

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Kacang tolo (*Vigna sinensis* L)

Kacang tolo (*Vigna sinensis* L) adalah sejenis kacang-kacangan yang telah dikenal masyarakat. Klasifikasi selengkapnya adalah sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Anak divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Anak kelas : Dialypetalae

Bangsa : Leguminales

Suku : Leguminoceae

Anak suku : Papilionoideae

Marga : *Vigna*

Jenis : *Vigna sinensis* L

(Heyne, 1987).

Tipe tanaman kacang tolo menjalar dan mempunyai buah polong. Polong kacang tolo yang masih muda berwarna hijau dan sudah tua berwarna coklat. Panjang bijinya  $\pm 6 - 10$  mm. Buah polong ini jika masak menjadi kering dan pecah. Batang tanaman pendek, berdaun tunggal, bunga banci, zigomorf, kelopak berbilangan 5, pada pangkalnya berlekatan, mahkota berbentuk kupu-kupu terdiri

atas 5 daun mahkota dengan susunan yang khas, benang sari biasanya berjumlah 10. Perkembangbiakkannya dengan biji (Gembong, 1991).

Kacang tolo tumbuh sebagai biji-bijian kering yang dikenal sebagai "Black eye pea", "Southern bean", "China pea" dan "Marble pea". Kacang tolo merupakan tanaman yang sensitif terhadap udara dingin dan toleran terhadap udara panas serta dapat tumbuh di daerah kering (Gove, 1966).

Kacang tolo mempunyai potensi yang cukup baik dalam usaha meningkatkan nilai gizi bila dikonsumsi. Komposisi kimia kacang tolo tertera pada Tabel 01 :

Tabel 01. Komposisi kimia kacang tolo (dalam 100 gram).

Kandungan	Kadar	Satuan	Kandungan	Kadar	Satuan
Kalori	342	Kal	Vit. A	30	SI
Karbohidrat	61,9	gr	Vit. B1	0,92	mg
Protein	22,9	gr	Vit. C	2	mg
Lemak	1,4	gr	Air	86,2	%
Ca	77	mg	Serat	3,9	%
P	449	mg	Abu	3,6	%
Fe	6,5	mg			

Sumber: Anonim, 1967.

Sumber protein kacang tolo lebih baik daripada tanaman kacang-kacangan yang lain, sebab proteinnya mempunyai komposisi asam amino yang sedikit lebih tinggi daripada kacang-kacangan yang lain. Komposisi asam amino kacang tolo tertera pada Tabel 02 :

Tabel 02. Komposisi asam amino protein kacang tolo (mg/g.N)

Asam Amino	Kacang tolo	Kedele	Kacang tanah
Isoleusin	239	238	211
Leusin	440	439	400
Lisin	427	399	221
Methionin	73	79	72
Sistein	68	83	78
Total Kandungan S	141	140	150
Phenilalanin	323	309	311
Tirosin	163	169	244
Treonin	225	241	163
Thriptopan	68	57	65
Valin	300	283	261
Arginin	400	452	697
Histidin	204	158	148
Alanin	257	266	243
Asam aspartat	689	731	712
Asam glutamat	1027	1169	1141
Glisin	261	234	349
Prolin	244	343	272
Serin	268	320	299

Sumber: Comparative Nutritional and Clinical Aspects of the Winged Bean, 1978.

## B. Aspergillus

Salah satu bahan pangan hasil fermentasi yang umum di negara-negara timur adalah kecap. Dari segi mikrobiologi, mikrobia yang memegang peran penting dalam fermentasi kecap adalah kapang.

Kapang yang digunakan dalam industri kecap umumnya dan yang terpenting adalah *Aspergillus* yaitu *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus soyae* (Yokotsuka, 1960). Pada pembuatan kecap dalam skala industri rumah tangga, umumnya jenis kapang tidak diperhatikan karena masih mengandalkan tumbuhnya kapang dari tempat maupun lingkungan fermentasi. Dengan cara tersebut ternyata spesies kapang tumbuh lebih bervariasi, antara lain *A. oryzae*, *A. flavus*, *A. niger* dan *Rhizopus sp* (Winarno, 1985)

*Aspergillus* didalam taksonominya dimasukkan ke dalam kelas *Ascomycetes* oleh Alexopoulos dan Mims (1979). Klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Super kingdom : Eukaryota  
Kingdom : Mycetaceas (Fungi)  
Divisi : Amastigomycetidae  
Anak divisi : Ascomycotina  
Kelas : Ascomycetes  
Anak kelas : Plectomycetidae  
Bangsa : Eurotiales  
Suku : Euroticeae  
Marga : *Aspergillus*  
Jenis : *A. oryzae*  
*A. soyae*  
*A. wentii*

Kapang *Aspergillus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *A. oryzae*, *A. soyae* dan *A. wentii*. Ketiga kapang tersebut dibedakan berdasarkan sifat makroskopisnya antara lain pada kenampakan koloni pada medium Czapeks agar dan permukaan konidianya. Perbedaan ketiga kapang tersebut adalah berdasarkan

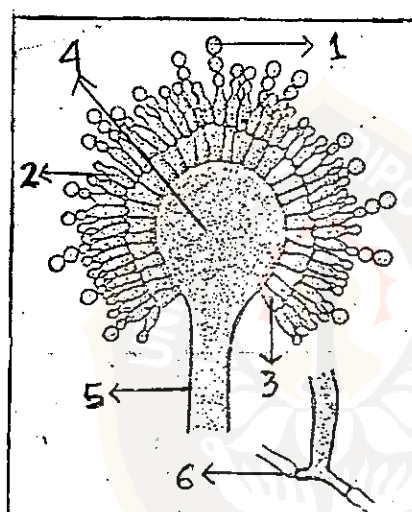
Tabel 03 :

Tabel 03. Ciri-ciri makroskopis kapang *A. oryzae*, *A. soyae* dan *A. wentii*

No	Keterangan	<i>A. oryzae</i>	<i>A. soyae</i>	<i>A. wentii</i>
1.	Kenampakan koloni pada medium Czapeks agar	hijau kecoklatan dan agak terang	hijau kekuningan	coklat kopi , coklat kuning
2.	Permukaan konidia	kasar dan tidak beraturan	seperti beludru (velvet)	terlihat licin

Sedangkan morfologi dari masing-masing kapang dapat digambarkan sebagai

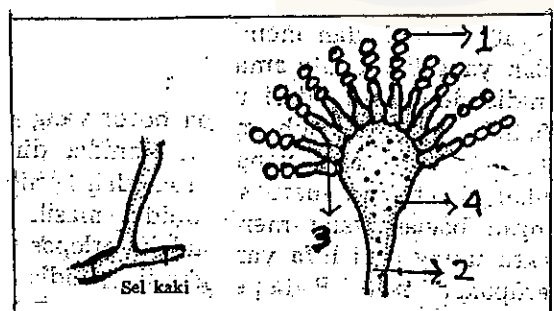
berikut :



Keterangan :

1. Konidia
2. Sterigmata sekunder
3. Sterigmata primer
4. Vesikel
5. Konidiofor
6. Sel kaki

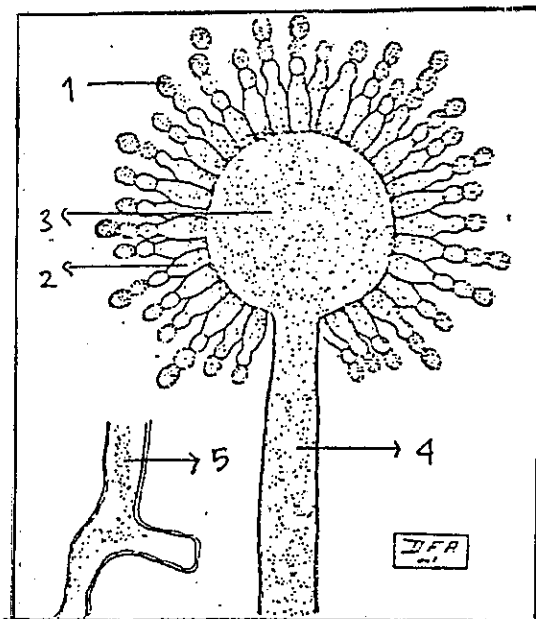
Gambar 01. Morfologi *Aspergillus oryzae* (Charles & Raper, 1975).



Keterangan :

1. Konidia
2. Konidiofor
3. Sterigmata
4. Vesikel

Gambar 02. Morfologi *Aspergillus wentii* (Charles & Raper, 1975).



Keterangan :

1. Konidia
2. Sterigmata
3. Vesikel
4. Konidiofor
5. Sel kaki

Gambar 03. Morfologi *Aspergillus soyae* (Charles & Raper, 1975).

Menurut Yokotsuka dan Ramos (1960), selama fermentasi kapang akan memproduksi enzim-enzim protease, lipidade dan amilase yang akan memecah protein, lemak dan pati menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Winarno (1985) menambahkan bahwa beberapa fraksi hasil pemecahan komponen-komponen kedele pada proses fermentasi adalah merupakan senyawa-senyawa yang menguap, yang dapat memberikan aroma, flavor spesifik pada kecap, yang umumnya terdiri dari berbagai senyawa kimia.

Kapang dalam masa pertumbuhannya menghasilkan eksoenzim/enzim hidrolitik untuk memecah senyawa yang mempunyai molekul besar menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga dapat diserap oleh dinding sel kapang untuk keperluan metabolisme sel selama pertumbuhannya (Frazier, 1988).

*A. oryzae* dan *A. soyae* merupakan kapang yang menunjukkan aktivitas proteolitik dan amilolitik dengan mengeluarkan enzim protease dan amilase.

Aktivitas protease dan amilase dari *A. oryzae* dan *A. soyae* dicapai pada saat ditumbuhkan dalam medium yang terdiri dari 4% sukrosa, 3% Na-K tartrat, 1,1% NH<sub>4</sub>Cl dan sejumlah kecil garam-garam anorganik. Campuran kedua enzim tersebut dalam fermentasi kecap akan menghasilkan citarasa yang baik (Raper & Fennell, 1965).

Temperatur optimal untuk pertumbuhan kapang *A. oryzae* dan *A. soyae* adalah 32- 36°C dan pH berkisar antara 2-8. Kondisi ini adalah kondisi maksimal untuk produksi enzim amilase dan protease (Domsch & Gams, 1980).

*A. wentii* merupakan kapang yang aktivitas amilolitik dan proteolitiknya tidak begitu kuat, tidak seperti kedua kapang di atas. Dengan demikian kemampuannya dalam memfermentasi kecap rendah, karena enzim amilase dan protease yang dikeluarkan tidak begitu banyak (Raper & Fennell, 1965). Meskipun begitu *A. wentii* juga telah dimanfaatkan untuk proses pembuatan kecap

### C. Fermentasi Kecap

Fermentasi adalah suatu reaksi oksidasi reduksi di dalam sistem biologi yang menggunakan senyawa organik sebagai donor dan aseptor elektron. Senyawa organik yang biasanya digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi suatu bentuk lain seperti aldehida dan dapat dioksidasi menjadi asam (Winarno & Fardiaz, 1979). Fermentasi adalah perubahan kimia dalam bahan pangan yang disebabkan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang ada dalam bahan makanan/bahan pangan (Ansori, 1989).

Kecap adalah cairan encer atau kental yang berwarna coklat sampai coklat tua mempunyai rasa dan aroma yang khas dan dipergunakan sebagai bahan penyedap masakan atau makanan. Umumnya kecap dibuat dari bahan baku kedele dengan cara fermentasi oleh kapang (Anonim, 1991).

Kecap merupakan salah satu bentuk makanan tradisional yang banyak digemari oleh masyarakat sebagai bahan makanan sehari-hari. Kecap berfungsi untuk menambah cita rasa/aroma masakan. Kecap juga memiliki nilai gizi yang cukup tinggi, mudah dicerna, memiliki daya simpan yang lama dan bila terserap oleh tubuh tidak menyebabkan racun (Steinkraus, 1983).

Adapun syarat mutu kecap menurut Standar Industri Indonesia (SII) dijelaskan dalam Tabel 04 :

Tabel 04. Syarat mutu kecap menurut SII.

Kadar protein	mutu I	6 %
	mutu II	2 %
Bau, rasa dan warna	Normal	
NaCl	maksimal	10 %
Sakarosa	minimal	20 %
Gula (jumlah sakarosa dan sakarosa invert dihitung sebagai sakarosa)	minimal	3,5 %
Reaksi terhadap lakmus	tidak boleh	alkalis
Zat pemanis dan warna buatan	-	
Asam benzoat/garamnya	maksimal	250 mg/kg
Bahan-bahan berbahaya	-	
Jamur	-	

Sumber: Direktorat Jenderal Industri Kecil Departemen Perindustrian Republik Indonesia, 1991.

Pembuatan kecap secara fermentasi pada prinsipnya adalah pemecahan protein, lemak dan karbohidrat oleh kapang, khamir dan bakteri menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana yang akan menentukan citarasa, aroma dan komposisi



kecap. Beberapa negara produsen kecap secara fermentasi adalah Jepang, Indonesia, Cina, Filipina dan Korea (Hardjo, 1964).

Fermentasi kecap terdiri dari dua tahap, yaitu :

#### 1. Fermentasi tahap I

Fermentasi tahap I ini dikenal dengan proses fermentasi koji (proses inokulasi kapang). Pada proses inokulasi digunakan inokulum dalam bentuk bubuk. Biasanya hanya kapang dengan kepadatan  $10^6$  -  $10^7$  konidia/ml yang dipakai, karena kapang ini mempunyai aktivitas amilolitik dan proteolitik yang tinggi.

Sebelum proses inokulasi, kacang tolo yang telah direbus dan ditiriskan, lebih baik dicampur dengan tepung terigu yang fungsinya adalah sebagai sumber karbon dan untuk menambah flavor kecap pada proses selanjutnya (Chilwan, 1988).

Fermentasi oleh kapang pada proses koji ini tujuannya adalah memecah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh enzim yang dihasilkan oleh kapang. Kapang untuk fermentasi koji ini bersifat aerob (memerlukan energi untuk pertumbuhannya). Jika  $O_2$  rendah, pertumbuhan kapang akan terhambat. Sebaliknya jika  $O_2$  tinggi, maka permukaan biji kacang cepat kering dan hal ini akan menghambat pertumbuhan kapang. Jika  $O_2$  berlebihan terjadi setelah pertumbuhan miselium, kapang akan melakukan metabolisme dengan cepat dan menghasilkan panas yang berlebihan yang dapat merugikan pertumbuhan kapang itu sendiri. Pada fermentasi kapang, aerasi secara perlahan dilakukan dengan membolak-balikkan biji kacang setiap hari, dengan demikian aerasi dan kenaikan suhu sampai ke batas merugikan dapat dicegah (Rahayu dkk, 1993).

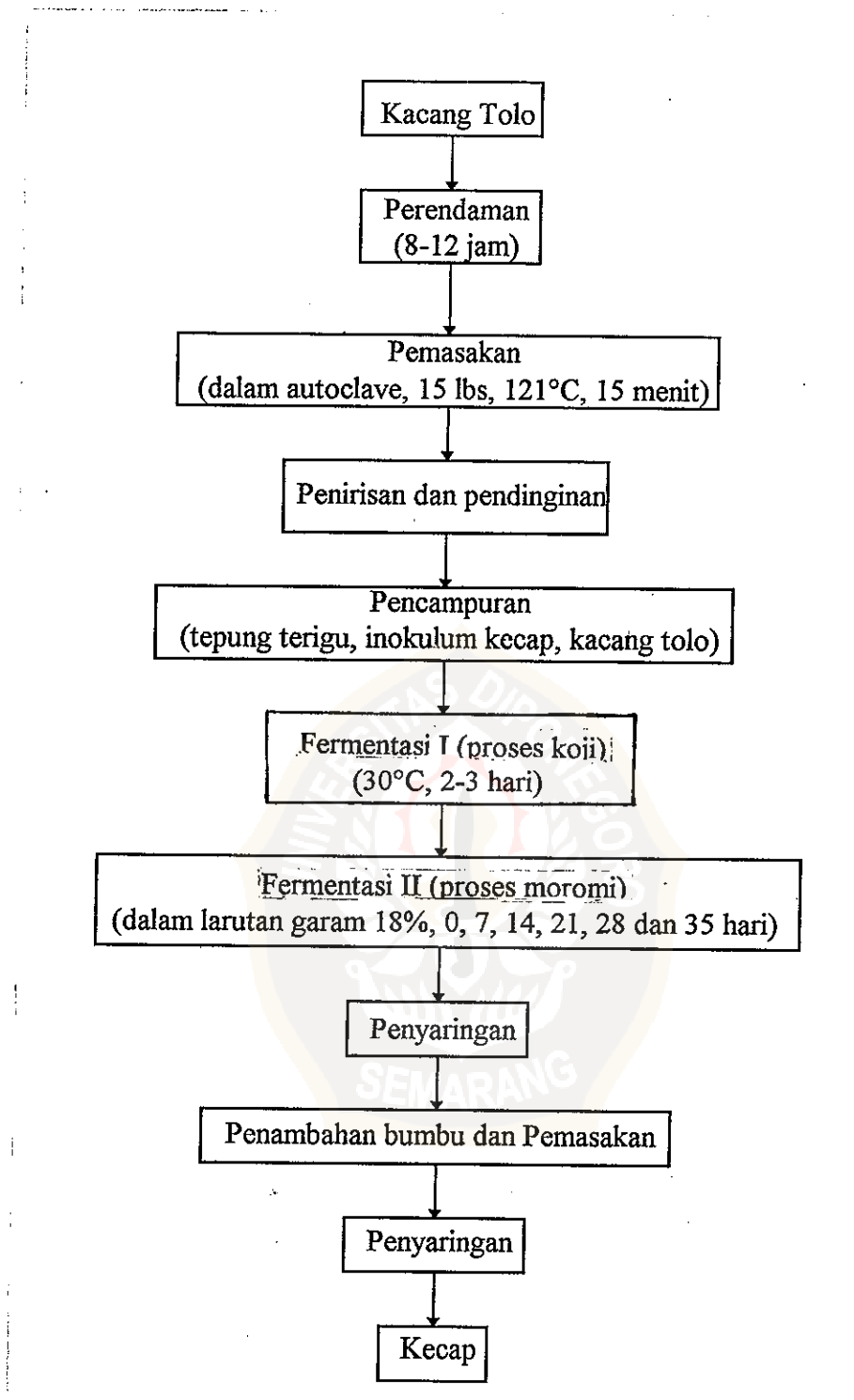
## 2. Fermentasi tahap II

Setelah selesai proses koji, dilanjutkan dengan fermentasi dalam larutan garam, yang lebih dikenal dengan fermentasi moromi. Larutan garam yang digunakan konsentrasinya berkisar antara 18 - 20%. Tingginya konsentrasi garam merupakan media yang selektif untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Fermentasi moromi tujuannya adalah hidrolisis protein menjadi asam amino dan pati yang selanjutnya dipecah menjadi gula sederhana dan akhirnya difermentasi menjadi asam laktat, alkohol dan CO<sub>2</sub> (Milono, 1977).

Martasmita dkk (1974) menyatakan bahwa makin lama waktu fermentasi dalam larutan garam, N terlarut makin tinggi. Waktu yang lebih dari 30 hari akan menurunkan kadar N terlarut karena adanya degradasi asam amino, sedangkan zat padat terlarut makin naik dan cita rasa makin enak. Hasil percobaan Slamet dan Gandjar (1977) menyatakan bahwa perendaman dalam larutan garam selama 14 hari akan menghasilkan kecap dengan N terlarut lebih tinggi daripada perendaman selama 30 hari, sedangkan cita rasa tidak berbeda.

Proses pembuatan kecap dibagi menjadi tahapan tertentu seperti tertera pada Gambar 04.



Gambar 04. Bagan Proses Pembuatan Kecap Kacang Tolo (Anonim, 1991)

#### D. Biosintesis Protein

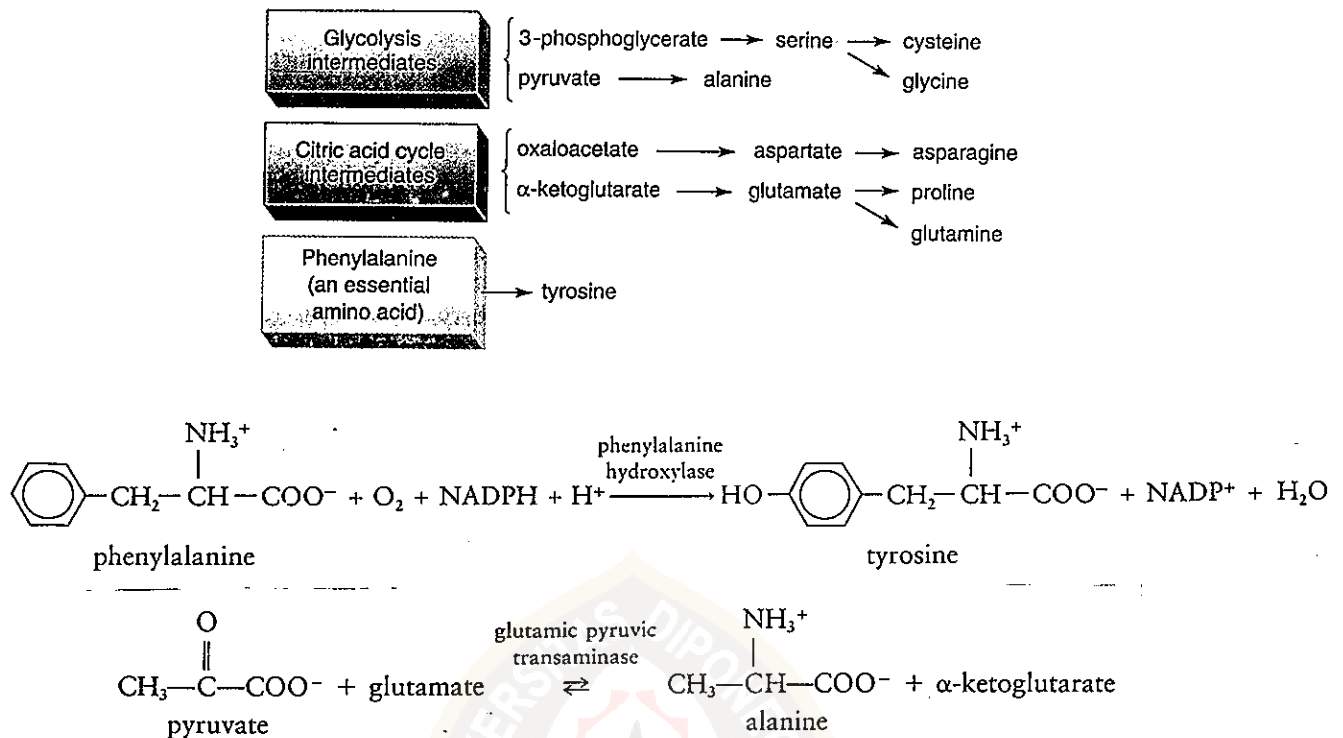
Dalam proses fermentasi kecap terdapat senyawa-senyawa kompleks yaitu karbohidrat, protein dan lipid. Senyawa-senyawa kompleks tersebut akan dipecah menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan enzim amilase, protease dan lipase. Karbohidrat dipecah menjadi glukosa melalui proses glikolisis dan menghasilkan piruvat. Lipid menghasilkan asam lemak melalui proses oksidasi asam lemak dan selanjutnya dihasilkan acetyl Co-A.

Biosintesis protein seperti pada Gambar 05 menunjukkan bahwa asam amino yang mengalami degradasi menjadi piruvat dan senyawa-senyawa antara dalam siklus asam sitrat digunakan untuk pembentukan glukosa, sedangkan asam amino yang didegradasi menjadi acetyl Co-A tidak dapat dirubah menjadi glukosa, tetapi digunakan untuk menghasilkan energi dalam pembentukan badan-badan keton dan asam-asam lemak (Seager & Michael, 1994).

Asam amino adalah penyusun protein. Sebagian asam amino mengalami proses katabolisme untuk menghasilkan produk energi dan sebagian lagi digunakan untuk mensintesis komponen nitrogen. Pada umumnya ada 3 tahap dalam katabolisme nitrogen, tetapi dalam kaitannya dengan proses fermentasi hanya 2 tahap saja yang dibahas yaitu transaminasi (katabolisme kelompok amino menjadi asam keton dengan bantuan enzim transaminase) dan deaminasi (katabolisme asam amino menjadi asam keto dan ammonia).

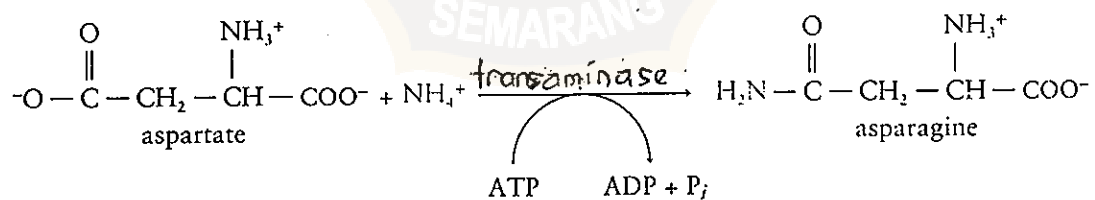
Dari proses di atas, maka asam amino dapat dibedakan menjadi asam amino nonesensial (asam amino yang dapat disintesis oleh tubuh) dan asam amino esensial (asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh) (Seager & Michael, 1994).

Biosintesis protein seperti pada Gambar 05 berikut ini :



Gambar 05. Biosintesis Protein (Seager & Michael, 1994).

Tiga asam amino nonesensial (glutamat, alanin dan aspartat) disintesis dari α-keto melalui reaksi yang dikatalisis oleh enzim transaminase sebagai berikut :



Dua asam amino nonesensial lainnya yaitu asparagin dan glutamin, dibentuk dari aspartat dan glutamat oleh reaksi berantai samping kelompok karboksilat dengan ion ammonium sebagai berikut :

