

OPTIMASI PROSES FERMENTASI DENGAN MEDIA PADAT DALAM PEMBUATAN SOYSAUCE POWDER DENGAN MENGGUNAKAN BIAKAN CAMPURAN MIKROBA NCS 54 HOE PADA KONDISI MESOFILIK

R.P.D. Murwono dan L. Buchori¹⁾

Abstrak

Soysauce powder dibuat pada kisaran suhu antara 25°C sampai dengan 30°C atau yang disebut dengan kondisi mesofilik. Proses fermentasi dilakukan dengan media padat sehingga proses fermentasi dapat berjalan pada kondisi aerob. Pada kondisi ini pertumbuhan biomassa dapat berjalan dengan baik. Pertumbuhan biomassa sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain sumber N yang terikat yang dihasilkan dari pupuk ZA, jumlah tepung ikan yang digunakan, sumber kalium serta pengayaan dari produk yang akan dihasilkan dengan iodium. Pembentukan asam amino esensial terjadi dalam cairan sel mikroorganisme. Media selektif yang digunakan bagi pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan rasa dan bau dalam produk adalah bawang putih (garlic powder). Backing agent yang digunakan adalah permipan sebanyak 0,6% dari total campuran. Waktu fermentasi yang digunakan 3 hari. Produk dimurnikan dengan penyaringan dan dibuat dalam bentuk serbuk kering supaya awet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan tepung kacang kedelai hitam ternyata lebih baik dibandingkan dengan kedelai putih. Kondisi yang paling baik dicapai pada penggunaan kedelai hitam sebanyak 70% dari total kedelai yang digunakan, tepung ikan sebanyak 50% dan tepung tapioka sebanyak 33% dari kedelai. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah asam amino yang dihasilkan.

Kata kunci : soysauce powder; mikroba NCS 54 HOE; kondisi mesofilik

Pendahuluan

Penggunaan Mono Sodium Glutamat (MSG) secara berlebihan mempunyai dampak negatif pada tubuh manusia. FDA (*Food D Assosiation*) menetapkan konsumsi MSG dalam sehari tidak lebih dari 7 gram agar tidak menimbulkan masalah kesehatan. Namun kenyataannya penggunaan MSG sering tidak dapat dikendalikan. Penggunaan bahan ini akan menyebabkan efek ketagihan bagi para pemakainya dan mempunyai kecenderungan untuk bertambah. Berbagai penyakit banyak ditimbulkan sebagai akibat penggunaan bahan ini secara berlebihan. Dari kenyataan inilah kecenderungan kembali ke alam mulai dirasakan sebagai sebuah kebutuhan agar dapat hidup dengan sehat karena kesehatan adalah sesuatu yang sangat mahal.

Kekurangan hara Iodium dalam bahan makanan banyak terjadi sehingga membuat dampak keterbelakangan terutama bagi anak kecil walaupun berbagai upaya telah dilakukan WHO (*World Health Organization*) dengan Iodisasi dari garam konsumsi. Namun kecenderungan kekurangan hara iodium masih saja terasa terutama untuk anak kecil antara lain dengan perkembangan berbagai macam penyakit kekurangan gizi.

Perkembangan cita rasa untuk berbagai kebutuhan pangan manusia terutama dalam bentuk makanan siap saji sudah bukan hal yang asing karena

mobilitas akan seiring dengan tingkat kemajuan peradaban manusia. Kebutuhan akan rasa akan merangsang perkembangan industri pangan. Untuk itu maka pembentukan rasa *artificial* sangat dibutuhkan namun dengan diiringi jaminan aman sehingga isu kembali ke alam menjadi sesuatu yang sangat dibutuhkan.

Pengembangan industri *flavor* ini sangat dibutuhkan dengan alasan peningkatan kualitas pangan serta kebutuhan akan kesehatan. Bahan baku yang dibutuhkan terutama kedelai hitam akan berdampak langsung bagi pengembangan pada sektor pertanian sehingga pertumbuhan akan pendapatan dapat seimbang antara sektor industri dan pertanian yang merupakan penyedia sumber pangan dunia ini. Produk fermentasi kedelai akan membentuk asam amino esensial yang dapat memberikan rasa dan aroma yang khusus. Aroma ini dihasilkan dari asam amino esensial yang sangat dibutuhkan dalam perkembangan tubuh manusia karena asam ini tidak mungkin dibuat dalam diri tubuh manusia itu sendiri.

Tinjauan Pustaka

Pembentukan aroma dan rasa disebabkan terjadinya asam amino esensial. Peningkatan asam amino esensial dapat juga dilakukan dalam sel mikroorganisme. Dalam sel mikroorganisme ini, asam amino sebagian dalam bentuk kromosom dan cairan

¹⁾ Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Sudarto, SH, Tembalang, Semarang 50239

sel. Dengan proses hidrolisa maka asam amino esensial ini dapat terbentuk. Proses hidrolisa dilakukan dalam cairan sel mikroorganisme. Ini bertujuan agar dapat digunakan untuk perkembangan dirinya (Nagato dkk, 2001; Sinjuri dkk, 1997)

Mikroorganisme yang digunakan diharapkan dapat berkembang sehingga kenaikan jumlah biomassa akan menambah jumlah protein yang dihasilkan dan menambah jumlah asam amino esensial yang akan terbentuk. Pembentukan asam amino yang terkait dengan pertumbuhan sel juga terkait dengan proses fiksasi nitrogen yang berasal dari udara serta nitrogen yang terlarut dalam bentuk asam amino. Nitrogen dalam bentuk asam amino ini terikat dalam protein bahan baku serta senyawa amoniak dalam pupuk ZA yang ditambahkan dalam proses fermentasi ini. Pupuk ini berperan sebagai faktor tumbuh dan akan diolah dalam sel mikroorganisme. Badan mikroorganisme tersusun dari asam amino. Dalam perkembangannya diperlukan karbohidrat yang digunakan sebagai sumber energi dan bahan karbon dalam pembentukan selnya. Proses aerasi sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroorganisme. Proses ini sangat dipengaruhi dengan bidang kontak yang terjadi. Semakin besar bidang kontaknya maka pertumbuhan mikroorganisme yang terjadi akan menjadi semakin baik (Nagato dkk, 2001; Kawiyama dkk, 2000)

Substrat yang digunakan harus dalam bentuk *porous*. Untuk memperbesar porositas digunakan bahan penggelembung (*backing agent*) seperti permipan atau sering disebut dengan ragi instan. Semakin berongga bahan substrat ini maka bidang kontak akan semakin baik sehingga pertumbuhan koloni mikroba yang digunakan semakin padat. Pertumbuhan koloni disamping dipengaruhi oleh faktor kontak dengan udara juga dipengaruhi berbagai faktor tumbuh lain seperti pupuk NPK. Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi juga oleh faktor respiratifnya yaitu dengan pelepasan gas CO₂. Tumpukan dari substrat ini tidak boleh melebihi 4 cm sebab apabila gas sisa pembakaran ini tidak dapat terbuang dengan baik akan terjadi proses anaerob sehingga akan menurunkan pH. Penurunan pH akan merangsang pertumbuhan mikroba pembusukan. Penggunaan bawang yang mengandung minyak esensial dapat mengendalikan proses pembusukan ini karena disamping mengandung anti oksidan juga bersifat sebagai anti bakterisida dan germisida. Jumlah dari bawang yang digunakan dibatasi sehingga tidak mematikan mikroba yang dikehendaki (Kawiyama dkk, 2000; Tanamaru dkk, 1999).

Mikroba yang digunakan dalam bentuk kultur campuran dengan nama NCS 54 HOE dari Kawai Kobeichi Co. Ltd., yang merupakan campuran dari *acetomycetes yoko konichi*, *acetobacter xy 23*, *lactobacillus nt 12* dan *esterobacter lionisis*. Kultur campuran inilah yang diharapkan dapat berkembang. Kultur campuran ini merupakan biomassa yang akan

menghasilkan asam amino esensial yang digunakan sebagai bahan pembentuk rasa dan bau. Kelompok mikroba ini termasuk kelompok bakteri maka perkembangan jamur harus dicegah. Pencegahan terjadinya jamur ini dapat dilakukan dengan penambahan *garlic powder* (bawang putih) dalam substratnya. Dengan penambahan bahan ini maka hanya mikroba tertentu saja yang dapat tumbuh dengan optimal. Selain itu minyak bawang yang ada akan diproses dan membentuk aroma khusus yang akan memberikan aroma spesifik dalam produk ini karena terbentuk senyawa dalam bentuk ester minyak bawang (Nagato dkk, 2001; Kawiyama dan Haruki, 2000)

Fermentasi akan menimbulkan panas yang berakibat pada penguapan air dalam substrat. Untuk mencegah hal ini diperlukan pendinginan dan penutupan substrat sehingga air yang teruapkan dapat dikembalikan. Apabila air yang ada mengalami penyusutan maka akan mengganggu aktifitas sehingga proses pertumbuhan mikroorganisme akan terganggu. Ruang fermentasi selalu disterilkan dengan menggunakan tabir surya ultraviolet agar udara yang digunakan sebagai media aerasi tidak membawa kontaminan yang akhirnya akan mengganggu proses fermentasi yang terjadi. Udara dihembuskan dari atas kemudian ditarik dari bawah dengan *exhaust fan* udara. Exhaust fan ini berisi gas CO₂ yang jenuh. Dengan model sirkulasi ini diharapkan pertumbuhan mikroorganisme dapat berjalan dengan baik (Kawiyama dkk, 2000; Tanamaru dkk, 1999).

Derajat keasaman dalam bentuk pH dipertahankan pada 5,5. Untuk itu diperlukan peran pupuk ZA sebagai penjaga pH atau penyangganya. Dalam kondisi ini pertumbuhan mikroba akan berjalan dengan baik. Hal ini dapat dilihat dari hasil asam amino. Penambahan asam amino akan terkait dengan pertumbuhan yang terjadi. Apabila pH di atas itu maka yang akan tumbuh adalah jamur, sedangkan di bawahnya akan tumbuh mikroba pembusukan. Pengusiran gas CO₂ harus dapat berjalan dengan baik. Oleh karena itu tumpukan substrat harus setipis mungkin. Dalam percobaan pendahuluan, ketebalan yang dianjurkan antara 3 – 5 cm. Ketebalan yang dipilih dalam proses ini adalah 4 cm. Kondisi ini akan mengefektifkan bejana fermentasi yang tidak terlalu luas, namun sirkulasi gas buang masih cukup baik (Nagato dkk, 2001; Kawiyama dkk, 2000; Tanamaru dkk, 1999)

Perkembangan jumlah biomassa yang terjadi sangat tergantung dengan jumlah unsur hara fosfat yang ada. Hara ini digunakan dalam pembentukan pita kromosom untuk sel yang baru. Unsur P yang ada akan diubah menjadi asam nukleat dalam cairan sel. Asam nukleat yang terjadi digunakan sebagai bahan pembentukan sel yang baru. Jumlah asam nukleat ini terkait erat dengan pembentukan pita DNA yang merupakan pembawa sifat dari mikroorganisme yang ada. Pembentukan asam nukleat ini juga tidak terlepas dari pembentukan asam amino karena fiksasi nitrogen,

baik yang berasal dari aerasi maupun yang terikat dalam metabolisme perubahan asam amino lainnya. Dalam pembentukan rantai sel ini diperlukan proses respirasi yang akhirnya harus membuang gas buang CO₂. Dari pernyataan ini maka sirkulasi dari udara sangat diperlukan. Selain itu dalam perkembangan sel ini diperlukan energi. Pembuangan hasil energi sering akan menimbulkan panas yang tinggi sehingga diperlukan pendinginan. Apabila lapisan substrat ini terlalu tebal dan sirkulasi udaranya sangat jelek maka proses pendinginan yang diperlukan akan terhambat. Panas yang terlalu tinggi akan mematikan mikroba yang digunakan sehingga yang akan berkembang adalah mikroba pembusukan yang diikuti dengan penurunan harga pH mendekati titik 3. Pada kondisi inilah proses aerob akan terhenti karena terjadi penumpukan kandungan air sehingga fase dari substrat sangat lunak mendekati suspensi luluhan. Selain itu kemungkinan proses pembusukan akan terjadi karena kondisi anaerob di bawah permukaan akan berlangsung yang diikuti dengan penurunan pH serta pengeluaran gas CO₂ serta pelepasan gas amoniak (Kawiyama dkk, 2000).

Proses pendinginan dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain dengan mengatur jarak antara plat dalam tumpukan serta ketebalan plat dan sirkulasi serta pendinginan udara. Suhu ruangan dijaga sekitar 25°C sehingga suhu substrat akan maksimal 30°C. Pada suhu ini perkembangan bakteri dapat berjalan dengan baik sebab kemungkinan terjadinya proses anaerob dapat dihindari serta penurunan pH tidak berlangsung karena aerasi dalam substratnya dapat berjalan dengan baik.

Kelemahan pendinginan dengan menggunakan pendingin ruangan air conditioner (AC) adalah tingkat kekeringan dari udara ruang yang sangat rendah. Hal ini menyebabkan tingkat penguapan pada substrat menjadi tinggi. Permasalahan ini dapat diatasi dengan menggunakan penyemprotan air pasteurise pada setiap plat substrat dengan tujuan agar aktifitas dalam setiap substrat tidak terganggu. Penyemprotan dengan kabut air dilakukan dengan tujuan untuk menambah humiditas ruangan serta secara langsung juga untuk mendinginkan ruangan tersebut. Fermentasi pada daerah tropis dilakukan pada kisaran suhu antara 27°C sampai 32°C sehingga dianjurkan sistem pendinginan dengan menggunakan pengabutan air. Kelemahan dengan pendinginan kabut ini adalah tingkat kontaminasi yang sangat tinggi. Hal ini dapat diatasi dengan semburan kabut yang sehalus mungkin dan menambah intensitas sinar ultraviolet yang digunakan. Semprotan kabut ini hanya dilakukan secara *intermitent* yang diatur dengan pengendalian suhu. Air yang digunakan selalu dijenuhkan dengan ozonisator untuk tujuan sterilisasi dengan harapan dapat mengurangi kontaminasi (Tanamaru dkk, 1999).

Untuk *acetobacter* *yk*, kemungkinan perubahan karbohidrat yang berasal dari serat akan terjadi serta

akan melepaskan panas yang besar yang kemudian dengan fiksasi nitrogen karbohidrat yang terbentuk akan diubah menjadi biomassa. Dengan semakin besarnya jumlah biomassa, jumlah asam amino esensial yang terbentuk menjadi semakin tinggi juga. Aroma dan rasa yang enak sangat tergantung dengan jumlah asam amino dan jenisnya. Esterifikasi dari minyak bawang dilakukan oleh mikroba *esterobacter lionis* dan *lactobacillus* *nt 12*. Kedua mikroba ini memetabolismekan bawang dengan berbagai gugus hidroksil dalam mono sakarida. Dengan terjadinya esterifikasi ini akan terbentuk aroma dan rasa yang sangat khusus. Proses ini terjadi dalam cairan sel masing-masing mikroorganisme. Dengan proses pengeringan, sel mikroorganisme akan pecah sehingga akan menghasilkan rasa yang sangat khusus.

Selain itu *lactobacillus* yang ada juga akan menyerap hasil hidrolisa protein yang dihasilkan dari tepung ikan yang selanjutnya akan diubah menjadi asam amino esensial dalam cairan selnya serta sebagai pembentuk badan sel. Dengan penambahan tepung ikan maka jumlah asam amino esensial yang akan terjadi akan menjadi besar. Kelemahan dari terlalu banyaknya tepung ikan akan merubah keseimbangan mikrobanya sehingga kemungkinan pembentukan kontaminan mikroba pembusukan akan meningkat. Hal ini dapat dilihat dengan pelepasan bau amoniak serta kenaikan suhu dan cepat luluhnya substrat (Nagato dkk, 2001; Kawiyama dkk, 2000).

Kontaminasi dapat dihindari dengan penyiapan substrat secara proporsional dengan harapan mikroba pembusukan dicegah pertumbuhannya karena kemungkinan terikutnya mikroba pembusukan dalam sistem aerasi sangat tinggi. Hanya dengan penggunaan bawang dalam jumlah tertentu maka pengaruh proses kontaminasi karena pembusukan dapat dicegah. Dengan anti oksidan yang tersedia maka kemungkinan kontaminasi ini dapat dicegah sebab mikroba pembusukan sangat sensitif terhadap antioksidan dalam minyak bawang ini. Proses pembusukan akan terjadi apabila semua minyak bawang sudah terekstrak dengan monosakarida yang ada. Proses pembusukan biasanya akan terjadi setelah 4x24 jam ketika minyak bawang sudah teresterkan. Nilai protein yang dihasilkan sangat tinggi serta substrat sudah menjadi luluhan sehingga proses aerob berubah menjadi anaerob. Pada kondisi ini terjadilah perkembangan mikroba pembusukan dari *E. coli* dengan penurunan pH yang drastis serta pelepasan H₂S serta amoniak karena hidrolisa yang berkelanjutan (Kawiyama dkk, 2000; Kawiyama dan Haruki, 2000).

Penggunaan tepung tapioka dalam substrat bertujuan agar kandungan karbohidrat dalam substrat meningkat sehingga pertumbuhan biomassa dapat berjalan dengan baik. Karbohidrat disini adalah sebagai sumber energi dan sekaligus sebagai sumber karbon dalam membangun struktur selnya. Dengan penggunaan tapioka, kandungan serat dalam substrat dapat ditekan sehingga akhirnya akan menekan jumlah serat yang tertinggal dalam saringan. Hal ini

diperlukan agar ongkos operasi yang dibutuhkan dalam pemurnian produk dapat ditekan. Penggunaan tepung tapioka ini dibatasi oleh ketidakmampuan substrat untuk mengembang membentuk media yang berpori. Dengan penggunaan tepung gandum yang mengandung gluten maka akan meningkatkan kemampuan substrat untuk mengembang. Perbandingan tepung tapioka dan gandum disesuaikan dengan kebutuhan. Biasanya perbandingan yang dianjurkan adalah 1 : 1 (Nagato dkk, 2001).

Penggunaan kedelai hitam lebih dianjurkan dibandingkan dengan penggunaan kedelai putih karena kulit ari biji kedelai hitam mengandung senyawa karoten. Senyawa ini dapat memacu pertumbuhan dari pengembangan biomassa sebagai faktor tumbuh dalam pembentukan asam nukleat yang sangat dibutuhkan dalam menyusun rantai DNA dalam biomasanya. Kendala utama dalam penggunaan kedelai hitam hanyalah tingkat persediaan dan akan berakibat pada harga bahan baku produk. Penggunaan kedelai putih hanya sekedar sebagai stimulan agar tingkat kekurangan ini dapat ditekan. Dalam banyak proses penggunaan kedelai putih dilakukan secara total dan penyediaan karoten dilakukan dengan menggunakan kecambah kacang tolo merah. Hal ini banyak dilakukan walaupun rasa yang diperoleh tidak sebaik bila menggunakan campuran kedelai hitam dan kedelai putih dengan porsi kedelai hitam lebih besar. Rasa dan aroma spesifik dengan menggunakan kedelai hitam lebih baik dibandingkan kedelai putih. Oleh karena itu kedelai hitam merupakan bahan dalam pembuatan kecap dan taoco sedangkan kedelai putih lebih banyak digunakan sebagai bahan tahu dan tempe. Warna yang tua karena sisa pigmen yang dihasilkan dari kulit kedelai hitam merupakan ciri khas disamping akan memberikan rasa dan aroma yang sangat khusus (Nagato, dkk, 2001; Pepler dan Perlmen, 1979).

Metodologi Penelitian

Tujuan dari percobaan ini adalah mencari kondisi dan jumlah campuran yang terbaik agar dapat menghasilkan rasa dan aroma yang baik juga dilihat dari jumlah asam aminonya. Perbandingan bahan baku kedelai hitam dan putih yang tepat akan menghasilkan rasa yang baik dengan harga yang cukup murah. Perbandingan pemakaian tepung gandum dan tapioka yang memadai akan menghasilkan asam amino esensial yang cukup baik dan banyak. Kualitas (ditinjau dari ragamnya) dan kuantitas (ditinjau dari jumlahnya) sangat berpengaruh dalam pembentukan rasa yang nantinya juga akan berpengaruh pada harga produknya. Perbandingan pemakaian gandum dan tepung tapioka ini menyangkut tersedianya jumlah sumber karbon yang akan diubah menjadi asam amino yang dihasilkan dari biomassa yang terbentuk serta

kandungan gluten dalam gandum yang mempengaruhi pengembangan substrat yang berakibat pada proses aerasi yang harus berjalan.

Pemakaian gandum saja akan memberikan hasil yang kurang baik karena jumlah karbohidrat yang sangat kurang. Perkembangan biomassa sangat tergantung dengan karbohidrat yang tersedia. Bila porositasnya terganggu maka perkembangan biomassa juga terganggu. Porositas dari substrat ini sangat tergantung pada gluten yang ada dalam gandum. Dengan aerasi yang baik maka fiksasi nitrogen akan berjalan dengan baik sehingga perkembangan biomassa akan berjalan dengan baik juga. Selain itu dengan adanya oksigen maka proses respiratif akan berjalan dengan baik.

Perkembangan ini selain dipengaruhi oleh kontak udara dan penyediaan karbohidrat juga sangat tergantung pada tersedianya berbagai pupuk sumber nitrogen yang terikat antara lain dalam bentuk ZA serta kalium yang diberikan dalam bentuk KI. Iodium yang ada akan memperkaya mineral dalam produk akhirnya. Pupuk fosfat memegang peran penting dalam perkembangan sel, karena pita kromosom yang mengandung pita DNA sangat memerlukan asam nukleat yang mengandung unsur hara fosfor. Penggunaan pupuk fosfat dan penambahan jumlah biomassa mempunyai hubungan yang sangat erat. Hal ini akan berpengaruh pada pertumbuhan biomassa yang akan menghasilkan asam amino dalam ragamnya dan besaran jumlahnya. Hal inilah yang akan berpengaruh pada hasil produk akhir yang akan mempunyai nilai jual karena menyangkut kualitas dari produk yang akan dihasilkan.

Tepung ikan yang digunakan sangat berpengaruh juga pada hasil kualitas produk yang akan dihasilkan. Penggunaan tepung ikan yang sangat berlebihan akan menyebabkan pertumbuhan kontaminan mikroba pembusukan tidak terkendali. Penggunaan jumlah tepung ikan yang terbaik akan menghasilkan kualitas produk yang cukup baik karena dengan kualitas inilah harga barang akan ditentukan. Jumlah tepung ikan ini masih dapat dikendalikan terhadap kemungkinan terjadinya kontaminan oleh mikroba pembusukan *E. coli* dengan adanya serbuk bawang yang mengandung antioksidan dan berbagai senyawa yang bersifat bakterisida dan fungisida.

Mikroba yang digunakan sudah diaklimatisasikan terhadap keberadaan bawang yang digunakan dalam substratnya sehingga mikroba lain tidak akan dapat hidup dengan penggunaan bawang dalam jumlah yang tertentu. Jumlah bawang yang digunakan sebenarnya dapat mempengaruhi kualitas produk yang dihasilkan, namun ada sebagian konsumen yang tidak terlalu suka akan aroma bawang ini. Dengan pertimbangan ini maka pemakaian bawang dibatasi sampai batas yang terendah yang masih dapat diterima konsumen secara universal.

Analisa yang dilakukan adalah pada kandungan karbohidrat, protein serta kandungan serat. Selain itu

juga dianalisa jumlah asam amino esensial yang terbentuk. Penurunan karbohidrat selalu terkait dengan kenaikan kadar protein yang ada sedangkan kenaikan kandungan protein akan terkait secara langsung dengan asam amino esensial yang terbentuk secara ragam kualitas dan jumlahnya. Fermentasi dilakukan dalam plat dengan ketebalan 4 cm. Plat ini diberi lapisan penutup plastik dengan tujuan agar aktifitas air dalam substratnya tetap dapat terjaga dengan baik. Plat yang digunakan dibuat dari kayu dengan dasar anyaman plastik dengan ukuran lebar 30 cm dan panjang 50 cm. Diperkirakan bila terisi masing-masing plat akan mempunyai berat antara 13 kg sampai 17 kg. Plat ini diletakkan dalam rak. Setiap rak terdiri dari 5 lapis dengan jarak antara plat satu dengan lainnya 20 cm dengan harapan agar pendinginan dapat berjalan dengan baik serta sirkulasi udara yang terjadi dapat berjalan dengan sempurna. Arus sirkulasi udara ditiup dari atas sedangkan udara buang yang kaya dengan gas CO₂ diambil dengan cara exhaust dari bawah sehingga kandungan CO₂ dalam ruangan fermentasi ini dapat ditekan sekecil mungkin. Kondisi ini dilakukan dengan harapan agar kemungkinan terjadinya kontaminasi karena bakteri pembusukan *E. coli* dapat dihindari.

Peran penggunaan pupuk ZA adalah sebagai bahan penyangga pH sehingga selama fermentasi akan mempunyai kisaran pH antara 5,3 - 6. Dalam kondisi inilah kultur campuran akan bekerja dengan baik sehingga hasil aroma dan rasanya akan menjadi baik juga. Pendinginan dilakukan dengan model pendinginan ruangan sedangkan dalam mengatur humiditasnya dengan model pengabutan. Pengabutan ini disamping membantu proses pendinginan juga bertujuan agar proses penguapan air dalam substratnya dapat dikurangi sekecil mungkin. Peran uap air dalam ruangan ini juga sebagai penghantar panas yang baik sehingga proses pendinginan dapat berlangsung dengan sempurna. Kegagalan dalam pendinginan akan mendorong terjadinya penguapan amoniak yang terikat sehingga akan menurunkan pH yang akhirnya akan berakibat pada terjadinya kontaminasi oleh *E. coli* yang menyebabkan pembusukan.

Waktu yang digunakan hanya 3 hari karena dalam waktu itu seluruh minyak bawang yang ada sudah habis teresterifikasikan. Apabila fermentasi tetap diteruskan maka yang akan terjadi adalah penurunan pH serta terjadi pembusukan karena pengendalian yang dilakukan oleh bawang sudah habis. Pembentukan aroma dapat dilakukan pada penyimpanan dalam bentuk kering dan suhu dingin. Pembentukan ini lebih disebabkan oleh pembentukan ester dengan penggunaan proses kering. Hal ini banyak dilakukan oleh peran *Esterio bacterlionisis*. Penyimpanan dilakukan pada suhu 25°C dalam waktu 2 minggu sehingga ester yang terbentuk dari asam

amino dengan sisa karbohidrat akan memberikan aroma yang sangat spesifik.

Prosedur percobaan

Biji kedelai hitam dan kedelai putih digiling bersama-sama. Jumlah total kedua kedelai itu adalah 3 kg. Bahan-bahan padat yang terdiri dari tepung gandum, tepung tapioka, kedelai, bawang putih kering, pupuk dan tepung ikan dicampur menjadi satu. Air sebagai pembentuk pasta ditambahkan ke dalam campuran ini sebanyak 50% dari jumlah total. *Backing powder* (bahan penggelembung adonan) berupa permipan ditambahkan ke dalam campuran yang sudah berbentuk pasta ini. Permipan yang ditambahkan sebanyak 0,01% dari jumlah total.

Campuran ini kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan dikukus selama 1 ¼ jam. Kemudian dilakukan pendinginan sampai 70°C dan diinkubasi dengan *starter* padat. Setelah itu dilakukan inkubasi aerob di dalam nampan. Ketebalan bahan diatur setinggi 3 - 4 cm. Inkubasi dilakukan di dalam ruangan dengan tabir sinar ultraviolet. Humiditasnya dijaga konstan agar penguapan air di dalam biomassa dapat dicegah.

Setiap 24 jam dilakukan analisa karbohidrat, protein total, serat dan asam amino esensial selama 3 hari. Kemudian dilakukan uji organoleptik. Uji organoleptik didasarkan pada jumlah asam amino esensial yang dihasilkan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian yang didapatkan tercantum dalam Tabel 1.

Hasil asam amino yang diperoleh dalam penggunaan kedelai hitam akan lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan kedelai putih karena dalam kedelai hitam kandungan protein dan karbohidratnya lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai putih. Selain itu pigmen kulit kedelai hitam mengandung karoten yang merupakan salah satu faktor tumbuh yang diperlukan dalam pengembangan biomassa. Pertumbuhan biomassa mempunyai hubungan dengan jumlah asam amino esensial yang akan diperoleh. Semakin banyak biomassanya jumlah asam amino yang akan diperoleh akan menjadi semakin tinggi. Kendala utama adalah terbatasnya tingkat kesediaan kedelai jenis ini karena tingkat produktifitas yang lebih rendah dibandingkan dengan jenis putih sehingga petani lebih cenderung menanam kedelai jenis putih.

Pemakaian gandum yang lebih banyak akan mempunyai dampak pada penurunan jumlah asam amino yang dihasilkan karena karbohidrat yang tersedia menjadi berkurang. Sebaliknya dengan menggunakan tepung tapioka secara berlebihan akan mempunyai kecenderungan menaikkan jumlah asam amino yang dihasilkan. Kelemahan dari penggunaan tepung tapioka ini adalah penurunan pH akan semakin

cepat. Hal ini sangat rawan pada kemungkinan kontaminasi oleh mikroorganisme pembusukan. Dengan campuran tepung tapioka dan gandum dengan perbandingan yang sama akan terjadi kenaikan asam amino esensial yang dihasilkan. Kenaikan ini terjadi karena persediaan sumber karbon yang cukup dari karbohidrat serta tingkat porositas yang tinggi sehingga aerasi dapat berjalan dengan baik. Pertimbangan ini dapat terlihat dalam penggunaan kedelai hitam 2 kg, kedelai putih 1 kg, gandum 1 kg dan tapioka 1 kg pada tempuhan ke-11. Hasil asam amino lebih rendah dibandingkan dengan tempuhan ke-10. Namun karena tingkat ketersediaan kedelai hitam lebih sedikit dibandingkan dengan kedelai putih maka diambil keputusan menggunakan tempuhan ke-11 sebagai kajian yang lebih diperhatikan.

Dari tempuhan ke-11 dicoba dengan menurunkan jumlah kedelai hitamnya dengan perbandingan yang sama seperti yang terlihat dalam tempuhan ke-12. Secara sekilas hasil asam amino yang didapatkan hampir sama, namun karena pertimbangan rasa dan aroma maka pemakaian perbandingan kedelai pada tempuhan ke-11 tetap digunakan sebagai acuan yang lebih diperhatikan. Rasa dan aroma harus selalu diperhatikan dalam pembuatan *soysauce powder* ini karena bahan ini akan digunakan sebagai bahan penyedap makanan sebagai pengganti MSG yang banyak memberikan dampak negatif.

Peningkatan rasa yang diperoleh dari ragam jumlah asam amino diperkaya dengan menggunakan tepung ikan. Peningkatan ini dilakukan dengan mencoba tempuhan ke-13 dan 14. Ternyata peningkatan tepung ikan ini harus dibatasi sesuai dengan kemampuan bawang putih yang digunakan sebagai penahan perkembangan kontaminan mikroba pembusukan *E. coli*. Jumlah maksimal tepung ikan yang digunakan adalah 1,5 kg. Pada keadaan ini rasa dan aroma yang dihasilkan cukup baik karena jumlah ragam asam amino yang dihasilkan cukup banyak serta kemungkinan kontaminasi dapat dihindari.

Penambahan biomassa dilakukan dengan penambahan jumlah pupuk P. Asam nukleat yang merupakan penyusun inti sel baru hanya dapat disintesa apabila hara fosfor yang tersedia cukup memadai. Peningkatan hara P ini dilakukan dengan menambahkan superfosfat dari 25 gram menjadi 50 gram. Pada percobaan yang dilakukan pada tempuhan ke-16 ternyata jumlah asam amino yang dihasilkan dapat meningkat walaupun dalam jumlah yang tidak terlalu banyak. Dari tinjauan ini terlihat bahwa pada kondisi ini sudah terjadi pertumbuhan maksimal dari biomassa yang ada. Ditinjau dari tingkat kerapatannya maka jumlah yang dianjurkan adalah pada 50 gram superfosfat.

Penambahan bawang putih yang akan meningkatkan aroma khusus ternyata berdampak pada penurunan asam amino esensial yang dihasilkan.

Hal ini terlihat pada tempuhan ke-15 dimana penurunan yang diperoleh cukup besar dibandingkan dengan hasil percobaan tempuhan ke-14 dan 16. Peristiwa ini disebabkan terhambatnya sistem metabolisme dari mikroba itu karena jumlah anti bakteri sudah melebihi toleransi aklimatasinya. Dengan menggunakan kultur campuran mikroba NCS 54 HOE penggunaan yang paling baik tercapai pada percobaan tempuhan ke-16.

Perubahan jumlah hara K dan N yang terlarut tidak dilakukan karena akan mendorong terjadinya kenaikan ongkos produksi terutama dengan penambahan KI sebagai sumber K dan sekaligus Iodium yang harganya sangat tinggi. Sedangkan ZA dibatasi dengan harapan agar proses fiksasi nitrogen dari udara dapat dilakukan dengan baik. Selain itu fungsi ZA hanya sebagai penyangga pH campuran agar pertumbuhan *E. coli* sebagai mikroba kontaminan yang berdampak pada pembusukan dapat dihindari.

Kesimpulan

Dalam uji coba optimasi proses pembuatan *soysauce powder* ini kondisi yang terbaik adalah pada tempuhan ke-16. Pada kondisi ini keadaan marginal yang ditinjau dari segi rasa dan aroma serta harga dapat dicapai sebaik mungkin. Pada kondisi ini kemungkinan gagal produksi dari kontaminasi dapat dihindari dalam batas ambang Δ yang terkecil dengan tingkat keberhasilan yang cukup tinggi walaupun pengendalian suhu seringkali sangat sulit dilakukan. Pengurangan jumlah serat dapat dilakukan dengan menggunakan penyaringan dalam proses basah sebelum masuk dalam unit pengering serbuk.

Saran

Perlu dilakukan kajian balik dengan menggunakan biji gude yang banyak di Indonesia bila ternyata jumlah kacang kedelai hitam sangat terbatas jumlahnya. Namun sayangnya budi daya gude yang kaya dengan protein dan karoten ini hampir musnah di tanah ini karena nilai ekonomis yang sangat rendah. Biji gude ini dimasukkan dalam bentuk kecambahnya sehingga akan menambahkan faktor tumbuh pada awal fermentasi.

Daftar Pustaka

- Desrosier, N.W. and Desrosier, J.N., 1978, "The Technology of Food Preservation", Avi Publishing, Co., Westport, Connecticut, USA.
- Kawayima, K., and Haruki, S., 2000, "Restriction Acclimation for Contaminant Microorganism by Garlic Powder", Kawai Domaiheda, Co. Ltd., Japan.
- Kawayima, K., Tanamaru, H., and Yoko, R.P.M., 2000, "Aerob Solid State Fermentor Development", Kawai Kobeichi, Co. Ltd. Japan.
- Nagato, S., Haruki, S. and Yoko, R.P.M., 2001, "Solid State Fermentation for Soy Sauce Powder Production", Kawai Kobeichi, Co. Ltd. Japan.

Tabel 1. Hasil Percobaan Fermentasi dengan Media Padat pada Pembuatan Soy sauce Powder dengan Menggunakan Kultur Campuran Mikroba NCS 54 HOE pada Kondisi Mesofilik

TEMPERAN HARI	1			2			3			4			5			6			7			8										
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2								
Kedelai putih, kg	3			3			3			3			3			3			3			3			3							
Kedelai hitam, kg	-			-			-			-			-			-			-			-			-							
Tepung gandum, kg	2			-			1			2			-			1			1			2			2							
Tepung tapioka, kg	-			2			1			-			2			1			-			-			-							
Bawang putih kering, kg	2			2			2			2			2			2			2			2			2							
Pupuk KI, g	50			50			50			50			50			50			50			50			50							
Pupuk ZA, g	75			75			75			75			75			75			75			75			75							
Pupuk super fosfat, g	25			25			25			25			25			25			25			25			25							
Tepung ikan, g	0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5							
Starter padat, g	0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5							
Karbohidrat, %	40,9	30,1	24,6	18,2	59,1	33,8	21,9	16,3	49,1	32,1	22,6	15,2	42,3	31,1	20,1	15,2	59,8	43,2	21,6	16,5	51,1	35,1	21,8	15,3	41,2	26,2	15,2	10,6	42,7	26,3	14,8	10,6
Protein, %	11,6	15,1	18,3	19,8	11,3	19,6	22,4	23,9	11,6	18,6	22,7	24,6	12,1	15,1	18,7	21,3	11,2	16,7	21,4	25,6	11,4	16,7	20,1	24,8	10,6	15,4	18,7	21,2	11,6	16,7	21,7	23,2
Serat, %	41,8	52,9	56,4	61,1	28,6	45,6	53,2	57,8	38,8	48,7	53,9	59,7	44,3	52,1	60,1	62,6	27,6	38,6	59,2	56,4	36,7	47,8	57,2	59,3	47,1	57,2	65,8	67,6	45,8	56,2	62,6	65,1
Asam amino esensial, %	2,8	4,5	5,3	6,3	3,2	5,6	6,2	7,1	3,0	5,4	6,6	7,3	3,4	4,6	5,4	6,4	3,2	4,8	6,3	7,4	3,3	5,2	6,3	7,8	3,2	4,9	6,1	7,2	2,8	5,4	6,9	7,5

TEMPERAN HARI	9			10			11			12			13			14			15			16										
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2								
Kedelai putih, kg	-			-			1			1,5			1,5			1			1			1			1							
Kedelai hitam, kg	3			3			2			1,5			1,5			2			2			2			2							
Tepung gandum, kg	-			1			1			1			1			1			1			1			1							
Tepung tapioka, kg	2			1			1			1			1			1			1			1			1							
Bawang putih kering, kg	2			2			2			2			2			2			2			2			2							
Pupuk KI, g	50			50			50			50			50			50			50			50			50							
Pupuk ZA, g	75			75			75			75			75			75			75			75			75							
Pupuk super fosfat, g	25			25			25			25			25			25			25			25			25							
Tepung ikan, g	0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			1			1,5			1,5			1,5							
Starter padat, g	0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5			0,5							
Karbohidrat, %	59,8	42,6	23,4	12,7	51,1	34,4	21,7	12,4	50,7	34,9	21,7	9,8	50,5	34,2	20,1	10,3	47,3	26,4	13,8	6,7	44,5	23,3	10,3	5,8	44,5	26,4	14,2	9,5	44,5	20,3	9,2	4,2
Protein, %	11,2	18,1	23,7	26,8	11,4	23,2	28,5	30,6	11,7	17,4	22,5	27,5	11,0	17,5	23,2	27,1	17,7	25,4	31,1	32,8	23,3	31,6	36,5	38,2	23,3	29,3	33,2	35,1	23,3	32,9	37,3	39,2
Serat, %	27,8	37,8	50,9	58,9	36,8	40,8	48,2	56,1	37,8	46,8	54,9	61,3	37,8	47,1	55,4	61,7	34,2	46,8	54,2	59,7	31,8	44,7	52,7	54,7	31,8	43,2	51,2	53,5	31,8	45,7	52,3	55,1
Asam amino esensial, %	2,5	5,7	7,4	8,3	2,7	7,1	8,8	9,3	2,8	5,6	7,1	8,6	2,8	5,6	7,4	8,6	4,8	8,2	9,6	10,2	7,3	10,1	11,5	12,4	7,3	9,4	10,3	11,1	7,3	10,5	11,8	12,8