



**AKSELERASI PRODUKSI MOROMI MENGGUNAKAN
INOKULUM *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 DAN
Zygosaccharomyces rouxii FNCC 3008**

SKRIPSI

Oleh

**Etika Hanif Rosyidawati
NIM 141710101091**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**AKSELERASI PRODUKSI MOROMI MENGGUNAKAN
INOKULUM *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 DAN
Zygosaccharomyces rouxii FNCC 3008**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan menyanggah gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Etika Hanif Rosyidawati
NIM 141710101091**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT. yang telah memberikan rahmat dan kemudahan dalam proses pelaksanaan penelitian hingga selesai.
2. Ibunda Sulistyowati dan Ayahanda Ivan Poerwanto yang selalu memanjatkan doa untuk setiap langkah saya, memberikan kasih sayang tulus, membimbing dan menjadikan pribadi yang lebih baik dalam menjalani kehidupan serta motivasi dan semangat yang tiada hentinya. Semoga sehat selalu.
3. Saudaraku Mirza Perdana Ulhaq dan Fausta Irsyad Ramadhan yang telah memberikan dukungan, semangat dan motivasi atas penyelesaian pendidikan saya.
4. Guru – guru saya SDN Wage 2 Taman Sidoarjo, SMP Ulul Alb@b, SMA Al-Falah Surabaya dan seluruh dosen Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada saya.

MOTTO

“Orang-orang hebat dibidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja. Mereka tidak menyia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi” (Ernest Newman).

“Musuh yang paling berbahaya diatas dunia ini adalah penakut dan bimbang. Teman yang paling setia, hanyalah keberanian dan keyakinan yang teguh”
(Andrew Jackson).

“Bermimpilah semaumu dan kerjarlah semua impianmu karena ilmu adalah milik kita sendiri”

“Learn from the mistakes in the past, try by using a different way, and always hope for a successful future”

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Etika Hanif Rosyidawati

NIM : 141710101091

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Akselerasi Produksi Moromi Menggunakan Inokulum *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 dan *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008” adalah benar – benar hasil karya sendiri. Kecuali jika dalam pengutipan dan substansi disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan kepada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi laporan ini sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Agustus 2018

Yang menyatakan,

Etika Hanif Rosyidawati

NIM 141710101091

SKRIPSI

**AKSELERASI PRODUKSI MOROMI MENGGUNAKAN
INOKULUM *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 DAN
Zygosaccharomyces rouxii FNCC 3008**

Oleh

Etika Hanif Rosyidawati

NIM 141710101091

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Bambang Herry P., S.TP. Msi.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Akselerasi Produksi Moromi Menggunakan Inokulum *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 dan *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008” karya Etika Hanif Rosyidawati telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

hari/tanggal : Kamis/ 30 Agustus 2018

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Dr. Bambang Herry P., S.TP., Msi
NIP. 197505301999031002

Penguji Utama

Penguji Anggota

Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc
NIP. 196411091989021002

Dr. Nurhayati, S.TP., Msi
NIP. 197904102003122004

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, S. TP., M. Eng.
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Akselerasi Produksi Moromi Menggunakan Inokulum *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 dan *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008 serta pH Media; Etika Hanif Rosyidawati, 141710101091; 2018; 75 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian; Universitas Jember.

Kecap merupakan hasil fermentasi kedelai hitam oleh mikroorganisme. Setiap tahunnya permintaan kecap mengalami peningkatan. Kecap diolah melalui 2 tahap proses fermentasi yaitu koji dan moromi. Fermentasi moromi merupakan fermentasi larutan garam, proses tersebut memiliki kelemahan yaitu memakan waktu yang cukup lama yaitu 1-2 bulan sehingga membutuhkan lahan yang lebih luas. Proses fermentasi spontan dapat mengakibatkan mikroba yang tumbuh terlalu banyak sehingga pertumbuhannya sangat lambat karena sulit terkontrol. Upaya untuk mempercepat proses fermentasi moromi yaitu dengan cara menambahkan inokulum *Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi jenis inokulum (*Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii*) dan pH media pada karakteristik moromi dan waktu fermentasi.

Penelitian dilaksanakan menggunakan satu faktor yaitu A1 (*Pediococcus halophilus* pH 8), A2 (*Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* pH 8), A3 (*Zygosaccharomyces rouxii* pH 8), A4 (*Zygosaccharomyces rouxii* pH 5). Parameter yang diamati meliputi pH, kadar protein terlarut, kadar nitrogen, organoleptik, jumlah mikroba, dan profil asam amino. Data hasil penelitian yang diperoleh diolah menggunakan analisa secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5 dan 8 memiliki waktu fermentasi lebih awal (4 minggu) dibandingkan proses fermentasi moromi secara spontan yang membutuhkan waktu 6 minggu. Kandungan protein terlarut moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5 (6,48 mg/ml) lebih rendah dibandingkan dengan moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 8 (7,33 mg/ml). Meskipun demikian moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5

memiliki aroma kedelai yang kuat. Kuatnya aroma kedelai dapat dibuktikan dengan tingginya nilai asam amino pembentuk flavor moromi yaitu asam aspartat dan asam glutamat masing-masing 9217,02 $\mu\text{g/g}$ dan 3894,29 $\mu\text{g/g}$.

Selain itu, penggunaan kombinasi inokulum *Z. rouxii* dan *P. halophilus* pH 8 tidak dapat meningkatkan flavor moromi. Flavor moromi yang dihasilkan lebih asam karena adanya *P. halophilus* yang berperan dalam menghasilkan asam laktat. Moromi yang diproduksi menggunakan kombinasi inokulum *Z. rouxii* dan *P. halophilus* pH 8 memiliki asam aspartat (3106,27 $\mu\text{g/g}$) dan asam glutamat (7506,69) lebih rendah, diduga karena protein yang terhidrolisis selama fermentasi lebih kecil dibandingkan dengan moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5.

SUMMARY

The Acceleration of Moromi Production by Using Inoculum of *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 and *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008; Etika Hanif Rosyidawati, 141710101091; 2018; 75 pages; Department of Agricultural Production Technology, Faculty of Agricultural Technology; University of Jember.

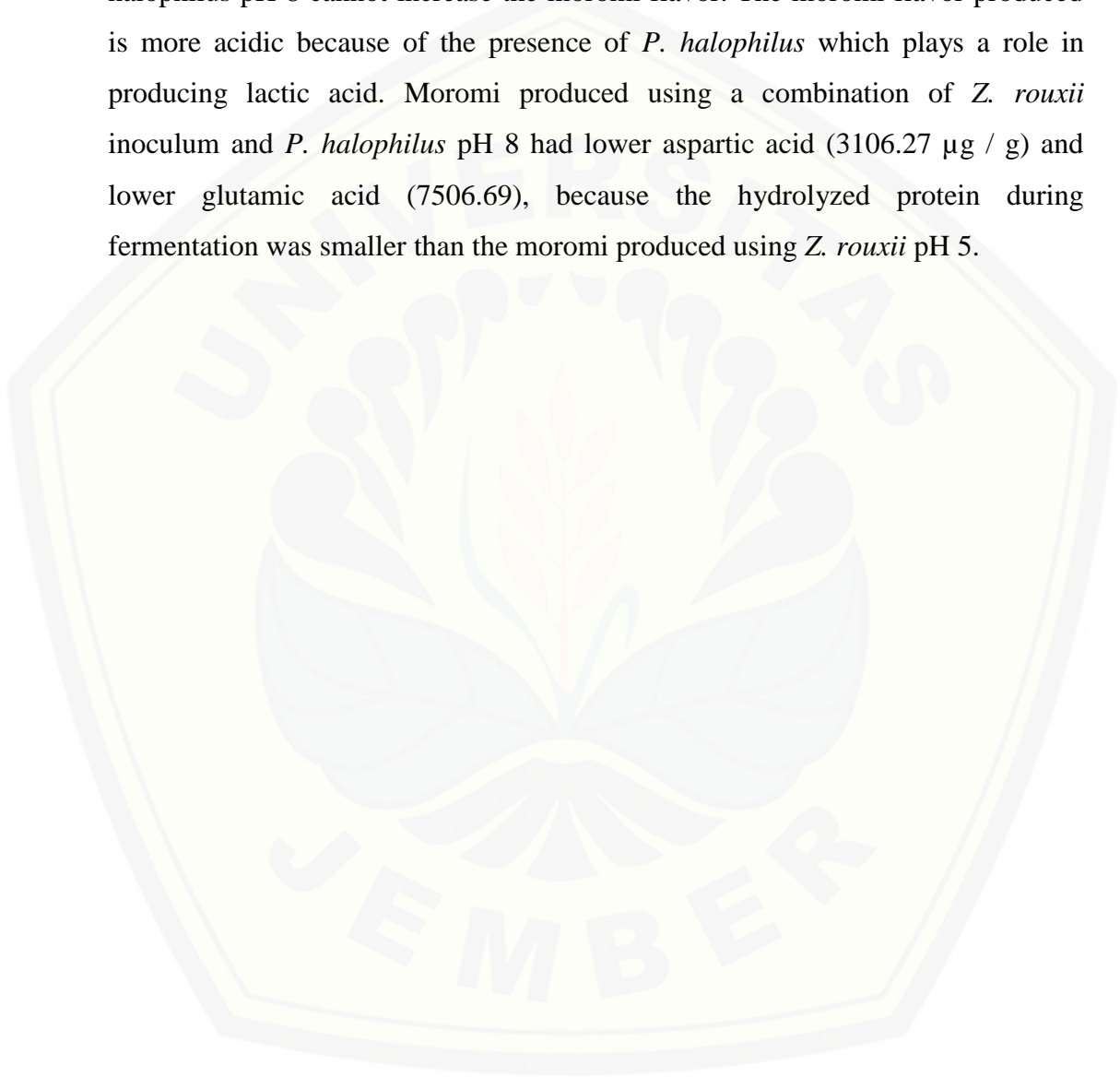
Soy sauce is the result of black soybeans fermentation by microorganisms. Soy sauce has increased every year. Soy sauce is processed through 2 stages of the fermentation process, namely koji and moromi. Moromi fermentation is salt solution fermentation, the process has the disadvantage that is taking a long time (1-2 months) so that it requires a wider area. Spontaneous fermentation that can cause the microbes grow too much so that the growth of soybean is very slow because it is difficult to control. The efforts to accelerate the moromi fermentation process use is by the adding the inoculum of *Pediococcus halophilus* and *Zygosaccharomyces rouxii*. The purpose of this study was to determine the variations effect of inoculum types (*Pediococcus halophilus* and *Zygosaccharomyces rouxii*) and the pH of the media on the characteristics of moromi and fermentation time.

The study was carried out by using one factor namely A1 (*Pediococcus halophilus* pH 8), A2 (*Pediococcus halophilus* and *Zygosaccharomyces rouxii* pH 8), A3 (*Zygosaccharomyces rouxii* pH 8), A4 (*Zygosaccharomyces rouxii* pH 5). The observed parameters included pH, dissolved protein content, nitrogen content, organoleptic, microbial number, and amino acid profile. The data obtained from the research was processed using descriptive analysis.

The results showed that moromi produced using *Z. rouxii* pH 5 and 8 had an earlier fermentation time (4 weeks) compared to the spontaneous moromi fermentation process which took 6 weeks. The moromi dissolved protein content produced using *Z. rouxii* pH 5 (6.48 mg / ml) is lower than moromi which is produced using *Z. rouxii* pH 8 (7.33 mg / ml). Nevertheless Moromi is produced

using *Z. rouxii* pH 5 has a strong soy aroma. The strong aroma of soybeans can be proven by the high value of amino acids forming moromi flavor namely aspartic acid and glutamic acid respectively 9217.02 $\mu\text{g} / \text{g}$ and 3894.29 $\mu\text{g} / \text{g}$.

In addition, the use of a combination of *Z. rouxii* inoculums and *P. halophilus* pH 8 cannot increase the moromi flavor. The moromi flavor produced is more acidic because of the presence of *P. halophilus* which plays a role in producing lactic acid. Moromi produced using a combination of *Z. rouxii* inoculum and *P. halophilus* pH 8 had lower aspartic acid (3106.27 $\mu\text{g} / \text{g}$) and lower glutamic acid (7506.69), because the hydrolyzed protein during fermentation was smaller than the moromi produced using *Z. rouxii* pH 5.



PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan YME atas segala rahmat dan hidayahnya yang telah memberikan kekuatan, kesehatan dan kesabaran sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Akselerasi Produksi Moromi Menggunakan Inokulum *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 dan *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008” dengan baik dan benar.

Berbekal kemampuan dan pengatahuan, penulis berusaha menyelesaikan skripsi ini semaksimal mungkin yang disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan atas dukungan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Kedua orangtua yang selalu memberikan semangat serta doa untuk memotivasi saya dalam setiap perjalanan Kuliah Kerja.
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas serta Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Bambang Herry P., S.TP., M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang selama ini telah tulus dan ikhlas meluangkan waktunya untuk menuntun, membimbing dan mengarahkan penulis dalam penulisan tugas akhir ini.
3. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc dan Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si selaku Penguji yang selama ini telah tulus dan ikhlas meluangkan waktunya untuk menuntun, membimbing dan mengarahkan penulis dalam penulisan tugas akhir ini;
4. Ahmad Nafi', S. TP., M. P. dan Dr. Maria Belgis, S. TP., M. P. selaku Komisi Bimbingan yang telah membantu semua kelancaran proses pelaksanaan skripsi;
5. Seluruh karyawan dan teknisi laboratorium di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
6. Seluruh teman – teman seperjuangan THP, TEP dan TIP angkatan 2014;

7. Sahabat seperjuangan Vania Dyta P yang selalu menghibur saya disaat susah dan senang seta memberikan saya semangat dalam menimba ilmu di kampus perkuliaha tercinta FTP Jaya.
8. Sahabat SMA Huuril Maula Ahdy yang selalu memberikan semangat serta menghibur saya disaat susah dalam menghadapi perkuliahan.
9. Rizka Dwi Khoirunisa selaku teman seperjuangan dalam penelitian di laboratorium tercinta yang penuh drama.
10. Melet, Jipang, Serok, dan Culik yang selalu menemani saya dan menghibur saya dalam drama perjuangan tugas akhir.
11. Sahabat PORTAL yang selalu memberikan canda tawa kalian selama saya di THP-A.
12. KRU DOLZ yang memberikan banyak warna dan pelajaran selama saya menimba ilmu di FTP Jaya.
13. Herman Sentil yang telah memberikan semangat dan menemani saya dari awal seminar proposal sampai saat ini dengan sabar penuh kasih sayang.
14. Berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis karena telah banyak memberikan bantuan selama penelitian dan penulisan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa karya ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga perlu adanya kritik dan saran yang sifatnya membangun agar skripsi ini dapat lebih baik. Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan bagi masyarakat.

Jember, 30 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
SKRIPSI	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kandungan Gizi Kedelai	4
2.2 Kecap Kedelai	5
2.3 Proses Pengolahan Kecap	9
2.4 Fermentasi Koji	12
2.5 Mekanisme Produksi Moromi	14
2.6 Peranan Larutan Garam Dalam Fermentasi Kecap	15
2.7 <i>Pediococcus halophilus</i>	16
2.8 <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	18
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	20
3.2.1 Alat Penelitian	20
3.2.2 Bahan Penelitian.....	20
3.3 Rancangan Penelitian	21
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	21
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	21
3.4 Parameter Pengamatan	25
3.5 Prosedur Analisis	25
3.5.1 Pengukuran pH Cairan Moromi	25
3.5.2 Analisis Kadar Protein Terlarut Cairan Moromi.....	26
3.5.3 Analisis Organoleptik Cairan Moromi	27
3.5.4 Uji Total Nitrogen Cairan Moromi	27

3.5.5 Jumlah Mikroba Metode Counting Chamber (Lay, 1994)	27
3.5.6 Profil Asam amino	29
3.6 Analisa Data	30
BAB 4. PEMBAHASAN	31
4.1 pH Moromi Selama Fermentasi	31
4.2 Kadar Protein Terlarut Moromi	32
4.3 Kadar Nitrogen Moromi	34
4.4 Uji Organoleptik Moromi	35
4.5 Jumlah Mikroba Moromi	37
4.6 Profil Asam Amino Moromi	39
BAB 5. PENUTUP	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Komposisi kecap	7
Tabel 2. 2 Kandungan asam amino dalam kecap kedelai manis.....	7
Tabel 2. 3 Jenis kecap berdasarkan bahan bakunya.....	8
Tabel 4. 1 Jumlah Mikroba Pada Moromi Selama Fermentasi 2-4 minggu	37
Tabel 4. 2 Kandungan asam amino moromi yang diproduksi menggunakan <i>P. halophilus</i> dan <i>Z. rouxii</i> pH 8	39
Tabel 4. 3 Kandungan asam amino moromi yang diproduksi menggunakan <i>Z.rouxii</i> pH 5	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Kedelai hitam dan kedelai kuning	5
Gambar 2. 2 <i>Embden–Meyerhof–Parnas pathway</i>	17
Gambar 2. 3 Jalur <i>Ehrlich</i> oleh <i>Zygosaccharmyces rouxii</i>	19
Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian Produksi Moromi	22
Gambar 3. 2 Diagram Alir Pembuatan Koji Kedelai	23
Gambar 3. 3 Diagram Alir Pembuatan Starter	24
Gambar 3. 4 Diagram Alir Proses Fermentasi Moromi	25
Gambar 3. 5 <i>Haemocytometer</i>	28
Gambar 3. 6 kotak <i>haemocytometer</i>	29
Gambar 4. 1 Penurunan pH moromi selama fermentasi.....	31
Gambar 4. 2 Kadar protein terlarut moromi.....	32
Gambar 4. 3 Kadar nitrogen total moromi	34
Gambar 4. 4 Organoleptik moromi.....	36
Gambar 4. 5 Jumlah mikroba pada moromi.....	38

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecap merupakan ekstrak kedelai hitam yang dihasilkan dari proses fermentasi oleh mikroorganisme dengan campuran gula, garam, serta rempah-rempah yang berfungsi untuk meningkatkan cita rasa dari suatu masakan (Cahyadi, 2006). Karakteristik kecap antara lain berwarna coklat, kental, dan mengandung protein yang tinggi (Septiani dkk., 2004). Pada umumnya kecap digunakan sebagai bahan tambahan makanan yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia. Adanya peningkatan jumlah permintaan konsumen, maka perusahaan kecap berskala lokal harus berkompetisi dengan perusahaan-perusahaan kecap lainnya dengan cara meningkatkan jumlah produksi. Perkembangan industri kecap di Indonesia terus mengalami peningkatan dalam setiap tahunnya (Maryani, 2007). Menurut Direktori Industri Kecap Kedelai di Indonesia (2015) terdapat 50 industri kecap di Indonesia yang tersebar di seluruh Indonesia, kedelai yang diekspor selama tahun 2004-2008 yaitu dalam bentuk kedelai olahan yang sebagian besar dalam wujud kecap manis yaitu sebesar 80,67% dari total kedelai (Meutia, 2015). Laju peningkatan produksi kecap dalam kurun waktu 2010–2016 dilaporkan masih mencapai 5,7% per tahun (Kristiani, 2013).

Meutia (2015) menyatakan bahwa kecap di Indonesia masih diproduksi dengan cara tradisional dikarenakan kualitas kecap yang dihasilkan lebih baik jika dibandingkan dengan cara hidrolisis asam. Pada dasarnya proses pembuatan kecap melewati dua tahap fermentasi yaitu fermentasi koji dan fermentasi moromi. Pada tahap fermentasi koji dilakukan penambahan kapang yang berlangsung selama 2-3 hari (Setiawati, 2006), sedangkan fermentasi moromi merupakan fermentasi cair yang erat kaitannya dengan larutan garam yang dapat menumbuhkan bakteri asam laktat dan *yeast* serta salah satu proses yang berlangsung selama 1-2 bulan (Pratiwi dkk., 2012).

Pada umumnya fermentasi cair atau moromi dilakukan secara spontan. Kelebihan dari fermentasi spontan yaitu nilai ekonomis yang tinggi, proses

pengolahannya mudah dan murah. Disamping itu, fermentasi spontan memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu fermentasi yang lama serta area yang dibutuhkan lebih luas, sehingga mendorong industri untuk mempersingkat proses pembuatan kecap untuk memenuhi kapasitas produksi yang sesuai dengan permintaan masyarakat (Wicaksana, 2013). Lamanya fermentasi tersebut disebabkan jenis mikroba yang tumbuh banyak meliputi jenis *Lactobacillacea*, *Streptococcus*, *Aerococci*, dan *Corynobacterium* sehingga pertumbuhannya sangat lambat, sulit terkontrol dan menyebabkan kontaminasi dari mikroorganisme lain yang tidak diinginkan (Rosida dkk., 2013). Bakteri yang tumbuh pada moromi bersifat toleran terhadap garam yang tinggi yaitu *Pediococcus halophilus* dapat tumbuh pada pH 8-5 sehingga mampu memetabolisme asam sitrat dan asam malat dalam menghasilkan asam laktat (Kobayashi dkk., 2000). *Yeast* jenis *Zygosaccharomyces rouxii* mulai tumbuh pada pH 5 dan pada pH yang lebih tinggi dari 5 dalam merombak glukosa menjadi senyawa penting etanol dan alkohol dalam pembentukan flavor dan cita rasa (Koswara, 1997).

Adapun penelitian dari Wicaksono dkk., (2013) menyatakan bahwa fermentasi kecap ikan dengan penambahan inokulum *Pediococcus halophilus* dapat mempercepat proses fermentasi menjadi 30 hari, sehingga kelemahan dalam pembuatan kecap kedelai secara spontan tersebut, dapat diperbaiki dengan cara menambahkan inokulum *Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* serta mengatur pH media awal moromi. guna untuk mempercepat proses hidrolisis protein kedelai dan mengetahui karakteristik moromi.

1.2 Rumusan Masalah

Selama ini industri kecap masih menggunakan metode fermentasi tradisional. Proses fermentasi secara tradisional ini memiliki kelemahan yaitu memakan waktu yang cukup lama yaitu selama lebih dari 2 bulan dan membutuhkan area yang lebih luas yang akan berdampak pada pembengkakan modal setiap industry kecap (Astuti, 2016). Lamanya fermentasi tersebut disebabkan karena jenis mikroba yang tumbuh banyak meliputi jenis *Lactobacillacea*, *Streptococcus*, *Aerococci*, dan *Corynobacterium* sehingga sulit

dikontrol dan dapat mengakibatkan kontaminasi dari mikroorganisme lainnya (Rosida dkk., 2013). Fermentasi spontan ini memungkinkan terjadinya reaksi enzimatik untuk mengurai komponen substrat yang dihasilkan oleh mikroorganisme halofilik jenis *Pediococcus halophilus* yang tahan terhadap garam tinggi dan yeast jenis *Zygosaccharomyces rouxii* dapat tumbuh (Naiola dkk., 2007). Penambahan inokulum *Pediococcus halophilus* dilakukan karena mikroba tersebut memiliki ketahanan kadar garam yang tinggi dan berfungsi untuk menghasilkan asam laktat sedangkan penggunaan inokulum *Zygosaccharomyces rouxii* dilakukan karena mikroba tersebut berperan dalam mengubah glukosa menjadi senyawa alkohol (Meutia, 2015). Namun belum diketahui pengaruh ditambahkannya jenis inokulum *Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* serta pH media moromi yang berbeda terhadap karakteristik dan waktu fermentasi moromi.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan inokulum *Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* dengan pH awal yang berbeda terhadap karakteristik dan waktu fermentasi moromi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat mempercepat proses produksi kecap sehingga produk yang dihasilkan lebih banyak.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kandungan Gizi Kedelai

Kedelai (*Glycine max L. Merr*) adalah tanaman semusim yang diusahakan pada musim kemarau, karena tidak memerlukan air dalam jumlah besar. Kedelai memiliki sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kadar protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40%. Kadar protein dalam produk kedelai bervariasi misalnya, tepung kedelai 50%, konsentrat protein kedelai 70% dan isolat protein kedelai 90% (Winarsi, 2010) .

Kedelai memiliki beragam fungsi yaitu dapat digunakan sebagai pangan, pakan, maupun bahan baku industri. Beberapa bentuk olahan dari kedelai misalnya kecap, tahu dan tempe. Ditinjau dari segi harga, kedelai memiliki sumber protein nabati yang murah serta berfungsi sebagai sumber gizi yang baik bagi manusia. Kedelai utuh mengandung 35 sampai 38% protein tertinggi dari kacang-kacangan lainnya. Sebagian besar kebutuhan protein nabati dapat dipenuhi dari kacang kedelai (Adisarwanto, 2005).

Kedelai memiliki kandungan delapan asam amino yang tinggi, kecuali metionin dan fenilalanin (Suprpto, 1993). Protein kedelai memiliki kandungan asam amino sulfur yang rendah. Metionin, sistein dan threonin merupakan asam amino sulfur dalam protein kedelai dengan jumlah terbatas (Winarsi, 2010).

Pada umumnya terdapat 2 jenis kedelai, yaitu kedelai kuning dan hitam. Kedelai kuning dapat digunakan sebagai bahan dasar makanan turunan kedelai misalnya tempe. Kedelai hitam biasanya terbatas hanya digunakan sebagai bahan baku pembuatan kecap (Purwoko, 2007). Kedelai hitam dan kuning disajikan pada Gambar 2.1.



(a)

(b)

Gambar 2. 1 (a) Kedelai hitam; (b) kedelai kuning

Di Indonesia kedelai hitam banyak digunakan sebagai bahan baku kecap. Kedelai hitam mempunyai kandungan protein yang bervariasi antara 37-41%, serta kandungan lemak 11-21%. Kandungan asam amino glutamat pada kedelai hitam sedikit lebih tinggi daripada kedelai kuning, oleh karena itu kedelai hitam memiliki rasa lebih gurih. Kedelai hitam juga mengandung antosianin, antosianin dari kulit kedelai mampu menghambat oksidasi LDL kolesterol. Kedelai hitam memberi andil 80% dalam pembuatan kecap. Kedelai hitam selain unggul antosianinnya juga mengandung isoflavon dan mineral Fe lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai kuning (Sumantri, 2001).

2.2 Kecap Kedelai

Kecap merupakan jenis makanan cair hasil fermentasi kedelai hitam. Selain kedelai hitam, kedelai kuning juga dapat diolah menjadi kecap. Kecap dapat dibuat melalui 3 cara yaitu fermentasi, hidrolisis asam, dan kombinasi fermentasi dan hidrolisis asam. Kecap yang dibuat secara fermentasi biasanya mempunyai cita rasa dan aroma yang lebih disukai konsumen. Pada prinsipnya pembuatan kecap secara fermentasi berkaitan dengan penguraian protein, lemak, dan karbohidrat menjadi asam amino, asam lemak, dan monosakarida (Koswara, 1997).

Kecap kedelai merupakan salah satu produk hasil fermentasi yang digunakan sebagai produk pencita rasa khususnya di negara Asia yang merupakan produk bumbu (*condiment*) yang tertua di Cina selama lebih dari 3000 tahun (Muangthai dkk., 2009). Kecap kedelai dibuat menggunakan kacang kedelai yang dicampurkan dengan terigu, garam, air, dan mikroba seperti *Aspergillus oryzae*

atau *Aspergillus zozae* (Impoolsup dkk., 1981). Selain melalui proses fermentasi, kecap kedelai dapat dibuat melalui proses hidrolisis protein nabati (*hydrolyzed vegetable protein/ HVP*). Kecap yang melalui proses HVP tersebut dibuat dengan menghidrolisis protein kedelai menjadi asam amino melalui hidrolisis asam, kemudian dicampur dengan gula, pewarna, dan bahan-bahan pencitarasa lainnya sehingga memiliki citarasa menyerupai kecap kedelai yang dibuat melalui proses fermentasi (Nunomura dkk., 1986).

Kecap kedelai dapat dibagi menjadi dua tipe yaitu kecap Jepang dan kecap Cina. Penggunaan kedelai dan terigu dalam porsi yang sama merupakan salah satu ciri khas dari kecap Jepang, selanjutnya kecap Jepang dibedakan lagi menjadi *shoyu koikuchi*, *shoyu usukuchi*, dan *shoyu saishikomi* dimana perbedaannya terletak pada proses produksi dan karakteristik khususnya (dalam hal warna, aroma, dan viskositas). Sedangkan kecap kedelai Cina biasanya dibuat dengan terigu yang konsentrasinya rendah (Meutia, 2015). Di Indonesia telah dilakukan penelitian tentang pembuatan kecap dari sumber non kedelai seperti asal koro pedang (Astuti, 2012), kacang gude (Andriana, 2014) dan lamtoro gung (Rahayu dkk., 2005) hingga ke tahap pembuatan moromi.

Salah satu ciri khas kecap kedelai khas Indonesia yang berbeda dengan negara lainnya adalah kecap Indonesia memiliki flavor manis. Berdasarkan kategori pangan (2006), kecap kedelai manis adalah produk cair yang diperoleh dari hasil fermentasi kacang kedelai (*Glycine max L.*) dan gula merah dengan atau tanpa melalui proses karamelisasi serta dengan atau tanpa penambahan bahan lain, dengan karakteristik dasar total gula tidak kurang dari 40%. Berdasarkan SNI 3543:2013, kecap kedelai manis didefinisikan sebagai produk berbentuk cair yang dibuat dari cairan hasil fermentasi kedelai ditambah gula dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. Komposisi kecap kedelai dalam 100 gram bdd disajikan pada Tabel 2.1

Tabel 2. 1 Komposisi kecap

Komponen	Jumlah per 100 gram bdd
Kalori (g)	46
Protein (g)	5,7
Lemak (g)	1,3
Karbohidrat (g)	9,0
Kalsium (g)	123
Fosfor	96
Besi (mg)	5,7
Vitamin A (SI)	0
Vitamin B (mg)	0
Vitamin C (mg)	0
Air (g)	63,0
b.d.d (%)	100

Sumber: (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1981)

Menurut Sarkar dkk. (1997), asam amino yang berkontribusi penting dalam pembentukan flavor kecap adalah asam glutamat dan aspartat. Kandungan asam amino dalam kecap kedelai manis dapat dilihat pada table 2.2

Tabel 2. 2 Kandungan asam amino dalam kecap kedelai manis

Asam amino	Kadar asam amino kecap kedelai manis (%)
Asam aspartate	1,058
Asam glutamate	2,272
Serin	0,238
Glisin	0,524
Histidin	0,228
Arginin	0,780
Treonin	0,672
Alanin	0,452
Prolin	0,472
Tirosin	0,648
Valin	0,452
Metionin	0,300
Sistein	1,020
Isoleusin	1,040
Leusin	0,824
Phenilalanin	0,488
Lisin	0,694

Sumber: Dedin dkk. (2006)

Kecap dapat dibedakan menjadi beberapa macam, berdasarkan jenis bahan baku, berdasarkan citarasa dan berdasarkan jenis prosesnya. Berdasarkan jenis

bahan bakunya dapat dibedakan menjadi 7 jenis sebagaimana dapat dilihat pada tabel 2.3

Tabel 2. 3 Jenis kecap berdasarkan bahan bakunya

Jenis kecap	Jenis bahan baku	Referensi
Kecap kedelai (soy-ketchup), tauco	Kedelai	Koswara, 2009
Kecap air kelapa	Air kelapa	Haerani, 2016
Kecap ikan, petis	Ikan, daging	Ibrahim, 2014
Paprika sauce	Cabai paprika	Suprapti, 2005

Sumber : (Suprapti, 2005)

Berdasarkan cita rasa kecap dapat dibedakan menjadi 2 macam yaitu kecap asin dan kecap manis yang dari masing-masing kecap tersebut memiliki manfaat tersendiri, baik sebagai penyempurnaan cita rasa dan aroma makanan maupun masakan olahan. Perkembangan teknologi pengolahan pangan telah membawa proses pembuatan kecap menjadi semakin baik (Suprapti, 2005).

Berdasarkan jenis prosesnya dibagi menjadi 3 yaitu proses hasil fermentasi, hasil proses hidrolisis, dan proses hasil fisis (Suprapti, 2005)

a. Kecap hasil fermentasi

Melalui proses fermentasi kecap yang dihasilkan akan memiliki citarasa yang khas. Pada proses fermentasi biasanya menggunakan ragi yang dapat merubah bahan pangan akibat mikroba jenis tertentu yang memiliki kemampuan dalam memecah protein sehingga menghasilkan enzim yang kemudian enzim tersebut dapat memecah menjadi peptida-peptida dan asam amino.

b. Kecap hasil proses hidrolisis

Proses hidrolisis merupakan suatu proses yang dapat menghasilkan kecap modern. Dapat dikatakan modern dikarenakan dalam proses pembuatannya dilakukan secara singkat, namun tidak memiliki rasa yang khas.

c. Kecap hasil proses fisis

Dengan proses pencampuran, dalam waktu singkat akan dapat dihasilkan kecap dengan kondisi yang dapat diatur.

Kualitas kecap ditentukan oleh kandungan proteinnya. Kadar protein didalam kecap bergantung pada jumlah unsur N pada kedelai yang terurai. Jumlah unsur N

yang terurai akan semakin tinggi apabila kelapukan kedelai yang dicapai pada saat fermentasi I semakin sempurna dan fermentasi II semakin lama. Faktor-faktor yang ikut menentukan kualitas kecap adalah :

a. Kadar protein terlarut

Kadar protein terlarut dalam kecap dipengaruhi oleh bahan baku yang digunakan serta kesempurnaan fermentasi tahap I dan II. Menurut Suprapti (2005), semakin tinggi kadar protein dalam kecap, maka semakin tinggi kualitas kecap tersebut.

b. Cita rasa dan aroma (flavor)

Cita rasa dan aroma (flavor) kecap yang khas hanya dapat diperoleh dari pembuatan kecap secara fermentasi yang memakan waktu berbulan-bulan (minimal satu bulan). Pada lama fermentasi tahap II dilakukan minimal satu bulan atau lebih, namun jangan sampai lebih dari dua bulan (Suprapti, 2005).

c. Kekentalan (viskositas)

Kecap manis memiliki tingkat kekentalan tertentu. Setiap produsen kecap memiliki standar tertentu. Menurut Suprapti (2005) kecap manis yang terlalu encer dianggap berkualitas rendah oleh konsumen.

d. Warna kehitam-hitaman

Warna coklat kehitam-hitaman pada kecap dapat diperoleh dari : kulit ari kedelai hitam ; gula kelapa/aren; caramel dari gula pasir, reaksi *browning* pada saat penjemuran selama fermentasi tahap II (Suprapti, 2005).

2.3 Proses Pengolahan Kecap

Pada proses pembuatan kecap terdapat 2 cara yaitu melalui fermentasi dan hidrolisis asam. Dibandingkan dengan kecap yang dibuat secara hidrolisis asam, kecap yang dibuat dengan cara fermentasi biasanya mempunyai aroma yang lebih baik. Perbedaan dari kedua metode tersebut terletak pada proses sebelum proses pengkojian. Tahapan pertama penyortiran dan pencucian. Tujuan dari penyortiran yaitu untuk memisahkan benda yang tidak diinginkan dan memilih biji yang baik. Caranya biji kedelai diletakkan padan tampah kemudian ditampi. Tujuan dari pencucian yaitu untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel atau yang

masih bercampur dengan biji kedelai (Suprapti, 2005). Kemudian dilakukan perendaman yang bertujuan agar kedelai menjadi lebih lunak sebelum dilakukan perebusan dan memudahkan pengupasan, serta menurunkan pH sehingga dapat menekan pertumbuhan mikroba kontaminan. Selama perendaman terjadi beberapa perubahan yaitu air terserap zat larut dalam air, biji kedelai mengembang dan tekstur menjadi lunak (Purwoko dkk., 2007). Tahap selanjutnya yaitu perebusan kedelai pada tahap ini terjadi proses hidrasi dimana biji kedelai menyerap air sebanyak banyaknya. Perebusan juga dimaksudkan untuk melunakkan biji kedelai sehingga memudahkan penetrasi ragi pada tahap koji (Purwoko dkk., 2007). Selanjutnya yaitu pendinginan. Setelah kedelai matang atau lunak, dilakukan pendinginan dengan menuangkan kedelai pada tampah kemudian diratakan tipis-tipis. Biarkan dingin sampai permukaan kedelai kering agar terhindar dari pertumbuhan mikroorganisme yang tidak dikehendaki. Tampah yang digunakan untuk penirisan yaitu tampah yang benar-benar bersih bebas dari kotoran dan zat yang menghambat pertumbuhan ragi. Tujuan dari pendinginan ini yaitu untuk memberikan kondisi yang baik bagi starter atau mikroba yang akan ditumbuhkan, karena jika dalam kondisi panas maka mikroba tidak dapat tumbuh (Purwoko dkk., 2007).

Langkah selanjutnya untuk metode hidrolisis asam tanpa dilakukan fermentasi koji melainkan perendaman dengan menggunakan asam selama 6-14 jam dengan suhu 60°C, asam yang digunakan biasanya yaitu enzim papain atau enzim bromelin sedangkan untuk metode fermentasi dilakukan fermentasi awal yang biasa disebut dengan fermentasi koji. Pada pengolahan kecap tradisional, koji tidak ditambahkan ragi, sedangkan pada pengolahan modern dilakukan penambahan starter khusus yang biasa digunakan yaitu *Aspergillus sojae* dan *Rhizopus oryzae*. Kapang tersebut juga menghasilkan enzim amilase, lipase, dan protease (Karmini dkk., 1996). Koji juga mengandung berbagai jenis eksopeptidase, yang berturut-turut membebaskan asam amino dari karboksi atau amino terminal peptide (Sugiyama, 1984). Enzim yang paling berperan pada proses koji adalah protease dan amilase. Protease akan memecah protein kompleks yang tidak larut menjadi polipeptida dan oligopeptida, kemudian dapat menghidrolisis

polipeptida dan oligopeptida menjadi asam amino, sedangkan pati dihidrolisa menjadi disakarida dan monosakarida oleh enzim amilase. Selama fermentasi terjadi kenaikan nitrogen terlarut, asam amino, ammonia, nilai pH, dan suhu (Rahayu dkk., 1993). Enzim amilase memiliki suhu dan pH optimum masing-masing 70°C, pH 7 (Sanoja dkk., 2000). Proses fermentasi koji berlangsung selama 2-3 hari. Fermentasi ini sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor fisik seperti ketersediaan oksigen, morfologi substrat, difusi, a_w . Jika waktu fermentasi terlalu singkat maka enzim yang dihasilkan tidak mencukupi. Sebaliknya jika waktu fermentasi terlalu lama akan terjadi sporulasi yang berlebihan dan menimbulkan bau yang tidak enak (Astawan, 2009). Setelah itu proses pengeringan koji. Dalam tahap pengeringan koji ini dilakukan dengan penjemuran hingga kadar air dibawah 18% untuk menghentikan fermentasi ragi agar koji tidak membusuk dan untuk mempermudah penyerapan larutan garam sehingga proses moromi dapat berlangsung lebih cepat.

Fermentasi moromi dengan larutan garam. Proses ini dilakukan dengan melakukan perendaman koji dalam larutan garam. Konsentrasi garam yang digunakan adaah 17-20%. Selama fermentasi garam akan terjadi fermentasi asam laktat oleh bakteri asam laktat dan dilanjutkan fermentasi alkohol oleh khamir. Pada umumnya proses pembuatan moromi dilakukan secara spontan. Keberhasilan fermentasi moromi sangat menentukan kualitas kecap yang dihasilkan (Astawan, 2009).

Hal-hal yang berkaitan erat dengan moromi yaitu larutan garam (NaCl) dan bakteri asam laktat. Penggunaan garam digunakan sebagai bahan pembantu dalam bahan pangan yang paling penting dalam pengawetan pangan. Selain itu garam juga untuk menghilangkan sejumlah air yang tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme (Saripah dkk., 1980). Bakteri asam laktat secara morfologi terdiri dari 2 familia yaitu familia *lactobacillacea* yang berbentuk batang dan *streptococcus* yang berbentuk bulat. Sifat bakteri asam laktat yaitu mampu tumbuh pada garam dan gula yang tinggi, tumbuh pada pH 5-8,0 serta mampu memfermentasi monosakarida dan disakarida (Steamer, 1979 dalam Lila, 2007).

Pemasakan kecap meliputi penyaringan filtrat untuk memisahkan filtrat dengan kedelai yang direndam pada fermentasi moromi. Setelah dilakukan penyaringan akan diperoleh filtrat berupa cairan hasil dari fermentasi moromi yang kemudian akan diencerkan. Pengenceran filtrat dengan menambahkan air bersih dengan volume air yang ditambahkan tiga kali berat filtrat (Suprapti, 2005). Kemudian bumbu-bumbu yang diperlukan disiapkan. Bumbu yang dibutuhkan yang disangrai dihaluskan untuk penambahan bumbu utuh meliputi daun salam, sereh. Sedangkan yang disangrai yaitu ketumbar, wijen, bawang putih, lengkuas, dan kayu manis (Suprapti, 2005). Dalam pembuatan larutan gula dilakukan dengan memotong kecil-kecil gula kelapa untuk memudahkan saat perebusan larutan kemudian ditambahkan air dengan perbandingan 1:1 sambil dipanaskan dan diaduk hingga larut. Larutan gula kelapa dalam keadaan panas disaring dengan kain saring. Bahan yang digunakan dalam pembuatan karamel yaitu gula pasir dengan cara disangrai hingga berwarna coklat seperti karamel agar tidak lengket pada wajan maka setelah berwarna coklat harus segera dituangkan pada larutan gula merah yang sudah disaring sambil dilakukan pengadukan. Selanjutnya larutan gula ini dicampurkan kedalam filtrat yang sudah diencerkan (Suprapti, 2005). Tahap terakhir yaitu perebusan bahan-bahan yang sudah dicampur hingga volume menjadi 75% volume sebelum pengentalan (Suprapti, 2005).

2.4 Fermentasi Koji

Fermentasi koji adalah salah satu tahapan pembuatan kecap yang penting dalam pembentukan komponen fenolik yang berperan pada flavor kecap. Tahap ini menunjukkan bahwa metabolisme kapang koji berhubungan dengan aroma kecap yang penting dalam penerimaannya (Nunomura dan Sasaki, 1992). Preparasi koji dipertimbangkan sebagai suatu langkah penting dalam fermentasi beragam makanan fermentasi dari daerah Timur. Pada dasarnya proses fermentasi koji yaitu proses dimana akan ada pertumbuhan kapang untuk menghasilkan enzim protease pada kedelai. Maka dari itu, koji merupakan sumber beragam enzim yang mengkatalisasi degradasi bahan mentah padat ke produk yang larut

dan dapat menghasilkan substrat yang dapat difermentasi oleh ragi dan bakteri dalam tahapan fermentasi moromi. Perubahan cita rasa, warna, tekstur, dan sifat lain dari kecap disebabkan oleh enzim yang dihasilkan oleh ragi. Enzim-enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae* dalam koji meliputi protease, amilase dan enzim-enzim lainnya.

Menurut Yokosuka (1985) setelah pendinginan mencapai kurang dari 40°C, kedelai dimasak dan dicampur dengan gandum kemudian diinokulasi dengan 0.1 sampai 0.2% *tane koji* (bibit koji) yang terdiri dari jenis terpilih *Aspergillus oryzae* atau *Aspergillus* (Yokotsuka, 1985). Dalam penerapannya, campuran kultur terdiri dari 80% *Aspergillus oryzae* dan 20% *Aspergillus sojae*. Campuran tersebut kemudian ditaburkan ke rak-rak kayu dan diinkubasi dalam ruangan kultur, suhu yang digunakan biasanya berkisar antara 25 sampai 30°C (Yokotsuka 1985). Penggunaan *Aspergillus* dipilih karena kemampuannya dalam memproduksi protease dan amilase ekstraseluler, serta kemampuannya dalam memproduksi aflatoksin dan mikotoksin rendah, tingkat pertumbuhan dan suhu pertumbuhan optimum (Panghegar, 1989).

Kualitas koji tidak hanya dipengaruhi oleh tingkat kecepatan degradasi enzimatik dari bahan mentah dalam campuran garam tetapi juga kualitas kandungan kimia dan organoleptik dari produk akhir. Untuk menyiapkan kualitas koji yang baik, perlu dilakukan beberapa hal berikut (Yokotsuka, 1985) :

- a. Mendapatkan pertumbuhan miselia yang cukup
- b. Menghasilkan jumlah maksimum enzim yang dibutuhkan, seperti protease, amilase dan degradasi enzim jaringan tanaman lainnya
- c. Tidak merusak aktivitas produksi enzim
- d. Meminimalisasi konsumsi pati yang disebabkan oleh pertumbuhan jamur
- e. Menghindari kontaminasi jamur dan bakteri.

Koji yang berkualitas tinggi adalah yang berwarna hijau tua, aromanya menyenangkan, aktivitas amilase tinggi, jumlah bakteri yang rendah, populasi ragi yang tinggi, pertumbuhan kapang yang pesat serta rasa yang agak manis dan agak pahit.

2.5 Mekanisme Produksi Moromi

Moromi merupakan hasil dari fermentasi koji yang dicampur dengan larutan garam. Selanjutnya moromi disimpan dalam suatu wadah kira-kira satu tahun pada suhu biasa, atau selama 3 sampai 4 bulan jika dipanaskan diterik matahari. Perubahan kimia yang terjadi pada proses ini yaitu degradasi protein dan karbohidrat yang disebabkan adanya enzim pemecah yang dihasilkan oleh mikroba dari fermentasi koji. Pertama yang terjadi pada fermentasi moromi yaitu fermentasi asam laktat yang diakibatkan oleh mikroba halofilik yang memiliki ketahanan kadar garam yang tinggi, kemudian dilanjutkan oleh *yeast* dalam fermentasi alkohol. Perubahan warna moromi dari terang berubah menjadi gelap (Yokotsuka, 1985). Pencampuran dengan air yang berlebihan menyebabkan penggunaan total nitrogen yang baik dari bahan baku, tetapi akan menghasilkan efek yang tidak diinginkan pada komposisi kecap. Penggunaan larutan garam dengan konsentrasi dibawah 16% dapat menyebabkan pembusukan sehingga konsentrasi larutan garam biasa digunakan sebesar 17-20% (Yokotsuka, 1986). Suhu pada fermentasi moromi merupakan faktor yang sangat penting dalam menghasilkan kualitas kecap yang baik.

Pembentukan asam amino pada fermentasi moromi disebabkan oleh bakteri asam laktat akibat aktivitas enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae*. Asam amino yang terbentuk ada 17 jenis dengan asam glutamat sebagai komponen flavor yang terpenting (Yokotsuka, 1986). Menurut Yokotsuka (1985) berdasarkan perubahan suhu selama musim panas, persiapan *shoyu* memiliki karakteristik komposisi total nitrogen, asam amino dan asam glutamat lebih kecil sedangkan komposisi asam organik dan evaluasi organoleptik rendah (*inferior*) lebih baik dibandingkan dengan persiapan *shoyu* pada saat musim dingin. Melalui penurunan suhu moromi, peningkatan 1-3% pencernaan protein diharapkan, karena suhu yang lebih rendah dapat mencegah cepatnya penurunan nilai pH yang disebabkan oleh fermentasi bakteri asam laktat, dimana protease alkali inaktif. Pada tahap awal, bakteri yang biasanya berperan dalam fermentasi moromi yaitu *Pediococcus halophilus* yang akan mengubah asam-asam organik menjadi asam

laktat dan sekaligus menurunkan pH hingga mencapai pH optimum untuk fermentasi yeast yaitu pH 4 (Iwasaki dkk., 1993).

Selama fermentasi moromi, mikroba yang paling berperan adalah *Tetragenococcus halophila* yang merupakan bakteri halofilik dan khamir *Zygosaccharomyces rouxii*. Selain itu khamir aktif dan merombak gula pereduksi menjadi senyawa penting dalam pembentukan flavor (Roling, 1996). Pada tahap ini tumbuh bakteri yang mampu memproduksi asam organik terutama asam laktat, suksinat dan fosfat. Asam-asam ini akan menurunkan pH larutan garam menjadi 4,8-5,0 kemudian peran digantikan oleh khamir aktif yang dapat merombak gula menjadi senyawa penting dalam pembentukan flavor (Roling, 1996). Degradasi enzimatis protein dari material sampai menjadi peptida, asam amino bebas dan amonia hampir berhenti dalam 2 atau 3 bulan, tergantung dari suhu. Karbohidrat dihidrolisis menjadi heksosa dan pentosa, dan komponen-komponen tersebut dimetabolisme sebagian menjadi sekitar 1% asam laktat dan asam organik lainnya oleh *Pediococci* dan sebagian lagi menjadi 2-3% etanol dan komponen minor pembentuk *flavour* oleh khamir (Roling, 1996).

2.6 Peranan Larutan Garam Dalam Fermentasi Kecap

Pada fermentasi kecap, garam berperan sebagai penyeleksi organisme. Jumlah garam sangat mempengaruhi banyaknya mikroorganisme yang tumbuh, serta jenis mikroorganisme yang tumbuh. Garam melibatkan sel-sel mikroorganisme peka terhadap karbondioksida. Garam dengan konsentrasi yang tinggi dapat merintangi aktifitas enzim proteolitik. Mikroorganisme yang tumbuh pada fermentasi garam ini yaitu *Pediococcus cereviseae* dan *Lactobacillus delbruechii* serta khamir *saccharomyces rouxii* yang dapat menghasilkan asam laktat yang cukup tinggi sehingga dapat menurunkan pH sampai 4,9. Bakteri tersebut berperan sebagai pembentukan flavor dan pembentukan senyawa citarasa terutama jenis bakteri yang mensintesis glutamat, terutama jenis *Corynebacterium* yang dapat memutus perubahan alpha ketoglutarat menjadi glutamat. Adanya senyawa glutamat yang terbentuk selama fermentasi menyebabkan citarasa kecap semakin enak (Rahayu, 2005).

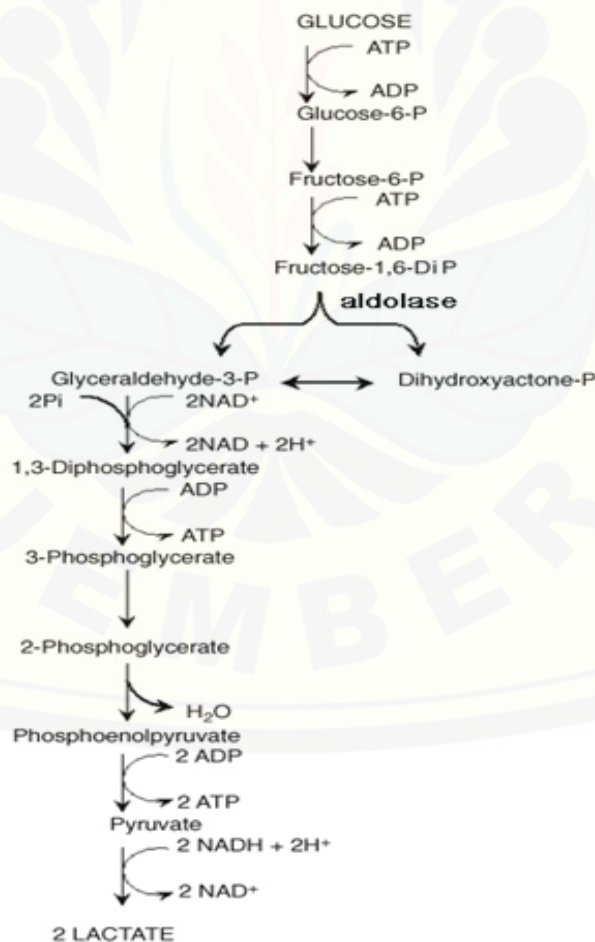
Flavor terbentuk saat proses fermentasi moromi yaitu pada tahap fermentasi dalam larutan garam 20% (Koswara, 1997). Faktor yang mempengaruhi kualitas rasa kecap yaitu pada fermentasi kapang. Pada proses fermentasi, kapang mengeluarkan enzim yang memecah substrat menjadi senyawa terlarut. Semakin tinggi senyawa terlarut yang dihasilkan maka berpengaruh besar pada rasa kecap yang dihasilkan. Fungsi penambahan garam pada fermentasi moromi yaitu menarik nitrogen yang ada pada koji untuk keluar ke larutan garam agar kecap yang dihasilkan enak. Selain itu, rasa pada kecap juga dipengaruhi oleh penambahan bumbu-bumbu sehingga rasa dari setiap kecap selalu berbeda.

2.7 *Pediococcus halophilus*

Pediococcus halophilus merupakan salah satu bakteri asam laktat yang berperan penting dalam fermentasi kecap. *Pediococcus* adalah genus dari bakteri asam laktat gram-positif, termasuk dalam keluarga *Lactobacillaceae* yang biasanya berpasangan seperti halnya asam laktat lain dari genera *Aerococci* dan *Tetragenococcus*. *Pediococcus halophilus* juga dikenal dengan nama *Tetragenococcus halophilus* selain berperan pada terasi juga berperan penting dalam fermentasi kecap (Juste dkk., 2008). Menurut Juste dkk., (2008) menyatakan bahwa pertumbuhan strain *Pediococcus halophilus* mulai dari pH 8-5 tidak dengan pH 4,4. *Pediococci* kedelai memiliki toleransi terhadap garam yang tinggi dan merupakan bakteri asam laktat homofermentatif yang mampu memetabolisme asam sitrat dan asam malat selama fermentasi kecap dan menghasilkan asam laktat (Kobayashi dkk., 2000). Bakteri asam laktat yang melalui jalur homofermentatif biasanya membutuhkan lebih dari 90% substrat gula yang akan di ubah menjadi asam laktat menggunakan *Embden–Meyerhof–Parnas pathway* sehingga dapat merubah 1 mol glukosa menjadi 2 mol laktat (Aarnikunnas 2006).

Bakteri asam laktat tersebut juga menghasilkan bermacam-macam enzim seperti enzim proteolitik, peptidolitik, glikosidase, pendegradasi polisakarida, urease, fenoloksidase, dan lipase (Matthews dkk., 2004). Bakteri asam laktat yang melalui fermentasi secara homofermentatif hanya dapat memfermentasi gula

dengan glikolisis. Tahap pertama glikolisis adalah fosforilasi glukosa menjadi fruktosa 1,6-difosfat (FDP) dan memisahkannya menjadi dihidroksiasetonfosfat (DHAP) dan giseraldehid-3-fosfat (GAP), bentuk DHAP juga diubah menjadi GAP. GAP kemudian diubah menjadi piruvat melalu jalan yang meliputi dua tahap fosforilasi level substrat. Terakhir, piruvat direduksi menjadi asam laktat oleh laktat dehidrogenase (LDH) menggunakan NADH sebagai kofaktor. Dalam glikolisis reduksi kofaktor NADH adalah dioksidasi ulang menjadi NAD^+ dan kemudian kesetimbangan redoks dihasilkan. Dalam glikolisis (jalur *Embden-Meyerhof-Parnas*), dibawah kondisi normal, yaitu gula tidak dibatasi dan oksigen dibatasi, satu molekul glukosa secara teori difermentasi menjadi dua molekul asam laktat yang menghasilkan perolehan bersih dua molekul ATP (adenosin trifosfat) (Axelsson 2004). Jalur glikolisis dapat dilihat pada gambar 2.2



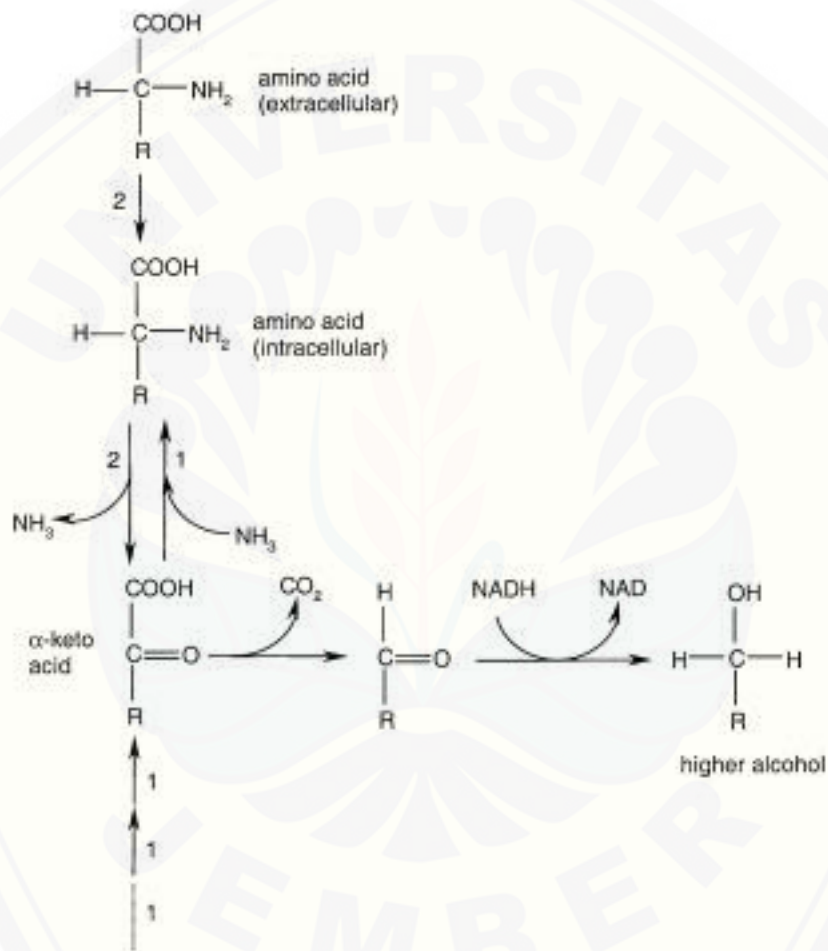
Gambar 2.2 *Embden-Meyerhof-Parnas pathway* yang digunakan oleh BAL homofermentatif.

2.8 *Zygosaccharomyces rouxii*

Zygosaccharomyces rouxii adalah spesies ragi yang biasanya disebut dengan haploid dan heterothallic karena mampu tumbuh pada aktivitas air yang sangat rendah, dapat tumbuh di media sebagai asam seperti pH 1.8-8,0. *Z. rouxii* digunakan secara industri dalam produksi kecap dan miso paste. *Zygosaccharomyces rouxii* juga bertahan hidup di osmolaritas yang tinggi dan terlibat dalam produksi alkohol. *Zygosaccharomyces rouxii* berfungsi untuk pengembangan aroma fermentasi kecap (Jansen, 2013). *Zygosaccharomyces rouxii* akan menghasilkan etanol sebesar 2% termasuk senyawa 4-hydroxyfuranones dan alkohol lainnya yang lebih tinggi yang sangat penting dalam pembentukan rasa kecap. Ada tiga senyawa rasa utama yang diproduksi oleh *Zygosaccharomyces rouxii* dalam fermentasi kecap yaitu etanol, alkohol lebih tinggi (isobutil, isoamil, dll), dan turunan 4-hidroksifuranon. Produksi etanol mungkin merupakan proses yang paling mudah dari tiga jalur produksi rasa yang dilakukan *Zygosaccharomyces rouxii* dalam fermentasi kecap. Proses fermentasi etanol yaitu untuk mengubah gula dalam larutan air garam menjadi etanol. *Zygosaccharomyces rouxii* biasanya dapat memfermentasi maltosa dan fruktosa selain glukosa, tetapi dengan adanya konsentrasi NaCl tinggi dari larutan moromi maka ragi tersebut hanya dapat memetabolisme glukosa. Fermentasi etanol oleh *Zygosaccharomyces rouxii* hanya terjadi ketika lingkungan ekstraseluler mencapai pH kurang dari atau sama dengan 5 dan pada pH yang lebih tinggi dari 5, *Zygosaccharomyces rouxii* tidak dapat mempertahankan gradien H^+ yang diperlukan untuk terus menjadi halotolerant (Van der sluis, 2001).

Berbeda dengan pembentukan etanol sebagai senyawa rasa dalam fermentasi kecap, produksi alkohol yang lebih tinggi oleh *Zygosaccharomyces rouxii* tidak sesederhana pembentukan etanol. Alkohol seperti 2-feniletol, isoamil alkohol, metionol, dan isobutil alkohol semuanya diproduksi oleh *Zygosaccharomyces rouxii* dan memberikan berbagai rasa pada kecap fermentasi. Senyawa utama yang terlibat dalam produksi alkohol yang lebih tinggi ini adalah asam α -keto (Van der sluis, 2001). Asam α -keto didekarboksilasi dan kemudian

direduksi untuk menghasilkan alkohol yang lebih tinggi, tetapi intermediat asam itu sendiri dapat dibuat dalam dua cara berbeda. Proses pertama adalah jalur biosintetik asam amino, dan yang kedua adalah jalur *Ehrlich* yang merupakan jalur utama yang digunakan oleh *Zygosaccharomyces rouxii*. Jalur *Ehrlich* melibatkan deaminasi atau transaminasi sumber asam amino eksogen (Van der sluis, 2000). Jalur *Ehrlich* dapat dilihat pada gambar 2.3



Gambar 2. 3 Jalur Ehrlich oleh *Zygosaccharomyces rouxii*

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Maret sampai Mei 2018. Penelitian fermentasi moromi, pengukuran pH dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan Hasil Pertanian. Pengujian kadar protein terlarut dan organoleptik dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Pengujian total nitrogen dilakukan di Politeknik Negeri jember. Pengujian asam amino dilakukan di PT. Saraswanti Indo Genetech Bogor.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian adalah laminar air flow merk Crumair model 9005 FL Espana, autoklaf merk Hirayama, vortex merk Thermolyne Maxi Mix Plus, spektrofotometer merk Thermo Scientific model Genesis 10 S, pH meter merk Hanna New hi 98107, sentrifuge merk Hermle Z 206A

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian yaitu kedelai hitam varietas malika yang didapatkan dari UD Mustika Digdaya, aquades, garam merk Refina didapatkan dari pasar tanjung, kultur murni *Pediococcus halophilus* FNCC 0033 dan *Zygosaccharomyces rouxii* FNCC 3008 yang dibeli dari PAU UGM. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia meliputi larutan Lowry A (Follin ciocalteus dan aquades), Larutan Lowry B Na_2CO_3 , Na-K Tartarat, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaOH, DNS, K-Na Tartarat.

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor meliputi:

A1: *Pediococcus halophilus* pada pH awal moromi 8

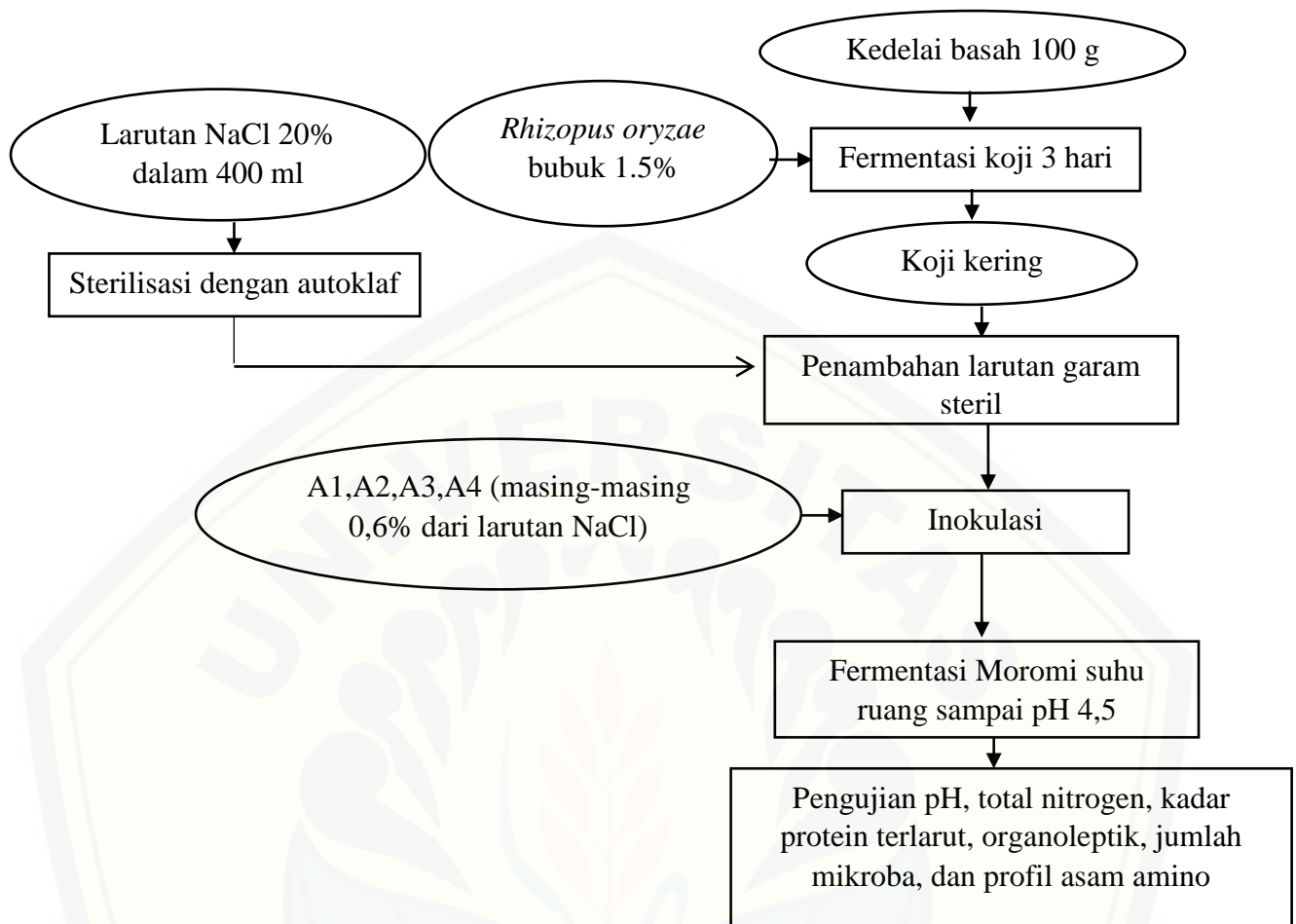
A2: *Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* pada pH awal moromi 8

A3: *Zygosaccharomyces rouxii* pada pH awal moromi 8

A4: *Zygosaccharomyces rouxii* pada pH awal moromi 5

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

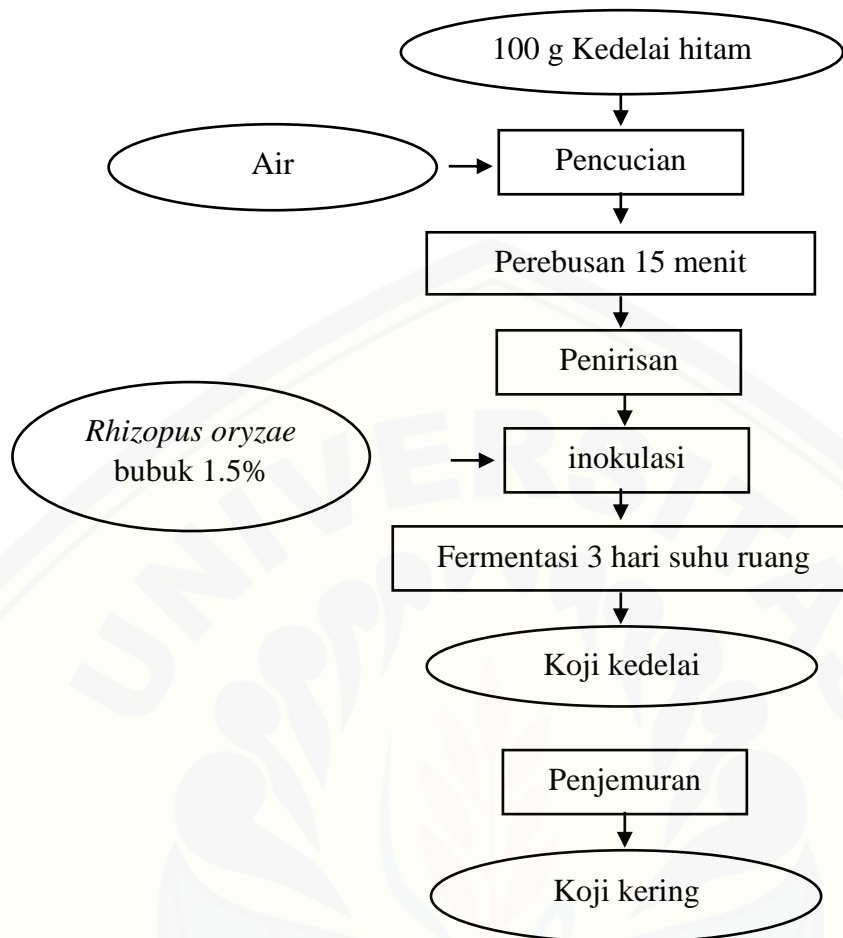
Penelitian ini dimulai dari pembuatan koji yaitu kedelai difermentasi dengan penambahan inokulum *Rhizopus oryzae* selama 3 hari lalu dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari. Kemudian koji kering tersebut ditambahkan dengan 20% larutan garam. Setelah itu dilakukan inokulasi 4 perlakuan yaitu A1 (*Pediococcus halophilus* pada pH awal moromi 8), A2 (*Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* pada pH awal moromi 8), A3 (*Zygosaccharomyces rouxii* pada pH awal moromi 8) A4 (*Zygosaccharomyces rouxii* pada pH awal moromi 5). Konsentrasi masing-masing inokulum yang ditambahkan yaitu 0,6% dari volume total larutan garam. Kemudian fermentasi moromi dilakukan sampai pH mencapai 4,5. Pengujian pH dilakukan setiap minggu sampai pH mencapai 4,5. Setelah pH mencapai 4,5 dilakukan pengujian lanjut yaitu total nitrogen, kadar protein terlarut, organoleptik, jumlah mikroba, dan profil asam amino. Proses pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian Produksi Moromi A1:*P. halopillus* pH 8, A2: *P. halopillus* dan *Z. rouxii* pH 8, A3: *Z. rouxii* pH 8, A4: *Z. rouxii* pH 5

a. Pembuatan Koji

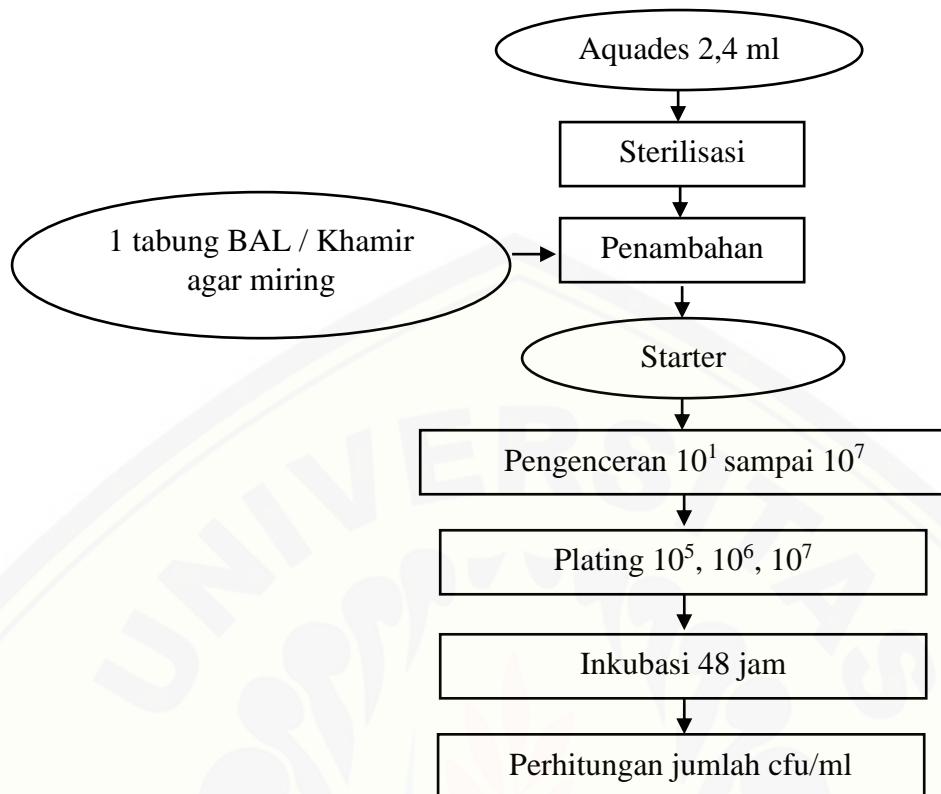
Pembuatan koji dimulai dari pencucian dan perendaman 100 gram kedelai yang bertujuan agar kedelai menyerap air sehingga kedelai mengembang. Selanjutnya kedelai direbus selama 15 menit menggunakan air 200 ml kemudian ditiriskan. Setelah cukup dingin dilakukan fermentasi dengan penambahan ragi tempe (*Rhizopus oryzae*) 1,5% menggunakan suhu ruang selama 3 hari. Kemudian koji dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari. Proses pembuatan koji kedelai dapat dilihat pada diagram alir Gambar 3.2



Gambar 3. 2 Diagram Alir Pembuatan Koji Kedelai

b. Pembuatan starter

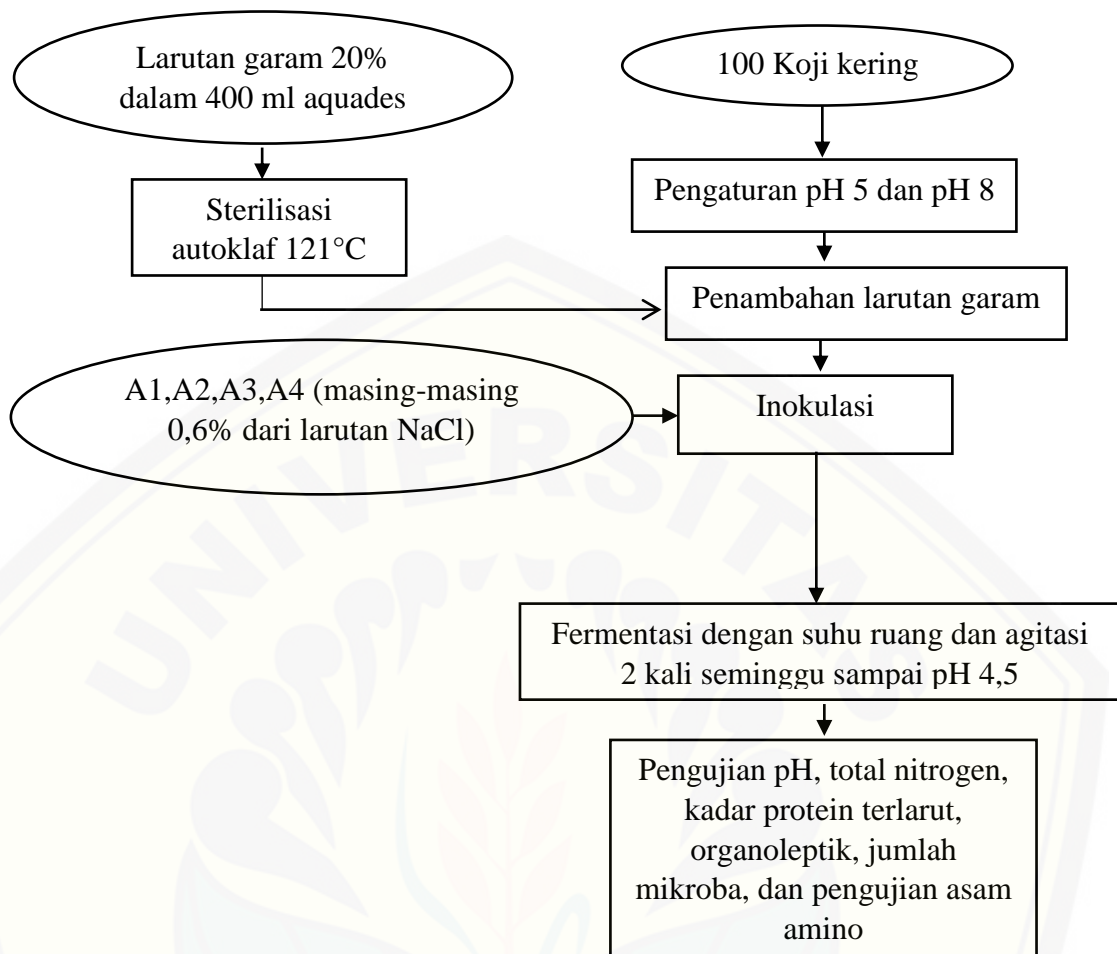
Langkah awal dalam pembuatan starter yaitu menyiapkan aquades steril sebanyak 2,4 ml yang dituangkan pada setiap tabung reaksi. Selanjutnya kultur BAL/khamir yang telah tumbuh pada media agar miring diambil semua menggunakan ose, lalu dimasukkan ke dalam aquades steril. Sebelum digunakan sebagai starter moromi dilakukan pengujian untuk mengetahui apakah inokulum tersebut dapat tetap tumbuh pada larutan moromi sebanyak 400 ml. Pengujian dilakukan dengan cara starter diencerkan dari 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 . Kemudian pada pengenceran 10^5 , 10^6 , 10^7 diplating dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam dilakukan perhitungan jumlah bakteri asam laktat dan khamir menggunakan *colony counter*. Proses pembuatan starter dapat dilihat pada Gambar 3.3



Gambar 3. 3 Diagram Alir Pembuatan Starter

c. Pembuatan Moromi

Moromi dibuat dengan cara mencampurkan 100 gram koji kering dengan larutan garam 20% yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan inokulum *Pediococcus halophilus* dan *Zygosaccharomyces rouxii* dengan perlakuan A1;A2;A3;A4 dan difermentasi dengan suhu ruang, selama fermentasi juga dilakukan pengadukan sebanyak 2 kali dalam seminggu serta pengujian pH per minggu selama 4 minggu. Setelah moromi telah mencapai pH 4,5 dilakukan pengujian nitrogen, kadar protein terlarut, jumlah mikroba dan profil asam amino setelah fermentasi selesai Gambar 3.4



Gambar 3. 4 Diagram Alir Proses Fermentasi Moromi A1:*P. halopillus* pH 8, A2: *P.halopillus* dan *Z. rouxii* pH 8, A3: *Z. rouxii* pH 8, A4: *Z. rouxii* pH 5

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dari moromi kedelai hitam meliputi pengukuran pH, kadar protein terlarut (Metode Lowry), kadar total nitrogen (Metode Kjeldal), organoleptik meliputi aroma dan rasa, jumlah mikroba (*Haemacytometer*), profil asam amino (UPLC).

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Pengukuran pH Cairan Moromi

Pengukuran pH dilakukan menggunakan alat pH meter Eutech (resolusi 0,01). pH meter sebelum digunakan dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan buffer pada pH 4 dan 7. pH meter dinyalakan dan dipilih mode pH. Tekan

CAL untuk memulai mode kalibrasi. Elektrode pH meter dimasukkan pada larutan buffer (pH 4 atau 7) dan dibiarkan sampai menunjukkan angka sesuai larutan buffer yang digunakan (± 30 detik). Setelah pembacaan pH stabil (berhenti berkedip), tekan enter dan secara otomatis akan muncul nilai pH sesuai larutan buffer. Elektroda pada pH meter dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Elektroda dibiarkan tercelup didalam larutan selama beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil. Kemudian angka yang muncul dimonitor pH dicatat. Pengukuran pH larutan terfermentasi dilakukan tiga kali pengukuran (Astuti, 2012).

3.5.2 Analisis Kadar Protein Terlarut Cairan Moromi

Pengukuran kadar protein terlarut dilakukan berdasarkan metode lowry (Sudarmaji, 1997). Sampel larutan moromi sebanyak 10 ml disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernathan sebanyak 0,2 ml ditera dalam 10 ml, selanjutnya diambil 0,5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan reagen Mix-Lowry 2,5 ml lalu divortex dan dibiarkan selama 10 menit. Larutan tersebut ditambah follin 0,25 ml, lalu divortex dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu ditambah aquades sebanyak 1,75 ml, lalu divortex dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar Bovin Serum Albumin (BSA) untuk dihitung kadar protein terlarutnya.

Kurva standar lowry dibuat dari BSA pada beberapa konsentrasi. Konsentrasi BSA yang digunakan adalah 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; dan 0,7mg/ml. Larutan stok BSA 10 mg/ml dibuat dengan menimbang BSA sebanyak 10 mg dan ditera dalam labu takar 10 ml. Selanjutnya larutan stok BSA diambil 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; dan 0,7 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan reagen Mix-Lowry 2,5 ml lalu divortex dan dibiarkan selama 10 menit. Larutan tersebut ditambah follin 0,25 ml, lalu divortex dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu ditambah aquades sampai volume 5 ml dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm (Astuti, 2012).

3.5.3 Analisis Organoleptik Cairan Moromi

Pengujian organoleptik dilakukan menggunakan parameter warna, dan aroma kepada 3 panelis terbatas yang dikhususkan sebagai panelis moromi di industri kecap. Aroma yang diujikan terdiri dari aroma asam, aroma kedelai sedangkan untuk warna yaitu tingkat kecoklatannya. Kemudian hasil dari ketiga panelis tersebut dirata-rata sehingga dapat diketahui moromi mana yang hamper sama dengan moromi melalui fermentasi spontan.

3.5.4 Uji Total Nitrogen Cairan Moromi

Total nitrogen ditentukan dengan metode semi mikro kjeldahl. Sampel larutan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambahkan asam sulfat pekat serta katalis Na_2SO_4 dan CuSO_4 (perbandingan 1:1), kemudian didestruksi dengan cara memanaskan. Sampel yang sudah didestruksi didestilasi dengan menambahkan NaOH 50% dan memakai penampung HCl (0,02 N). Destilasi dihentikan sampai semua amonia tertampung (kira-kira 10 sampai 15 menit). Larutan penampung kemudian dititrasi dengan NaOH 0,02 N (Sudarmadji, 1984).

$$\text{Total Nitrogen} = \frac{(\text{ml blanko} - \text{ml titrasi}) \times \text{N NaOH} \times 14,007}{\text{berat sampel (g)}}$$

3.5.5 Jumlah Mikroba Metode Counting Chamber (Lay, 1994)

Perhitungan populasi yeast menggunakan metode *Counting Chamber* dengan alat *haemocytometer*. Metode Hemasitometer yaitu metode perhitungan secara mikroskopis. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm^2 . Satu kotak ditengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,05 mm. Satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui (Mikapin, 2012).

Medium fermentasi yang akan dianalisa dengan cara larutan moromi diambil sebanyak 1 ml dilakukan pengenceran menggunakan aquades steril dengan volume 9 ml pada setiap tabung selanjutnya diencerkan lagi dengan cara mengambil 1 ml kemudian dimasukkan pada aquades dengan volume 9 ml dan

divortex. Kemudian dari pengenceran tersebut diambil 0,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml *metilen blue*. Setelah itu dipindahkan dengan mikro pipet ke *haemocytometer*, kemudian kotak-kotak yang berisi sel dicari serta populasi mikroba diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran terkecil terlebih dahulu, yaitu 4x10. Jika kotak-kotaknya telah ditemukan *yeast* diamati dengan perbesaran yang lebih besar agar lebih jelas terlihat yaitu 10x10 kemudian diperbesar lagi menjadi 40x10. Jumlah mikroba yang berada di kotak ukuran kecil dihitung dengan menggunakan *counter*. Perhitungan dilakukan secara representatif pada 5 kotak, jumlah mikroba dicatat dan dihitung kepadatannya. Berikut rumus perhitungan populasi mikroba:

Luas kotak yang dihitung = $p \times l$

Volume kotak yang dihitung (kotak sedang) = luas kotak yang dihitung \times kedalaman

Jumlah sel/ml dalam kotak sedang

$$\frac{\text{Jumlah sel (sel)}}{\text{volume kotak yang dihitung (ml)} \times \text{jumlah kotak yang dihitung}} \times \text{FP sampel} \times \text{FP metilen blue}$$

Keterangan:

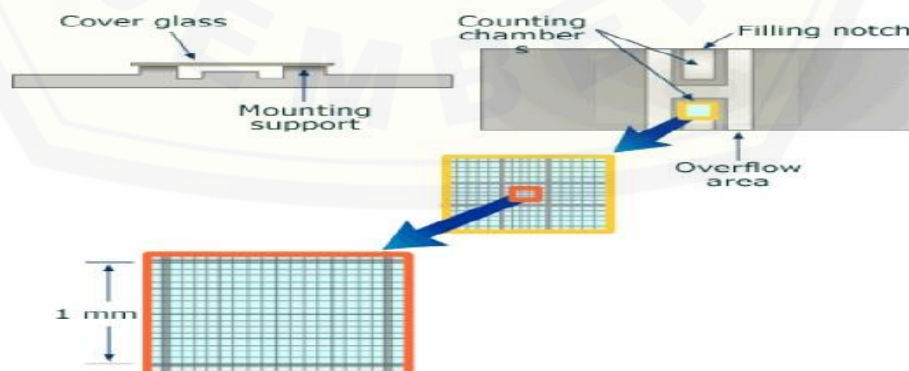
FP : Faktor pengenceran

Panjang = 0,2 mm

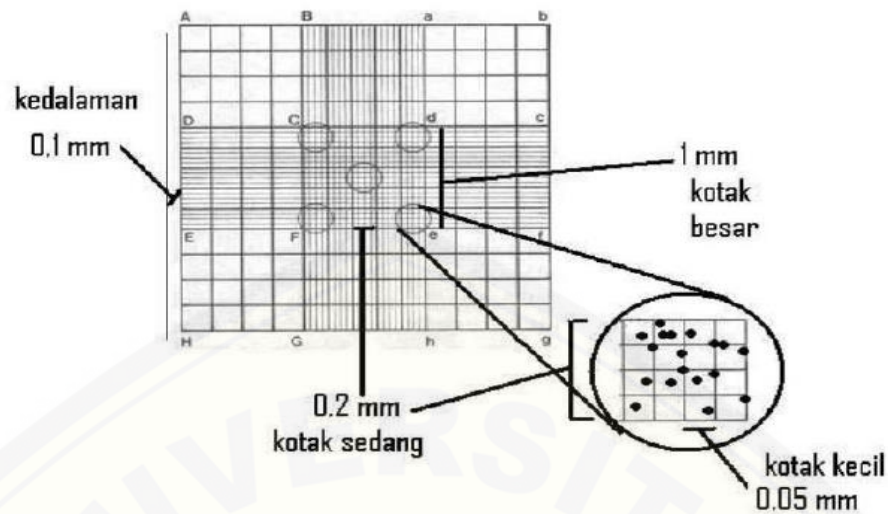
Lebar = 0,2 mm

Tinggi = 0,1 mm

Gambar *haemocytometer* dan kotak-kotaknya dapat dilihat pada Gambar 3.5 dan 3.6.



Gambar 3.5 *Haemocytometer*
Sumber : Simulab (2017)



Gambar 3. 6kotak haemacytometer

Sumber: Laboraturium Medik (2017)

3.5.6 Profil Asam amino

Pengujian profil asam amino dilakukan dengan metode UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). Analisis ini dilakukan dengan menggunakan sampel moromi 10 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup, lalu ditambahkan 5 mL HCL 6 N dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian dihidrolisis pada suhu 110°C selama 22 jam, lalu dinginkan pada suhu kamar dan dipindahkan dalam labu takar 50 mL. Kemudian ditambahkan aquades hingga tanda batas, lalu disaring dengan filter 0,45 μm dan dipipet 500 μL filtrat. Filtrat ditambahkan 440 μL AABA dan 460 μL aquabides lalu dipipet 10 μL , lalu tambahkan 70 μL AccQ Fluor Borat dan divortex. Ditambahkan 20 μL reagen Flour A dan divortex, lalu didiamkan selama 1 menit dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C. Kemudian disuntikkan pada UPLC. sebanyak 1 μL dengan kondisi kromatografi menggunakan kolom ACCQ-Tag Ultra C18, temperatur 49°C, fase gerak sistem komposisi gradient, detektor PDA, laju alir 0,7 $\mu\text{L}/\text{menit}$ dan panjang gelombang 260 nm (SIG, 2013).

3.6 Analisa Data

Data hasil penelitian yang diperoleh diolah menggunakan analisis secara deskriptif. Data yang dihasilkan selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel atau grafik disertai *error bars* untuk memudahkan intrepretasi.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5 dan 8 memiliki waktu fermentasi lebih cepat (4 minggu) dibandingkan proses fermentasi moromi secara spontan yang membutuhkan waktu 6 minggu. Kandungan protein terlarut moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5 (6,48 mg/ml) lebih rendah dibandingkan dengan moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 8 (7,33 mg/ml). Meskipun demikian moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5 memiliki aroma kedelai yang kuat. Kuatnya aroma kedelai dapat dibuktikan dengan tingginya nilai asam amino pembentuk flavor moromi yaitu asam aspartat dan asam glutamat masing-masing 9217,02 $\mu\text{g/g}$ dan 3894,29 $\mu\text{g/g}$.

Selain itu, penggunaan kombinasi inokulum *Z. rouxii* dan *P. halophilus* pH 8 tidak dapat meningkatkan flavor moromi. Flavor moromi yang dihasilkan lebih asam karena adanya *P. halophilus* yang berperan dalam menghasilkan asam laktat. Moromi yang diproduksi menggunakan kombinasi inokulum *Z. rouxii* dan *P. halophilus* pH 8 memiliki asam aspartat (3106,27 $\mu\text{g/g}$) dan asam glutamat (7506,69) lebih rendah, diduga karena protein yang terhidrolisis selama fermentasi lebih kecil dibandingkan dengan moromi yang diproduksi menggunakan *Z. rouxii* pH 5.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai produksi moromi menggunakan *P. halophilus* dan *Z. rouxii* dengan waktu fermentasi 2,4,6 minggu secara bersamaan. Selain itu, perlu penelitian lanjutan terkait pengaruh penambahan inokulum *P. halophilus* dan *Z. rouxii* terhadap karakteristik kecap untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen.

DAFTAR PUSTAKA

- Aarnikunnas J. 2006. *Metabolic Engineering of Lactic Acid Bacteria and Characterization of Novel Enzymes for The Production of Industrially Important Compounds*. Helsinki : Faculty of Veterinary Medicines. University of Helsinki.
- Adisarwanto, T., 2005. *Budidaya Kedelai dengan Pemupukan yang Efektif dan Penguatan Peran Bintil Akar*. Penebar Swadaya. Jakarta.104.
- Andriana, dan Desinta. 2014. Pengaruh Substitusi Kacang Gude (*Cajanus Cajan*) Terhadap Kadar Protein dan Daya Terima Kecap Kedelai. *Journal of Public Health*. 3 (3): 54-60.
- Astawan, M., 2009. *Sehat dengan Tempe Panduan Lengkap Menjaga Kesehatan dengan Tempe*. Jakarta: PT. Dian Rakyat.
- Astuti, B.B. 2012. Karakteristik Moromi yang Dihasilkan dari Fermentasi Moromi Kecap Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L.) Pada Kondisi Fermentasi yang Berbeda. *Tesis*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Axelsson L. 2004. Lactic acid bacteria: classification and physiology. Di dalam Salminen S, Wright SV, Ouwehand A, editor. *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects* Third edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker, Inc. 19-68.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan. 2006. *Surat Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia* No. Hk.00.05.52.4040 Tahun 2006 Tentang Kategori Pangan. Jakarta.
- Bertoldi, F.C., F.S., Santanna, dan L.H., Eeirao. 2002. Reducing The Bitterness of Tuna (*Euthyrnus Pelamis*) Dark Meat With *Lactobacillus casei* Subsp. *Casei* ATCC 392. *Journal Food Technology*. 87 (5): 41-45.
- Cahyadi,W. 2006. *Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Caira, S., P. Ferranti, M. Gatti, M. E. Fornasari, F. Barone, S. Lilla, G. Mucchetti, G. Picariello, L. Chianese, E. Neviani, dan F. Addeo. 2003. Synthetic Peptides as Substrate for Assaying The Proteolytic Activity of *Lactobacillus helveticus*. *Journal of Dairy Research*. 70: 315-325.
- Chae, H.J., H. Joo, dan M. In. 2001. Utilization of Brewer's Yeast Cells for The Production of Food-Grade Yeast Extract. *Journal Bioresource Technology*. 76: 253-258.

- Chou, C., dan M. Ling. 1999. Biochemical Changes In Soy Sauce Prepared with Extruded and Traditional Raw Materials. *Journal Food Research Internasional*. 31 (6-7): 487-492.
- Coster, E., dan H. R. White. 1964. Further Studies of The Genus *Pediococcus*. *Journal Microbiology*. 37: 15-31.
- Datar, R. P., R. M. Shenkman, B. G. Cateni, R. L. Huhnke, dan R. S. Lewis. 2004. Fermentation of Biomass Generated Producer Gas Ethanol. *Journal Biotechnology and Bioengineering*. 86 (5):587-594
- Desniar. 2011. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat asal Bekasam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 14 (2) : 124 – 133
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*: Jakarta.
- Fajri, P., R. R. Utami, dan N. Edi. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Moromi Terhadap Viskositas, Kadar Protein Terlarut, Aktivitas Antioksidan, dan Sensori Kecap Bungkil Wijen Putih Sangrai dan Non Sangrai. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 5. (2): 1-10
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama..
- Fessenden. 1999. *Kimia Organik*. Jilid II. Edisi Ketiga. Penerjemah: Hadyana, A.. Jakarta: Erlangga
- Fukushima, D. 2004. Industrialization of Fermented Soy Sauce Production Centering Around Japanese Shoyu. *Journal Industrialization of indigenous fermented foods*. 58 (7): 1-88.
- Gandjar, I., dan S. Wellyzar. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Haerani, Hamdana. 2016. *Pengembangan Kecap dari Air Kelapa*. Makassar. Seminar Nasional.
- Hutkins, R.W. 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing Asia. Australia.
- Ibrahim, R., P., Widyastuti, dan P.H, Riyad. 2014. Mutu Kecap Ikan yang Terbuat dari Isi Perut Ikan Manyung dengan Konsentrasi Garam yang Berbeda. Semarang. *Jurnal Saintek Perikanan*. 9 (2) : 18-23.

- Impoolsup, A., A. Bhumiratana, dan T.W. Flegel. 1981. Isolation of Alkaline and Neutral Proteases from *Aspergillus Flavus* Var. *Columnaris*, A Soy Sauce Koji Mold. *Applied and Environmental Microbiology* 42: 619 – 628.
- Iwasaki, K-I., M. Nakajima, dan H. Sasahara. 1993. Rapid Continuous Lactic Acid Fermentation by Immobilised Lactic Acid Bacteria for Soy Sauce Production. *Process Biochemical*. 28: 39-45.
- Jansen M., J.H. Veurink., G-Jw Euverink., dan L. Dijkhuizen. 2003. Growth of The Salt-Tolerant Yeast *Zygosaccharomyces rouxii* In Microtiter Plates; Effects of NaCl, pH, and Temperature on Growth and Fusel Alcohol Production from Branched-Chain Amino Acids. *Fems Yeast Research*.3:313-318.
- Junaidi, L. 1987. Pengaruh Pembersihan Koji dari Kapang Terhadap Efektivitas Fermentasi Kedelai Hitam dan Kedelai Kuning Pada Proses Pembuatan Moromi untuk Kecap. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Juste, A., B. Lievens, I. Frans, T.L. Marsh, M. Klingeberg, C. W. Michels, dan K.A. Willems. 2008. Genetic and Physiological Diversity of *Tetragenococcus halophilus* Strains Isolated From Sugar and Salt Rich Environments. *Journal Biochemistry and Molecular Biology*. 154: 31-35.
- Kato, H., M. R. Rhue., dan T. Nishimura. 1989. Role of Free Amino Acids And Peptides In Food Taste. *Journal American Chemical Society*. 158-174
- Kementerian Perindustrian RI. 2015. *Direktori Perusahaan Industri Kementerian Perindustrian*. Diakses 1 April 2015.
- Kim, J.S., dan Y.S. Lee. 2008. A Study of Chemical Characteristics of Soy Sauce and Mixed Soy Sauce: Chemical Characteristics of Soy Sauce. *Europe Food Research Technology*. 227: 933-944.
- Kobayashi, T. 2000. *Genetic and Physiological Diversity of Tetragenococcus Halophilus Strains Isolated From Sugar and Salt-Rich Environments*. Department Of Biotechnology.
- Koswara, S. 1997. *Mengenal Makanan Tradisional Hasil Olahan Kedelai*. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 8 (2): 75-76.
- Kristiani, H. 2013. Pengaruh Diferensiasi Produk Terhadap Loyalitas Pelanggan. *Skripsi S1*. Bandung: Universitas Pendidikan,

- Laboratorim Medik. Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit (Kamar Hitung Neubauer). <http://www.infolabmed.com/2017/04/pemeriksaan-hitung-jumlah-leukosit>
- Lay, B. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Maryani, dan Rina. 2007. Analisis Permintaan dan Penawaran Industri Kecap di Indonesia. *Skripsi*. Departemen Ilmu Ekonsomi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Matthews A. 2004 Lactic Acid Bacteria As A Potential Source of Enzymes for Use In Vinification. *Appl Environ Microbiol* 70: 5715–5731.
- Meutia, Y.R. 2015. Standarisasi Produk Kecap Kedelai Manis Sebagai Produk Khas Indonesia. Bogor. *Jurnal Standarisasi*. 17(2):147-156.
- Muangthai, P, U. P. Suwunna, dan W. Patumpai. 2009. Development of Healthy Soy Sauce From Pigeon Pea and Soybean. *Journal of Food and Agro Industry* 2: 291 – 301.
- Naiola, Elidar. dan S.S., Yati. 2007. Fermentasi Kecap dari Beberapa Jenis Kacang-Kacangan dengan Menggunakan Ragi Mutan *Aspergillus sp.* K-1 dan *Aspergillus sp.* K-1a. *Jurnal Ilmiah Nasional*. 8 (5): 9-17.
- Nisa CF, R.H., Hani, T., Wastono, dan B., Baskoro. Moestijanto. 2001. Produksi Nata dari Limbah Cair Tahu (*Whey*) Kajian Penambahan Sukrosa dan Ekstrak Kecambah. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2 (2): 74-78.
- Nisimura, T., dan H. Kato. 1988. Taste of Free Amino Acids and Peptides. *Food Reviews Internasional*. 4: 175-194.
- Nooryantini, Y., Fitriani, R., dan Kharina. 2010. Kualitas Terasi Udang dengan Suplementasi *Pediococcus halophilus* (FNCC-0033). *Artikel online Ilmiah Perikanan*. 35:791
- Nunomura, N., dan M., Sasaki,. 1986. *Soy Sauce Legume-Based Fermented Foods*. Crc Press Inc. Boca Raton, Florida.
- Panghegar. 1989. *Aspek-Aspek Teknologi Pengolahan Kecap Pada Perusahaan Kecap Zebra dan Bemo*. Laporan Praktik Lapang Fakultas Teknologi Pertanian. Bogor: Institut pertanian Bogor
- Pratiwi, R.F. R. Utami, dan E. Nurhartadi. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Moromi Terhadap Viskositas, Kadar Protein Terlarut, Aktivitas Antioksidan dan Sensori Kecap Bungkil Wijen Putih Sangrai dan Non Sangrai. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 5 (2):1-10.

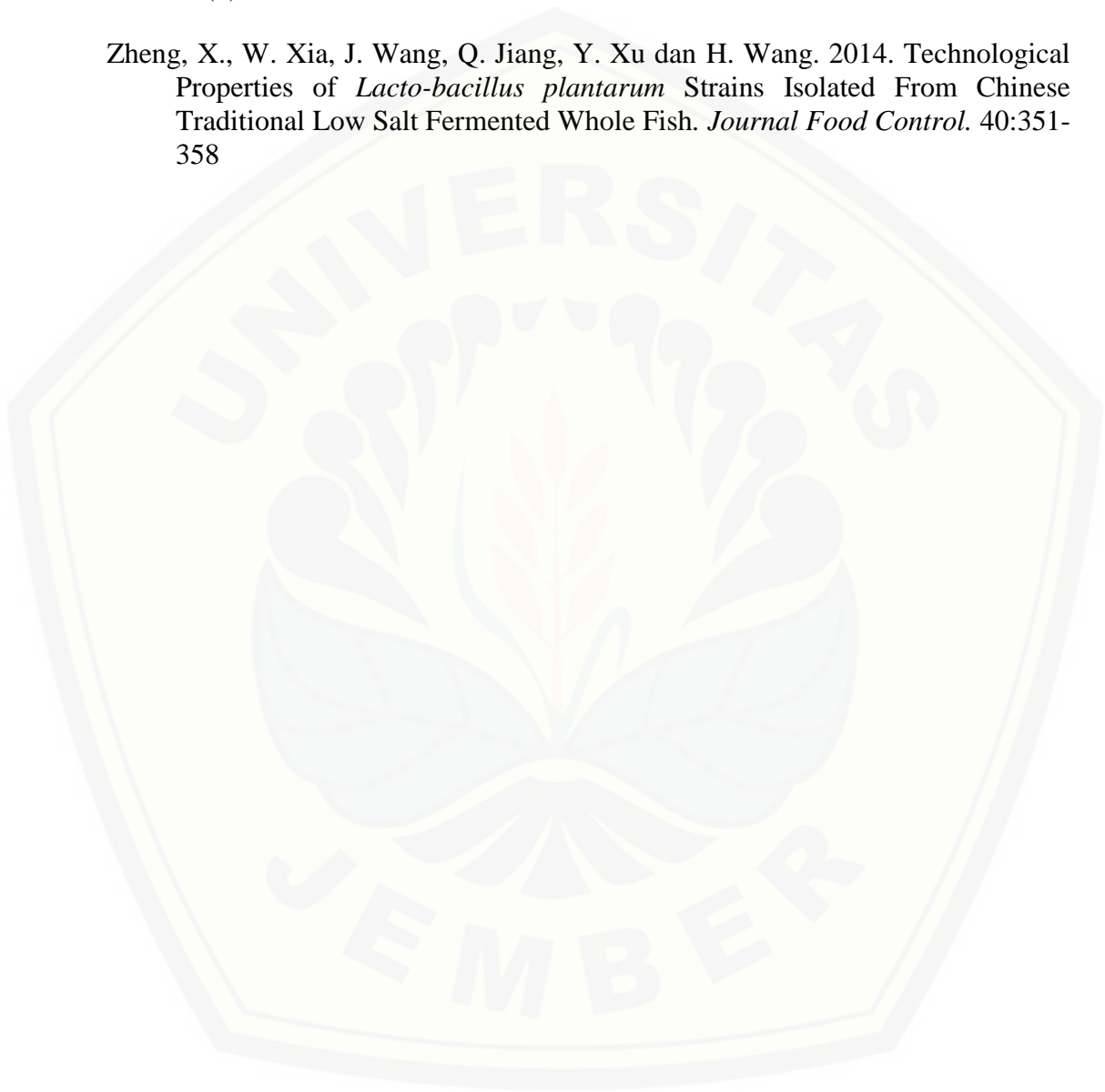
- Purwoko, Tjahjadi, dan N.S.Handajani. 2007. Kandungan Protein Total dan Terlarut Kecap Manis Tanpa Fermentasi Moromi Hasil Fermentasi *R. oryzae* dan *R. oligosporus*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Puspawati N.N., L., Nuraida, dan D.R., Adawiyah. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung Untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Air Susu Ibu Pada Proses Pengeringan Beku. *Journal Teknologi Pangan*. 1: 59-65
- Putranto, P.S. 1992. Pola Gel Elektroforesis Protein Tempe Kedelai. *Skripsi*. Yogyakarta:Universitas Gajah Mada.
- Rahayu, A., P., Suranto, dan Tjahjadi. 2005. Analisis Karbohidrat, Protein, dan Lemak Pada Pembuatan Kecap Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*) Terfermentasi *Aspergillus oryzae*. *Jurnal Bioteknologi*. 2: 14– 20.
- Rolling, W.F.M., W. Henk., dan V. Van. 1996. Characterization of Tetrigenococcus Halophila Populations In Indonesia Soy Mash (Kecap) Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*. 62(4): 120-123.
- Rosida, D.F, W. Apriyono. dan F.R., Zakaria. 2013. Karakteristik Moromi dan Kecap Manis Serta Kajian Aktivitas Antioksidannya. *Artikel Teknologi Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rosida., E. Karti, dan B.S. Nasim. 2003. *Pengaruh Konsentrasi Starter Lactobacillus Plantarum dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas dan Kerusakan Produk Terasi*. Surabaya.: Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur.
- Saripah H., dan D., Setiasih. 1980. *Dasar-Dasar Pengawetan*. Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan. Jakarta.
- Septiani, Yona , P. Tjahjadi, dan P. Artini 2004. Kadar Kabohidrat, Lemak, dan Protein Pada Kecap dari Tempe. Surakarta. *Jurnal Bioteknologi*.1 (2) : 48-53.
- Setiawati, dan Budi. 2006. Kedelai Hitam Sebagai Bahan Baku Kecap Tinjauan Varietas dan Lama Fermentasi Terhadap Mutu Kecap. *Jurnal Ilmu Pertanian* 2. (2).
- Simulab.2016.TheHaemocytometer.[Http://Simulab.Ltt.Com.Au/4/Laboratory/Studynotes/Snhaemo.Htm](http://Simulab.Ltt.Com.Au/4/Laboratory/Studynotes/Snhaemo.Htm). [Diakses Pada 25 Oktober 2017]
- Steamer, J.R. 1979. *Lactic Acid Bacteria*. Public Health and Spoilage Aspect. Westport: Avi Pub.

- Sumantha, A., C. Larriche, dan A. P. ey. 2006. Microbiology and Industrial of Food Grade Protease : A perspective. *Food. Technology, Biotechnology*, 44. (2) : 211-220.
- Sumantri, Budi. 2001. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penerbit Alumni: Bandung.
- Suprapti, L. 2005. *Kecap Tradisional*. Kanisius. Yogyakarta. 69 Hlm.
- Suprpto, 1993. *Bertanam Kedelai*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Suyadi, N., dan S. Muyani. 2012. Total Yeast, pH, Cita Rasa Asam dan Cita Rasa Alkohol Pada Es Krim dengan Penambahan Starter *Saccharomyces cerevisiae* Pada Lama Pemeraman yang Berbeda. *Jurnal Pangan* 1:246-257
- Van der Sluis, C., 2001. Enhancing and Accelerating Flavour Formation by Salt-Tolerant Yeasts In Japanese Soy-Sauce Processes. *Journal Trends in Food Science and Technology* 12: 322-327.
- Van der Sluis, C., 2000. Effect of Threonine, Cystathionine and The Branched-Chain Amino Acids on The Metabolism of *Zygosaccharomyces rouxii*. *Journal Enzyme Microbial Technology*. 26, 293–301.
- Wang, H.L., E.W. Swain, C.W. Hesseltine, dan H.D. Heath. 1979. Hydration Of Whole Soybeans Affects Solids Losses And Cooking Quality. Dalam Pan, Z., W. Tangratanavalee. 2002. Characteristics Of Soybeans As Affected By Soaking Conditions. *Journal Lebensm Technology*. 36: 143-151.
- Wicaksana, B,R,A. Y.S Darmanto., dan L. Rianigsih. 2013. Pengaruh Penambahan Starter *Pediococcus* Pada Pembuatan Kecap Ikan Terhadap Jumlah Senyawa Kimia dan Koloni Bakteri. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 2 (3): 31-40.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz, dan D. Fardiaz. 1980. *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta : PT. Gramedia.
- Winarsi, dan Heri. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya Bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wulandari, A.G. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Moromi Terhadap Kualitas Filtrat Sebagai Bahan Baku Kecap. *Skripsi*. Bogor: Institute Pertanian Bogor
- Yokotsuka T. 1986. *Soy Sauce Biochemistry*. Adv. Food Res. 30: 195329.

Yokotsuka, T. 1985. *Traditional Fermented Soybean Foods. Comprehensive Biotechnology*. Pergamon Press, Oxford.

Yuliana N. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi Indonesia Hasil Pertanian*. 13(2): 108-116.

Zheng, X., W. Xia, J. Wang, Q. Jiang, Y. Xu dan H. Wang. 2014. Technological Properties of *Lacto-bacillus plantarum* Strains Isolated From Chinese Traditional Low Salt Fermented Whole Fish. *Journal Food Control*. 40:351-358



LAMPIRAN PERHITUNGAN

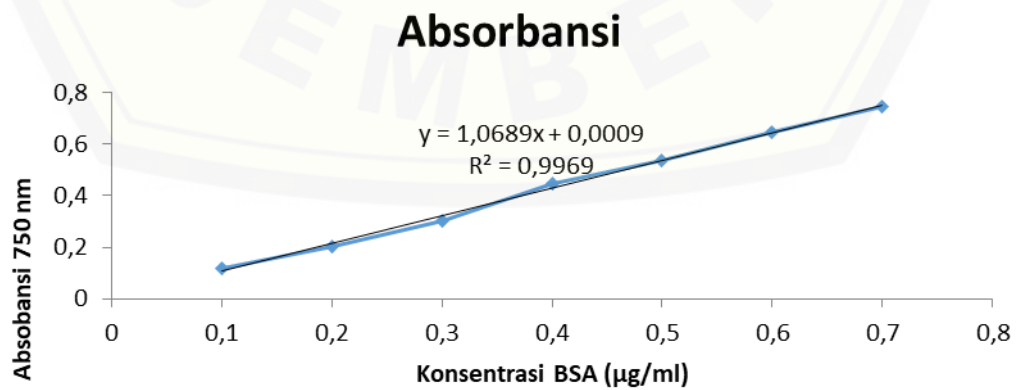
Lampiran 1. Data hasil Pengamatan pH Moromi

Perlakuan	Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
A1	8	5,9	4,5	-	-
A2	8	5,8	4,5	-	-
A3	8	5,9	4,9	4,8	4,5
A4	5	6	5,2	4,9	4,5

Lampiran 2. Data Kandungan Protein Terlarut Moromi

Kurva standart

Konsentrasi BSA		
(mg/ml)	Absorbansi	Volume cuplikan (ml)
0,1	0,12	0,1
0,2	0,202	0,2
0,3	0,304	0,3
0,4	0,447	0,4
0,5	0,536	0,5
0,6	0,645	0,6
0,7	0,745	0,7



$$X = \frac{\text{absorbansi} - 0,0009}{1,0689} \times \text{FP}$$

Contoh perhitungan pada sampel A1U1

$$X = \frac{0,276 - 0,0009}{1,0689} \times 50$$

$$X = 12,8 \text{ mg/ml}$$

Perlakuan	Absorbansi	x (mg/ml)	Rata-rata (mg/ml)	Standart Deviasi
A1U1	0,276	12,868369	12,88396171	0,87
A1U2	0,295	13,757134		
A1U3	0,258	12,026382		
A2U1	0,21	9,7810834	10,01496866	0,23
A2U2	0,215	10,014969		
A2U3	0,22	10,248854		
A3U1	0,16	7,4422303	7,333083856	0,12
A3U2	0,155	7,208345		
A3U3	0,158	7,3486762		
A4U1	0,13	6,0389185	6,459912059	0,40
A4U2	0,147	6,8341285		
A4U3	0,14	6,5066891		
Kontrol	0,115	5,3372626	5,35285496	0,21
Kontrol	0,12	5,5711479		
Kontrol	0,111	5,1501544		

Lampiran 3. Data Kadar Nitrogen Moromi

Perlakuan	Berat sampel	Titrasi Sampel	Titrasi blanko	selisih	Nitrogen	rata-rata	STDV
A1							
U1	0,5024	0,8	0,1	0,7	1,951752	1,94476	0,01
U2	0,503	0,8	0,1	0,7	1,949423		
U3	0,5	0,79	0,1	0,69	1,933104		
A2							
U1	0,5107	0,75	0,1	0,65	1,782886	1,814482	0,03
U2	0,5009	0,75	0,1	0,65	1,817768		
U3	0,5017	0,76	0,1	0,66	1,842791		
A3							
U1	0,5057	0,72	0,1	0,62	1,717413	1,69244	0,02
U2	0,5006	0,7	0,1	0,6	1,678945		
U3	0,5	0,7	0,1	0,6	1,68096		
A4							
U1	0,5041	0,68	0,1	0,58	1,611712	1,679522	0,06
U2	0,5171	0,72	0,1	0,62	1,679551		
U3	0,5211	0,75	0,1	0,65	1,747304		
Kontrol							
U1	0,5021	0,62	0,1	0,52	1,450739	1,401479	0,16
U2	0,5041	0,65	0,1	0,55	1,528348		
U3	0,503	0,54	0,1	0,44	1,225352		

$$\%N = \frac{(Ts - Tb) \times 0,1 \times 14,008 \times 100\%}{\text{berat sampel}}$$

Ket:

Ts: Titrasi sampel

Tb: Titrasi blanko

Contoh perhitungan pada moromi A1U1

$$\%N = \frac{(0,80 - 0,10) \times 0,1 \times 14,008 \times 100\%}{0,5024}$$

$$= 1,94 \%$$

Lampiran 4. Data Organoleptik Moromi

Panelis	Aroma asam	Aroma kedelai	Warna moromi	Ket
1	4	2	4	A1
2	4	1	3	
3	4	2	3	
1	3	3	3	A2
2	3	2	3	
3	3	2	3	
1	2	3	3	A3
2	2	4	3	
3	2	4	3	
1	2	4	3	A4
2	2	4	3	
3	2	3	3	

Rerata hasil

	aroma asam	aroma kedelai	Wana
A1	4	1,7	3
A2	3	2,3	3
A3	2	3,7	3
A4	2	3,7	3

Lampiran 5. Data Jumlah Mikroba

Analisis perhitungan jumlah mikroba yaitu 1 ml sampel ditera dengan factor pengenceran sampel adalah 100, sedangkan faktor pengenceran MB (*metilen blue*) adalah 2. mikroba kemudian dihitung dalam kotak sedang, pada *haemocytometer* dibawah mikroskop,

Diketahui volume kotak yang dihitung pada *haemocytometer* yaitu:

$$\begin{aligned} &= p \times l \times t \times \text{jumlah kotak yang dihitung} \\ &= 0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm} \times 5 \\ &= 0,02 \text{ mm}^3 = 0,02 \times 10^{-3} \text{ ml} = 2 \times 10^{-5} \text{ ml} \end{aligned}$$

Jumlah sel/ml dalam kotak sedang

$$\frac{\text{Jumlah sel (sel)}}{\text{volume kotak yang dihitung (ml)}} \times FP \text{ sampel} \times FP \text{ metilen blue}$$

Keterangan:

FP : Faktor pengenceran

Ukuran kotak sedang pada *haemocytometer*:

Kotak sedang:

Panjang = 0,2 mm

Lebar = 0,2 mm

Tinggi = 0,1 mm

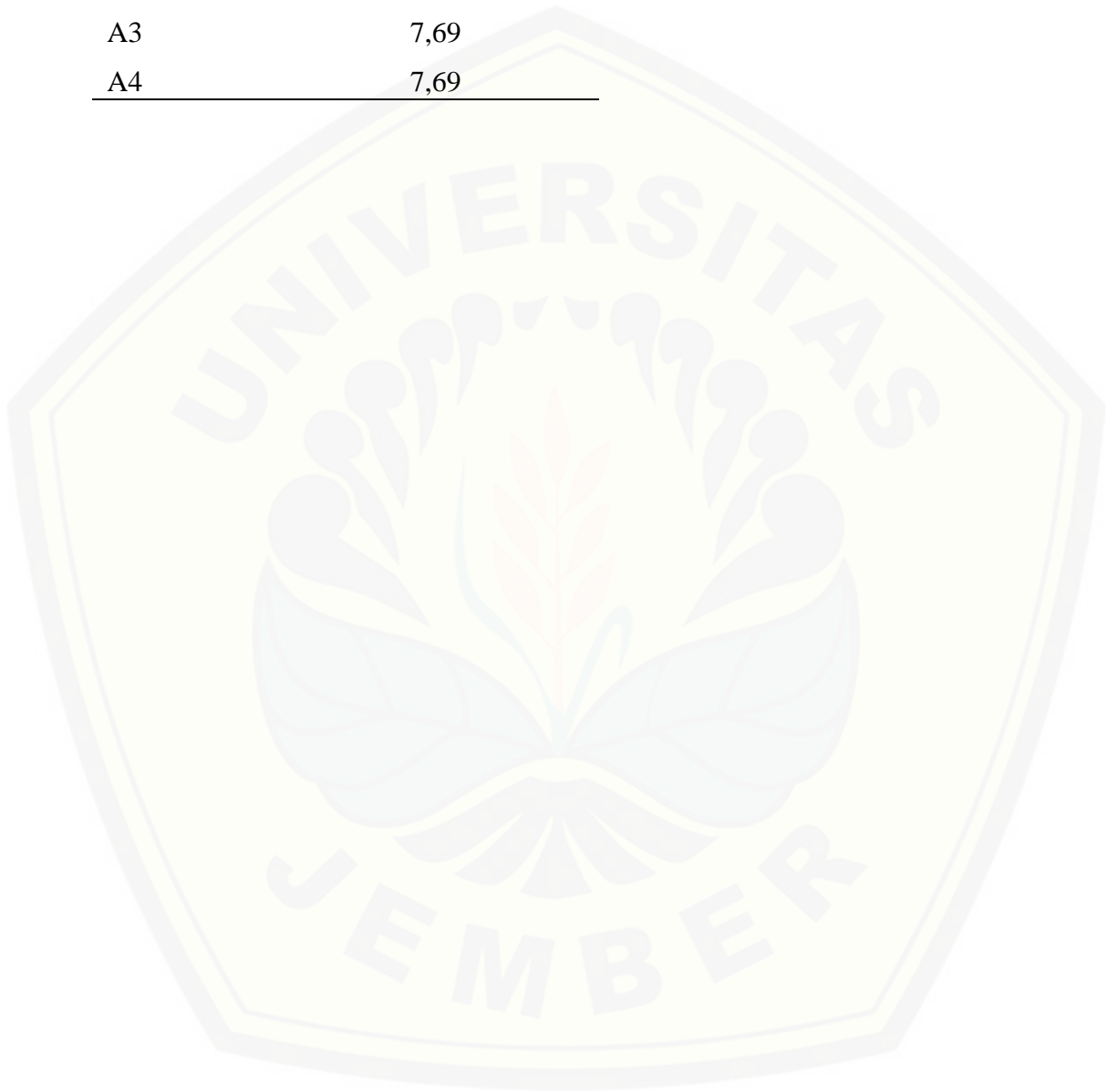
Contoh perhitungan pada sampel moromi A1

Jumlah sel = 19

Sehingga

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= \frac{19}{0,00002} \times 100 \times 2 \\ &= 19 \times 10^7 \text{ sel/ml} \\ &= 8,27 \text{ cfu/ml} \end{aligned}$$

Perlakuan	Populasi mikroba
	Jumlah cfu/ml
A1	8,27
A2	8,27
A3	7,69
A4	7,69



LAMPIRAN GAMBAR

Koji Kedelai



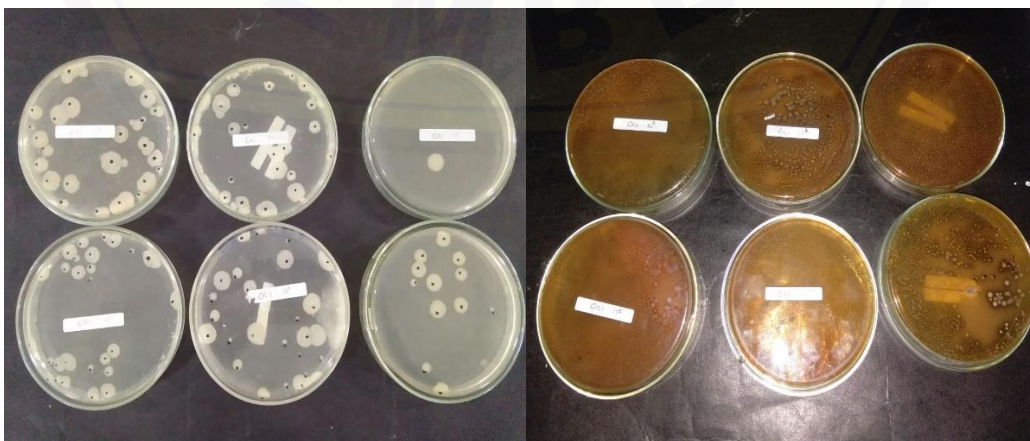
Pengukuran pH awal

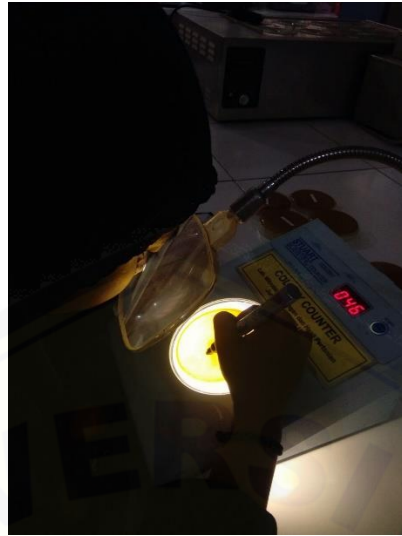


Peremajaan mikroba



Plating





Fermentasi Moromi



Larutan Moromi



Penyaringan



Pengujian



Uji Kadar Protein Terlarut



Uji Populasi Mikroba (*Haemocytometer*)