

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kedelai

Kedelai atau *Glycine max* (L) Merril adalah tanaman penting bagi sumber bahan makanan manusia. Pentingnya kedelai bagi manusia karena kedelai banyak mengandung zat-zat yang dibutuhkan manusia. Kedelai juga banyak mengandung asam lemak esensiil, yaitu asam lemak tak jenuh yang tidak dapat dihasilkan oleh tubuh manusia (Hartomo dan Widiatmoko, 1993). Menurut Somaatmadja (1985), klasifikasi dari kedelai adalah sebagai berikut:

Divisio: Spermatophyta

Class: Dicotyledoneae

Ordo: Polypetales

Famili: Leguminosae

Genus: *Glycine*

Species: *Glycine max* (L) Merril

Hasil penelitian terhadap kedelai kuning dan kedelai hitam yang dilakukan oleh Basrah (1981), diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 01: Komposisi kimia kedelai

	Kedelai Kuning	Kedelai Hitam
Air (%)	10,2	12,3
Protein (%)	35,1	33,3
Lemak (%)	17,7	15,0
Karbohidrat (%)	32,0	35,4
Serat kasar (%)	4,2	4,3
Abu (%)	5,0	4,0
Kalsium (mg/100g)	226	213
Fosfor (mg/100g)	546	509
Besi (mg/100g)	8,5	9,5
Kalium (mg/100g)	1504	410
Carotene (mg/100g)	10	10
Thiamin (mg/100g)	0,66	0,65
Riboflavin (mg/100g)	0,22	0,23
Niasin (mg/100g)	0,22	2,8

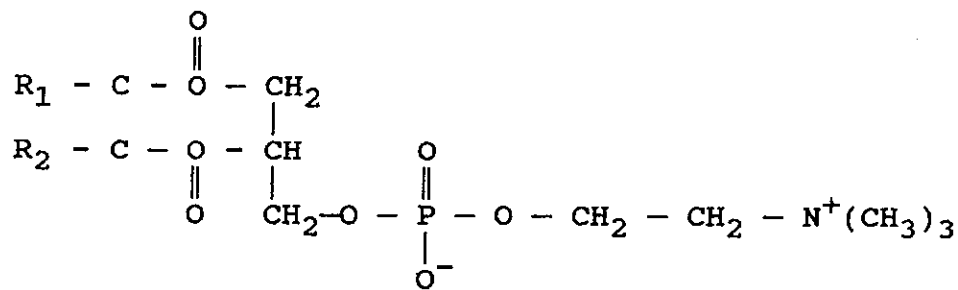
(Basrah, 1981)

1. Lesitin

Kedelai dengan kandungan protein sekitar 35%, merupakan sumber protein yang cukup tinggi. Disamping itu kedelai juga mengandung lemak yang diantaranya terdiri dari : trigliserida, asam lemak bebas maupun fosfolipida yang diperlukan tubuh manusia (Kateren, 1986).

Di dalam kedelai ternyata juga terkandung senyawa hypokholesteramik lesitin. Lesitin ini termasuk golongan fosfolipida. Ditinjau dari struktur kimianya, lesitin merupakan ester gliserol dengan dua molekul asam lemak dan satu molekul asam fosfat (Markley, 1961). Jumlah lesitin pada ekstrak kedelai sekitar 1 persen (Hartomo dan Widiatmoko, 1993).

Secara sederhana struktur kimia lesitin dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 1: Struktur lesitin

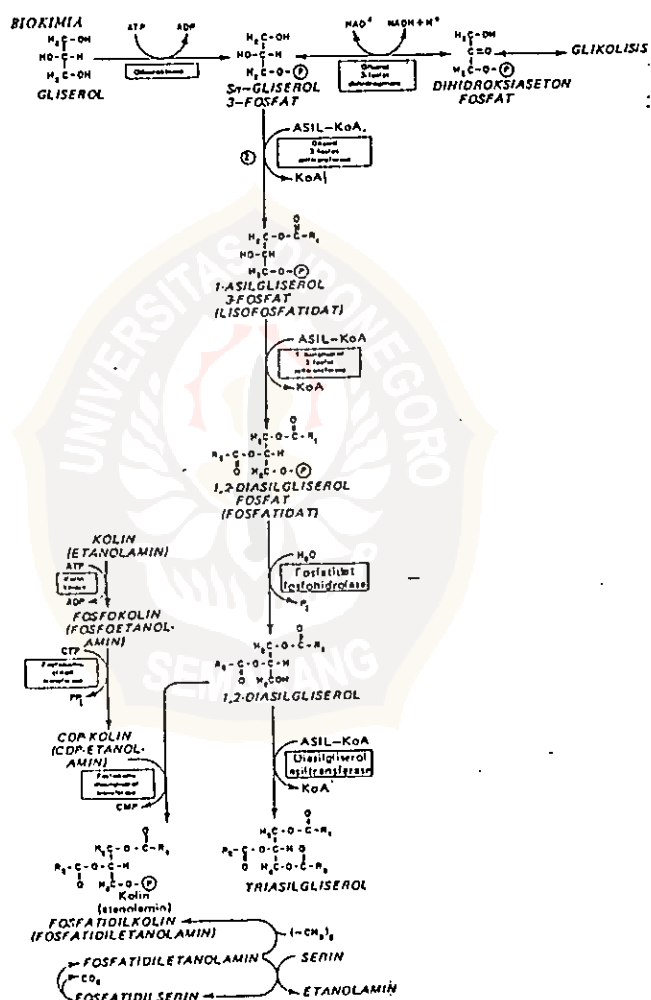
(Hartomo dan Widiatmoko, 1993).

Di dalam tubuh, senyawa lesitin akan bereaksi dengan kolesterol membentuk lisolesitin dan ester kolesterol. Pembentukan ester kolesterol ini karena ester kolesterol dimetabolisme lebih cepat di dalam hati dan jaringan lain, sehingga mempercepat pergantian dan ekskresi kolesterol (Mayes, 1983).

2. Biosintesa lesitin

Pada proses biosintesa lesitin diawali dengan pengaktifan gliserol dan asam lemak oleh ATP, sebelum keduanya masuk ke dalam asilgliserol. Gliserokinase akan mengkatalisis aktivasi gliserol menjadi sn-gliserol-3-fosfat, dengan fosforilasi. Jika enzim ini tidak ada, sebagian besar gliserol 3-fosfat diambil dari zat antara sistem glikolisis yaitu dihidroksiaseton fosfat, yang membentuk gliserol 3-fosfat dengan reduksi dengan NADH yang dikatalisis oleh gliserol 3-fosfat dehidrogenase (Mayes, 1983).

Selanjutnya asam-asam lemak diaktifkan menjadi asil-KoA oleh enzim asil-KoA sistetase, dengan memakai ATP dan KoA. Dua molekul asil-KoA bergabung dengan gliserol 3-fosfat untuk membentuk 1,2-diasil-gliserol fosfat (fosfatidat). Fosfatidat dirubah oleh fosfatidat fosfohidrolase menjadi 1,2-asilgliserol (Mayes, 1983).

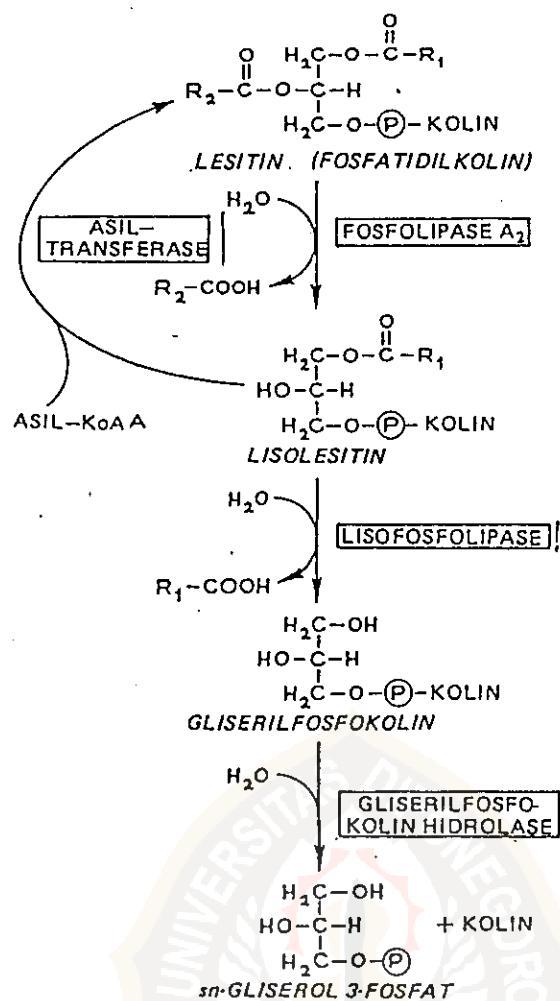


Gambar 02 : Biosintesis triasilgliserol dan fosfolipid
(Mayes, 1983).

Proses selanjutnya, kolin dirubah menjadi kolin aktif. Kemudian akan bereaksi dengan ATP untuk membentuk monofosfat yang sesuai, diikuti oleh reaksi berikutnya dengan CTP untuk membentuk citidin difosfokolin (CDP-kolin). Dalam bentuk ini, kolin bereaksi dengan 1,2-diasilgliserol sehingga basa yang terfosforilasi dipindahkan ke diasilgliserol untuk membentuk fosfatilkolin atau sering disebut dengan lesitin (Mayes, 1983).

3. Degradasi lesitin

Proses degradasi yang terjadi pada lesitin, disebabkan oleh aktifitas hidrolitik fosfolipase. Fosfolipase ini akan menghidrolisis ikatan ester dari lesitin untuk membentuk asam lemak bebas dan lisolesitin (lihat Gambar 03). Lisolesitin akan dipecah lagi dengan mengeluarkan gugus 1-asil yang tersisa dan dengan membentuk gliserofosfokolin. Gliserofosfokolin yang terbentuk dapat dipecah oleh suatu hidrolase dengan membebaskan gliserol 3-fosfat ditambah basa kolin (Mayes, 1983).



Gambar 03 : Proses degradasi lesitin (fosfatidilkolin)
(Mayes, 1983).

4. Asam lemak

Asam lemak adalah asam karbohidrat yang diperoleh dari hidrolisis ester, terutama ester gliserol. Asam lemak yang terdapat di alam biasanya mengandung atom karbon genap dan merupakan derivat berantai lurus. Rantai dapat jenuh atau tidak jenuh (Mayes, 1983).

Pada minyak tumbuh-tumbuhan mengandung sekitar 10% - 20% asam lemak jenuh dan sekitar 80% - 90% asam

lemak tidak jenuh (Montgomeri, 1983). Asam lemak tidak jenuh pada minyak kedelai sebagian besar berupa asam linoleat. Asam lemak ini termasuk asam lemak esensiil yang penting bagi tubuh kita (Basrah, 1988).

Fungsi asam lemak esensiil ternyata bermacam-macam. Salah satunya adalah pada diet yang memerlukan asam lemak tidak jenuh ganda dalam pengobatan hiperkolesterolemia, biasanya diketahui bahwa diet tersebut diperkaya dengan asam linoleat, meskipun dalam pemakaian klinik jarang disebutkan (Montgomeri, 1983).

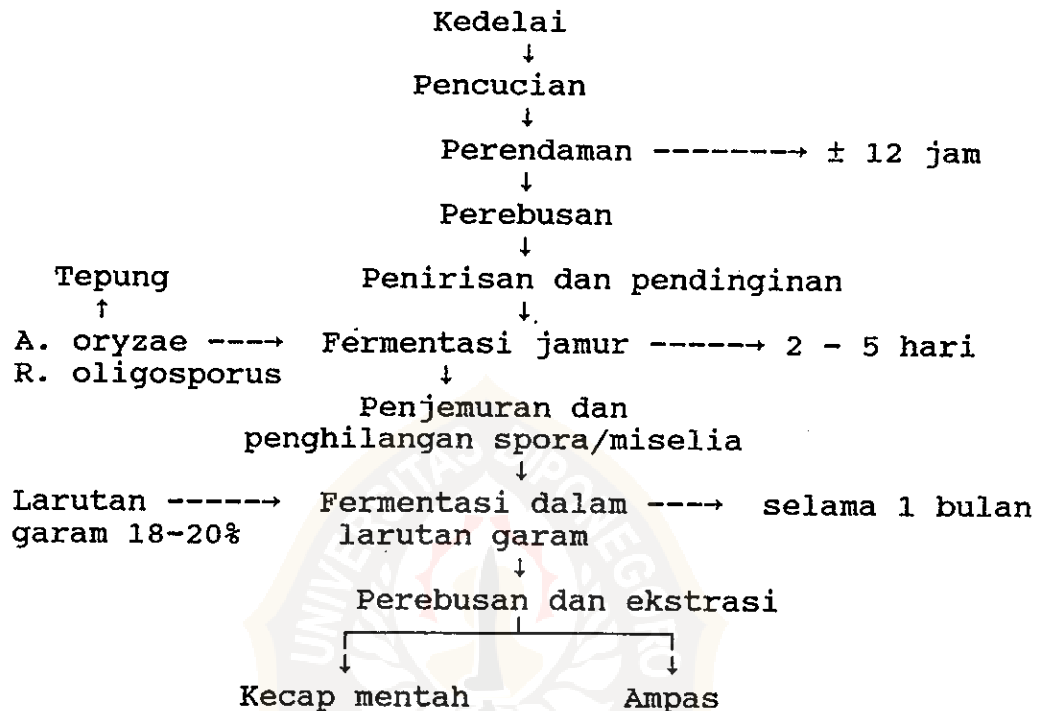
Selain itu menurut Mayes (1983) dikatakan bahwa apabila asam lemak bebas tertimbun dan berdifusi ke dalam plasma, akan berikatan dengan albumin dan menaikkan konsentrasi asam lemak bebas plasma. Asam lemak bebas ini merupakan salah satu sumber bahan bakar terpenting untuk banyak jaringan.

B. Kecap

Kecap merupakan salah satu jenis makanan hasil fermentasi yang cukup banyak dikonsumsi di Indonesia, berupa produk cair berwarna gelap, mempunyai rasa asin atau manis dan digolongkan dalam makanan yang mempunyai aroma aroma menyerupai ekstrak daging. Peranan kecap dapat memperkuat aroma dan memberikan warna pada daging, ikan, sayuran atau bahan

pangan lain (Kuswanto dan Sardjono,1988).

Proses pembuatan kecap yang menggunakan bahan baku kedelai dapat digambarkan dengan diagram alir sebagai berikut :



Gambar 3: Diagram alir proses pembuatan kecap

Pada pembuatan kecap secara tradisional, perebusan biji kedelai biasanya dilakukan pada waktu yang cukup lama kira-kira 4 - 5 jam. Untuk memperpendek waktu perebusan, kini banyak dilakukan perebusan dengan tekanan tinggi (Rahayu dkk, 1993).

Perendaman dan perebusan kedelai sebelum proses fermentasi akan menyebabkan kadar air biji meningkat dan biji mengembang serta lunak. Pada keadaan

demikian mudah terjadi penetrasi miselia ke dalam biji, sehingga komponen di dalamnya mudah digunakan oleh jamur (Rahayu dkk, 1993).

Pembuatan kecap tradisional dengan bahan dasar kedelai tanpa campuran biji-bijian lain, sering terjadi kontaminasi berat oleh bakteri. Tingginya kadar air pada kedelai setelah direbus (57% -58%) mendukung pertumbuhan *Bacillus*. Bakteri ini dapat menghasilkan bau yang khas dan lendir sehingga permukaan koji menjadi lengket. Kondisi yang demikian akan menyulitkan pertumbuhan jamur (Rahayu dkk, 1993).

Untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh bakteri, maka kadar air biji kedelai harus dijaga relatif rendah (Narahara, 1981). Penurunan kadar air kedelai dapat dilakukan dengan menambahkan gandum. Meskipun penambahan gandum dapat menurunkan kadar nitrogen kecap, namun demikian adanya gandum dapat menurunkan kadar air kedelai dari 60% menjadi 45% yang merupakan batas pertumbuhan bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri dapat ditekan (Yokotsuka, 1977).

Sebelum proses fermentasi dalam larutan garam dilakukan, terlebih dahulu koji yang dihasilkan dijemur untuk memudahkan penghilangan spora atau miselia (Kuswanto dan Sardjono, 1988). Secara tradisional pengeringan dapat dilakukan menggunakan sinar matahari 1 - 2 hari, namun kini pengeringan dapat dilakukan dengan pengeringan buatan dengan suhu

sekitar 50 derajat Celcius (Rahayu dkk, 1993)

Fermentasi tahap kedua pada pembuatan kecap adalah fermentasi dalam larutan garam atau sering disebut sebagai moromi. Koji setelah dikeringkan dan dihilangkan spora dan miselinya, dipindahkan ke dalam tempat yang sudah diberi larutan garam 20% (b/v). Proses moromi ini berlangsung selama 1 bulan (Rahayu dkk, 1993).

Tahap akhir proses pembuatan kecap adalah pengepresan. Hasil rendaman dimasukkan ke dalam kantong kain blacu atau sejenis, kemudian dipres. Hasil presan adalah cairan kecap mentah (Kuswanto dan Sardjono, 1988).

C. JAMUR

Salah satu usaha untuk memproduksi kecap dengan kualitas yang tinggi adalah dengan menggunakan jamur yang mempunyai daya hidrolisa yang tinggi (Rahayu dkk, 1993).

1. *A. oryzae*

A. oryzae digunakan pada proses fermentasi koji, karena *A. oryzae* mampu menghasilkan enzim-enzim hidrolitik yang tinggi. Dari hasil penelitian yang pernah dilakukan ternyata diketahui bahwa jamur *A. oryzae* mampu menghasilkan protease, amilase, lipase maupun sellulase (Rahayu dkk, 1993). Disamping itu,

dari hasil percobaan yang dilakukan oleh Heseltin (1966) terhadap 53 strain *A. oryzae* yang digunakan pada fermentasi koji, ternyata tidak menghasilkan aflatoksin.

Menurut Thom (1984), klasifikasi dari *A. oryzae* adalah sebagai berikut ;

Divisio : Thallophyta

Class : Ascomycetes

Ordo : Moniliales

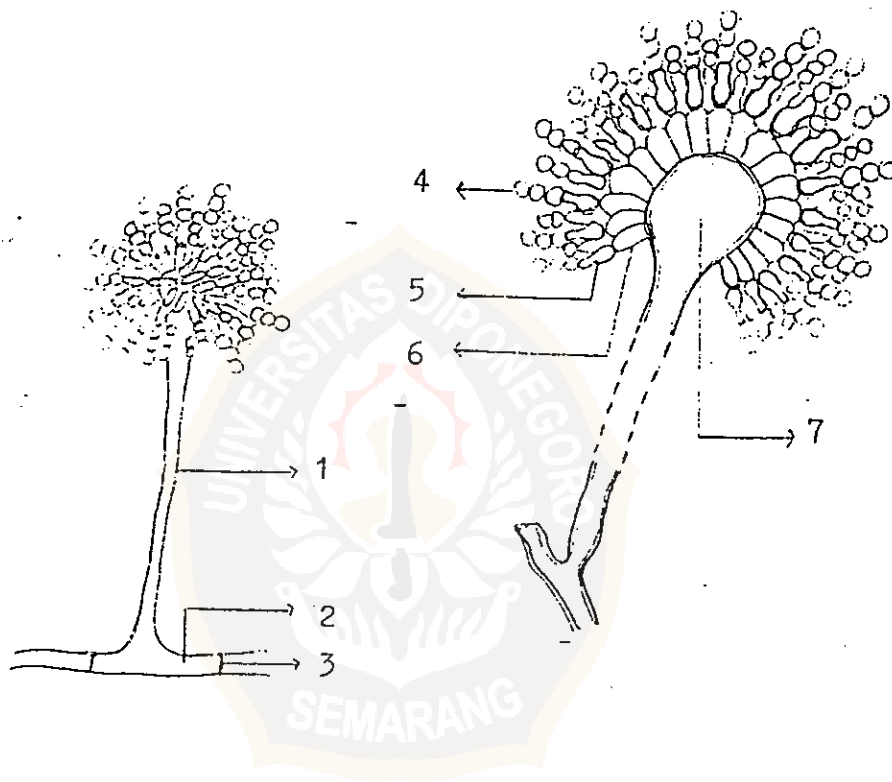
Famili : Moniliaceae

Genus : *Aspergillus*

Species : *A. oryzae*

Ciri-ciri dari *A. oryzae* adalah sebagai berikut :
Hifa bersepta dan miselium bercabang, biasanya tidak berwarna. Konidiofora muncul dari sel miselium yang membengkak dan berdinding tebal. Panjang konidiofora biasa mencapai 2 mm dengan diameter 20 - 25 μm , dinding agak tipis, kasar, dan tidak berwarna. Konidiofora bagian atas membengkak menjadi vesikel. Vesikel berbentuk bulat atau membulat dengan diameter 50 - 70 μm . Pada vesikel terdapat sterigmata sebagai tempat tumbuh konidia. Terdapat dua macam sterigmata yaitu sterigmata primer dengan diameter 12 - 15 μm , dan sterigmata sekunder dengan diameter 10 - 12 μm . Konidia biasanya berwarna kuning sampai hijau.

Besar konidia bervariasi, dengan panjang diameter mulai 3 - 4 μm , 4 - 5 μm , sampai 5 - 6 μm , berdinding agak tipis dan kasar pada beberapa strain. Sklerotia gelap, sedikit, biasanya berfungsi sebagai penghasil spora bila keadaan tidak menguntungkan (Thom, 1984).



Gambar 05 : *A. oryzae* (Thom, 1984).

Keterangan :

- | | |
|----------------|---------------------|
| 1. Konidiofora | 5. Sterigma skunder |
| 2. Sel kaki | 6. Sterigma primer |
| 3. Septat | 7. vesikel |
| 4. Konidia | |

A. oryzae bersifat meofilik, yaitu tumbuh baik pada suhu kamar sekitar 25 - 30⁰ C, akan tetapi dapat

juga tumbuh pada suhu 37⁰ C atau lebih. Jamur ini juga bersifat aerob, yaitu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Tumbuh baik pada kisaran pH antara 5 - 8,5. Dapat juga memproduksi enzim hidrolitik, misal amilase, proteinase, lipase maupun sellulase. Oleh karena itu dapat tumbuh pada makanan-makanan yang mengandung pati, protein maupun lipid (Fardiaz, 1987).

A. oryzae dapat berkembang biak secara aseksual maupun seksual. Perkembangbiakan secara aseksual, yaitu dengan cara membentuk konidiospora. Sedangkan spora seksual yang diproduksi disebut askospora. Askospora ini terbentuk dari dua sel yang berlawanan jenisnya, yang berasal dari mesilium yang sama atau dari dua miselium yang berbeda (Fardiaz, 1987).

2. *R. oligosporus*

Jamur *R. oligosporus* juga dapat digunakan dalam pembuatan kecap, meskipun daya hidrolisanya lebih rendah bila dibandingkan dengan daya hidrolisa *A. oryzae* (Rahayu dkk, 1993).

Klasifikasi dari *R. oligosporus* menurut Schipper (1978),

Divisio : Thallophyta

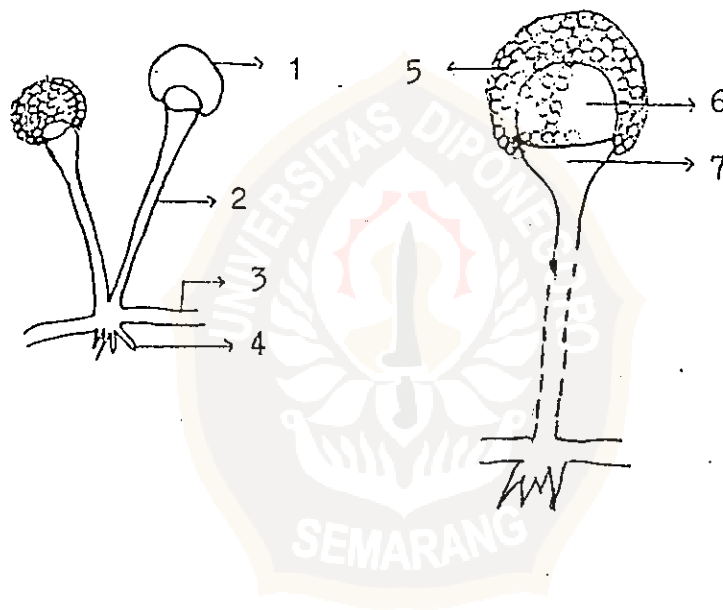
Class : Zygomycetes

Ordo : Mucorales

Famili : Mucoraceae

Genus : Rhizopus

Species : *R. oligosporus*



Gambar 06 : *R. oligosporus* (Thom, 1984)

Keterangan :

1. Sporangium
2. Sporangioforesis
3. Stolon
4. Rhizoid
5. Sporangiospora
6. Kolumela
7. Apofisis

Ciri-ciri dari *R. oligosporus* sebagai berikut : Hifa tidak bersepta. Mempunyai stolon dan rhizoid yang berwarna gelap jika sudah tua. Sporangiofora tumbuh pada noda dimana terbentuk juga rhizoid yang pendek. Sporangiofora berdiri sendiri atau dalam grup yang terdiri dari 4 -6. Panjang sporangiofora sekitar 1 mm atau lebih dengan diameter 10 -18 μm . Sporangia membulat dan berwarna abu-abu sampai hitam jika sudah masak, dengan diameter 100 - 180 μm . Kolumela bulat atau membulat dengan apofisi berbentuk cerobong. Spora bentuknya tidak teratur, bulat atau elips dengan panjang 7 - 10 μm , dan dikelilingi oleh dinding yang licin seperti kapas (Schipper, 1978).

Seperti halnya *A. oryzae*, perkembangbiakan pada *R. oligosporus* juga terjadi secara aseksual maupun seksual. Perkembangbiakan secara aseksual dilakukan dengan cara pembentukan sporangiospora. Sedangkan pembiaan seksual dilakukan dengan membentuk zigospora. Proses pembentukan zigospora ini, membutuhkan dua thallus yang berbeda jenisnya (Fardiaz, 1987).

D. Fermentasi

Fermentasi adalah suatu oksidasi-reduksi didalam sistem biologi yang menghasilkan energi, dimana sebagai donor dan aseptor elektron digunakan senyawa organik. Senyawa organik tersebut akan diubah oleh

reaksi-reaksi dengan katalis enzim, dan dapat dioksidasi menjadi asam (Winarno dan Fardiaz, 1981).

Mekanisme tersebut diatas yang terjadi pada proses pembuatan kecap, dan sebagai bahan bakunya digunakan kedelai.

1. Fermentasi Jamur

Proses pembuatan kecap pada dasarnya terdiri dari dua tahap fermentasi yaitu fermentasi jamur dan fermentasi dalam larutan garam. Pada tahap fermentasi jamur terjadi perubahan senyawa-senyawa kompleks yaitu protein, lemak dan karbohidrat, menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana karena aktivitas enzim-enzim yang dihasilkan oleh jamur yang digunakan untuk fermentasi. Jenis jamur yang digunakan sangat menentukan hasil pemecahannya (Rahayu dkk, 1993).

Agar proses pemecahan senyawa-senyawa kompleks berlangsung secara optimal, diperlukan jamur tertentu yang mampu menghasilkan enzim-enzim hidrolitik yang tinggi. Dari penelitian yang pernah dilakukan ternyata diketahui bahwa jamur *A. oryzae* mempunyai aktivitas proteolitik dan amilolitik yang tinggi. Enzim lain yang diproduksi oleh jamur ini adalah lipase dan sellulase (Rahayu dkk, 1993). Jamur yang digunakan untuk fermentasi di sini merupakan mikroba aerob yaitu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Fermentasi jamur pada pembuatan kecap dengan jumlah oksigen yang

kurang menyebabkan pertumbuhan jamur terhambat. Bahkan bila kondisi benar-benar anaerob akan tumbuh bakteri anaerob penghasil racun. (Wood dan Yong, 1975 dalam Rahayu dkk, 1993). Adanya oksigen yang berlebihan juga merugikan, karena akan menyebabkan permukaan biji kedelai cepat menjadi kering sehingga menghambat pertumbuhan jamur. Apabila oksigen yang berlebihan terjadi setelah pertumbuhan miselia, jamur akan melakukan metabolisme dengan cepat dan menghasilkan panas yang berlebihan yang dapat merugikan pertumbuhan jamur itu sendiri atau sporulasi terjadi lebih cepat. Difusi udara ke dalam biji kedelai secara perlahan dan seragam merupakan aerasi yang paling baik. Pada fermentasi jamur aerasi secara perlahan-lahan dilakukan dengan membolak-balik biji kedelai setiap hari, dengan cara ini kecuali terjadi aerasi, kenaikan suhu sampai ke batas merugikan dapat dicegah (Rahayu dkk, 1993).

Suhu yang baik untuk fermentasi jamur adalah $25 - 35^{\circ}$ C. Suhu optimum untuk pertumbuhan jamur kira-kira 35° C, tetapi suhu untuk produksi enzim adalah 30° C. Pada suhu lebih besar 40° C akan merugikan proses fermentasi, sehingga perlu diturunkan dengan membolak-balik biji kedelai yang sedang difermentasikan (Yokotsuka, 1977).

Menentukan waktu fermentasi penting di dalam pembuatan koji. Fermentasi jamur yang berlangsung secara spontan waktu fermentasinya berlangsung selama 4 - 7 hari, namun pada penggunaan inokulum murni, proses fermentasi dapat diperpendek (Rahayu dkk, 1993).

2. Fermentasi dalam larutan garam

Memasuki fermentasi pada larutan garam, terlebih dahulu miselia maupun spora yang ada pada kedelai dihilangkan dengan pemanasan. Pada awal fermentasi ini masih terjadi perombakan oleh enzim-enzim yang telah dikeluarkan selama pembuatan koji walaupun jamurnya sendiri tidak berkembang. Protein dihidrolisi menjadi asam-asam amino dan pati dipecah menjadi gula sederhana yang selanjutnya difermentasi menjadi asam laktat, alkohol dan karbon dioksida. pH moromi turun dari 6,5 - 7,0 menjadi 5,0 - 6,0 (Rahayu dkk, 1993).

Jenis yeast yang diharapkan tumbuh selama fermentasi moromi adalah *Saccharomyces* dan *Torulopsis* yang dapat membentuk aroma khas dari kecap. Jenis-jenis yeast tersebut telah diketahui berperan dalam pembentukan aroma shoyu (Yokotsuka, 1979).

Bakteri asam laktat yang bersifat osmofilik dalam moromi adalah *Pediococcus* juga yang berperan dalam pembentukan aroma pada kecap dan shoyu. Bila bakteri

asam laktat tumbuh dengan baik maka pH turun menjadi 5,0 - 6,0 sehingga yeast osmofilik dapat tumbuh (Kuswanto dan Sardjono, 1988).

Yeast yang tumbuh dalam kecap dibagi menjadi tiga golongan yaitu *Sacchharomyces*, *Zygosaccharomyces* dan *Torulopsis*. Yeast tersebut akan tumbuh apabila bakteri *Pediococcus* tumbuh dengan baik dan menurunkan pH karena terbentuknya asam laktat, dan terjadinya interaksi hasil-hasil fermentasi sehingga terbentuk aroma yang spesifik (Rahayu dkk, 1993).

Proses fermentasi dalam larutan garam pada industri kecap yang kecil selama dua sampai empat minggu, sedang pada industri yang besar antara satu sampai dua bulan. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar (kurang lebih 27° C) dan pada siang hari dilakukan penjemuran dengan sinar matahari, sehingga suhu pada permukaan moromi mencapai 50° C (Mulyono, 1987).

Disamping dijemur, juga dilakukan pengadukan 1 -2 kali sehari. Fungsi dari pengadukan ini agar pertumbuhan bakteri dan yeast berlangsung dengan baik dan suhu fermentasi merata (Rahayu dkk, 1993).