

**Perubahan Biokimiawi dan Fisik pada Fermentasi Koji oleh *Aspergillus oryzae*
dalam Pembuatan Kecap**

**The Biochemistry and Physical Changes in Koji Fermentation by *Aspergillus oryzae*
in Sweet Soy Sauce Making**

Chrismita Budi Lusihanne^{1*}, Maria Andriana², Fransisca Mareta Kurnia Sari³

¹PT. PT. Sumatera Riang Lestari, Jl. Sei Duku No 333, Pekanbaru, 28143, Indonesia

²Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Kristen Satya Wacana Jl. Diponegoro 66, Salatiga, 50711, Indonesia

³PT. Bahagia Sumber Abadi, Kecamatan Tengaran, Kabupaten Semarang, 50775, Indonesia

* penulis korespondensi: lusihanne@gmail.com

Diterima: 28 Oktober 2023, Disetujui: 30 November 2023, Diterbitkan: 1 Desember 2023

Abstrak. *Sweet soy sauce* atau yang dikenal kecap manis merupakan salah satu produk pangan tradisional Indonesia yang berasal dari bahan baku kedelai hitam. Dalam pembuatan kecap manis terdapat tahap fermentasi koji dimana dalam tahap tersebut memerlukan peranan kapang. *Review* ini bertujuan untuk mengkaji berbagai perubahan biokimia dan fisik pada fermentasi koji oleh kapang *Aspergillus oryzae*. Pada fermentasi koji oleh *A.oryzae* dalam pembuatan kecap terjadi perubahan biokimiawi dan fisik. Perubahan biokimiawi, yaitu terjadinya perombakan protein menjadi asam amino, karbohidrat menjadi disakarida dan monosakarida, serta lemak menjadi asam lemak. Demikian juga terjadi perubahan pH dari 6,32 menjadi 6,97 dan penurunan kadar air dari 40% menjadi 22%.

Kata kunci: kecap manis, fermentasi koji, *Aspergillus oryzae*

Abstract. *Sweet soy sauce* is a traditional Indonesian food product that comes from black soybeans. In making sweet soy sauce, there is a koji fermentation stage, which requires the role of mold. This review aims to examine various biochemical and physical changes in koji fermentation by the mold *Aspergillus oryzae*. In the fermentation of koji by *A. oryzae* in making sweet soy sauce, biochemical and physical changes occur. The biochemical changes, namely the breakdown of proteins into amino acids, carbohydrates into disaccharides and monosaccharides, and fats into fatty acids. Likewise, there was a change in pH from 6.32 to 6.97 and a decrease in water content from 40% to 22%.

Keywords: sweet soy sauce, fermented koji, *Aspergillus oryzae*

PENDAHULUAN

Sweet soy sauce yang dikenal dengan kecap manis telah memperkaya Indonesia sebagai surga kuliner. Kapasitas produksi

kecap mampu mendukung kesejahteraan masyarakat yang nilai ekonomisnya mencapai 7,1 triliun rupiah (Kementrian Perindustrian, 2015). Kecap kedelai manis

adalah salah satu sumber protein yang cukup baik sebab mengandung asam amino esensial yang cukup tinggi dari bahan bakunya, yaitu kedelai hitam. Proses fermentasi dalam pembuatan kecap menyebabkan zat-zat gizi di dalam kecap akan lebih mudah dicerna dan dimanfaatkan oleh tubuh. Menurut Mahmud (2009), dalam 100 g kecap kedelai manis mengandung 63 g air; 71 kkal energi; 5,7 g protein; 0,006 g besi; 0,1 g fosfor; 0,1 g kalsium; 1,3 g lemak; dan 9 g karbohidrat.

Dalam pembuatan kecap kedelai manis terdiri dari fermentasi koji dan moromi, dimana pada tahap fermentasi koji diperlukan peranan mikroba seperti kapang. Kapang yang digunakan umumnya adalah *Aspergillus oryzae* atau *Aspergillus flavus*. Namun menurut Widayat dan Satriadi (2005), kapang *Aspergillus oryzae* lebih baik digunakan daripada *Aspergillus flavus*, karena *Aspergillus flavus* memiliki afinitas yang besar terhadap kedelai, sehingga pertumbuhannya pada substrat dapat merusak dan membentuk alfatoksin yang beracun. Berdasarkan latar belakang tersebut, review ini bertujuan untuk mengkaji berbagai perubahan biokimia dan

fisik pada fermentasi koji oleh kapang *Aspergillus oryzae*

KLASIFIKASI DAN KARAKTERISTIK *A. oryzae*

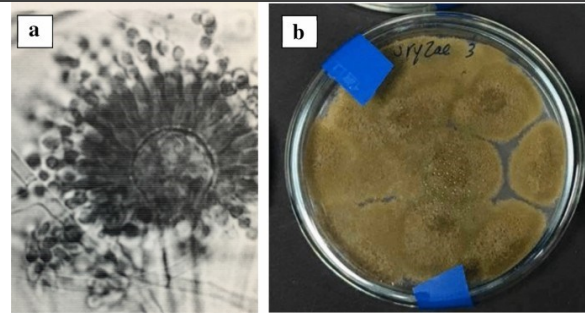
Klasifikasi *Aspergillus oryzae* menurut Hardjo dkk (1989) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Filum	: <i>Ascomycota</i>
Kelas	: <i>Eurotiomycetes</i>
Ordo	: <i>Eurotiales</i>
Famili	: <i>Trichocomaceae</i>
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Species	: <i>Aspergillus oryzae</i>

A. oryzae adalah jenis kapang yang termasuk dalam kelas *Ascomycetes*. *A. oryzae* memiliki ciri-ciri: miselium bercabang, hifa bersepta, dan biasanya tidak memiliki warna. *A. oryzae* juga memiliki konidiofora yang panjangnya bisa mencapai 2 mm dengan diameter 20-25 μm dengan dinding yang kasar, agak tipis, dan tidak berwarna. Konidiofora ini muncul dari sel miselium yang membengkak dan berdinding tebal, serta pada bagian atasnya membengkak menjadi vesikel. Vesikel berbentuk bulat dengan diameter 50-70 μm . Pada vesikel terdapat sterigmata sebagai tempat tumbuh konidia. Ada dua macam sterigmata yaitu sterigmata primer dan

sterigmata sekunder. Konidia biasanya berwarna kuning sampai hijau. Ukuran konidia bervariasi, dengan diameter dari 3-4 μm , 4-5 μm , sampai 5-6 μm , berdinding agak tipis dan kasar pada beberapa strain. *A. oryzae* memiliki sklerotia yang berfungsi sebagai penghasil spora bila keadaan tidak menguntungkan, serta biasanya berwarna gelap dan jumlahnya sedikit.

A. oryzae dapat berkembangbiak secara seksual maupun aseksual. Berkembangbiakan secara seksualnya dengan menghasilkan askospora. Askospora merupakan spora seksual yang dihasilkan oleh askus. Untuk berkembangbiakan secara aseksualnya, *A. oryzae* menghasilkan konidia. (Schipper dkk, 1978). *A. Oryzae* memiliki sifat mesofilik, dimana kapang ini dapat bertumbuh baik pada suhu 25-30⁰C. Kisaran pH tempat tumbuh jamur ini adalah 5-8,5. Kapang ini bersifat aerob dimana kapang ini membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. *A. oryzae* dapat tumbuh pada media yang mengandung pati, protein, maupun lipid (Fardiaz, 1987).



Gambar 1. Morfologi *A. oryzae*: a. di bawah mikroskop, b. dibudidayakan pada media agar dekstrosa kentang (Daba et al., 2021)

PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI ENZIM

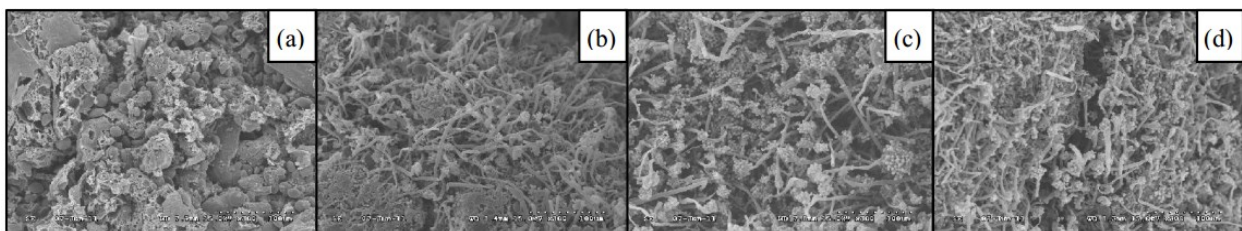
A. oryzae SELAMA FERMENTASI KOJI

Pertumbuhan *A. oryzae* selama fermentasi koji diamati dengan pemindaian mikroskop electron, seperti yang ditunjukkan pada Gambar. 2. *A. oryzae* tumbuh terus menerus selama periode budidaya. Pertumbuhan jamur juga menunjukkan hubungan yang kontras dengan kadar air (Gambar 2a). Penurunan kadar air dalam koji adalah karena pemanfaatan air dalam substrat oleh cetakan untuk menghasilkan miselia (Naraha dkk, 1982). Selain itu, peningkatan aktivitas enzim juga terkait dengan pertumbuhan *A. oryzae* (Gambar 2b). Sanchez dan Pulosof (2000) telah menunjukkan bahwa pengembangan produksi konidia dan protease *A. niger* berkorelasi selama periode

fermentasi (Sanchez dan Pilosof, 2000). Selain itu, hasilnya dilaporkan bahwa tidak ada kandungan aktivitas enzim yang tinggi atau pembentukan spora jamur yang diamati pada awal budidaya (24 jam). Namun, Sanchez dan Pilosof menemukan pembentukan spora dan aktivitas enzim tertinggi pada kultur 48 jam. Alasannya dilaporkan bahwa siklus aseksual atau pembentukan spora terkait dengan produksi metabolit sekunder, seperti enzim dan asam organik (Ward, 2006).

Dalam penelitian Chuenjit *dkk* (2012), juga diselidiki perubahan protease netral, alkali protease, dan produksi amilase selama fermentasi koji (Gambar 2b). Aktifitas protease netral dan alkali koji meningkat

dengan cepat setelah 24 jam fermentasi. Pada 48 jam fermentasi, koji kedelai menunjukkan aktivitas protease netral tertinggi pada 84,38 unit/g berat kering. Namun, aktivitas protease alkali sedikit meningkat dan aktivitasnya lebih rendah dari protease netral. Aktivitas protease alkali tertinggi ditunjukkan pada akhir periode fermentasi pada 41,35 unit/g berat kering. Aktivitas amilase menunjukkan aktivitas tertinggi (200 unit / g berat kering) pada 72 jam fermentasi. Hasil ini mirip dengan penelitian sebelumnya bahwa protein ekstraseluler dari *A oryzae* pada koji kedelai disimpulkan oleh intensitas ketergantungan waktu selama 48 jam dengan mencerna nutrisi dari substrat (Liang *dkk*, 2009).



Gambar 2. Scanning electron micrographs dari propagasi miselium pada fermentasi koji kedelai

PERUBAHAN BOKIMIA DAN FISIK SELAMA PROSES FERMENTASI KOJI

Kecap merupakan filtrat dari hasil fermentasi kedelai hitam di dalam air garam

yang mutunya sangat bergantung pada enzim proteolitik. Enzim proteolitik adalah hasil dari perkembangbiakan mikroba halofilik yang melakukan hidrolisis protein

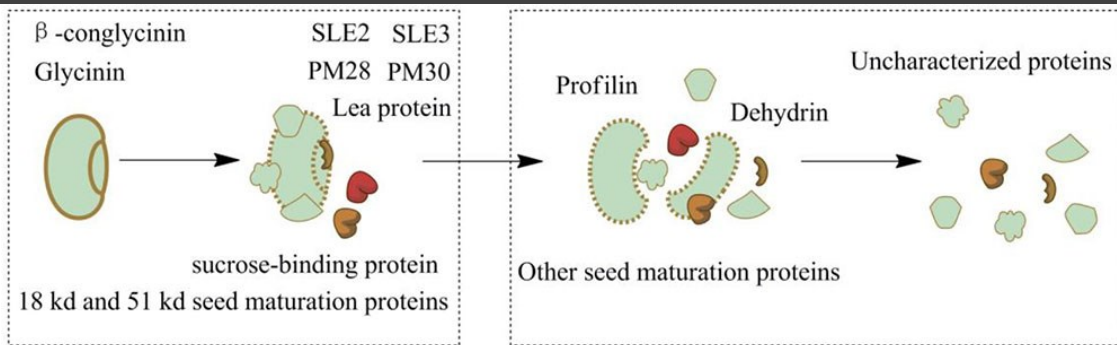
menjadi asam amino dan peptida. Prosedur pembuatan kecap manis terdiri dari tahap fermentasi koji (fermentasi padat) dan fermentasi moromi (fermentasi garam). Fermentasi koji lebih dulu dilakukan sebelum fermentasi moromi. Menurut Yong dan Wood (1974), *A. oryzae* berperan penting dalam fermentasi koji. Dalam proses fermentasi koji, pertumbuhan kapang semakin terlihat. Perubahan bahan dasar juga terlihat sangat jelas dan seluruh substrat mulai ditumbuhi miselium pada hari ketiga (Sardjono dkk., 2014).

Menurut Suprpti (2005), selama proses fermentasi koji terjadi perubahan-perubahan biokimia oleh *A. oryzae*. Perubahan-perubahan tersebut diantaranya adalah:

1. Perubahan protein

Pada fermentasi koji terjadi perombakan senyawa kompleks kedelai hitam secara enzimatis. Dalam proses fermentasi, enzim yang berperan penting

yaitu enzim protease dimana protein kompleks yang tidak dapat larut akan dihidrolisis menjadi peptida, polipeptida, dan asam amino. Salah satu contohnya adalah metabolisme glycinin (Gambar 3). Fermentasi *A. oryzae* tidak seluruhnya merombak asam amino, karena pada enzim protease memiliki cara khusus untuk memotong ikatan peptida secara acak yang nantinya diperoleh hasil berupa peptida. Pada proses ini juga terjadi perubahan hidrolisis sukrosa menjadi disakarida dan monosakarida, dan hidrolisis sukrosa menjadi invertase. Kenaikan nitrogen terlarut, asam amino, dan amonia terjadi selama proses fermentasi. Perubahan lain yang terjadi pada fermentasi ini yaitu terjadinya kenaikan gula reduksi hasil pemecahan sukrosa oleh invertase, maupun hidrolisis pati oleh amilase. Proses ini juga mengalami peningkatan derajat keasaman dan suhu, sedangkan untuk kadar air mengalami penurunan.

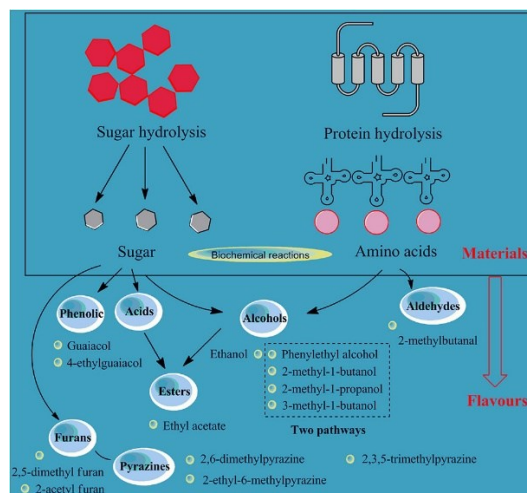


Gambar 3. Variasi protein pada fermentasi koji (Zhao et al., 2018)

2. Perubahan karbohidrat

Selama pengolahan dan fermentasi *A.oryzae* berperan dalam peningkatan mutu gizi, karena dapat menghasilkan enzim amilase yang digunakan untuk merombak polisakarida. Peningkatan mutu gizi dapat terjadi karena adanya peran dari *A.oryzae* yang menghidrolisis sebagian selulosa supaya bentuknya dapat dicerna dengan

mudah. Awalnya kedelai yang mengandung karbohidrat dihidrolisis menjadi gula, kemudian gula diubah menjadi rantai gula yang sederhana seperti, sukrosa, glukosa, galaktosa, rafinosa, stakhiosa, dan gula pereduksi. Gliserol, manitol, ester, dan lainnya merupakan komponen pendukung flavor dari degradasi karbohidrat(Gambar 4).

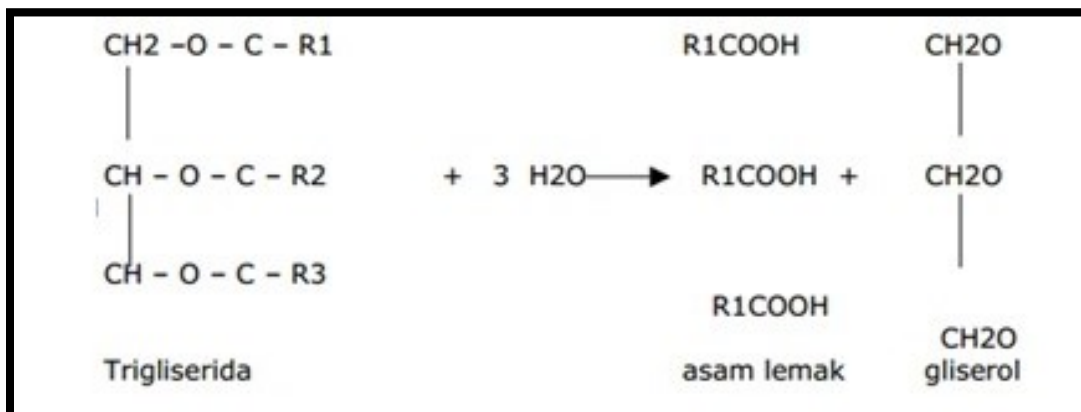


Gambar 4. Hidrolisis gula dan protein dalam fermentasi pembuatan kecap (Zhao et al., 2018)

3. Perubahan lemak

Pada *A.oryzae* terdapat aktivitas lipolitik, apabila aktivitas tersebut tinggi maka *A.oryzae* dapat menghasilkan asam lemak dalam kedelai hitam. Hasil asam

lemak diperoleh dari hidrolisis lemak netral dalam kedelai hitam. *A.oryzae* lebih mampu menembus membran kedelai sehingga lignin lebih tinggi dibandingkan *Rhizopus* sp.



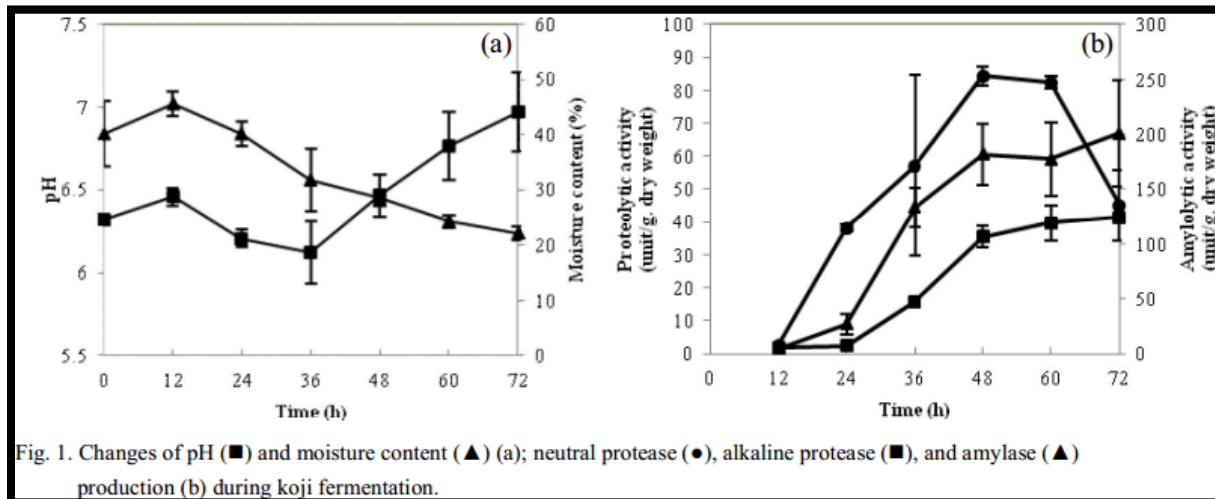
Gambar 5. Reaksi Hidrolisis Lemak

Selain terjadi perubahan biokimia, pada fermentasi koji juga terjadi perubahan secara fisik. Dari hasil penelitian Chuenjit et al. (2012), penambahan *A. oryzae* menyebabkan penurunan pH setelah 24 jam fermentasi koji yaitu dari pH yang semula 6,32 menjadi 6,12. Namun, pada akhir periode fermentasi terjadi peningkatan sehingga pH menjadi 6,97 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6a. Hasil serupa pernah dilaporkan Liang dkk (2009), dimana disebutkan bahwa peningkatan pH materi

fermentasi koji disebabkan oleh aktivitas metabolisme *A.oryzae* terutama dalam produksi protein ekstraseluler. Selain itu juga terjadi peningkatan kadar air dari 40% kemudian meningkat menjadi 45% setelah 12 jam fermentasi. Namun terjadi penurunan menjadi 22% setelah 72 jam fermentasi (Gambar 6a). Menurut Pandey (2003), kandungan air yang tinggi pada awal periode fermentasi koji menyebabkan penurunan porositas substrat dan pengurangan perpindahan panas sehingga

menyebabkan rendahnya aktivitas enzim pada awal fermentasi (Gambar 6b). Hal ini

kemungkinan disebabkan oleh peningkatan suhu.



Gambar 6. Perubahan pH dan kadar air selama fermentasi koji (a) dan produksi protein selama fermentasi koji (b) (Chuenjit et al., 2012)

PROSES PEMBUATAN KECAP DAN STANDAR KUALITAS PRODUK KECAP

Kedelai adalah salah satu komoditas pangan yang kaya akan protein, yang memiliki kandungan gizi bagi tubuh manusia. Sebagai sumber makanan kedelai dapat diolah menjadi tempe, tahu, oncom, kecap dan susu. Kecap kedelai merupakan salah satu produk ekstrak yang dihasilkan melalui proses fermentasi kedelai, dalam bentuk cairan coklat tua yang memiliki nilai guna sebagai penyedap rasa dalam berbagai masakan. Kecap dapat diolah melalui proses

fermentasi, hidrolisis asam, dan kombinasi kedua cara tersebut. Pembuatan kecap kedelai biasanya dibuat menggunakan kedelai pilihan yang dicampurkan dengan terigu, garam, air, dan mikroba seperti *Aspergillus oryzae* atau *Aspergillus zozae* (Muangtahi dkk, 2009).

Di Cina dan Jepang, fermentasi dalam pembuatan kecap dilakukan selama 1-3 tahun. Tujuannya adalah supaya diperoleh cita rasa yang khas. Sedangkan di Indonesia fermentasi kedelai dilakukan selama 1-3 bulan saja. Di Indonesia, kecap dapat

dibedakan menjadi dua yaitu kecap manis dan kecap asin. Kecap manis dan kecap asin dibedakan melalui teksturnya, kecap manis bertekstur kental sedangkan kecap asin bertekstur lebih encer. Kecap kedelai asli Indonesia memiliki ciri khas yang manis berbeda dengan kecap di negara lain. Menurut BPOM (2006), kecap kedelai manis adalah produk cair yang diperoleh dari hasil

fermentasi kacang kedelai (*Glycine max* L.) dengan campuran gula atau gula merah tidak kurang dari 40%, maupun tanpa penambahan bahan lainnya. Berdasarkan SNI 3543:2013 bagian 1, kecap kedelai manis dijelaskan sebagai produk berbentuk cair yang dibuat dari cairan hasil fermentasi kedelai.

Tabel 1. Syarat mutu kecap kedelai berdasarkan SNI 01-3543-2013

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1.	Bau	-	Normal, khas
1.2.	Rasa	-	Normal, khas
2	Kadar protein	% (b/b)	Min. 1,0
3	Kadar gula (sukrosa)	% (b/b)	Min. 30
4	pH	-	3,5 - 6,0
5	Cemaran logam		
5.1.	Timbal (Pb)	mg/ kg	Maks. 1,0
5.2.	Kadmium (Cd)	mg/ kg	Maks. 0,2
5.3.	Timah (Sn)	mg/ kg	Maks. 40,0
5.4.	Merkuri (Hg)	mg/ kg	Maks. 0,05
6	Cemaran Arsen (As)	mg/ kg	Maks. 0,5
7	Cemaran mikroba		
7.1.	Bakteri koliform	APM/ g	< 3
7.2.	Kapang	koloni/ g	Maks. 50
8	Aflaktoksin		
8.1.	B1	µg/ kg	Maks. 15
8.2.	Total aflaktoksin	µg/ kg	Maks. 20

Keterangan: *) hanya untuk cairan hasil fermentasi kedelai

Proses pembuatan kecap menggunakan kedelai hitam pilihan yang sudah dicuci menggunakan air bersih dan direndam

selama satu malam. Perendaman dilakukan supaya kedelai dapat menyerap air hingga keadaan kedelai mengembang, sehingga

memudahkan miselium tumbuh dipermukaan. Berikutnya dilakukan perebusan sampai kulit ari kedelai menjadi lunak selama 1-5 jam. Kedelai ditiriskan pada wadah atau tampah yang tahan terhadap panas dan disterilisasikan menggunakan suhu 121° C selama 20 menit. Kedelai dibiarkan supaya kedelai cepat dingin sesuaikan pada suhu ruang 28° C. Setelah keadaan kedelai dingin dilakukan peragian, dengan menginokulasikan kapang pada kedelai tersebut. *A.oryzae* kemudian

diinokulasikan dengan mencampurkan kedelai dan *A.oryzae* dengan ketebalan 2 cm, setelah itu didiamkan 3-4 hari dengan suhu 30-32° C. Tujuan ditetapkan ketebalan 2 cm tersebut supaya pada permukaan kedelai hitam miselium dapat tumbuh secara merata. Ciri-ciri miselium sudah tumbuh dipermukaan, terjadinya perubahan warna hijau pada permukaan kedelai hitam. Tahap ini disebut tahap fermentasi koji.



Gambar 7. Alur Pembuatan Kecap

Berikutnya dilakukan penyaringan dan diambil filtratnya. Filtrat kecap ditambahkan bumbu-bumbu seperti 20 g jahe, 10 g kemiri, 10 g kunyit, dan 10 g ketumbar. Filtrat yang sudah ditambahkan bumbu kemudian

direbus sampai volume filtrat menjadi 500 ml (cairan menjadi kental). Pada tahap terakhir filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam botol dan disterilisasikan

menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit (Warintek, 2003).

KESIMPULAN

Pada fermentasi koji oleh *A.oryzae* dalam pembuatan kecap terjadi perubahan biokimiawi dan fisik. Perubahan biokimiawi mencakup biokonversi karbohidrat, protein, dan lemak menjadi senyawa turunannya. Perubahan fisik terjadi penurunan kadar air yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Chuenjit C, Pao-Chuan Hsieh, Shyang-Chwen S. 2012. Enzyme Production and Growth of *Aspergillus oryzae* on Soybean Koji Fermentation. International Journal of Bioscience, Biochemistry, and Bioinformatics 2(4).
- Daba GM, Mostafa FA, Elkhateeb WA. 2021. The ancient koji mold (*Aspergillus oryzae*) as a modern biotechnological tool. Bioresour. Bioprocess 8(52).
<https://doi.org/10.1186/s40643-021-00408-z>
- Fardiaz S. 1987. Fisiologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hardjo SS, Indrasti NS, Tajuddin B. 1989. Biokonveksi: Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. Bogor. Kementerian Perindustrian Republik Indonesia. 2015. Menperin: Indonesia Surga Kuliner, Produksi Kecap dan Bumbu Rp14,3 Triliun. Diakses melalui <http://www.kemenperin.go.id/artikel/12914/Menperin:-Indonesia-Surga-Kuliner,-Produksi-Kecap-dan-Bumbu-Rp-14,3-Triliun> pada 5 Maret 2019.
- Liang Y, Pan L, Lin Y. 2009. Analysis of Extracellular Proteins of *Aspergillus oryzae* Grown on Soy Sauce Koji. Biosci. Biotechnol. Biochem. 73: 192-205.
- Mahmud. 2009. Tabel Komposisi Pangan Indonesia. PT Elex. Media Komputindo. Jakarta.
- Muangthai P, Suwunna UP, Patumpai W. 2009. Development Of Healthy Soy Sauce from Pigeon Pea and Soybean. Asian Journal of Food and Agroindustry 2(291).
- Narahara H, Koyama Y, Yoshida T, Pichangkura S, Ueda R, Taguchi H. 1982. Growth and Enzyme Production in Solid-state Culture of *Aspergillus oryzae*. J. Ferment. Technol. 60(311).
- Pandey A. 2003. Solid-state Fermentation. Biochem. Eng. J. 13(81).
- Sanchez VE, Pilosof AMR. 2000. Protease-conidia Relationship of *Aspergillus niger* Grown in Solid State Fermentation. Journal Biotechnology 2(30).
- Sardjono, Retno I, Setyabudi S. 2014. Pengembangan dan Perancangan Proses Produksi Kecap Berbahan Baku Kedelai

- Kuning Lokal. Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Tepat Guna.
- Schippers B, Lugtenberg B, Weisbeek PJ. 1987. Plant growth control by *fluorescent pseudomonad*, Ilan C., editor. Innovative approaches to plant disease control, New York: John Wiley and Sons, P19-23.
- Standar Nasional Indonesia. 2013. Kecap Kedelai Manis (SNI: 3543-01-2013). Departemen Perindustrian Republik Indonesia, Jakarta Pusat.
- Suprpti M. 2005. Kedelai Tradisional. Kanisius. Yogyakarta.
- Ward. 2006. At a Glance sistem respirasi. Erlangga, Surabaya.
- Warintek. 2003. Kecap, http://warintek.progressio.or.id/ttg/pangan/_kecap.htm, diakses pada hari Senin, 18 maret 2019.
- Widayat, Satriadi H. 2005. Pemanfaatan Ampas Tahu sebagai Bahan Baku Pembuatan Kecap dengan Kapang *Aspergillus oryzae*. *Reaktor* 9(2).
- Yong FM, Wood BJB. 1974. Microbiology and Biochemistry of Soy Sauce Fermentation. Elsevier, London.
- Zhao G, Ding L-L, Yao Y, Cao Y, Pan Z-H, Kong D-H. 2018. Extracellular Proteome Analysis and Flavor Formation During Soy Sauce Fermentation. *Front. Microbiol.* 9:1872. doi: 10.3389/fmicb.2018.0187