam penelitian ini, substrat untuk pembuatan koji terdiri dari kacang hiris, kacang tolo dan kacang kedelai. Ketebalan bahan dalam Erlenmeyer sekitar 2-3 cm dengan kadar air sekitar 65% dari bahan basah.

Ketiga jenis substrat diinokulasi dengan 0,3% ragi biak mutan K-1A. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 3 hari. Selama berlansungnya proses fermentasi, secara visual terlihat adanya pertumbuhan kapang. Setelah diinkubasikan selama satu malam, miselium kapang mulai tumbuh dan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi pertumbuhan kapang semakin tebal dan pada hari ketiga seluruh substrat sudah ditutupi oleh misellium. Substrat yang diinokulasi dengan ragi dari biakan mutan, ditumbuhi miselium berspora putih, sedangkan yang diinokulasi ragi dari biakan induk ditumbuhi oleh miselium berspora hijau kekuning-kuningan. Bersamaan dengan bertumbuhnya kapang maka terjadi penguraian protein pada substrat menjadi amino nitrogen.

Kecepatan pertumbuhan kapang *Aspergillus* sp. K-1A lebih tinggi dibandingkan *Aspergillus* sp. K-1. Dampak dari kecepatan pertumbuhan dan sporulasi biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A ini dapat

mempersingkat waktu fermentasi *koji* dari 9 hari menjadi 3 hari (Sulistyo dan Nikkuni, 2005).

Fermentasi dalam larutan air garam

Fermentasi dalam larutan air garam atau proses pembuatan *moromi* merupakan lanjutan dari proses fermentasi kapang atau fermentasi *koji*. Protein yang belum dirombak dalam fermentasi *koji* pemecahannya berlanjut pada tahap ini. Pada proses fermentasi *moromi* juga dilakukan inokulasi dengan biak *P. halophyllus*. Penambahan garam bertujuan untuk menciptakan kondisi yang memungkinkan terjadinya reaksi enzimatik untuk mengurai komponen substrat yang dihasilkan selama fermentasi *moromi*.

Selama proses fermentasi *moromi*, mikroba halofilik yang toleran garam diharapkan dapat berkembang. Konsentrasi garam kurang dari 20% dapat mengakibatkan terjadinya pembusukan, sedangkan konsentrasi garam yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terhambatnya aktivitas enzim protease.

Asam amino bebas dan asam glutamat merupakan unsur pemberi aroma dan citarasa kecap. Asam amino dianalisis sebagai nilai formol nitrogen (FN) yang terdiri dari unsur ammonia dan amino nitrogen. Komponen yang diukur dalam penelitian ini adalah Kandungan total nitrogen (TN), nitrogen terlarut (WN) dan formol nitrogen (FN).

Efektivitas fermentasi *moromi* dapat diketahui melalui perubahan nilai pH, nitrogen total, nitrogen terlarut dan formol nitrogen. Menurut Yong dalam Judoamidjojo (1991) derajat keasaman memegang peranan penting karena dapat menunjukkan semakin

meningkatnya kandungan asam organik maupun asam amino dalam *moromi*.

Kadar air pada substrat di awal penelitian adalah sekitar 65% dengan nilai pH berkisar antara 6,5–7,0. Selama proses fermentasi kapang, enzim protease yang dihasilkan oleh kapang akan mengkonversi protein dari substrat menjadi senyawa yang lebih sederhana berupa unsur asam amino dan peptida. Semakin banyak populasi mikroba yang aktif dalam fermentasi tahap pertama, maka akan semakin banyak gula sederhana yang tersedia untuk diubah menjadi asam-asam organik pada fermentasi tahap kedua atau pada saat pembuatan *moromi*, sehingga nilai pH semakin rendah. Sejalan dengan berjalannya waktu fermentasi, pH *moromi* mengalami perubahan sehingga nilai pH akhir *moromi* sedikit lebih rendah, yaitu masing-masing 6,40, 6,15 dan 6,20 untuk kacang hiris, kacang tolo dan kacang kedelai. Nilai pH *moromi* kacang hiris sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan *moromi* kacang tolo maupun kacang kedelai, hal ini menunjukkan bahwa terjadinya proses hidrolisis protein pada kacang hiris oleh mikroba lebih cepat sehingga asam amino yang dihasilkan lebih tinggi.

Moromi hasil fermentasi dengan biak mutan (*Aspergillus* sp. K-1A) memiliki nilai pH yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan *moromi* hasil fermentasi biak induknya (*Aspergillus* sp. K-1) dengan jumlah nitrogen totalnya sedikit lebih tinggi. Semakin banyak populasi mikroba yang aktif dalam fermentasi tahap pertama, maka akan semakin banyak gula sederhana yang tersedia untuk diubah menjadi asam-

dungan total nitrogen (TN), nitrogen terlarut (WN) dan formol nitrogen (FN) *moromi* hasil fermentasi ragi dari *Aspergillus* sp. K-1A dan *Aspergillus* sp. K-1

Ragi	Jenis kacang	FN (%)	WN (%)	TN (%)	NaCl (%)	pH
Biak induk <i>Aspergillus</i> sp. K-1	Kedelai	0,58	0,61	1,33	21,9	6,3
	Hiris	0,65	0,62	1,02	21,2	6,5
	Tolo	0,57	0,61	0,98	20,6	6,0
Biak mutan <i>Aspergillus</i> sp. K-1A	Kedelai	0,75	0,78	1,58	20,8	6,15
	Hiris	0,75	0,79	1,25	20,7	6,4
	Tolo	0,65	0,64	1,09	20,6	6,20

Inokulum	Jenis kacang	FN/TN (%)	WN/TN (%)
Biak induk <i>Aspergillus</i> sp. K-1	Kedelai	43,61	45,86
	Hiris	63,72	60,78
	Tolo	58,12	62,24
Biak mutan <i>Aspergillus</i> sp. K-1A	Kedelai	47,47	49,37
	Hiris	68,81	63,20
	Tolo	59,63	58,72

asam organik pada fermentasi tahap kedua atau pada pembuatan *moromi*. Hasil ini mengindikasikan bahwa *moromi* hasil fermentasi menggunakan biak mutan mengandung asam-asam organik yang sedikit lebih tinggi dibanding biak induknya.

Kandungan Nitrogen

Kualitas dari kecap biasanya dilihat dari besarnya kandungan nitrogen dalam sari kecap atau *moromi*, kadar nitrogen tersebut meliputi nitrogen total, nitrogen terlarut, dan formol nitrogen. Data pada tabel 2. menunjukkan kandungan N yang terdapat dalam sari kecap yang dipersiapkan dari 3 jenis kacang.

Moromi dari semua jenis kacang yang diberi perlakuan dengan ragi mutan *Aspergillus* sp. K-1A mempunyai prosentase N total yang lebih besar dibandingkan dengan yang diberi perlakuan biakan induknya, *Aspergillus* sp. K-1. Kandungan N total tertinggi yaitu sebesar 1,58% terdapat dalam *moromi* kacang kedelai yang diberi perlakuan dengan ragi dari biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A.

Kandungan nitrogen terlarut merupakan salah satu komponen kimia yang biasa dijadikan sebagai parameter keberhasilan proses pembuatan kecap. Nilainya dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya kondisi pemasakan, proses fermentasi kapang dan konsentrasi garam pada proses fermentasi *moromi*. Nilai N terlarut pada *moromi* kacang hiris dan kacang kedelai yang dibuat dengan inokulum dari *Aspergillus* sp. K-1A masing-masing adalah sebesar 0,79% dan 0,78%. Sedangkan *moromi* dari kacang tolo memiliki nilai N terlarut yang lebih rendah yaitu 0,64%.

Formol nitrogen merupakan sejumlah protein yang terpecahkan menjadi senyawa yang lebih sederhana baik berupa peptida maupun asam amino

bebas. Data pada Table 1 menunjukkan bahwa jenis bahan dasar maupun mikroba yang digunakan dapat mempengaruhi kadar formol nitrogen. Formol nitrogen pada *moromi* kacang kedelai, hiris dan tolo yang diinokulasi biak *Aspergillus* sp. K-1 masing-masing 0,58%, 0,65% dan 0,57%, sedangkan yang diinokulasi dengan biak *Aspergillus* sp. K-1A masing-masing 0,75%, 0,75% dan 0,65%. *Moromi* kacang kedelai dan kacang hiris yang dibuat dengan biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A memiliki kandungan formol nitrogen yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang dibuat dari biak induknya, *Aspergillus* sp. K-1.

Kualitas kimia kecap ditentukan oleh ratio antara nitrogen terlarut terhadap nitrogen total, nilai nisbah yang diperoleh juga menunjukkan tingkat konversi protein yang berhasil dipecah menjadi peptida dan asam amino (Judoamidjojo, 1989).

Ratio antara nitrogen terlarut terhadap nitrogen total dan formol nitrogen terhadap nitrogen total *moromi* kacang hiris, menunjukkan hasil lebih tinggi dibanding *moromi* lainnya (Table 3), meskipun nilai kandungan nitrogen totalnya hampir sama (Table 2). Hasil ini mengindikasikan bahwa protein yang terdapat dalam kacang hiris adalah yang paling banyak terhidrolisis. Selama proses fermentasi berjalan, enzim proteolitik yang dihasilkan oleh biakan yang diujikan mampu menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam-asam amino. Angka rata-rata dari tiga kali percobaan menunjukkan bahwa nilai formol nitrogen yang terdiri dari unsur ammonia dan amino nitrogen adalah >50%. Asam amino bebas dan asam glutamat yang dihasilkan merupakan unsur utama memberi cita rasa dan aroma pada kecap.

PEMBAHASAN

Kecap merupakan filtrat hasil fermentasi kedelai dalam air garam yang mutunya sangat tergantung pada enzim proteolitik yang berasal dari biakan mikroba halofilik yang menghidrolisis protein pada substrat menjadi unsur asam amino dan peptida. Proses pembuatannya meliputi tahap fermentasi padat (pembuatan *koji*) dan fermentasi garam (pembuatan *moromi*). Menurut Yong dan Wood (1974), genus *Aspergillus* memegang peranan penting dalam proses fermentasi kapang atau pembuatan *koji*. Pada tahap fermentasi larutan garam, mikroba yang berperan adalah khamir dan bakteri. Khamir dilaporkan merupakan kelompok mikroba yang memegang peranan dalam merubah gula-gula sederhana menjadi asam-asam organik maupun ester sehingga dapat memberikan cita rasa serta aroma tertentu.

Kedelai terutama kedelai hitam merupakan jenis kacang yang umum digunakan sebagai substrat dalam pembuatan kecap. Sebagai substrat untuk pembuatan kecap, kedelai memiliki kadar protein 34,9%, lemak 18,1% dan karbohidrat 34,8% (Direktorat Gizi-DepKes RI, 1979). Kecap yang dibuat dengan kedelai hitam akan menghasilkan flavor dan warna yang lebih baik dibandingkan dengan kedelai kuning. Untuk menghasilkan kecap yang bermutu baik perlu dilakukan pemilihan terhadap kedelai antara lain; kadar air berkisar antara 9% - 15%, biji yang dipergunakan tidak terbelah atau tidak rusak. Kadar air yang terlalu tinggi akan merangsang tumbuhnya jamur dan mikroba lainnya selama penyimpanan kedelai, bahan yang terkontaminasi oleh mikroba terutama mikroba penghasil aflatoksin akan menghasilkan produk yang tidak diinginkan, sedangkan kadar air terlalu rendah dapat menyebabkan biji terbelah sehingga dapat menimbulkan ketengikan karena aktivitas enzim lipoksigenase.

Kacang hiris (*Cajanus cajan* Mill.) dalam setiap 100 g biji kering mengandung 20,7 g protein, 1,4 g lemak, 62 g karbohidrat (Direktorat Gizi-DepKes RI, 1979), merupakan salah jenis kacang yang cukup prospektif dikembangkan untuk pembuatan kecap. Menurut Erminawati *et al.* (1998), kacang hiris terutama hiris besar termasuk jenis kacang yang memiliki kandungan protein yang cukup tinggi.

Dalam penelitian ini, sebagai bahan dasar untuk pembuatan kecap digunakan beberapa jenis kacang-kacangan. Selama proses fermentasi berjalan, terjadi perubahan-perubahan pada bahan dasar yang secara visual terlihat dengan adanya pertumbuhan kapang. Seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi maka pertumbuhan kapang semakin kelihatan. Perubahan penampakan dari bahan dasar sangat jelas dan pada hari ketiga seluruh substrat sudah ditumbuhi oleh miselium.

Pada tahap fermentasi *moromi* zat-zat yang terdapat dalam *koji* (kacang kedelai, kacang hiris dan kacang tolo) terdifusi kedalam larutan air garam. Salah satu faktor yang mempengaruhi banyaknya zat yang terlarut adalah kadar protein hasil fermentasi kapang. Disamping mengandung enzim protease, *koji* juga mengandung enzim amilase dan lipase, enzim-enzim ini dapat menghidrolisis substrat selama berlangsungnya proses fermentasi *moromi*. Enzim yang dihasilkan oleh kapang (*Aspergillus* sp.) mengkonversi protein dan karbohidrat pada kacang menjadi senyawa yang lebih sederhana, diantaranya asam amino bebas dan asam glutamat yang dikenal sebagai unsur pemberi aroma dan citarasa kecap. Asam amino dapat di analisis sebagai nilai formol nitrogen (FN) yang terdiri dari unsur ammonia dan amino nitrogen, sehingga FN dan kadar total nitrogen (TN) dari *moromi* penting untuk ditentukan.

Moromi semua jenis kacang yang diberi perlakuan ragi mutan *Aspergillus* sp. K-1A mempunyai prosentase N total yang lebih besar dibandingkan dengan yang diberi perlakuan dengan biakan induknya *Aspergillus* sp. K-1. Tampaknya nilai N total produk dapat dipengaruhi oleh komposisi kimia, terutama kandungan protein substrat yang digunakan.

Nilai N terlarut pada *moromi* kacang hiris yang dibuat dengan inokulum *Aspergillus* sp. K-1A (0,79%), hampir sama dengan nilai N terlarut yang terdapat pada *moromi* kacang kedelai (0,78%) yang dibuat dengan inokulum yang sama. Sebaliknya *moromi* kacang tolo memiliki nilai N terlarut (0,64%) yang lebih rendah dibanding *moromi* kacang hiris dan kedelai.

Rasio antara formol nitrogen terhadap nitrogen terlarut pada *moromi* dari semua jenis kacang yang diinokulasi dengan biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A,

sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan yang diinokulasi dengan biak induknya *Aspergillus* sp. K-1. *Moromi* kacang hiris yang diinokulasi dengan biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A memiliki nilai rasio sebesar 68,81%, sedangkan pada *moromi* kedelai adalah sebesar 47,47%. Dilaporkan oleh Nikkuni *et al*, 2002 bahwa *moromi* kedelai hasil inokulasi dengan ragi mutan, mengandung formol nitrogen (FN) dan nitrogen terlarut (WN) yang lebih tinggi dibanding *moromi* kedelai yang diinokulasi dengan ragi konvensional. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan ragi mutan dapat meningkatkan proses fermentasi kecap konvensional.

Rasio antara nitrogen terlarut terhadap nitrogen total masing-masing *moromi* kedelai, hiris dan tolo yang diinokulasi dengan *Aspergillus* sp K-1 adalah 45,86%, 60,78% dan 62,24% dan yang diinokulasi dengan biak mutan K-1A masing-masing 49,37%, 63,20% dan 58,72%. Nilai perolehan yang hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Nikkuni *et al*, 2002.

Pada umumnya, secara kimia kualitas produk kecap dinilai dari kadar protein atau total nitrogen yang dikandungnya. Walaupun preferensi konsumen lebih dominan terhadap flavor kecap, kandungan nitrogen tetap merupakan hal mendasar dalam standar mutu kecap. Rasio antara nitrogen terlarut terhadap total nitrogen menunjukkan tingkat konversi protein yang berhasil dipecah menjadi peptida dan asam amino yang dapat menentukan kualitas kecap (Judoamidjojo, 1989). Dari analisis yang didapatkan ternyata kecap yang dihasilkan dalam penelitian ini cukup baik karena nilai nisbah antara formol nitrogen terhadap total nitrogannya melebihi 50%, menunjukkan bahwa fermentasi *moromi* berjalan dengan baik.

Moromi yang dibuat dari kacang hiris mempunyai cita rasa yang dapat menyamai cita rasa kecap yang dibuat dari kacang kedelai (hasil uji sensori tidak ditampilkan). Selain itu, adanya kemiripan antara sifat fisik dan kimia antara kacang hiris dan kacang kedelai menjadi pertimbangan penting untuk menggunakan kacang hiris sebagai bahan pengganti atau substitusi pengolahan produk-produk makanan berbahan baku kedelai, antara lain pada pembuatan kecap, dengan suatu asumsi penting untuk lebih meningkatkan nilai tambah dari produk tersebut, serta

pertimbangan yang strategis dan ekonomis sebagai solusi alternatif mengatasi mahalannya harga bahan baku kedelai impor.

KESIMPULAN

Moromi merupakan hasil fermentasi dalam larutan air garam terhadap *koji* (hasil fermentasi kapang pada tahap pertama). Kemampuan mengkonversi protein pada substrat oleh biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A sedikit lebih baik dibanding biak induknya *Aspergillus* sp. K-1. *Moromi* (kedelai, hiris dan tolo) yang diinokulasi dengan inokulum mengandung biak mutan *Aspergillus* sp. K-1A adalah 0.75%, 0.75%, 0.65% sedangkan yang diinokulasi dengan inokulum mengandung biak induknya *Aspergillus* sp. K-1 adalah 0.58%, 0.65% dan 0.57%.

Nilai nisbah antara formol nitrogen terhadap total nitrogen sari kecap hiris dan tolo > 50%, angka ini mengindikasikan bahwa produk kecap yang dihasilkan cukup baik.

Berdasarkan kandungan biokimia produk yang dihasilkan, direkomendasikan agar kacang hiris dapat digunakan sebagai substrat dalam pemuatan kecap, meskipun masih perlu dilakukan penelitian yang lebih intensif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr Nikkuni Sayuki dari *Japan International Research Center for Agricultural Sciences* (JIRCAS) dan Dr Joko Sulistyono dari Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI yang telah memberi kemudahan dalam pelaksanaan penelitian; serta Eli Suryanengsih mahasiswi Program Studi Kimia FMIPA-Institut Pertanian Bogor, yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Gizi-DepKes RI. 1979. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Bratara, Jakarta.
- Enggel J, A Meriandini and L Natalia. 2004. Karakterisasi Protease Ekstraseluler *Clostridium bifermentans* R14-1-b. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 9 (1), 9-12.

- Erminawati G, G Wijinarko dan T Yanto . 1998.** Studi pembuatan kecap dari kacang gude. *Laporan Penelitian*. Fakultas Pertanian Jenderal Soedirman.
- Institute of Miso Technologist. 1968.** *Official Method of Miso Analysis*, 28-29. Institute of Miso Technologist, Tokyo, Japan.
- Judoamidjojo RM. 1986.** *Memoirs of the Tokyo University of Agriculture* **28**, 100-159. Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka, Setagaya-Ku, Tokyo, Japan.
- Judoamidjojo RM. 1989.** *Biokonversi*. PAU-Bioteknologi IPB, Bogor. .
- Judoamidjojo RM. 1991.** *Petunjuk Laboratorium: Pembuatan dan Penggunaan Starter untuk Produk Kecap*. PAU-Bioteknologi IPB, Bogor.
- Makfoeld. 1993.** *Mikotoksin Pangan*. Kanisius, Jakarta.
- Nikkuni S, JS Utomo, SS Antarlina, F Ginting and T Goto. 2002.** Application of white-spore mutants induced from koji molds for the production of Indonesian soy sauce (kecap). *Mycotoxins* **52 (1)**, 13-21.
- Nomura N, M Sasaki. 1992.** Japanese soy sauce with emphasis on off flavor. In: Charalambous off Flavour in Food and Beverages, Amsterdam.
- Sadjono, R Kapti, S Sudarmadji. 1992.** Growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in mixed culture with *Aspergillus oryzae*. *ASEAN Food J.* **7**, 30-33.
- Suara Merdeka. 2001.** Empatpuluh tujuh persen produk kecap mengandung aflatoksin. *Edisi Nopember*.
- Sulistyo J and S Nikkuni. 2005.** Development of pure Culture Starter for Kecap, an Indonesian Soy sauce. *Berita Biologi* **7 (6)**, 295-300.
- Suteja LM, L Poesponegoro, Tanuwidjaja dan Roestamsyah. 1988.** Pengaruh peningkatan skala percobaan pada penguraian protein selama fermentasi kecap. Dalam: *Mikrobiologi di Indonesia*. S Josodiwondo, R Utji dan UC Warsa (Ed.). Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Yong FM and BJB Wood. 1974.** Microbiology and biochemistry of soy sauce fermentation. *Adv. Appl. Microbiol.* **17**, 157-194.