

KARAKTERISTIK MOROMI DAN KECAP MANIS SERTA KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Dedin F.Rosida¹⁾, Wijaya CH²⁾, Apriyantono A²⁾ and Zakaria FR²⁾

¹⁾ Program Studi Teknologi Pangan, UPN “Veteran” Jawa-Timur
²⁾ Departemen Ilmu and Teknologi Pangan, IPB-Bogor

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can retard oxidation in food. Antioxidants should be able to delay or prevent the occurrence of autooxidation reaction of free radicals in lipid. Compounds that act as antioxidants in moromi and soy sauce is mainly caused by the Maillard reaction product compounds. Protein, alpha-acids and phenols compound that can be potentially as an antioxidant, in this study haven't showed antioxidant activity. In the soysauce products has the ability capture the DPPH radical more strongly on the fraction with molecular weight 30 kDa to greater than 100 kDa and its activity similar to vitamin C 200 ppm, whereas the inhibition of fatty acid oxidation was stronger in the fraction with molecular weight <10 kDa to 30 kDa and its activity is greater than 200 ppm BHT.

Key Words : Maillard Reactions, moromi, soysauce, antioxidative activity

PENDAHULUAN

Semakin berkembangnya industri pangan, khususnya produk penyedap rasa secara fermentasi maka keberadaan kecap manis semakin bertambah luas. Moromi sebagai bahan dasar kecap manis merupakan hasil fermentasi garam dari kedelai yang menggunakan kapang *Aspergillus* sp. selama lebih dari 2 bulan. Ekstrak moromi dalam pembuatan kecap mengandung peptida atau protein nabati yang telah terakumulasi dengan asam-asam lemak dan gula sebagai hasil dari aktifitas kapang *Aspergillus* sp yang memberi cita rasa kecap sedap, namun juga spesifik dengan kandungan nutrisi yang tinggi. Ekstrak moromi mengandung zat gizi lengkap dengan asam-asam aminonya. Proses fermentasi dalam pembuatan kecap dari bahan kedelai melalui 2 tahap yaitu fermentasi padat dengan menggunakan jamur disebut koji dan fermentasi cair yang menggunakan bakteri asam yang disebut moromi. Keberhasilan fermentasi moromi sangat menentukan kualitas kecap yang dihasilkan. Prinsip pembuatan kecap secara fermentasi adalah proses hidrolisis protein dan senyawa-senyawa lainnya dari kedelai

secara enzimatik oleh aktifitas mikroba. Moromi merupakan fermentasi lanjutan setelah fermentasi padat (Aspiyanto & Susilowati 2002).

Hal-hal yang berkaitan erat dengan moromi yaitu larutan garam dapur (NaCl) dan bakteri asam laktat. Garam ini merupakan salah satu jenis bahan pembantu dalam bahan pangan yang paling penting dalam pengawetan pangan. Berbagai fungsi garam selain sebagai bahan pengawet juga untuk menghilangkan sejumlah air yang tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme. Bakteri asam laktat secara morfologi terdiri dari 2 familia yaitu familia *Lactobacillaceae* yang berbentuk batang dan *Streptococcaceae* yang berbentuk bulat. Sifat bakteri asam laktat mampu tumbuh pada garam dan gula yang tinggi, tumbuh pada pH 3,8-8,0 serta mampu memfermentasi monosakarida dan disakarida. Faktor-faktor yang mempengaruhi tahap fermentasi moromi yaitu suhu, nutrisi, pH dan oksigen. Masing-masing jenis mikroba mempunyai suhu optimum untuk pertumbuhan. Mikroba membutuhkan nutrisi untuk kehidupan dan pertumbuhannya yang

meliputi sumber karbon, sumber nitrogen, sumber energi dan faktor pertumbuhan (mineral dan vitamin). Nutrisi tersebut digunakan untuk membentuk energi dan menyusun komponen sel. PH medium merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi aktifitas dari mikroba dan kematian dari mikroorganisme. Pada umumnya proses pembuatan moromi secara spontan. Pada proses fermentasi secara spontan, jenis mikroba yang tumbuh sangat banyak dan sulit dikontrol (Aspiyanto & Susilowati 2002).

Pangan yang difermentasi dapat memperbaiki nilai nutrisi. Pada proses fermentasi moromi prinsipnya adalah kerja proteolisis. Degradasi protein/asam amino tidak hanya berpengaruh pada nilai nutrisi tetapi juga berpengaruh terhadap karakteristik rasa dan flavor yang disebabkan pembentukan senyawa aromatik (Yanfeng & Wenyi 2009). Tahapan utama yang berpengaruh terhadap flavor kecap adalah pada saat proses pemanasan bahan mentah (kedelai), fermentasi koji, fermentasi moromi termasuk saat *aging* dan pasteurisasi (Nunomura & Sasaki 1993). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada moromi dan kecap manis.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah moromi yang diperoleh dari PT. Indofood Sukses Makmur dengan umur fermentasi 3 bulan dan gula merah (gula kelapa). Bahan kimia yang digunakan untuk penetapan kadar α -amino nitrogen adalah trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS, Sigma - Aldrich), HCl 1N dan 0,02 M, leusin, dan untuk penetapan kadar protein dengan metode Kjeldahl digunakan K_2SO_4 , H_2SO_4 , HGO, H_2BO_3 , $Na_2S_2O_3$, NaOH, indikator metil merah dan biru, sedangkan untuk penetapan kadar protein terlarut dengan metode Lowry digunakan pereaksi Folin-Ciocalteu, Na-K tartarat, tembaga sulfat, Natrium karbonat, larutan bovine serum albumin (BSA, E. Merck). Untuk penetapan kadar fenol digunakan etanol 95%, Na_2CO_3 5% dan asam tanat. Untuk

pengukuran kadar gula digunakan larutan Fehling, dekstrosa standar, metilen biru, $CaCO_3$, Pb-acetat, Na-oksalat dan asam sulfat. Untuk uji sifat antioksidan digunakan minyak kedelai, air bebas ion, tween-80, asam thiobarbiturat, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, asam linoleat, buffer fosfat, NH_4SCN , $FeCl_2$ dan HCl.

Peralatan utama yang digunakan meliputi seperangkat alat destilasi, Vortex, sentrifuse (IEC Centra-815A), spektrofotometer (shimadzu UV-160), stirred cell ultrafiltration kapasitas 50 ml (Amicon Inc. Beverly, MS) membrane ultrafiltrasi cut off 10; 30; 100 kDa), FTIR BIORAD Excalibur series, HPLC (Shimadzu Co. Japan) dan alat Rancimat 743 (Metrohm).

METODOLOGI PENELITIAN

Pembuatan kecap manis (KGM) dengan memanaskan gula 500 g dan air 150 g selama 45 menit pada suhu 100 °C. kemudian ditambahkan moromi sebanyak 400 g dan pemanasan dilanjutkan selama 20 menit.

Pada moromi dan kecap manis (KGM) dilakukan analisis meliputi: Proksimat, pH, total padatan, gula pereduksi, Kadar protein (Lowry), kadar α -amino Nitrogen (TNBS) dan kadar fenol serta serapan uv-vis. Demikian juga dilakukan analisis terhadap jenis gula yang terdapat pada gula merah yang dipergunakan dalam pembuatan kecap manis

Kemudian pada moromi dan kecap manis dilakukan fraksinasi dengan ultrafiltrasi sehingga didapatkan 4 fraksi: F1 (BM > 100 kDa); F2 (30 kDa < BM < 100 kDa); F3 (10 kDa < BM < 30 kDa) dan F4 (BM < 10 kDa), kemudian masing-masing fraksi uji aktivitas antioksidan (metode Rancimat, DPPH, TBA dan Feri-tiosianat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Kimia Moromi (M) dan Kecap Manis (KGM)

Pada penelitian ini ada dua jenis produk yang berupa moromi (M) dan kecap dengan gula merah (KGM). Karakteristik kimia moromi dan kecap

manis meliputi: kandungan padatan, air, protein, lemak, karbohidrat, gula pereduksi dan asam amino. Kandungan padatan produk M sebesar 34° brix, sedangkan KGM 65° brix (Tabel 1). Adanya perbedaan kandungan padatan ini menyebabkan perbedaan viskositas dari ke dua produk. Pengukuran total padatan merupakan gambaran dari total kandungan komponen produk yang larut dalam air, terutama terdiri dari jumlah total gula dan beberapa komponen lain seperti protein dan asam.

Nilai pH untuk produk M 4.81 dan produk KGM 4.55 tidak berbeda nyata

dengan adanya perbedaan waktu pemanasan dan penambahan gula. Karakteristik kimia lainnya dari ke empat produk M, MP, KGM dan KGP dapat dilihat pada Tabel 1

Kadar air berhubungan dengan lama pemanasan dan penambahan gula pada produk. Perubahan kadar air dari produk M 66.99% menjadi 44.34% pada produk KGM disebabkan proses penguapan karena adanya proses pemanasan pada suhu 100 °C selama 65 menit dan adanya penambahan gula sebesar 48%.

Tabel 1. Karakteristik kimia moromi dan kecap manis (% bk)

Komponen	Moromi (M)	Kecap manis(KGM)
Air	66.99 ± 0.08 ^d	44.34 ± 0.66 ^b
lemak	1.06 ± 0.04 ^c	0.56 ± 0.03 ^b
protein	25.30 ± 0.96 ^b	8.57 ± 0.31 ^a
karbohidrat	33.22 ± 1.09 ^c	76.70 ± 0.03 ^b
gula pereduksi	3.15 ± 0.04 ^c	11.39 ± 0.07 ^b
Tot. padatan(°brix)	34 ± 1.35 ^a	65 ± 1.44 ^c

Keterangan: % bk: persen berat kering

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada masing-masing pengamatan tiap produk menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Pada kadar protein produk M (25.30%) turun menjadi 8.57% pada KGM, hal ini diduga protein digunakan untuk proses reaksi Maillard, dengan diindikasikan terdapat kenaikan pada gula reduksi dan serapan uv-vis pada produk KGM menunjukkan adanya senyawa produk reaksi Maillard. pada kisaran panjang gelombang 380 - 400 nm. Hasil penelitian Namiki *et al* (1983) mendapatkan peak maksimum pigmen merah yang menunjukkan produk reaksi Maillard berasal dari sistem model DHA-casein dan DHA-ovalbumin terdapat pada panjang gelombang 385 nm.

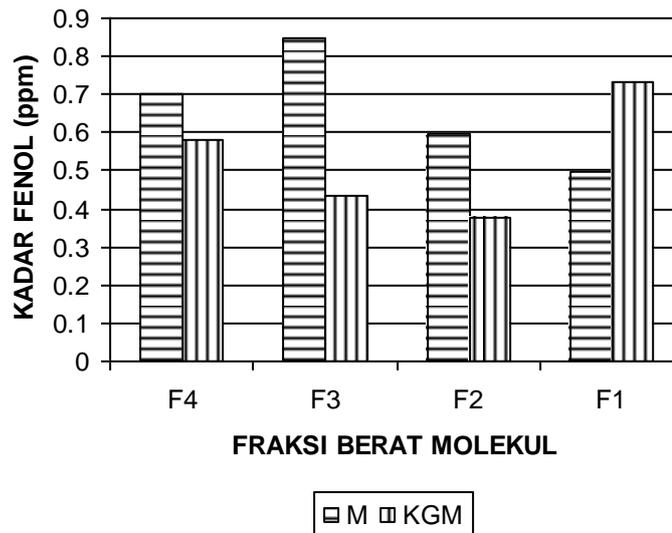
Pada proses pembuatan kecap KGM, gula merah yang dipergunakan sudah mengandung fruktosa sebesar 2.32% dan glukosa 4.20%. Gugus karbonil dari gula reduksi ini bereaksi

dengan asam-asam amino untuk menghasilkan produk reaksi Maillard. Sukrosa (64.34%) yang terdapat dalam gula merah juga diduga mengalami invertasi menjadi glukosa dan fruktosa karena KGM juga dalam suasana asam (pH 4.55) dan mengalami pemanasan. Kadar gula reduksi akhir pada KGM sebesar 11.39%

Proses pencoklatan di dalam bahan pangan dapat juga disebabkan oleh asam askorbat, polifenol dan furfural. Di dalam produk moromi (M) dan kecap gula manis (KGM), kadar asam askorbat, polifenol dan furfural diduga jumlahnya sangat kecil sehingga reaksi Maillard yang terjadi pada KGM diduga hanya disebabkan oleh gula dan asam amino. Hashiba (1976) berpendapat bahwa produk kecap cepat menjadi coklat dan mekanismenya

berbeda dari senyawa asam askorbat, polifenol dan furfural disebabkan senyawa ini dalam kecap jumlahnya sangat sedikit. Senyawa karbonil merupakan senyawa penting yang berperan dalam proses pencoklatan. Senyawa 3-deoksiglukoson dalam kecap

merupakan prekursor penting dalam reaksi pencoklatan. Senyawa 3-deoksiglukoson merupakan suatu reduktion, sehingga berpotensi sebagai antioksidan. Kadar fenol banyak terdapat pada fraksi dengan berat molekul < 10 kDa. (Gambar 1).



Gambar 1. Kadar Fenol tiap fraksi pada tiap produk moromi dan kecap manis

Aktivitas Antioksidan pada Moromi dan Kecap Manis

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan beberapa metode baik dalam sistem minyak dan sistem aqueous. Metode analisis antioksidan yang dipergunakan adalah: 1) mengukur periode induksinya dengan menggunakan alat rancimat, 2) menentukan bilangan TBA (thiobarbituric acid), 3) menggunakan radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), dan 4) reduksi dengan Fe(III)-tiosianat. Pengujian aktivitas antioksidan pada asam linoleat merupakan sistem pengujian yang digunakan untuk mewakili sistem pangan. Pengujian ini dimaksudkan untuk melihat kemampuan pencegahan pembentukan peroksida dalam sistem emulsi asam linoleat. Pengujian ini menunjukkan aktivitas antioksidan total (Duh, *et al.* 1999).

Pengujian kapasitas penangkapan radikal biasa diukur dengan

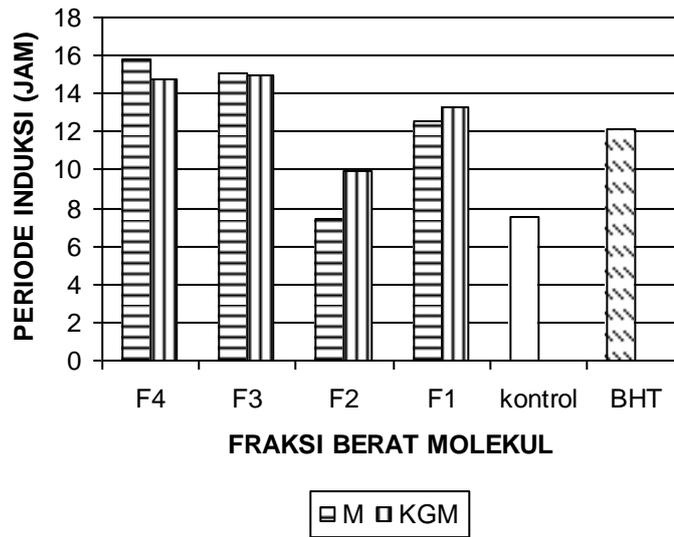
menggunakan suatu senyawa radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yang bersifat stabil dan dapat menerima elektron atau radikal hidrogen menjadi suatu senyawa yang secara diamagnetik stabil (Soares *et al.*, 1997). Lebih lanjut Duh *et al.*, (1999) menyatakan bahwa kemampuan radikal DPPH untuk direduksi atau distabilisasi oleh antioksidan dengan mengukur penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517. Oleh karena itu DPPH biasa digunakan untuk mengkaji kapasitas penangkapan radikal.

Penggunaan empat metode analisis tersebut dimaksudkan selain untuk melihat aktivitasnya sebagai antioksidan dalam menghambat oksidasi minyak atau menangkap radikal bebas, juga dimaksudkan untuk menguatkan dugaan aktivitas suatu senyawa uji sebagai antioksidan karena sebagaimana diketahui daya antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai macam metode. Meskipun suatu senyawa uji

menunjukkan daya antioksidan yang tinggi dengan salah satu metode, tidak selalu akan memberikan hasil yang sama baiknya dengan menggunakan metode

lainnya sehingga disarankan untuk mengukur daya antioksidan dengan berbagai macam metode (Takaya, *et al.*, 2003).

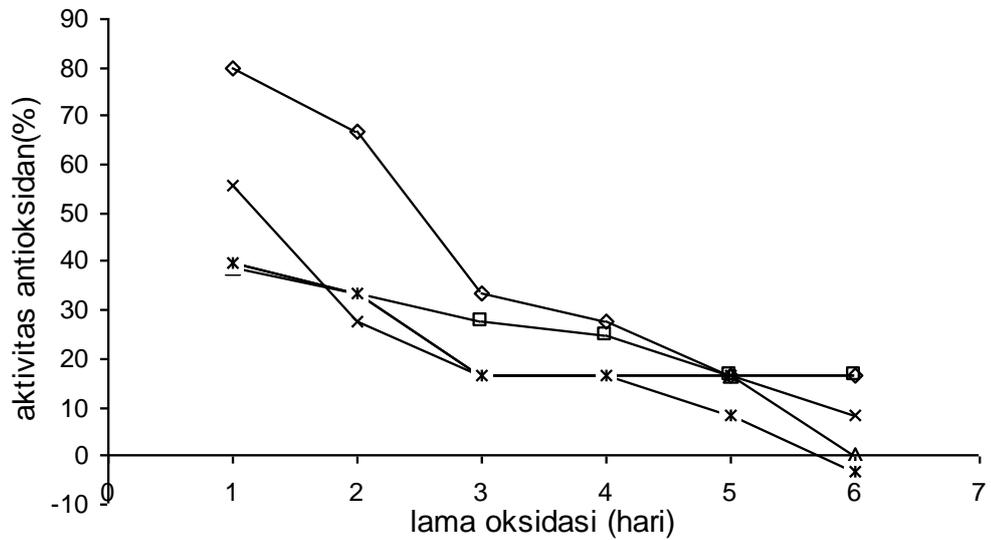
a. Aktivitas antioksidan dalam sistem minyak



Gambar 2. Aktivitas antioksidan tiap fraksi pada tiap produk yang diukur dengan rancimat

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan rancimat didapatkan pada fraksi F1, KGM memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Aktivitas antioksidan fraksi F1 pada moromi (M) tidak berbeda nyata dengan aktivitas antioksidan BHT (*butylated hidroxy toluen*) 200 ppm. Jika diperhatikan secara keseluruhan maka fraksi F1 (BM > 100 kDa) untuk semua produk aktivitas antioksidannya cukup kuat bahkan setara dengan BHT. Hampir semua fraksi dari ke dua produk mempunyai aktivitas antioksidan (Gambar 2) dengan Indeks protektif pada kisaran 1.67 - 2.1

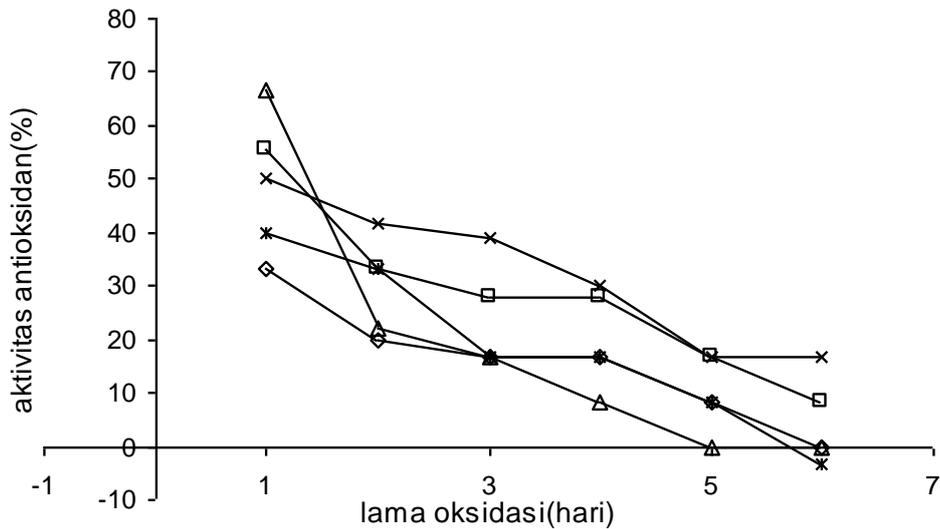
Pada metode tiosianat pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan daya penghambatan terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif. Oksidasi asam linoleat umumnya berupa peroksida lipid. Proses oksidasi lemak menghasilkan produk primer peroksida (Mun'im, *et al* 2003). Bilangan peroksida dinyatakan sebagai senyawa yang mampu mengoksidasi Fe²⁺ menjadi Fe³⁺, dan selanjutnya Fe³⁺ dengan ion CNS menghasilkan warna merah yang diukur pada panjang gelombang 500 nm.



Keterangan: F1: fraksi BM > 100 kDa; F2: fraksi BM 30-100 kDa; F3: fraksi BM 10-30 kDa;
F4: fraksi BM < 10 kDa

Gambar 3. Aktivitas antioksidan produk Moromi (M) dengan metode tiosianat pada F1 (◊), F2 (◻), F3 (◻), F4 (x) dan BHT (x)

Pada KGM, aktivitas antioksidan terkuat terdapat pada F3 (66.67%), diikuti F2 (55.56%), F4 (50%) dan F1 (33.33%). (Gambar 3).



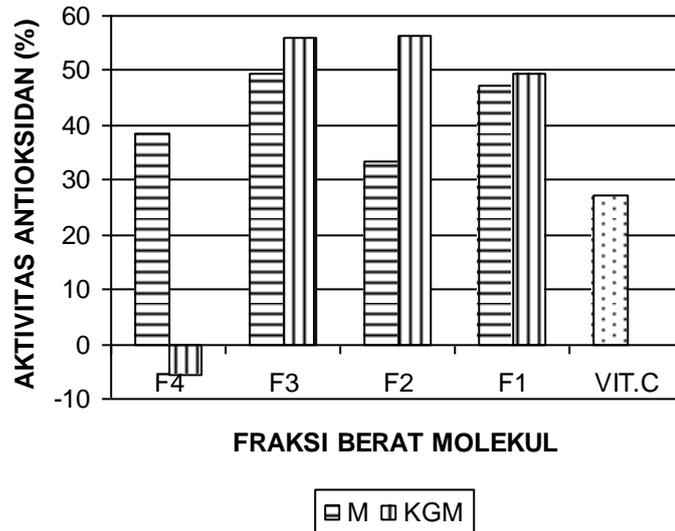
Keterangan: F1: fraksi BM > 100 kDa; F2: fraksi BM 30-100 kDa; F3: fraksi BM 10-30 kDa;
F4: fraksi BM < 10 kDa

Gambar 4. Aktivitas antioksidan produk kecap manis dengan gula merah (KGM) dengan metode tiosianat pada F1 (◊), F2 (◻), F3 (◻), F4 (x) dan BHT (x)

a. Aktivitas antioksidan dalam sistem “aqueous”

Jika diperhatikan aktivitas antioksidan pada tiap produk, pada produk M aktivitas

antioksidan tertinggi terdapat pada F3 (49.27%) dan F1 (47.31%), pada KGM terdapat pada F2 (56.49%) dan F3 (55.97%)

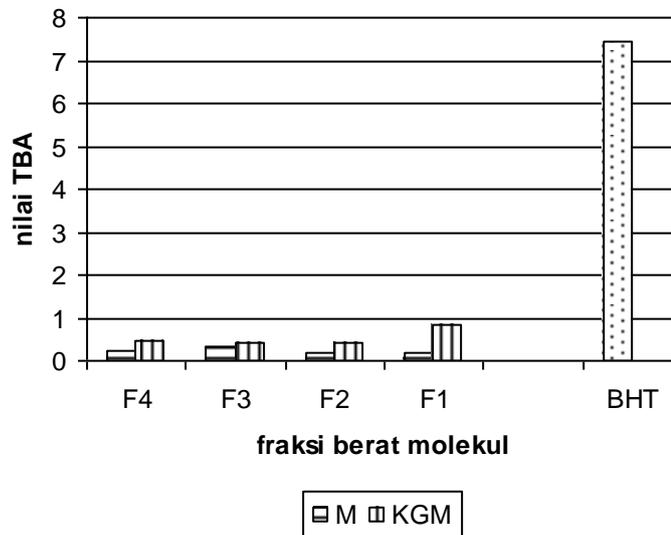


Keterangan: M: moromi; KGM: kecap manis dengan gula merah;
F1: fraksi dengan berat molekul >100 kDa; F2: fraksi dengan berat molekul 30-100 kDa;
F3: fraksi dengan berat molekul 10-30 kDa; F4: fraksi dengan berat molekul <10 kDa

Gambar 5 Aktivitas antioksidan tiap fraksi produk dengan metode DPPH

Secara keseluruhan dengan metode DPPH ini didapatkan fraksi F1 mempunyai aktivitas antioksidan cukup kuat untuk semua produk (lebih dari 46%), fraksi F2 pada produk M yang mempunyai aktivitas antioksidan kurang kuat (33%) tetapi

aktivitasnya masih lebih besar daripada vitamin C 100 ppm, sedangkan fraksi F4 pada produk KGM tidak mempunyai aktivitas antioksidan. Jadi Fraksi F1 dan F2 untuk semua produk mempunyai aktivitas menangkap radikal DPPH cukup kuat.



Keterangan: M: moromi; KGM: kecap manis dengan gula merah;
 F1: fraksi dengan berat molekul >100 kDa; F2: fraksi dengan berat molekul 30-100 kDa;
 F3: fraksi dengan berat molekul 10-30 kDa; F4: fraksi dengan berat molekul <10 kDa

Gambar 6 Aktivitas antioksidan tiap fraksi pada tiap produk dengan metode penentuan bilangan TBA

Produk M aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada F1 (2.33) dan F2 (2.16), pada KGM terdapat pada F2 (5.01) dan F3 (5.44). Rata-rata fraksi F1 dan F2 untuk semua produk memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari fraksi lainnya. Aktivitas antioksidan yang besar menunjukkan penghambatan pembentukan malonaldehid yang cukup kuat.

KESIMPULAN

Pada produk moromi fraksi dengan berat molekul 30 kDa sampai lebih besar dari 100 kDa mempunyai kemampuan menghambat oksidasi lemak atau asam lemak dan menangkap radikal DPPH paling kuat dibandingkan fraksi dengan berat molekul yang lebih kecil. Fraksi dengan berat molekul besar ini aktivitasnya \geq BHT 200 ppm untuk penghambatan oksidasi lemak atau asam lemak dan lebih besar dari vitamin C 100 ppm dalam menangkap radikal DPPH.

Pada produk kecap manis mempunyai kemampuan menangkap radikal DPPH lebih kuat pada fraksi dengan berat molekul 30 kDa sampai lebih besar dari 100 kDa, sedangkan penghambatan oksidasi lemak atau asam lemak lebih kuat pada fraksi dengan berat molekul < 10 kDa sampai 30 kDa dan aktivitasnya lebih besar dari BHT 200 ppm.

Senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada moromi dan kecap manis terutama disebabkan oleh senyawa produk reaksi Maillard. Senyawa protein, alfa-amino dan fenol yang dapat berpotensi sebagai antioksidan, dalam penelitian ini tidak menunjukkan aktivitas antioksidan moromi dan kecap manis terutama disebabkan oleh senyawa-senyawa tersebut.

PUSTAKA

Adler, Niesen. 1979. Determination of degree of hidrolisis of food protein hidrolisat by trinitrobenzene sulfonic

- acid. *J. Agric. Food. Chem.* 27: 1256 – 1262
- Alaiz M., Zamora R, Hidalgo F J. 1995 Antioxidative activity of (E)-2-octenal/amino acids reaction products. *J. Agric. Food Chem.* 43: 795-800
- Antony SM, Han LY, Rieck JR dan Dawson PL. 2000. Antioxidative effect of Maillard reaction products formed from honey at different reaction times. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3985-3989
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Sedarnawati, Budijanto S. 1989. Analisa Pangan. Bogor: PAU IPB
- Apriyantono A, Marianti S, Bailey RG, Royle L, Ames JM. 1997. Separation of coloured of kecap manis (a typical Indonesian soy sauce) using HPLC and capillary electrophoresis. Di dalam prosiding 6th Maillard Symposium, London 27-30 July 1997
- Duh P, Tu Y dan Yen G. 1999. Antioxidant activity of water extract of harnng lyur (*Chrysanthemum morifolium ramat*). *Lebensm Wiss U Technol.*32: 269-277
- Hofmann 1998. Studies on relationship between molecular weght and the color potency of fractions obtained by thermal treatment of glucose/amino acid and glucose/protein solutions by using ultrasentrifugation and color dilution techniques. *J.Agric.Food Chem.*46: 3891-3895
- Mun'im A, Negishi O and Ozawa T. 2003. Antioxidative compounds from *Crotalaria sessiliflora*, *Biosci.Biotechnol.Biochem.* 67 (2) p.410-414.
- Nunomura N, Sasaki M. 1986. Soy sauce. dalam Reddy N, Pierson. MD, Solunke, DK (ed). Legume-based Fermented Foods. Florida: CRC Pr Inc
- Soares JR, Dins TCP, Cunha AP dan Ameida LM. 1997. Antioxidant activity of some extract of *thymus zygis*. *Free Rad.Res.*26: 469-478
- Takaya Y, Kondo Y, Furukawa T and Niwa M., 2003, Antioxidant constituents of radish sprout (Kaiware-daikon), *Raphanus sativus* L., *J. Agric. Food Chem.*, 51, 8061-8066.