

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

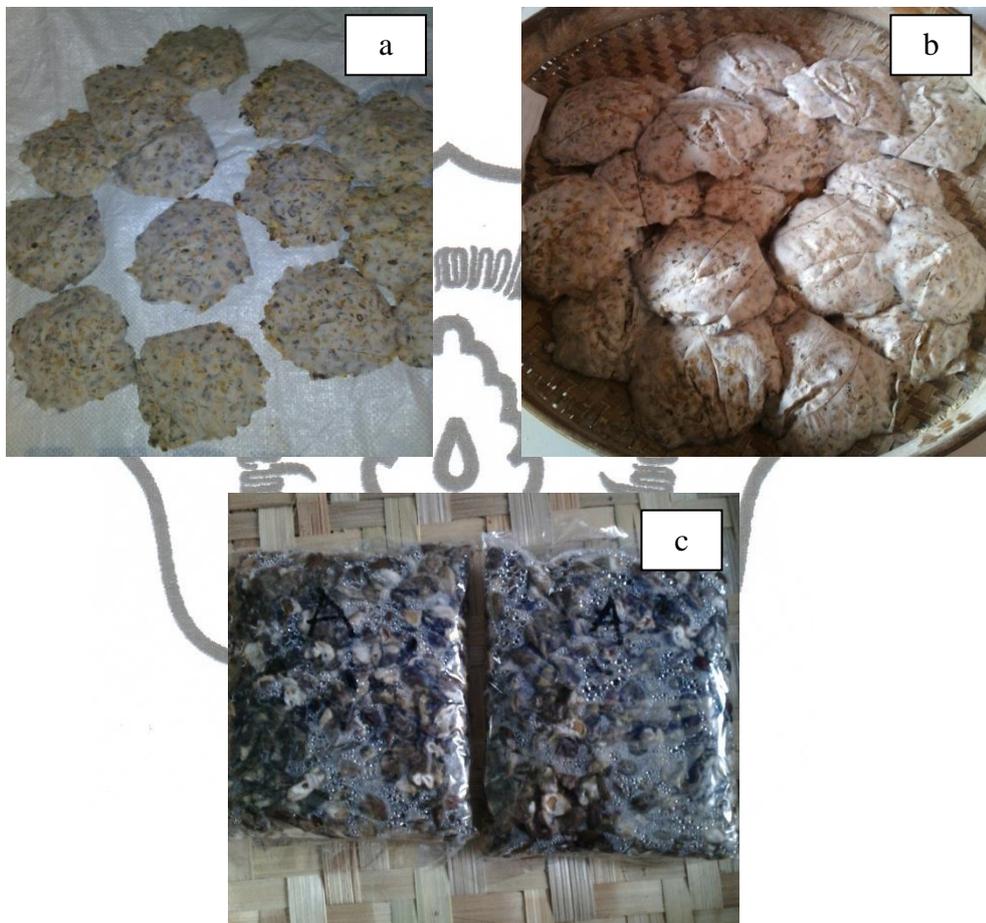
Pembuatan kecap melalui 2 tahap fermentasi, yaitu fermentasi koji dan moromi. Pada tahap fermentasi koji, koji dengan variasi inokulum ragi tempe dan usar dibuat dengan mengupas kulit ari biji lamtoro hingga bersih dan membilasnya sebanyak 2-3 kali seperti pada pembuatan koji kedelai, serta diinkubasi dengan pembungkus daun Jati (*Tectona grandis* L.). Koji lamtoro yang diolah dengan pengupasan kulit ari hingga bersih memiliki warna yang lebih putih karena miselium tumbuh lebih baik daripada koji yang diolah dengan banyak kulit ari yang masih menempel (Gambar 4). Menurut Xu (1990), *Rhizopus sp.* lebih menyukai pH netral hingga basa untuk perkembangannya. Sedangkan menurut Rahayu (1985), permukaan daun Jati banyak mengandung pori yang mendukung proses respirasi mikroorganisme dalam fermentasi koji.

Sementara koji dengan inokulum *Aspergillus oryzae* kulit arinya dibiarkan tidak terlalu bersih dan pencucian hanya dilakukan sekali saja agar pH biji lamtoro yang diolah tetap asam serta diinkubasi dengan pembungkus plastik berporasi. Menurut Liang *et al* (2009) *Aspergillus oryzae* lebih optimal pertumbuhannya di lingkungan pH rendah. Selain itu menurut Rahayu (1985), tingginya metabolisme respirasi *Aspergillus oryzae* menyebabkan permukaan koji dengan inokulum tersebut bersuhu hangat dan permukaannya berair.

Koji dengan inokulum usar (Gambar 4b) teksturnya kompak sama dengan koji kedelai (Gambar 4d). Koji dengan inokulum ragi tempe (Gambar 4a) dan

*commit to user*

*Aspergillus oryzae* (Gambar 4c) teksturnya terlihat tidak begitu kompak dan bila diraba permukaannya lebih berair serta suhunya lebih hangat daripada koji dengan inokulum usar (Gambar 4b).



Gambar 4. Koji dengan variasi inokulum, a. ragi tempe; b. usar; c. *Aspergillus oryzae*

Menurut Olivia *et al* (1998) usar mengandung kapang *Rhizopus arrhizus* dan *Rhizopus oryzae* yang berperan dalam fermentasi koji. Menurut Sukardi dkk (2008), miselium *Rhizopus oryzae* lebih panjang ukurannya daripada *Rhizopus* dari jenis lainnya, sehingga koji yang dihasilkan tampak lebih padat, pertumbuhan kapang lebih baik, dan nilai nutrisi tempe meningkat. Kapang *Rhizopus oryzae* juga dapat mengubah aroma langu lamtoro ataupun kedelai menjadi aroma khas tempe.

Kapang *Aspergillus oryzae* merupakan inokulum murni tanpa penambahan tepung seperti pada inokulum usar dan ragi tempe. Menurut Suprayitno dkk (1981), masih banyaknya kulit ari yang menempel pada koji lamtoro membuat koji lebih berlemak, sehingga kapang tidak dapat tumbuh dengan baik di permukaan yang berlemak tersebut. Metabolisme yang dilakukan oleh jamur tempe, selain menghasilkan energi untuk pertumbuhan juga dilepaskan air (H<sub>2</sub>O), sehingga kadar airnya mengalami peningkatan (Kasmidjo, 1990). Selain itu, menurut Ratnaningsih dkk (2009), suhu yang hangat saat fermentasi koji menyebabkan koji lebih mudah mengalami *over fermented*.

Setelah fermentasi koji, pembuatan kecap dilanjutkan dengan fermentasi moromi. Hasil fermentasi moromi selama 45 hari memperlihatkan perbedaan warna antara ketiga inokulum (ragi tempe, usar, *Aspergillus oryzae*). Warna moromi dengan inokulum *Aspergillus oryzae* paling coklat, mendekati warna kecap kedelai yang ada di pasaran yaitu coklat kehitaman, sedangkan kecap dengan inokulum ragi tempe, usar dan kecap kedelai memiliki warna coklat muda (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil fermentasi moromi selama 45 hari dengan variasi inokulum, a. ragi tempe; b. usar; c. *Aspergillus oryzae*

## A. Tingkat Kesukaan Organoleptik (Warna, Rasa dan Aroma) Kecap

### Lamtoro

#### a. Warna

Warna yang paling disukai yaitu kecap dengan inokulum *Aspergillus oryzae* yang berwarna coklat kehitaman. Sedangkan kecap dengan inokulum ragi tempe dan usar memiliki warna coklat yang lebih muda daripada kecap dengan inokulum *Aspergillus oryzae* (Gambar 6).



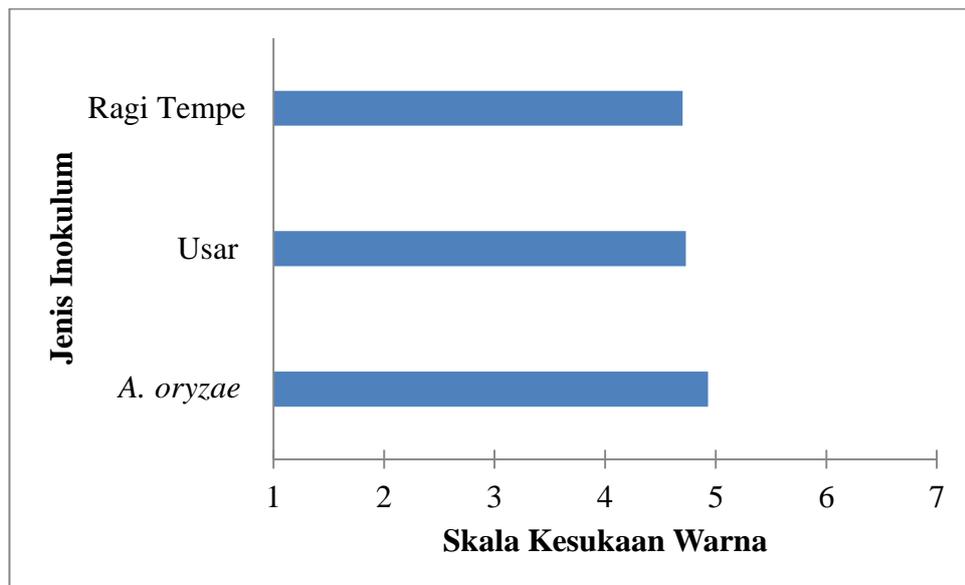
Gambar 6. Hasil penyaringan kecap lamtoro dengan variasi inokulum, a. ragi tempe; b. usar; c. *Aspergillus oryzae*

Menurut Astawan dan Astawan (1991), selama fermentasi moromi, warna larutan kecap akan berubah yang disebabkan oleh warna yang terbentuk sebagai hasil reaksi *browning* antara gula reduksi dengan gugus amino dari protein. Menurut Lertsiri *et al* (2003) dan Ando *et al* (2003), reaksi *browning* terjadi 50-60% saat fermentasi moromi dan akan tetap terjadi saat pasteurisasi. Selain itu, menurut Wu *et al* (2010), suhu 45°C pada fermentasi moromi menghasilkan kecap dengan kualitas warna yang

lebih baik dibandingkan dengan kecap yang difermentasi pada suhu 25°C dan 35°C.

Seperti pada penelitian sebelumnya oleh Rahayu dkk (2005), kecap lamtoro terfermentasi *Aspergillus oryzae* memiliki warna yang tidak berbeda nyata dengan 3 sampel kecap kedelai komersil, yaitu berwarna coklat kehitaman. Menurut Puspitawati dkk (2010), pada saat fermentasi koji karbohidrat dari bahan baku dipecah menjadi monosakarida, lalu saat fermentasi moromi terjadi reaksi antara asam amino dan gula reduksi (*browning*) sehingga menyebabkan warna kecap menjadi gelap.

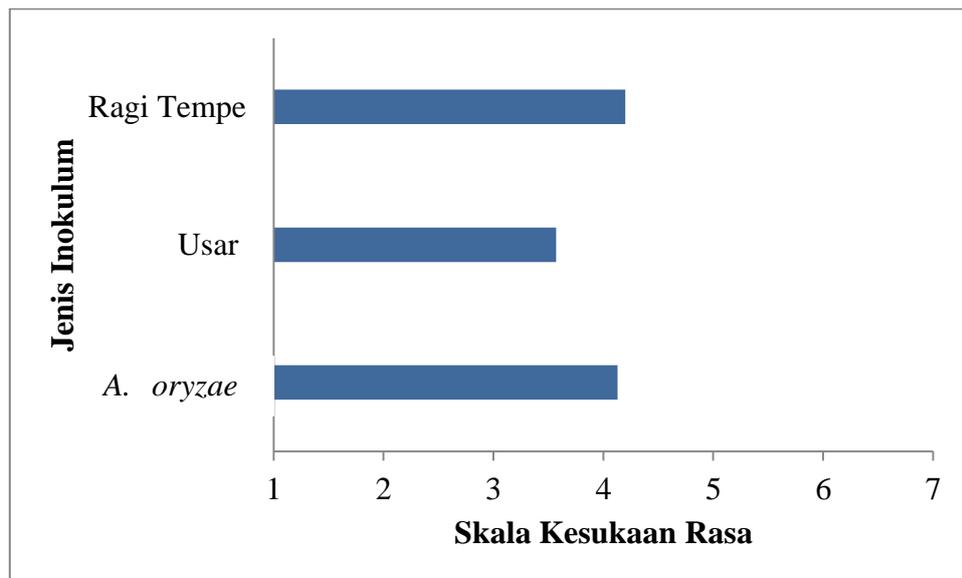
Karakteristik warna yang paling disukai yaitu pada kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* dengan nilai mendekati angka 5, artinya bahwa karakteristik warna kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* memiliki warna yang agak disukai oleh panelis sedangkan untuk kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe dan usar sama-sama disukai dengan nilai sedikit di bawah 5 (agak disukai) (Gambar 7) (Lampiran 1, 5 dan 6).



Gambar 7. Tingkat kesukaan rata-rata panelis terhadap warna kecap  
Warna ketiga sampel kecap lamtoro tidak berbeda nyata berdasarkan statistik non parametrik Kruskal-Wallis dengan signifikansi 0,05. Panelis tidak dapat membedakan warna antara ketiga sampel kecap lamtoro dengan variasi inokulum. Nilai signifikansi ketiga sampel kecap lamtoro yaitu 0,610 artinya lebih besar daripada 0,05 (Lampiran 7).

#### b. Rasa

Kecap lamtoro dengan inokulum usar paling tidak disukai dibandingkan dengan kedua kecap lainnya. Kecap lamtoro dengan inokulum usar memiliki nilai di bawah 4 artinya panelis agak tidak suka dengan rasa kecap tersebut. Sedangkan rasa kecap dengan inokulum ragi tempe merupakan kecap yang agak disukai daripada kecap lainnya dengan nilai lebih dari 4 (Gambar 8) (Lampiran 2, 5 dan 6).



Gambar 8. Tingkat kesukaan rata-rata panelis terhadap rasa kecap

Menurut Ojinnaka *et al* (2013), rasa dalam fermentasi dapat berasal dari asam glutamat yang terbentuk selama proses fermentasi. Menurut Mao *et al* (2013), faktor yang berpengaruh terhadap kualitas rasa kecap yaitu proses fermentasi kapang, karena pada proses ini kapang akan mengeluarkan enzim yang memecah substrat menjadi senyawa terlarut. Enzim-enzim seperti proteinase dan amilase yang diproduksi oleh *Aspergillus oryzae* akan memecah protein dan karbohidrat dalam bentuk pati menjadi asam-asam amino dan gula yang menciptakan rasa yang khas pada kecap.

Menurut Hermana dan Roejito (1971), koji dengan inokulum usar memiliki rasa yang lebih gurih dan lebih diterima oleh masyarakat dibandingkan dengan koji dari inokulum ragi tempe. Namun dalam proses fermentasi moromi, rasa yang diunggulkan tersebut justru menjadi sebaliknya. Hal ini karena *mdalam* *ven* usar terkandung bakteri-bakteri

kontaminan yang lebih banyak dibandingkan dengan inokulum lainnya, sehingga bakteri-bakteri tersebut mengganggu proses pembentukan rasa saat fermentasi moromi.

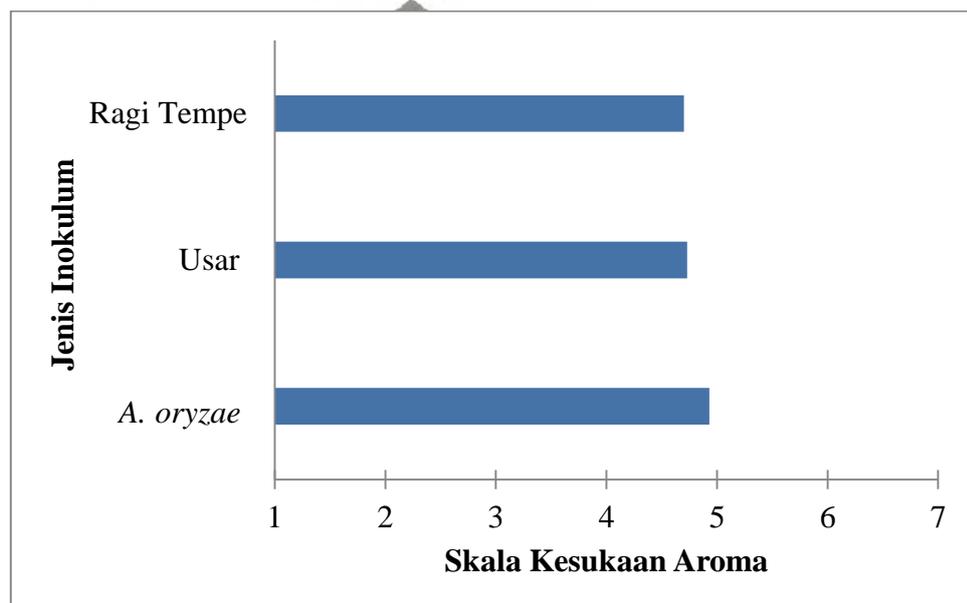
Cita rasa asin yang khas dan agak tidak disukai dari kecap lamtoro ini dikarenakan tidak adanya penambahan bumbu-bumbu seperti daun salam, lengkuas, sereh atau pun bumbu lainnya seperti yang ditambahkan pada kecap asin yang umum di pasaran. Hal ini bertujuan untuk memberikan rasa original dari kecap lamtoro kepada panelis. Menurut Rosida dkk (2010), ekstrak moromi dalam pembuatan kecap mengandung peptida atau protein nabati yang telah terakumulasi dengan asam-asam lemak dan gula sebagai hasil dari aktivitas kapang *Aspergillus sp.* yang memberi cita rasa sedap pada kecap.

Rasa ketiga sampel kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe, usar dan *Aspergillus oryzae* tidak berbeda nyata berdasarkan statistik non parametrik Kruskal-Wallis. Panelis tidak dapat membedakan rasa antara ketiga sampel kecap lamtoro dengan variasi inokulum. Nilai signifikansi untuk rasa adalah 0,312 lebih besar dari taraf signifikansi 0,05 (Lampiran 7).

### c. Aroma

Aroma kecap lamtoro lebih menyengat dan berbeda dengan kecap berbahan kedelai. Karakteristik aroma yang paling disukai yaitu kecap dengan inokulum *Aspergillus oryzae* dengan nilai 4 (netral), sedangkan kecap dengan inokulum ragi tempe menjadi yang paling tidak disukai oleh

panelis. Karakteristik aroma pada kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* yang netral setidaknya dapat memperbaiki kualitas hasil uji organoleptik kecap lamtoro dengan inokulum yang sama yang kurang disukai dari penelitian sebelumnya oleh Rahayu dkk (2005) (Gambar 9) (Lampiran 3,5 dan 6).



Gambar 9. Tingkat kesukaan rata-rata panelis terhadap aroma kecap

Menurut Ojinnaka *et al* (2013), pembentukan aroma berhubungan dengan perendaman dalam larutan garam (*curing*), pemasakan (*repening*) dan pematangan (*aging*) dan bukan pada fermentasi sebenarnya. Menurut Afrianti (2013), aroma terbentuk oleh perombakan protein menjadi asam-amino dan senyawa volatil yang menciptakan aroma khas. Sumber protein dari lamtoro dipecah menjadi komponen nitrogen lainnya yang dapat menghasilkan bau busuk yang tidak diinginkan oleh mikroorganisme proteolitik apabila kecap lamtoro telah mengalami *over fermented*.

Menurut Ratnaningsih dkk (2009), pembentukan aroma pada fermentasi moromi dapat terjadi akibat aktivitas khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang tumbuh di akhir fermentasi moromi. Khamir tersebut menghasilkan alkohol yang menimbulkan bau khas kecap. Selain itu, menurut Rahayu (1985) *Aspergillus oryzae* banyak menghasilkan enzim pendegradasi protein yaitu protease sehingga protein terurai menjadi amonia yang menimbulkan bau khas.

Pada penelitian sebelumnya fermentasi kecap hanya dilakukan selama 30 hari, sedangkan pada penelitian ini fermentasi dilakukan selama 45 hari. Menurut Lynn *et al* (2013), semakin lama proses pematangan atau fermentasi kecap aroma yang dihasilkan akan semakin baik. Dalam penelitian ini, soda kue ditambahkan untuk mengurangi bau langu lamtoro saat pemasakan sebelum fermentasi koji. Menurut Haryoko dan Kurnianto (2010), soda kue dapat mengurangi bau langu pada biji-bijian dari Leguminosae. Meskipun tidak terlalu signifikan, namun hasil uji organoleptik ini dapat memberikan harapan bahwa aroma yang kurang disukai dari kecap lamtoro dapat diperbaiki dengan penambahan waktu fermentasi kecap.

Aroma ketiga sampel kecap lamtoro tidak berbeda nyata berdasarkan statistik non parametrik Kruskal-Wallis. Artinya bahwa panelis tidak dapat membedakan aroma ketiga sampel kecap lamtoro dengan variasi inokulum. Nilai signifikansi aroma keempat sampel kecap adalah 0,585 lebih besar daripada 0,05 (Lampiran 7).

## B. Kandungan Nutrisi (Karbohidrat, Protein dan Lipid) Kecap Lamtoro

Dari hasil uji organoleptik tersebut, dikarenakan ketiga sampel kecap lamtoro tidak memiliki beda nyata dalam hal warna, rasa dan aroma maka diputuskan untuk menganalisis kandungan nutrisi (karbohidrat, protein dan lipid) dari ketiga sampel kecap lamtoro dengan variasi inokulum (ragi tempe, usar, *Aspergillus oryzae*).

### a. Kandungan Karbohidrat

Kandungan karbohidrat total kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe paling tinggi daripada karbohidrat kecap lamtoro dengan inokulum usar dan *Aspergillus oryzae*. Kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* memiliki kandungan karbohidrat total terendah (Tabel 1) (Lampiran 8 dan 9).

Tabel 1. Kandungan Karbohidrat Total (% bb) Kecap Lamtoro dengan Variasi Inokulum

	Variasi Inokulum		
	Ragi Tempe	Usar	<i>A. oryzae</i>
Karbohidrat Total (% bb)	18,67 <sup>b</sup>	14,74 <sup>ab</sup>	10,22 <sup>a</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha = 0,05$ )

Dalam penelitian sebelumnya oleh Rahayu dkk (2005), kadar karbohidrat dalam biji lamtoro diukur dengan metode Nelson-Samogyi untuk mengetahui kadar karbohidrat dalam bentuk gula reduksi dan pati biji lamtoro kering adalah 27,43%, kadar karbohidrat dalam bentuk pati ini berkurang menjadi 26,09% saat fermentasi koji dan semakin berkurang lagi menjadi 17,95% saat fermentasi moromi. Berkurangnya kadar

karbohidrat pada proses fermentasi lamtoro terjadi karena tingginya aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dari kapang *Rhizopus sp.* atau pun *Aspergillus oryzae* dalam merombak pati menjadi glukosa dan maltosa dalam koji. Menurut Septiani dkk (2004), *Aspergillus oryzae* memiliki reaksi respirasi tinggi sehingga karbohidrat dalam bentuk monosakarida digunakan sebagai substrat metabolismenya.

Kandungan karbohidrat total kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe tidak berbeda nyata dengan kecap lamtoro dengan inokulum usar. Namun kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe berbeda nyata dengan kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* dalam uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Nilai signifikansi ketiga sampel kecap lamtoro yaitu 0,06 atau lebih besar dari 0,05 (Lampiran 10).

#### **b. Kandungan Protein**

Kandungan protein terlarut tertinggi yaitu sampel kecap lamtoro yang difermentasi dengan inokulum ragi tempe, sedangkan yang terendah adalah kandungan protein terlarut pada kecap lamtoro dengan inokulum usar. Pada penelitian sebelumnya oleh Rahayu dkk (2005) kandungan protein yang diukur adalah protein terlarut dan satuan mg/g (berat basah) dan menggunakan metode Lowry-Follin, sehingga hasilnya lebih tinggi. Kandungan protein terlarut pada kecap lamtoro terfermentasi *Aspergillus oryzae* dari hasil penelitian sebelumnya adalah 20,86% (Tabel 2) (Lampiran 8 dan 9).

Tabel 2. Kandungan Protein Terlarut (% bb) Kecap Lamtoro dengan Variasi Inokulum

	Variasi Inokulum		
	Ragi Tempe	Usar	<i>A. oryzae</i>
Protein Terlarut (% bb)	1,56 <sup>a</sup>	1,51 <sup>a</sup>	1,53 <sup>a</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha = 0,05$ )

Menurut Lynn *et al* (2013), kapang *Aspergillus oryzae* banyak memproduksi enzim proteinase dan peptidase sehingga kadar protein kecap dengan inokulum tersebut tinggi. Menurut Rolling dan Prasetyo (1995) dalam Rahayu dkk (2005), aktivitas dan stabilitas enzim protease sangat dipengaruhi oleh pH dan suhu. Selain itu, menurut Septiani dkk (2004), fermentasi moromi juga mampu menurunkan kadar protein. Selama fermentasi moromi terjadi konsumsi protein oleh bakteri dan khamir, serta adanya hidrolisis protein dan peptida menjadi asam-asam amino pembentuk rasa kecap.

Hesseltine and Wang (1983) mengungkapkan bahwa penurunan kadar protein disebabkan karena jamur *Rhizopus oligosporus* bersifat proteolitik yang penting dalam pemecahan protein. Jamur ini akan mendegradasi protein selama fermentasi menjadi dipeptida dan seterusnya menjadi senyawa  $\text{NH}_3$  yang hilang melalui penguapan (Bolsen *et al.*, 2001). Selain itu menurut Zaitsev *et al* (1969), penurunan kadar protein terjadi karena adanya proses fermentasi oleh garam yang ditambahkan pada proses fermentasi. Garam merupakan elektrolit kuat yang dapat

melarutkan protein, sehingga garam mampu memecah ikatan molekul air dalam air dan dapat mengubah sifat alami protein.

Selain faktor biokimia, kadar protein yang rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya dapat disebabkan oleh metode uji protein yang digunakan. Menurut Alexander and Griffiths (1992), pengujian kadar protein dengan Metode Kjeldahl menggunakan prinsip penghitungan jumlah N dalam sampel. Dengan metode tersebut, kadar protein cenderung rendah karena kadar N jauh berkurang.

Kandungan protein terlarut ketiga sampel kecap lamtoro dengan variasi inokulum (ragi tempe, usar, *Aspergillus oryzae*) tidak berbeda nyata berdasarkan statistik ANOVA. Ketiga sampel kecap lamtoro memiliki kandungan protein terlarut setara. Nilai signifikansi ketiga sampel kecap yaitu 0,93 atau lebih besar daripada 0,05 (Lampiran 10).

### c. Kandungan Lipid

Kandungan lipid total kecap lamtoro yang difermentasi dengan inokulum *Aspergillus oryzae* paling rendah dibandingkan dengan kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe dan usar. Sedangkan kecap lamtoro dengan inokulum usar memiliki kadar lipid total yang paling tinggi (Tabel 3) (Lampiran 8 dan 9).

Tabel 3. Kandungan Lipid Total (% bb) Kecap Lamtoro dengan Variasi Inokulum

	Variasi Inokulum		
	Ragi Tempe	Usar	<i>A. oryzae</i>
Lipid Total (% bb)	1,15 <sup>b</sup>	1,21 <sup>b</sup>	0,86 <sup>a</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $\alpha = 0,05$ )

Menurut Septiani dkk (2004) pada saat fermentasi kapang, lemak (trigliserida) terhidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol oleh enzim lipase *Rhizopus sp.* Pada saat fermentasi moromi, lemak pada tempe dihidrolisis oleh enzim lipase bakteri menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Menurut Ratnaningsih dkk (2009), usar daun mengandung kapang *Rhizopus sp.* yang menghasilkan enzim lipase untuk menghidrolisis senyawa lipida yang berikatan dengan senyawa karbohidrat maupun protein dibandingkan dengan jamur ragi tempe. Menurut Suprayitno dkk (1981), kadar lemak yang tinggi pada kecap lamtoro dapat disebabkan oleh kulit biji yang masih banyak menempel.

Kandungan lipid dari kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* tidak sesuai dengan hasil penelitian oleh Rahayu dkk (2005). Dalam hasil penelitian sebelumnya, kandungan lemak kecap lamtoro terfermentasi *Aspergillus oryzae* (8,09%) lebih rendah dari pada kecap kedelai (14,11%). Menurut Kasmidjo (1990) dalam Rahayu dkk (2005), kandungan lemak yang tinggi dapat disebabkan oleh aktivitas *Saccharomyces sp.*

Kandungan lipid kecap lamtoro dengan inokulum ragi tempe dan usar berbeda nyata dengan kecap lamtoro dengan inokulum *Aspergillus oryzae* berdasarkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Nilai signifikansi ketiga sampel kecap lamtoro dengan variasi inokulum dengan variasi inokulum (ragi tempe, usar, *Aspergillus oryzae*) yaitu 0,02 atau lebih kecil daripada 0,05 (Lampiran 10).

