

Pengaruh Aktifitas Proteolitik *Aspergillus* sp-K3 dalam Perolehan Asam-Asam Amino sebagai Fraksi Gurih Melalui Fermentasi Garam pada Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L.)

Oleh :
Agustine Susilowati

RINGKASAN

Fermentasi garam pada kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L) menggunakan kapang campuran *Aspergillus* sp-K3 selama 0, 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 minggu pada suhu kamar menghasilkan kacang terfermentasi yang berpotensi sebagai kaldu nabati yaitu produk fermentasi semi padat untuk seasoning agent. Asam-asam amino yang diperoleh dalam fermentasi ini merupakan precursor flavor savory non volatil dan sumber umami yang tidak terlepas dan aktifitas proteolitik *Aspergillus* sp-K3. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi *Aspergillus* sp-K3 sebagai inokulum kaldu nabati melalui fermentasi garam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp-K3 dengan inkubasi 72 jam menghasilkan aktifitas proteolitik sebesar 0.588 U/g berpotensi sebagai inokulum kaldu nabati. Aktifitas proteolitiknya pada fermentasi garam meningkatkan kadar protein terlarut dan N-amino namun menurunkan kadar air, total protein, VRS dan lemak sejalan dengan bertambahnya waktu fermentasi. Berdasarkan kesesuaian organoleptik, 10 minggu adalah waktu fermentasi terbaik untuk perolehan kaldu kasar dengan kandungan protein total 10,9621 persen, protein terlarut 8,5 mg/g, N-amino 5,6 mg/g, lemak 0,355 persen dan air 40,0854 persen, VRS 70 meq/g, red, gula pereduksi 843,75 mg/mL. Jenis asam-asam amino non esensial dominan yang diperoleh adalah asam glutamat (0,973 persen protein kering) dan asam aspartat (0,527 persen protein kering) sedangkan asam-asam amino esensial adalah Leusin (0,615 persen protein kering) dan Lisin (0,542 persen protein kering). Asam-asam amino lain diperoleh dengan konsentrasi antara 0,193- 0,415 persen (protein kering). Secara visual, hasil fermentasi berupa padatan semi solid, berwarna coklat, sedikit berlemak, berasa gurih dan sedikit asin, dengan aroma umami/savory yang cukup kuat.

kata kunci: asam amino, fermentasi garam, kaldu kacang hijau, *Aspergillus* spK3, fraksigurih.

I. PENDAHULUAN

Upaya untuk meningkatkan nilai tambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) diantaranya adalah dengan mengembangkannya sebagai bahan baku dalam produk pangan fermentasi. Fermentasi garam pada kacang hijau adalah salah satu alternatif untuk memperoleh produk fermentasi dengan menggunakan kapang sebagai sumber enzim. Proses fermentasi garam pada kacang hijau

dengan menggunakan kapang *Aspergillus* sp-K3 merupakan proses dasar dalam pembuatan seasoning yang mengandalkan perolehan komponen volatile maupun non volatile sebagai precursor penyedap rasa makanan (flavor savory). Asam-asam amino yang diperoleh dari fermentasi garam melalui pemecahan komponen kacang oleh aktifitas enzim-enzim pendegradasi (protease, amylase, lipolase) telah diketahui merupakan precursor timbulnya

rasa gurih (umami/savory). Kapang mi seperti halnya *Aspergillus* sp yang lain merupakan sumber enzim pendegradasi yang akan mengubah protein, karbohidrat dan lemak dari kacang menjadi senyawa-senyawa dengan komponen yang lebih sederhana (Hasseltine, C.W dan Wang, H.L, 1980). *Aspergillus* sp biasanya merupakan campuran dan *Aspergillus soyae*, *Aspergillus oligosporus* dan sering diketahui adanya sedikit *Rhizopus* sp misalnya *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*. Asam-asam amino terutama asam glutamat merupakan pembentuk rasa umami (Allan, K.S. dan J.C. Sidney, 1980). Interaksi antara asam amino dengan komponen volatil lainnya seperti aldehyde, hidrocarbon, pyran, furan, alkohol dan lain-lain akan membentuk flavor savory yang spesifik. Masing-masing asam amino mempunyai intensitas rasa khas yang berbeda bila bereaksi atau berinteraksi dengan senyawa lain, misalnya monosakarida

(ribosa, glukosa, fruktosa dan lain-lain) (Nagodawithana, T, 1998). Melalui reaksi Maillard yang dihasilkan flavor khas savory yang diikuti warna produk yang semakin gelap (Shurleff, W. & A. Aoyagi, 1976).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap perolehan asam-asam amino sebagai komponen non volatil flavor savory dan komposisi kaldu nabati dan kacang hijau oleh aktifitas proteolitik *Aspergillus* sp-K3.

II. METODOLOGI

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan berupa kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.), starter *Aspergillus* sp-K3 dari Pusat Penelitian Kimia — LIPI, bahan-bahan kimia untuk analisa proksimat dan asam amino. Peralatan yang digunakan berupa autoklaf, inkubator, peralatan fermentasi garam skala laboratorium. Instrument analisis penting yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-1201 dan High Pressure Liquid Chromatography (HPLC).

2.2. Rancangan Penelitian dan Analisis

Penelitian ini dilakukan dengan waktu

(durasi) fermentasi garam selama 0, 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 minggu dengan skala laboratorium (100-150 gram), pada suhu ruang menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K3. Analisis dilakukan terhadap aktifitas proteolitik (Walter) (Darwis, A.A. dan Sukara, E, 1990) dan aktifitas amilolitik (Somogy-Nelson) (AOAC, 1995) dari inokulum *Aspergillus* sp-K3. Analisis komposisi dilakukan pada bahan baku kacang hijau dan perolehan kaldu nabati, meliputi kadar air (Gravimetri), Total protein (Kjedahl), protein terlarut (Lowry), kadar lemak (Sohxlet), gula pereduksi (Somogy-Nelson) (AOAC, 1995), N-amino (Cu) (Pope, C.G. dan Stevens M.F, 1989). Pada waktu fermentasi terbaik dilakukan analisis dan identifikasi asam-asam amino dengan metoda HPLC (AOAC,1984).

2.3. Identifikasi Asam Amino

Analisis dilakukan dengan menggunakan kolom Picotas amino acid dengan panjang gelombang 254 nm, laju alir 1 ml/menit dan volume injek 20 µl. Konsentrasi asam-asam amino dalam contoh dihitung dan kromatogram dan dinyatakan dalam µmol asam-asam amino (µmol AA) kemudian dihitung presentase asam-asam amino (berat/berat kering protein sampel) (AOAC, 1984). Kromatogram dan konsentrasi standar asam amino ditunjukkan pada Gambar 8.

2.4. Tahapan Proses

a. Pembuatan inokulum kaldu kacang hijau

Starter *Aspergillus* sp-K3 ditambahkan dengan konsentrasi 0,2 persen (b/b) pada substrat beras yang telah direndam selama semalam, dicuci, disterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit dan didinginkan. Inkubasi dilakukan pada suhu 35 °C selama 72 jam. Selanjutnya dikeringkan pada suhu 50 °C selama ± 24 jam dalam pengering kabinet, dihaluskan dengan grinder, diayak lolos 80 mesh dan siap digunakan sebagai inokulum dalam proses fermentasi garam.

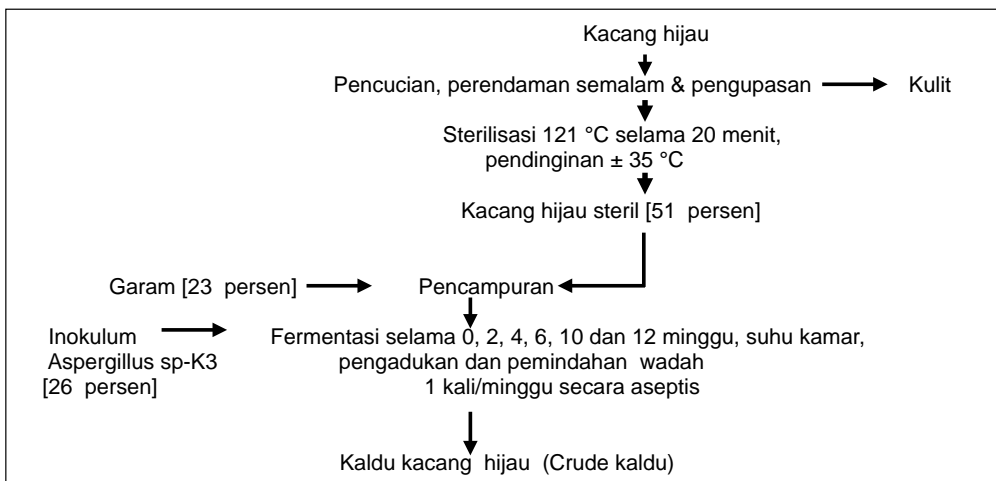
b. Pembuatan kaldu nabati dan kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.)

disterilisasi pada suhu 121 °C selama 20 menit selanjutnya didinginkan.

Pencampuran dengan garam dilakukan pada ratio kacang hijau dan garam 51 persen : 23 persen. Pada campuran ini kemudian ditambahkan inokulum kaldu *Aspergillus* sp-K3 sebanyak 26 persen secara aseptis dan fermentasi dilakukan sampai 12 minggu pada suhu kamar. Pengamatan dan analisis komposisi dilaksanakan setiap minggu. Pengadukan dan pemindahan wadah dilakukan setiap minggu secara aseptis. Skema proses fermentasi garam pada kacang hijau ditunjukkan dalam Gambar 1.

masing (25,30 persen berat kering) dan (62,12 persen), sedangkan kadar lemak cukup rendah (0,47 persen). Gambar 2 menunjukkan kacang hijau dan komposisinya.

Komponen utama adalah protein yang merupakan sumber peptida pembentuk rasa gurih selain karbohidrat dan lemak. Selama fermentasi berlangsung kapang *Aspergillus* sp-K3 akan menggunakan karbohidrat, protein, dan lemak baik yang berasal dan kacang maupun inokulum sebagai sumber energi dan nutrient bagi pertumbuhannya. Oleh aktifitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik kapang, diperoleh kaldu kasar yaitu kacang



Gambar 1. Skema proses pembuatan kaldu kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) secara fermentasi garam menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K3.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Komposisi Kimia Kacang Hijau

Komposisi kacang hijau sebagai bahan baku menunjukkan kandungan protein dan karbohidrat yang cukup tinggi, yaitu masing-

terfermentasi yang mengandung protein terlarut dan kadar asam amino yang lebih tinggi dengan citarasa gurih dan aroma yang mendukung peranannya sebagai sumber umami.



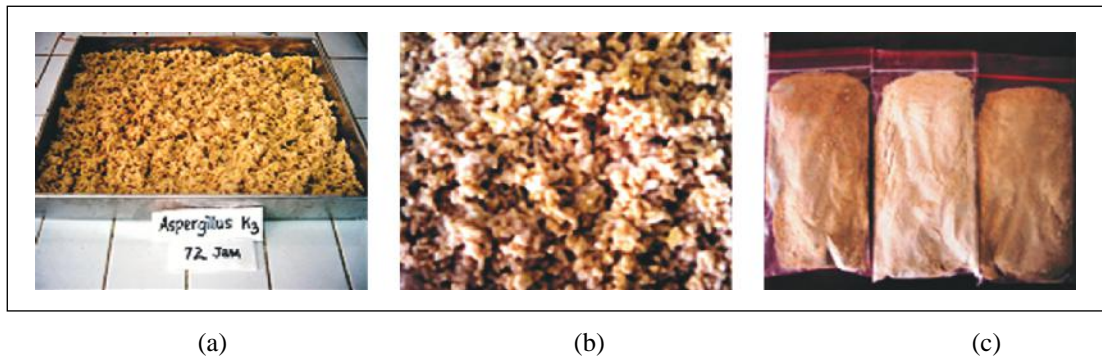
Komposisi :

Air	: 9,69 persen
Abu	: 2,42 persen
Lemak	: 0,47 persen
Karbohidrat	: 62,12 persen
Protein	: 25,30 persen (b.k)

Gambar 2. Kacang hijau dan komposisinya sebagai bahan baku dalam fermentasi garam untuk pembuatan kaldu nabati sebagai flavor savory.

3.2. Karakteristik Inokulum Kaldu dan Starter *Aspergillus* sp-K3

Pembuatan inokulum kaldu nabati dengan menggunakan kapang *Aspergillus* sp-K3 (campuran *A. soyae* dan *A. oryzae*) (Agustine Susilowati dkk, 2007) berpotensi sebagai sumber enzim-enzim protease, lipidade dan amilase yang masing-masing akan memecah protein, lemak, dan pati menjadi senyawa yang lebih sederhana. Inkubasi selama 72 jam pada suhu 30 °C dalam substrat beras menghasilkan masa padat, berwarna kuning sedikit kehijauan, bagian dalam berwarna putih dan tekstur permukaan agak basah seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 (a dan b) sedangkan inokulum kering berupa serbuk halus kecoklatan (lolos 80 mesh) (Gambar 3 c).



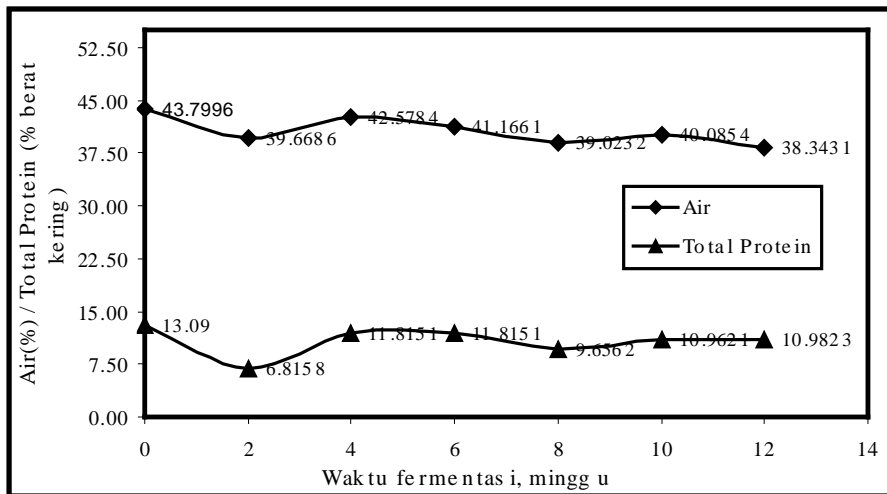
Gambar 3. Pertumbuhan *Aspergillus* sp-K3 dalam substrat beras dengan inkubasi pada suhu 30 °C selama 72 jam dalam pembuatan inokulum kaldu nabati (a dan b) dan inokulum kering hasil pengeringan pada suhu 50 °C selama ± 24 jam (c).

Inokulum menghasilkan aktifitas proteolitik sebesar 0,588 U/g. Aktifitas ini cukup tinggi untuk memecah protein substrat dan membentuk asam-asam amino terutama Asam Glutamat sebagai precursor umami. *Aspergillus* sp dapat menghasilkan beberapa macam enzim selama proses fermentasi antara lain proteinase, endo dan eksopeptidase yang dapat dideteksi setelah 10 jam pertumbuhan dan meningkat setelah fase eksponensial (Agustine Susilowati, dkk., 2007).

3.3. Pengaruh Fermentasi Garam terhadap Komposisi Kaldu Kacang Hijau

Fermentasi garam menghasilkan kadar air yang cenderung menurun selama fermentasi berlangsung seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Penurunan kadar air ini diduga disebabkan oleh penggunaan air untuk pertumbuhan dan produksi enzim oleh kapang dimana *Aspergillus* sp aktif pada suhu 28°C-35°C. (Beuchat, L.R, 1987). Penurunan kadar air juga disebabkan terjadinya penguapan air sebagai pengaruh proses metabolisme kapang. Kadar air produk juga dipengaruhi oleh bahan awal yaitu campuran kacang hijau, garam dan inokulum. Kandungan air ini berpengaruh terhadap penampakan (wama), tekstur dan kerapatan m a s a .

Pada skala laboratorium dalam wadah stoples tertutup (100-150 g), substrat tampak sebagai masa semi padat, kecoklatan dan sedikit basah seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5 a dan sebagai pasta pada Gambar 5 b. Kecenderungan penurunan total protein juga tampak dimana antara 0-2 minggu menurun dengan tajam dan selanjutnya konstan sampai 12 minggu fermentasi. Penurunan total protein ini diduga disebabkan oleh penggunaan protein substrat untuk nutrisi dan metabolisme kapang. Protein dikontribusi oleh inokulum (26 persen dari total substrat)



Gambar 4. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar air dan total protein kaldu nabati dan kacang hijau menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K3* pada suhu ruang, skala laboratorium.

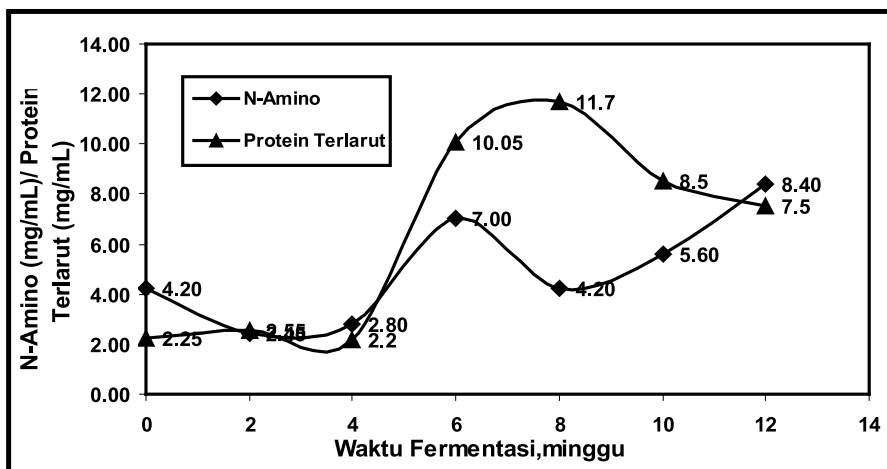


Gambar 5. Kaldu kasar hasil fermentasi garam pada kacang hijau selama 12 minggu pada suhu ruang (a) dan sebagai pasta (b).

Selama fermentasi berlangsung, semakin besar produksi enzim oleh kapang, semakin tinggi pembentukan asam-asam amino oleh aktifitas enzim proteolitik, terutama asam glutamat dan asam aspartat. Kedua jenis asam amino ini menyebabkan tingkat keasamaan meningkat (Mayes, P.A., 1984). Pada suatu keadaan akan menyebabkan terdenaturasinya sebagian protein yang akan menurunkan kandungan total protein. Selama fermentasi dihasilkan pH substrat < 5. *Aspergillus sp* menghasilkan protease netral dan alkalis dimana protease netral bekerja pada pH optimum 5,5-7,0, protease asam dengan pH optimal 3-4 dan protease alkalis pada pH optimum 8,0-10,5 (Yong F.M. dan B.J.B. Wood, 1974).

Terhadap kandungan protein terlarut dan N-amino, semakin lama fermentasi, kandungan ke dua komponen ini cenderung meningkat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6. Peningkatan protein terlarut yang tajam tampak pada 8 minggu (11,7 mg/mL) dan selanjutnya menurun sampai 12 minggu fermentasi (7,5 mg/mL). Kecenderungan yang sama terlihat pada kandungan asam-asam amino sebagai N-amino namun dengan puncak yang lebih cepat yaitu 6 minggu (7,0 mg/mL), berfluktuatif dan semakin meningkat sampai akhir fermentasi (8,4 mg/mL).

Peningkatan kedua komponen ini terkait dengan aktifitas proteolitik *Aspergillus sp-K3* dalam menghidrolisis protein substrat yang dipengaruhi oleh faktor ekstrinsik (kelembaban,



Gambar 6. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar protein terlarut dan N- amino kaldu nabati dan kacang hijau menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K3 pada suhu ruang, skala laboratorium.

aerasi, pemerataan pengadukan, distribusi oksigen dan suhu fermentasi) dan faktor instrinsik kapang yaitu kemampuan memproduksi enzim protease pada kondisi pertumbuhan optimum. *Aspergillus* sp-K3 adalah kapang yang digunakan dalam fermentasi moromi dalam pembuatan kecap yang terdiri dari campuran *A. Soyae*, *A. oligosporus* dan sedikit *Rhizopus oligosporus* serta kapang-kapang *Aspergillus* sp lainnya (*A. niger*) sehingga memungkinkan menghasilkan jenis enzim protease yang beragam. Meskipun demikian, seperti pada umumnya, *Aspergillus* sp menghasilkan protease asam, protease alkali dan protease netral dengan aktifitas metabolik pada suhu optimum 30- 37°C pada kisaran pH substrat yang berlainan (Yong F.M. dan B.J.B. Wood, 1974). Fermentasi garam berlangsung pada suhu ruang dalam wadah tertutup sehingga oleh akumulasi panas memungkinkan tercapainya kondisi optimum *Aspergillus* sp-K3 yang akan meningkatkan produksi enzim protease dan pada akhirnya akan meningkatkan protein terlarut dan asam-asam amino sebagai N-amino. Enzim protease dan kapang *Aspergillus* sp-K3 menghidrolisis rantai peptida protein menjadi peptida sederhana dan asam amino, sehingga mengubah orientasi molekul protein secara keseluruhan yaitu rantai

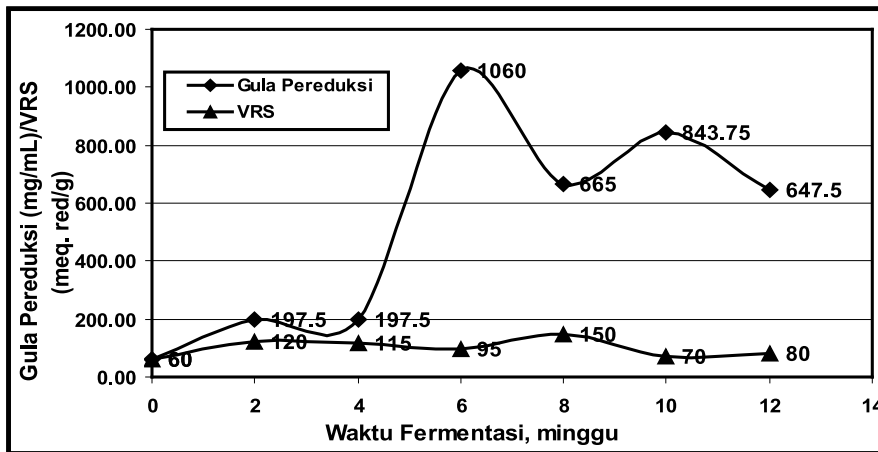
samping hidrofobik, non polar ditata ke permukaan dalam dan rantai samping hidrofilik polar berada dibagian luar untuk meningkatkan kelarutannya dalam air yang merupakan pelarut polar. Disamping itu, garam yang digunakan dalam fermentasi dapat meningkatkan produksi dan aktifitas protease. Telah dilaporkan bahwa garam berpengaruh terhadap hidrolisis protein pada sufu (kedelai terfermentasi) dengan meningkatnya jumlah asam amino bebas (Hasseltine, C.W dan Wang, H.L., 1980). Waktu fermentasi yang semakin lama dihasilkan produk dengan kandungan gula pereduksi yang semakin tinggi, sedangkan komponen volatil yang terbentuk cenderung konstan seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 7. Peningkatan yang tajam terjadi pada 6 minggu fermentasi yaitu sebesar 1060 mg/mL, selanjutnya menurun sampai akhir fermentasi. Hal ini berkaitan dengan aktifitas amilolitik kapang *Aspergillus* sp-K3 dalam menghidrolisis ikatan glikosida dan suatu rantai karbohidrat yang berasal dari substrat beras (26 persen) dan kacang hijau (51 persen) menjadi monosakarida yang memiliki gugus gula pereduksi misalnya glukosa. Antara 4-6 minggu pertama, diduga aktifitas amilase sangat reaktif dan selanjutnya menurun, oleh karena seluruh aktifitasnya telah digunakan sehingga terjadi penurunan

pereduksi. Selain itu, dimungkinkan penggunaan perolehan glukosa untuk menghasilkan sejumlah energi melalui reaksi glikolisis untuk kelangsungan hidup kapang atau diduga terjadi perubahan glukosa menjadi alkohol dan asam organik oleh enzim yang dihasilkan kapang untuk menghasilkan flavor.

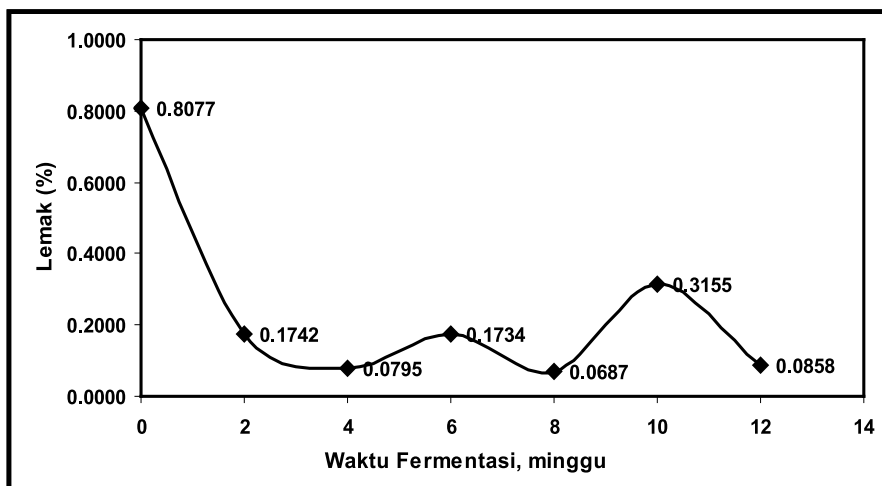
Selama fermentasi berlangsung, enzim-enzim (protease, lipase dan amilase) menghidrolisis karbohidrat, lemak, dan protein dari substrat dan menghasilkan komponen volatil yang selanjutnya berakumulasi membentuk flavor spesifik. VRS (Volatile

Reduction Substance) merupakan senyawa volatil yang dapat dioksidasi misalnya alkohol, aldehid, ester, hidrocarbon dan senyawa-senyawa organik lainnya. Dengan bertambahnya waktu fermentasi terjadi kenaikan dan penurunan kadar senyawa VRS secara fluktuatif. Kadar VRS paling tinggi terjadi pada fermentasi 8 minggu yaitu sebesar 150 mikroeq/gr, sedangkan kadar VRS paling rendah terjadi pada fermentasi 12 minggu yaitu 80 mikroeq/gr.

Terhadap kadar lemak produk, waktu fermentasi yang semakin panjang cenderung menurunkan kadar lemak dengan tajam antara



Gambar 7. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar gula pereduksi dan VRS kaldu nabati dan kacang hijau menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K3* pada suhu ruang, skala laboratorium.



Gambar 8. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar lemak kaldu nabati dan kacang hijau menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K3* pada suhu ruang, skala laboratorium.

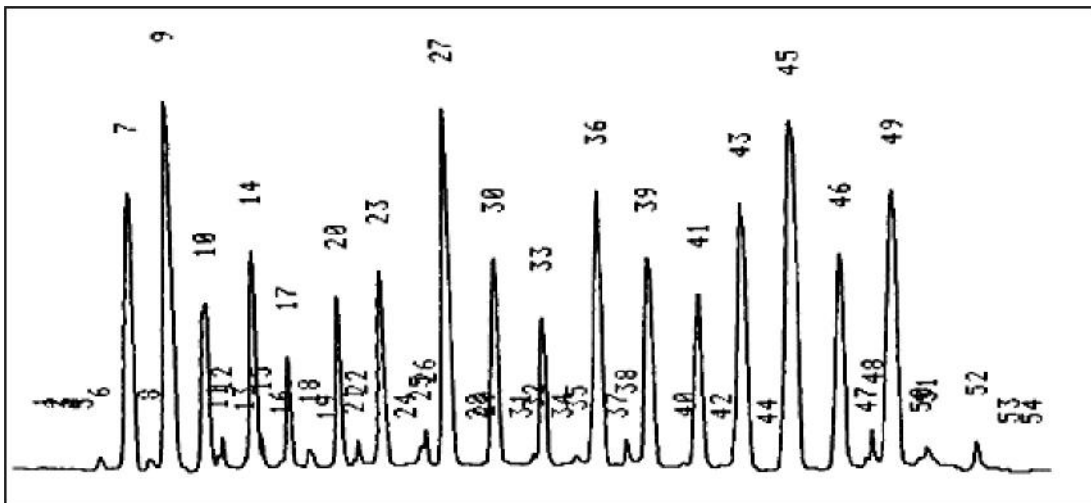
0 minggu (0,8077 persen) - 2 minggu (0,1742 persen) yang selanjutnya berfluktuasi dan terdapat pada konsentrasi terendah (0,0858 persen) pada 12 minggu fermentasi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 8. Penurunan ini disebabkan aktifitas lipolitik dan enzim lipase dalam menghidrolisis lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol. Asam lemak bebas akan bereaksi dengan alkohol membentuk ester yang penting dalam pembentukan cita rasa dan aroma kaldu. Aktifitas lipolitik juga berkaitan dengan kadar air substrat, dimana semakin tinggi kadar air maka aktifitas lipase semakin meningkat. Enzim lipase mempunyai keaktifan lima kali pada kadar air 15 persen daripada kadar air 8,8 persen (Lotong, N., 1985) sehingga dengan kadar air substrat antara 38-43 persen menyebabkan aktifitas lipolitik cukup tinggi untuk menurunkan kandungan lemak produk.

3.4. Pengaruh Fermentasi Garam terhadap Perolehan Asam-Asam Amino.

Jenis asam-asam amino yang terdapat dalam produk fermentasi tidak terlepas dan bahan awal dan kapang *Aspergillus* sp sebagai sumber enzim protease (serin karboksipeptidase (asam), serin proteinase, karboksil proteinase, gama glutamil transferase,

glutaminase aminopeptidase, protease netral, protease thiol) yang memecah protein kacang hijau menjadi asam-asam amino dan peptida dengan berat molekul yang lebih rendah [Allan, K.S. dan J.C. Sidney,1980]. Analisis asam-asam amino dilakukan pada waktu fermentasi garam 10 minggu berdasarkan atas kesesuaian sensory. Gambar 9 memperlihatkan profil kromatogram asam-asam amino dalam produk fermentasi garam dengan urutan kromatogram asam Aspartat, Glutamat, Serin, Glisin, Histidin, Arginin, Threonin, Alanin, Prolin, Tirosin, Valin, Methionin, Sistin, Isoleusin, Leusin, Phenilalanin dan Lisin berturut-turut ditunjukkan pada peak nomor 7, 9, 10, 14, 17, 20, 23, 27, 30, 33, 36, 39, 41, 43, 45, 46 dan 49.

Didasarkan atas sifat esensialnya, diperoleh asam-asam amino non esensial yang dominan yaitu Glutamat (0,973 persen protein kering) dan Aspartat (0,527 persen protein kering) dan asam-asam amino esensial yaitu Leusin (0,6 15 persen protein kering) dan Lisin (0,542 persen protein kering). Asam-asam amino non esensial yang lain adalah Serin (0,287 persen protein kering), Glisin (0,253 persen protein kering), Alanin (0,320 persen protein kering), Prolin (0,240 persen protein kering), Tirosin (0,276 persen protein kering) dan Sistin (0,218 persen protein kering)



Gambar 9. Kromatogram asam-asam amino kaldu nabati kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L) (crude/kaldu kasar) menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K3.

sedangkan jenis asam amino esensial lainnya adalah Histidin (0,193 persen protein kering), Arginin (0,284 persen protein kering), Isoleusin (0,415 persen protein kering), Methionin (0,355 persen protein kering), Phenilalanin (0,367 persen protein kering), Threonin (0,264 persen protein kering) dan Valin (0,370 persen protein kering). Peranan asam-asam amino sebagai flavor savory/umami (gurih) lebih ditujukan untuk makanan yang tidak manis. Makanan umumnya bersifat savory bila memiliki flavor keju atau daging, berempah, berasa kacang atau menyempai rasa sayuran yang pekat (Nagodawithana, T.W., 1994). Asam-asam amino terutama asam glutamat merupakan precursor flavor savory non volatile yang memberi kontribusi rasa gurih. Tabel 1. menunjukkan perolehan asam-asam amino dalam kaldu kasar kacang hijau hasil fermentasi garam menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K3*.

Asam-asam amino yang dominan diperoleh berdasarkan konsentrasinya adalah glutamat (0,973 persen protein kering), asam aspartat (0,527 persen, persen protein kering), lisin (0,542 persen protein kering) dan Leusin (0,615 persen protein kering). Asam glutamat merupakan asam amino dengan konsentrasi tertinggi (0,973 persen protein kering) bila dibandingkan dengan asam-asam amino yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa produk ini

memiliki rasa dasar gurih (umami/savory) dan berinteraksi dengan rasa yang ditimbulkan oleh asam-asam amino yang lain yaitu rasa asam, asin dan manis. Komponen-komponen ini merupakan akumulasi asam-asam amino, gula, garam-garam anorganik dan peptida tertentu. Timbulnya rasa gurih disebabkan adanya asam amino yaitu asam glutamat (0,973 persen protein kering) dan aspartat (0,527 persen protein kering) serta adanya asam amino hidrofobik lainnya, seperti phenilalanin (0,367 persen protein kering), tirosin (0,276 persen protein kering), leusin (0,615 persen protein kering), isoleusin (0,415 persen protein kering) dan valin (0,370 persen protein kering). Asam-asam ini memberi kontribusi rasa gurih (Yong F.M. dan B.J.B. Wood, 1974; Lotong, N., 1985; Nagodawithana, T.W., 1994) karena kadarnya yang cukup tinggi. Sedangkan rasa asam diduga juga disebabkan oleh tingginya kandungan asam aspartat (0,527 persen protein kering), histidin (0,193 persen protein kering) dan kemungkinan oleh adanya dipeptida yaitu peptida yang terdiri dari dua residu, asam amino asam dan asam amino netral atau asam amino asam dan asam amino aromatik. Selain rasa gurih, kaldu kasar juga menghasilkan rasa pahit yang disebabkan oleh terdapatnya arginin (0,284 persen protein kering), lisin (0,542 persen protein kering) dan prolin (0,240 persen protein kering) atau oleh

Tabel 1. Komposisi dan konsentrasi asam-asam amino bebas dalam kaldu kacang hijau hasil fermentasi garam menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K3* selama 10 minggu pada suhu ruang.

Kelompok asam-asam amino					
Non Esensial			Esensial		
No. Peak	Jenis Asam Amino	Konsentrasi (persen protein kering)	No. Peak	Jenis Asam Amino	Konsentrasi (persen protein kering)
9	Glutamat	0,973	17	Histidin	0,193
10	Serin	0,287	20	Arginin	0,284
14	Glisin	0,253	43	Isoleusin	0,415
27	Alanin	0,320	45	Leusin	0,615
30	Prolin	0,240	49	Lisin	0,542
33	Tirosin	0,276	39	Methionin	0,355
41	Sistin	0,218	15	Phenilalanin	0,367
7	Aspartat	0,527	23	Threonin	0,264
			36	Valin	0,370

adanya asam amino netral dan mempunyai gugus alkil besar, asam amino yang mempunyai gugus alkil besar dan kecil atau dua asam amino aromatik (Arrai S, dkk., 1973) namun hal ini tidak cukup tinggi dan dapat tertutupi oleh adanya rasa gurih dan asam glutamat bebas. Sedangkan rasa asin selain disebabkan oleh adanya NaCl dan bahan juga kemungkinan disebabkan adanya garam-garam anorganik, asam glutamat (0,973 persen protein kering) dan aspartat (0,527 persen protein kering) (Nakata T., dkk., 1995) yang ikut berkontribusi. Rasa manis disebabkan oleh adanya glisin, alanin (Lane, M.J dan Nurstein, H.E., 2002) prolin, lisin, valin, alanin, threonin, serin dan asam glutamat serta gula-gula glukosa, fruktosa, ribosa (Nakata T, dkk., 1995) yang berasal dari perubahan karbohidrat menjadi monosakarida oleh enzim amilase.

IV. PENUTUP

Aspergillus sp-K3 dalam substrat beras berpotensi sebagai inokulum untuk menghasilkan kaldu nabati dari kacang hijau sebagai flavor savory untuk penyedap rasa makanan (seasoning agent). Aktifitas proteolitik pada fermentasi garam meningkatkan kadar protein terlarut dan N-amino, namun menurunkan kadar air, total protein, VRS dan lemak sejalan dengan meningkatnya waktu fermentasi. Berdasarkan kesesuaian organoleptik, 10 minggu adalah waktu fermentasi terbaik untuk perolehan kaldu kasar dengan kadar total protein 10,9621 persen, protein terlarut 8,5 mg/g, N-amino 5,6 mg/g, lemak 0,355 persen dan air 40,0854 persen, VRS 70 meq/g. red, gula pereduksi 843,75 mg/mL. Jenis asam-asam amino non esensial dominan yang diperoleh selama 10 minggu fermentasi adalah asam glutamat (0,973 persen berat kering protein) dan asam aspartat (0,527 persen berat kering protein), sedangkan asam-asam amino esensial adalah Leusin (0,615 persen berat kering protein) dan Lisin (0,542 persen berat kering protein). Asam Glutamat merupakan asam amino dengan konsentrasi tertinggi (0,973 persen berat kering protein) yang menghasilkan intensitas rasa gurih, sedangkan asam-asam amino lain yang cukup dominan terhadap kontribusi rasa (asam,

manis, pahit) diantaranya adalah aspartat (0,527 persen berat kering protein); lisin (0,542 persen berat kering protein); arginin (0,284 persen berat kering protein); lisin (0,542 persen berat kering protein); dan prolin (0,240 persen berat kering protein).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustine Susilowati, Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati., Pemisahan fraksi Gurih dan kacang-kacangan tefermentasi sebagai flavor savory analog daging melalui membran bertahap, Laporan Hasil Penelitian, Program Tematik Kedepujian IPT Tahun Anggaran 2007, Pusat Penelitian Kimia-LIPI ,PUSPIPTEK-Serpong, 2007;
- Allan, K.S. dan J.C. Sidney, Soybeans: Chemistry and Technology ,Volume I AVI Publishing Company Inc Wesport, Connecticut, 1980;
- AOAC, Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C, 1984.;
- AOAC, Official Method of Analysis of Association of Official Analytical Chemistry, Washington D.C., 1995;
- Arrai S. ,Yamashita M., Noguchi M. dan Fujimaki., Taste of L-glutamyl oligopeptides in relation to their chromatographic properties . Agric. Biol. Chem. 37 (1) : 15 1-156, 1973;
- Beuchat, L.R, Fermented Food of Orient, didalam Biotechnology, Rehm H.J. dan Reed G (eds), Vol. 5, Weinheim, 1987;
- Darwis, A.A. dan Sukara, E., Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim, Departemen P & K, Dirjen Pendidikan Tinggi, PAU Bioteknologi, IPB, Bogor, 1990;
- Hasseltine, C.W dan Wang, H.L., Fermented Soybean Food Products, di dalam Soybean Chemistry and Technology, Vol I, Allan K.S (ed) , AVI Publshing Company Inc Wesport Connecticut, 1980;
- Kirimura J., Shimizu A., Kimizuka A., Ninomiya T. dan Katsuya N., The contribution of peptides and amino acids the taste of foodstuffs. J. Agric. Food Chem. 17 (4) : 689- 695,1969;
- Lane, M.J and Nurstein,H.E., The Variety of odors produced in Maillard model systems and how they are influencend by reaction conditions, in Maillard Reaction and Food and Nutrition didalam Josef Kerler dan Chris Winkels, The basic and process conditions underpinning reaction flavour production, Andrew, J. T , Food Flavour Technology, CRC Press LLC, CRC Press LLC, 2000 , N.W, Corporate Blvd, Boca Raton, Florida 33431, 2002; 13
- Lotong, N., Koji, Microbiology of Fermented Food,

Vol. 2, Wood B.J.B (ed), Elsevier Applied Science, Publisher, New York, 1985;

Maeshashi K., Matzuzaki M., Yamamoto Y. dan Udaka S., Isolation of peptides from an enzymatic hydrolizate of food proteins and charateristiczation of their taste properties. *Biosci Biotech Biochem* 63 (3) : 555-559, 1999;

Mayes, P.A., Lipid, didalam Biokimia, Rodwell, V. W, Martin, D.W, Mayes, P.A., Alth bahasa Adji Dharma dan Andreas S. K, EGC, Edisi 19, 1984;

Nagodawithana, T., Enzymes Associate with Savory Flavor Enhancement, didalam Enzymes in Food Processing, Tilak Nagodawithana & Gerald Reed, Academic Press, mc, San Diego, California 92101-4311, 1993;

Nagodawithana, T.W., Savory flavors dalam Alan G., Bioprocess, fragrance, and color ingredients, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994;

Nakata T., Takhashi M., Nakatani M., Kuratmitsu R., Tamura M. dan Okai H. , Role of basic and acidic fragments in delicious peptides (Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser- Leu-Ala) and taste behaviour of sodium and potassium salts in acidic oligopeptides. *Biosci Biotech Biochem* 59 (4) 689-693, 1995;

Noguchi M., Arai S., Yamashita M., Kato H. dan Fujimaki M., Isolation and Identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolizate. *J. Agric. Food Chem.* 23 (1) : 49-

53, 1975;

Ohyama S., Ishibasi N., Tamura M., Nizhizaki H. dan Okai H., Synthesis of bitter peptides composed of aspartic acid and glutamic acid. *Agric. Biol. Chem.*, 52 (3) : 817— 872, 1988;

Pope, C.G. and Stevens M.F., The Determination of Amino Nitrogen Using Copper Method, *Biochemical Journal*, 1989;

Shurleff, W. & A. Aoyagi, The Book of Miso, Autumn Press, Kanagawa-Ken, Japan, 1976;

Yong F.M. and B.J.B. Wood, Microbiology and Biochemistry of Soy Sauce Fermentation, *Adv. Applied Microbial*, London, 1974.

BIODATA PENULIS :

Agustine Susilowati adalah seorang Peneliti Madya dalam bidang Bahan Alam, Pangan & Farmasi dari Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPIPTEK-Serpong. Hasil penemuannya yang sudah dipatenkan & terakreditasi adalah Proses pembuatan makanan beku berbahan baku tempe dan produk yang diperoleh daripadanya (Es krim tempe), No. Paten ID 0 012 076. Menyelesaikan S1 dari Fakultas Teknologi Industri-Universitas Pasundan, Bandung 1991 dan S2-Pascasarjana-Magister Management, Institut Pengembangan Wiraswata Indonesia (IPWI), Jakarta, 1998.

LAMPIRAN

D-2500		00/00/00 10:57	
METHOD:	TAG:	12	CH: 1
FILE: 1	CALC-METHOD:	AREAX	TABLE: 0 CONC: AREA
NO.	RT	AREA	CONC BC
4	1.82	387347	3.755 UB
V5	2.79	511086	4.954 BU
6	3.76	439480	4.260 UB
8	4.77	299240	3.870 BU
10	5.91	391777	3.798 UU
12	6.85	440136	4.267 UU
14	8.10	593938	5.757 UB
16	9.30	539434	5.219 UB
17	10.71	719638	6.976 BB
19	12.09	685463	6.645 UU
20	13.14	592109	5.740 UB
22	14.35	669977	6.495 UB
23	15.72	658117	6.380 BU
25	16.79	591298	5.732 UU
26	17.88	652641	6.327 UU
28	19.06	706813	6.852 UU
29	20.23	681110	6.603 UU
31	21.43	657310	6.372 UB
TOTAL			
PEAK REJ :	5000	.00	.000

Gambar 10. Prereport standar konsentrasi asam-asam amino melalui HPLC

```

D-2500
METHOD: TAG: 9 CH: 1
FILE: 0 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA
00/00/00 03:51

```

NO.	RT	AREA	CONC	BC
7	2.82	161376	6.930	UU
9	3.81	232460	9.983	UB
10	4.79	87460	3.756	BU
14	5.96	106081	4.556	UU
17	6.86	44031	1.891	UU
20	8.12	77610	3.333	UU
23	9.18	95599	4.106	UU
27	10.80	207391	8.907	UU
30	12.03	114525	4.918	UU
33	13.19	72289	3.104	UU
36	14.58	169478	7.278	UU
39	15.78	125504	5.390	UU
41	16.98	86066	3.696	UU
43	17.99	165720	7.117	UB
45	19.18	266200	11.436	UU
46	20.38	121206	5.205	UU
49	21.64	195452	8.394	UU
TOTAL				
		2328528	100.000	
PEAK REJ :		20000		

Gambar 11. Prereport konsentrasi asam-asam amino kaldu nabati dari kacang hijau (*P. radiatus* L) menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K3 melalui HPLC.