Pembuatan kecap keong mas (*Pomacea canaliculata*) secara fermentasi koji dan penambahan ekstrak nanas (*Ananas comosus*)

Processing soy sauce from golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) by koji fermentation and addition of pineapple extract (*Ananas comosus*)

ELA LAILATUL BADRIAH, SURANTO, TJAHJADI PURWOKO

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 11 November 2007. Revisi disetujui: 6 Februari 2008.

Abstract. Badriah EL, Suranto, Purwoko T. 2008. Processing soy sauce from golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) by koji fermentation and addition of pineapple extract (*Ananas comosus*). *Biofarmasi* 6: 1-7. *Pomacea canaliculata* had high protein content. *Pomacea canaliculata* could be used as a raw material in soy sauce production. Soy sauce is a liquid product made by fermentation or enzymatic. Enzymes in soy sauce production can shorten the moromi fermentation process and increase nutritional improvement. Bromelain was one of the enzymes used in the production of soy sauce. This enzyme can be found in pineapple. The research aims to determine the nutritional value of *Pomacea* soy sauce, including carbohydrates, proteins, and lipids contents. Also, to determine the optimal pineapple extract rate in the production of *Pomacea* soy sauce by koji fermentation. The research was conducted through two phases: koji fermentation and continued hydrolysis using the pineapple extract concentration variation [3:1, 3:2, and 3:3 (koji: pineapple extract)]. *Pomacea canaliculata* was fermented with *Aspergillus oryzae* for 7 days until producing koji. Koji was soaked in a salt solution of 20% (1:4, b/v) and added pineapple extract with concentration variation of (3:1, 3:2, and 3:3) for 3 days until it produced moromi. Moromi filtrate with extract pineapple variation (3:1, 3:2, and 3:3) was then analyzed for the value of carbohydrates (sugar and starch), protein, and lipids. Moromi filtrate was added by the spices and would produce *Pomacea* sauce. Finally, *Pomacea* sauce was tested, including the flavor, aroma, and color. The preferable test was analyzed by a non-parametric statistic with Friedman Test and followed with Wilcoxon Ranking Method. The research results showed that the value of sugar reduction on *Pomacea canaliculata* sauce with pineapple extract variation of 3:1, 3:2, and 3:3 were 94.0849 mg/g, 132.5846 mg/g, and 172.7485 mg/g, respectively. The starch value of *Pomacea* sauce with pineapple extract variation of 3:1, 3:2, and 3:3 were 35.8643 mg/g, 48.7123 mg/g, and 52.5068 mg/g, respectively. The value of protein content dissolved in *Pomacea* sauce with pineapple extract variation of 3:1, 3:2, and 3:3 was 1230.196 mg/g, 1365.891 mg/g, and 1475.016 mg/g, respectively. The value of lipids on *Pomacea* sauce with pineapple extract variation of 3:1, 3:2, and 3:3 were 4.1333 mg/g, 6.9333 mg/g, and 7.1333 mg/g, respectively. The data preferable test, aroma, and color on *Pomacea* sauce with pineapple extract variation of 3:3 was preferred over pineapple extract variation of 3:1 and 3:2. Compared with commercial sauce, *Pomacea* sauce was still less to be taken fancy to taste, flavor, and color.

Keywords: Koji fermentation, pineapple extract, *Pomacea canaliculata*, soy sauce

PENDAHULUAN

Populasi keong mas yang cukup tinggi saat mulai panen, merupakan masalah bagi dunia pertanian, ditambah lagi pemberantasannya yang cukup sulit, sehingga menimbulkan persoalan baru yaitu produksi keong mas yang meningkat tajam namun pengelolaannya belum optimal. Di samping merugikan, populasi keong mas yang tinggi sebenarnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku makanan ternak maupun manusia. Salah satu caranya daging keong mas dapat dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan kecap hewani.

Saat ini, keong mas memiliki nilai ekonomi yang cukup rendah, hal ini disebabkan pengolahan yang dilakukan masih sangat sederhana. Hal ini dapat ditingkatkan dengan cara mengenalkan pengolahan keong mas yang mudah dibuat dan digemari sebagian masyarakat, seperti kecap (Indrawati et al. 1992). Pada umumnya, makanan hewani mengandung lebih banyak protein dibandingkan dengan

makanan nabati meskipun beberapa sayuran seperti kedelai mempunyai kandungan protein yang tinggi (Gaman dan Sherington 1992). Namun pada kenyataannya, konsumsi protein hewani yang tergolong bermutu tinggi dan lebih disukai konsumen mempunyai harga yang mahal dan produksinya belum mencukupi. Dari kenyataan tersebut maka perlu adanya usaha untuk menyediakan sumber protein hewani dalam jumlah yang cukup banyak, harganya relatif murah, dan mengandung protein tinggi.

Secara tradisional, kecap dibuat dengan cara fermentasi yaitu dengan menggunakan mikroorganisme untuk memfermentasikannya. Namun, sekarang sudah mulai dicoba pembuatan kecap dengan cara non-fermentasi, yaitu dengan bantuan enzim (Rustiyah 1988). Adapun penggunaan enzim yang biasa digunakan dalam pembuatan kecap adalah bromelin, karena kandungan proteolitiknya yang cukup kuat, bromelin mampu memecah protein kompleks menjadi asam amino. Enzim bromelin dapat ditemukan pada jaringan tanaman dari Famili

Bromeliaceae, misalnya pada nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) (Arniningsih 1992), sehingga dengan menggunakan enzim tersebut, proses pembuatan kecap dapat berlangsung lebih cepat (Indrawati et al. 1992). Dalam kehidupan sehari-hari, enzim protease dalam buah nanas biasa digunakan untuk membantu melunakkan daging yang akan diolah (Muljohardjo 1984).

Waktu proses yang lama merupakan kelemahan proses pembuatan kecap secara fermentasi, sehingga perlu dicari jalan keluar untuk mempercepat proses tersebut. Salah satu cara yang dapat digunakan adalah menggunakan enzim sebagai unsur pembantu untuk mempercepat proses hidrolisis (Subroto et al. dalam Manullang et al. 1995).

Penelitian ini bertujuan untuk: 1) Mengetahui nilai nutrisi dari kecap *Pomacea* yang meliputi kandungan karbohidrat, protein, dan lemak; serta 2) Mengetahui kadar ekstrak nanas yang optimal dalam produksi kecap *Pomacea* melalui fermentasi koji.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2007 di Laboratorium Pusat Sublaboratorium Biologi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tempat untuk mencuci keong mas, panci, kompor, autoklaf, inkubator, krus porselin, tabung reaksi, cawan petri, timbangan analitik, Erlenmeyer, blender, spektrofotometer, kertas saring, dan *vortex*.

Sementara itu, bahan yang digunakan adalah daging keong mas (1 kg) yang diperoleh dari kawasan persawahan di sekitar Sukoharjo, buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) varietas Bogor (umur antara 3-4 minggu) dengan ciri kulit berwarna hijau yang diperoleh dari Pasar Gede, Surakarta, bumbu-bumbu yang terdiri dari gula merah, garam, salam, laos, sereh, kunyit, pekak, keluwak, ketumbar, dan bawang putih, beras (15 g), akuades, media PDA, biakan murni kapang *Aspergillus oryzae* yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Tanah, Fakultas Pertanian UNS, garam dapur, larutan garam 20%, Nelson A, Nelson B, Arsenomolybdat, enzim amilase (Westmont Pharmaceuticals, Ltd. PT. Medifarma Laboratories, Inc. Bogor), Lowry A, Lowry B, Lowry C, Lowry D, Lowry E, Standart Bovin Serum Albumin, kloroform, dan metanol.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan, yaitu konsentrasi ekstrak nanas dengan variasi 3:1, 3:2, dan 3:3 yang diberikan pada media daging keong mas secara hidrolisis enzimatis selama 3 hari. Tiap-tiap perlakuan terdiri dari tiga ulangan.

Cara kerja

Pelaksanaan penelitian dibagi dalam tiga tahapan yang meliputi: (i) tahap persiapan, (ii) tahap pembuatan kecap,

dan (iii) tahap analisis nutrisi (protein, karbohidrat, dan lemak).

Tahap persiapan pembuatan inokulum

Beras (15 g) dan akuades (15 ml) dicampur dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Substrat beras dalam cawan petri disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Suspensi spora *Aspergillus oryzae* (10^4 cfu/g keong mas) diinokulasikan pada substrat beras, kemudian diinkubasi selama 3-5 hari. Substrat dengan inokulum dikeringkan pada suhu 40°C selama 3 hari, kemudian dihaluskan dengan blender sehingga dihasilkan inokulum bubuk.

Persiapan daging keong mas

Untuk memperoleh daging keong mas siap olah, langkah-langkah yang dilakukan sebagai berikut. Keong mas dipilih dengan ukuran cukup besar. Berat daging keong mas yang dapat dimakan yaitu berkisar antara 5-8 gram (Indrawati et al. 1992). Keong mas hidup dipuasakan selama 48 jam lalu dicuci hingga bersih. Keong mas yang sudah dibersihkan kemudian direndam dalam larutan garam 2% (b/v) sebanyak dua kali, masing-masing selama 15 menit. Kemudian keong mas direbus dalam larutan kapur sirih 0,1% (b/v) dan garam 2% selama 15 menit. Daging keong mas dipisahkan dari cangkangnya dengan cara dicukil dan dipisahkan dari saluran pencernaan untuk menghindari keracunan. Daging keong mas kemudian dicuci dan ditiriskan kembali hingga diperoleh 1 kg daging keong mas yang siap olah (Novijana et al. 1993; Tjiptowiyono 1995).

Persiapan ekstrak nanas

Untuk memperoleh ekstrak nanas yang digunakan dalam proses hidrolisis enzimatis, langkah-langkah yang dilakukan sebagai berikut. Nanas dipilih yang masih muda dengan ciri kulit buah berwarna hijau. Nanas dikupas dan dicuci hingga bersih, kemudian dipotong kecil-kecil dan diambil bagian dagingnya. Daging nanas diblender hingga hancur kemudian disaring dan diambil filtratnya. Filtrat nanas disentrifugasi dengan kecepatan 16000 rpm selama 30 menit hingga diperoleh ekstrak nanas.

Tahap pembuatan kecap dengan fermentasi kapang

Daging keong mas dipotong kecil-kecil hingga berbentuk daging cincang kasar, kemudian direbus dalam air dengan suhu 100°C selama 30 menit untuk membantu dalam hidrolisis protein. Setelah itu, daging keong mas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atmosfer selama 15 menit, kemudian setelah dingin diinokulasikan dengan jamur *Aspergillus oryzae* (10^4 cfu/g keong mas) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari.

Hidrolisis enzimatis

Daging keong mas yang telah difermentasikan (koji) ditambah dengan ekstrak nanas dengan konsentrasi 3:1, 3:2, dan 3:3 (koji:ekstrak nanas) berdasarkan berat/berat kering bahan dan ditambahkan garam 20% (b/v). Campuran dibiarkan dengan perendaman selama 3 hari pada suhu 50°C. Setelah dilakukan perendaman, campuran

disaring dengan kain kering dan filtrat yang diperoleh diencerkan dengan air dengan perbandingan 2:1.

Pemasakan kecap

Filtrat yang dihasilkan selanjutnya direbus dengan menambah bumbu-bumbu. Lama perebusan lebih kurang satu jam (sampai tidak berbuih lagi). Kecap yang dihasilkan kemudian disaring kembali hingga diperoleh kecap keong yang bersih dari ampas.

Tahap analisis nutrisi

Kecap dianalisis secara kimia dan organoleptik untuk melihat tingkat kesukaan konsumen. Analisis yang dilakukan meliputi analisis karbohidrat (gula reduksi dan pati) dengan metode Nelson-Somogyi secara Spektrofotometri (Sudarmadji et al. 1984), protein terlarut dianalisis dengan metode Lowry-Folin, lemak dianalisis dengan metode Folch et al. (Sudarmadji et al. 1997). Uji organoleptik dianalisis berdasarkan analisis statistik non-parametrik.

Analisis karbohidrat

Karbohidrat dalam bentuk gula reduksi dan pati dianalisis dengan metode Nelson-Somogyi secara spektrofotometri (Sudarmadji et al. 1984). Sampel sebanyak 5 ml ditambah dengan 143,75 mg enzim amilase kemudian digojog dan didiamkan selama 6 jam. Sampel sebanyak 1 ml yang ditambah dengan amilase dan sampel (1 ml) tanpa amilase masing-masing ditambah dengan akuades sampai volume akhir 10 ml, kemudian diambil 1 ml dan ditambah dengan 9 ml akuades lalu divorteks. Larutan sampel sebanyak 1 ml ditambahkan 1 ml larutan Nelson C (campuran larutan Nelson A dan Nelson B dengan perbandingan 25:1, v/v), kemudian dipanaskan pada *waterbath* selama 20 menit. Larutan sampel didinginkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian ditambahkan 1 ml larutan Arsenomolybdat. Larutan sampel digojog, kemudian ditambahkan akuades 7 ml dan digojog lagi. Larutan sampel diukur penyerapan (absorbansi) cahaya tampak (*visible*) pada panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi sampel-nilai absorbansi blanko, kemudian dikonversi ke dalam mg/ml gula reduksi berdasarkan persamaan regresi senyawa standar (glukosa monohidrat). Kadar gula reduksi adalah kadar gula reduksi tanpa enzim amilase. Kadar pati = (kadar gula reduksi setelah diberi enzim amilase – kadar gula reduksi tanpa enzim amilase) $\times$ 0,9.

Analisis protein

Protein terlarut dianalisis berdasarkan metode Lowry-Folin dengan spektrofotometri. Tahapan-tahapan penyiapan sampel sebagai berikut. Sebanyak 5 ml kecap ditambah dengan akuades sampai volume 100 ml, larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring. Larutan tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan Lowry D (2 ml), segera digojog dengan vorteks dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Lowry E sebanyak 3,0 ml ditambahkan ke dalam cuplikan dan segera digojog, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 45 menit dan segera

diukur absorbansinya pada panjang gelombang 590 nm. Kemudian dibuat kurva standar Bovin Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 /ml H₂O sehingga diperoleh garis regresi hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi protein. Berdasarkan garis tersebut, kadar protein cuplikan dapat diketahui.

Analisis lemak

Kadar lemak dianalisis berdasarkan metode Folch et al. (Sudarmadji et al. 1997). Sampel kecap sebanyak 5 ml dicampurkan ke dalam 20 ml larutan kloroform-metanol (2:1, v/v), kemudian diletakkan pada *shaker* dengan kecepatan 150 mot/menit selama 2 jam. Setelah 2 jam, sampel didiamkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat kecap dicuci dengan akuades steril sebanyak 20% dari volume filtrate dan digojog hingga terbentuk 2 lapisan, selanjutnya lapisan atas dibuang dengan menggunakan pipet tetes secara hati-hati. Pencucian diulangi sebanyak tiga kali dengan akuades steril. Lapisan bawah yang mengandung lemak diambil dan diletakkan pada cawan petri kosong yang telah diketahui beratnya, kemudian disimpan pada oven suhu 40°C selama 24 jam. Setelah 24 jam cawan petri dikeluarkan dari oven dan ditimbang (berat total). Berat lemak diperoleh dari selisih berat total dikurangi dengan berat cawan petri kosong.

Uji organoleptik

Dua puluh panelis diminta untuk mengurutkan intensitas rasa, aroma, dan warna sampel berdasarkan tingkat kesukaan terhadap kecap keong mas dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 dengan kecap komersial merek ABC. Nilai diberikan dalam bentuk pemeringkatan (*ranking*) dari sangat disukai (diberi skor 4) sampai yang kurang disukai (diberi skor 1) (Kartika et al. 1988).

Analisis data

Rata-rata kadar nutrisi (karbohidrat, protein, dan lemak) yang dihasilkan dengan penambahan variasi ekstrak nanas dibandingkan dengan kualitas kecap komersial. Untuk mengetahui perlakuan terhadap semua variabel pengamatan, data dianalisis dengan metode Anava kemudian dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan beda nyata.

Uji organoleptik berdasarkan tingkat kesukaan rasa, aroma, dan warna dianalisis dengan metode *Ranking Friedman Test*. Jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon Sign Rank*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis karbohidrat

Dalam penelitian ini, kandungan karbohidrat yang diukur adalah karbohidrat dalam bentuk gula reduksi dan pati. Gula reduksi merupakan karbohidrat yang mampu mereduksi semua senyawa penerima elektron, karena adanya gugus hemiketal dalam strukturnya. Termasuk

dalam gula reduksi adalah monosakarida dan disakarida, kecuali sukrosa. Pati merupakan cadangan karbohidrat berbentuk granula tidak larut yang disusun oleh amilosa dan amilopektin, merupakan polisakarida yang linier, sedangkan amilopektin merupakan polisakarida bercabang. Untuk menentukan kadar pati dalam suatu bahan dapat dilakukan dengan menghidrolisis pati dengan asam atau enzim sehingga diperoleh gula reduksi.

Pati dapat dihidrolisis secara enzimatik. Salah satu enzim yang dapat menghidrolisis pati adalah α -amilase (Whistler et al. 1984). *Aspergillus oryzae* kaya akan enzim α -amilase, enzim ini mampu menghidrolisis pati menjadi gula reduksi. Kadar gula reduksi pada kecap keong mas dengan konsentrasi 3:3 lebih tinggi dibandingkan pada kecap dengan konsentrasi 3:2 dan 3:1 (Tabel 1). Hal ini disebabkan oleh perlakuan fermentasi koji sama, sehingga perbedaan kadar gula reduksi menunjukkan adanya aktivitas hidrolisis pati oleh enzim α -amilase *A. oryzae* yang masih berlangsung selama fermentasi moromi, serta adanya kadar gula reduksi dalam ekstrak nanas diduga membantu meningkatkan gula reduksi pada kecap keong mas.

Berdasarkan hasil analisis varian, pemberian variasi konsentrasi ekstrak nanas (3:1, 3:2, 3:3 (b/b)) ke dalam koji selama fermentasi 3 hari memberikan perbedaan terhadap kadar gula reduksi dalam kecap keong mas. Hasil ini ditunjukkan dengan tingkat signifikansi yang kurang dari 0,05. Berdasarkan uji DMRT 5%, variasi konsentrasi ekstrak nanas (3:1, 3:2, 3:3 (b/b)) menghasilkan kadar gula reduksi kecap keong mas yang berbeda nyata. Perlakuan penambahan ekstrak nanas pada bahan dasar daging keong mas berpengaruh terhadap kadar gula reduksi kecap keong mas.

Menurut Whistler et al. (1984), pemecahan amilosa akan menghasilkan glukosa dan maltose, sedangkan pemecahan amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa, dan limit dekstrin. Kadar pati pada kecap dengan konsentrasi 3:3 menunjukkan nilai yang paling tinggi, begitu juga dengan kadar gula reduksinya. Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa semakin banyak ekstrak nanas yang ditambahkan ke dalam media daging maka semakin tinggi pula kadar pati dan gula reduksi yang dihasilkan.

Meningkatnya kadar pati yang diikuti dengan meningkatnya kadar gula reduksi disebabkan adanya pengaruh pemberian ekstrak nanas ke dalam media. Menurut Muljohardjo (1984), kadar pati dalam buah nanas cenderung tetap saat mencapai awal ketuaan. Oleh karena itu, kadar pati dalam ekstrak nanas diduga turut meningkatkan kadar pati saat fermentasi moromi berlangsung, sehingga semakin banyak ekstrak nanas yang ditambahkan maka semakin besar kadar pati dalam media sekaligus turut meningkatkan kadar gula reduksi dalam kecap keong mas.

Analisis protein

Protein merupakan suatu polimer heterogen dari molekul-molekul asam amino (Winarno 1986). Enzim protease yang dihasilkan dari *Aspergillus oryzae* termasuk protease asam, sedangkan enzim bromelin termasuk dalam protease sulfhidril yang juga ditemukan pada jaringan

hewan, namun jenis ini hanya satu dan berasal dari hewan yaitu katepsin, letaknya berada dalam jaringan sebagai enzim intraseluler. Enzim terpenting dalam kelompok ini salah satunya adalah bromelin (de Man dalam Patra 2004).

Enzim bromelin dapat diperoleh dari daging buah, kulit buah, bonggol, tangkai buah, dan daun tanaman nanas (Chairunissa 1985). Berdasarkan penelitian Patra (2004), enzim bromelin pada buah nanas muda mempunyai aktivitas lebih tinggi daripada buah yang masak. Enzim bromelin yang tidak diisolasi ternyata mempunyai keaktifan yang baik serta tidak memberi rasa pahit pada hidrolisatnya (Indrawati 1980).

Gambar 1. Kadar gula reduksi dan pati pada kecap dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 (lama hidrolisis 3 hari)

Gambar 2. Kadar protein pada kecap keong mas dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 (lama hidrolisis 3 hari)

Gambar 3. Kadar lemak pada kecap keong mas dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 (lama hidrolisis 3 hari)

Kadar protein terlarut dalam kecap keong mas dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas dapat dilihat pada Tabel 1. Pada penelitian ini, kadar protein dalam kecap keong mas yang paling tinggi terdapat pada variasi ekstrak nanas 3:3, kemudian secara berturut-turut 3:2 dan 3:1. Hal ini disebabkan karena ekstrak nanas yang mengandung enzim bromelin mempunyai peranan dalam mendegradasi protein daging, terutama terhadap protein daging yang tidak larut dalam air maupun larutan garam, seperti kolagen dan jaringan pengikat. Enzim bromelin juga aktif dalam mendegradasi protein daging yang larut dalam air, yaitu protein sarkoplasma. Namun demikian, enzim bromelin juga mampu mendegradasi protein miofibrilar yang larut dalam larutan garam meskipun dalam jumlah yang relatif kecil. Berdasarkan penelitian Hadiyanti (1991), enzim bromelin lebih aktif dalam mengkatalisis reaksi pemecahan protein daging yang tidak larut dalam air maupun larutan garam dibandingkan enzim papain dan fisin.

Dengan perlakuan penambahan enzim pada koji maka kadar protein yang larut dalam larutan garam akan meningkat. Hal ini terbukti kadar protein dalam daging keong mas sekitar 120 mg/g (Sihombing 2002) meningkat dengan adanya penambahan ekstrak nanas dalam media daging menjadi 1230,196 mg/g untuk perlakuan 3:1, 1365,891 mg/g untuk perlakuan 3:2, dan 1475,016 mg/g untuk perlakuan 3:3 (Gambar 2). Peningkatan ini diduga disebabkan oleh semakin banyaknya protein miofibrilar yang terekstraksi, karena jaringan pengikat yang membungkus dan menghubungkan secara intermolekuler masing-masing serabut otot telah terdegradasi. Dengan demikian diduga semakin besar konsentrasi ekstrak nanas yang ditambahkan akan semakin besar pula kadar protein yang larut dalam larutan garam sampai konsentrasi optimalnya.

Berdasarkan hasil penelitian Rustiyah (1988), pengaruh lama hidrolisis dengan menggunakan enzim bromelin selama 4 hari menunjukkan hasil yang sudah tidak efektif lagi. Berdasarkan hasil tersebut maka perlakuan lama hidrolisis pada penelitian ini dilakukan selama 3 hari.

Selama proses fermentasi, *A. oryzae* mengeluarkan enzim ekstraseluler ke dalam substrat, salah satu enzim yang dikeluarkan adalah protease. Enzim ini mampu merombak protein menjadi peptida dan asam-asam amino yang lebih sederhana dan larut dalam air, sehingga enzim yang dihasilkan oleh *A. oryzae* ikut berperan dalam meningkatkan kadar protein terlarut.

Dari hasil yang diperoleh terlihat juga bahwa semakin banyak ekstrak nanas yang ditambahkan ke dalam daging keong mas maka semakin tinggi pula kadar protein terlarut. Hal ini disebabkan enzim bromelin yang terdapat dalam

ekstrak nanas mampu memecah ikatan asam amino pada ikatan arginin-alanin dan alanin-glutamin, tetapi tidak memutuskan ikatan arginin-arginin dan lisin-tirosin (Reed dalam Rustiyah 1988).

Fungsi lain dari penambahan ekstrak nanas karena kandungan enzim bromelinnya mampu mendenaturasikan kolagen yang merupakan struktur dasar tubuh hewan. Dengan memanaskan kolagen dalam suhu tinggi akan mengubah struktur kolagen dari bahan yang tidak larut dalam air menjadi larut dalam air. Enzim bromelin termasuk dalam enzim proteolitik yang mampu mengurai kolagen dan dapat mendenaturasi gelatin yang menyebabkan pemecahan lebih lanjut dari protein. Sebagai protease, enzim bromelin spesifik dalam memecah kolagen. Enzim-enzim tersebut memecah kolagen menjadi struktur kimia yang lebih sederhana dan tidak memiliki fungsi maupun struktur yang sama dengan kolagen (Rusar 1998).

Analisis lemak

Lemak merupakan salah satu kelompok yang termasuk golongan lipida. Salah satu sifat khas dan mencirikan golongan lipida adalah daya larutnya dalam pelarut organik seperti kloroform. Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh nilai rata-rata lemak pada kecap keong mas dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas yang ditunjukkan pada Tabel 1 dan Gambar 3.

Selama fermentasi moromi berlangsung, enzim lipase berperan dalam memecah jaringan lemak yang terdapat dalam daging keong mas menjadi asam lemak. Trigliserida merupakan bagian terbesar dari kelompok lipida dan paling banyak dijumpai dalam jaringan hewan (Sudarmadji et al. 1989). Trigliserida ini merupakan senyawa hasil kondensasi satu molekul gliserol dengan 3 molekul asam lemak.

Hasil yang diperoleh menunjukkan kadar lemak semakin meningkat dengan penambahan kadar ekstrak nanas yang diberikan ke dalam media (Tabel 1). Menurut Chamidah dan Kartikaningsih (2000), hal ini disebabkan selama fermentasi banyak diproduksi asam-asam organik, sehingga adanya asam yang cukup tinggi akan mengkoagulasikan protein. Protein yang mengalami denaturasi/koagulasi, yaitu rusaknya ikatan yang membentuk konfigurasi molekul tersebut, sehingga lemak yang terikat dengan protein yang disebut lipoprotein terlepas dan keluar dari jaringan. Dalam teknologi pangan, lemak memegang peranan penting, karena lemak memiliki titik didih yang tinggi (sekitar 200°C) serta memberikan rasa gurih dan aroma yang spesifik.

Tabel 1. Kadar gula reduksi, pati, protein dan lemak pada kecap keong mas dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas (3:1, 3:2, dan 3:3)

Konsentrasi ekstrak nanas	Gula reduksi (mg/g)	Pati (mg/g)	Kadar protein (mg/g)	Kadar lemak (mg/g)
3:1	94,0849 ^a	35,8643 ^a	1230,196 ^a	4,1333 ^a
3:2	132,5846 ^b	48,7123 ^b	1365,891 ^b	6,9333 ^b
3:3	172,7485 ^c	52,5068 ^c	1475,016 ^c	7,1333 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf signifikansi 5%.

Tabel 4. Skor uji organoleptik kecap keong mas dengan variasi konsentrasi koji:ekstrak nanas (3:1, 3:2, dan 3:3)

Kode kecap	Rata-rata <i>Ranking</i> uji organoleptik		
	Rasa	Aroma	Warna
A	3,67 ^c	3,92 ^c	3,80 ^c
B	1,65 ^a	1,67 ^a	2,03 ^{ab}
C	2,35 ^{ab}	2,05 ^{ab}	1,85 ^a
D	2,33 ^{ab}	2,35 ^{ab}	2,33 ^{ab}

Keterangan: A = Kecap komersial merek ABC, B = 3:1 (koi:ekstrak nanas), C = 3:2 (koi:ekstrak nanas), dan D = 3:3 (koi:ekstrak nanas). Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0,05$). Skor 4 (sangat disukai) sampai skor 1 (kurang disukai)

Kadar lemak pada kecap dengan variasi ekstrak nanas 3:3 menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 3:2 dan 3:1. Namun, kadar lemak dengan konsentrasi 3:3 dan 3:2 menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata, hal ini dapat dilihat berdasarkan hasil uji *Duncan Multiple Rank Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 5%, bahwa ekstrak nanas yang ditambahkan pada daging keong mas antara konsentrasi 3:3 dan 3:2 tidak berbeda jauh jumlahnya, sehingga kadar lemak yang dihasilkan tidak berbeda secara nyata.

Kadar lemak pada kecap dengan konsentrasi 3:1 menunjukkan nilai yang paling rendah, hal ini dikarenakan kandungan lemak dalam ekstrak nanas hanya sekitar 0,2 g/100 g.

Uji organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui penerimaan panelis terhadap produk kecap yang dihasilkan dengan kecap komersial (merek ABC). Pengolahan data hasil uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan metode analisis statistik nonparametrik, yaitu uji Friedman dan WSRT (*Wilcoxon Sign Range Test*). Kisaran nilai 1 (kurang suka) hingga 4 (sangat suka) dapat diberikan panelis untuk kriteria rasa, warna, dan aroma. Hasil pengujian ditunjukkan pada Tabel 2.

Uji organoleptik rasa

Pengolahan kecap dengan variasi konsentrasi ekstrak nanas (3:1, 3:2, dan 3:3) dilakukan dengan pemasakan dan penambahan bumbu, karena kecap komersial merupakan kecap berbumbu. Berdasarkan hasil analisis statistik nonparametrik, kecap komersial ABC memiliki rasa yang lebih disukai, sedangkan kecap keong mas dengan konsentrasi 3:1 kurang disukai. Kecap keong mas konsentrasi 3:2 dan 3:3 tidak berbeda nyata.

Rasa manis yang ditimbulkan dari karbohidrat disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen antara molekul-molekul yang menimbulkan rasa manis. Secara empiris telah dibuktikan bahwa rasa manis dari gula akan timbul apabila jarak atom O dan H yang dihubungkan oleh ikatan hidrogen berkisar antara 3-5 Å. Hal ini terlihat bahwa semakin besar jarak antara atom O dan H maka semakin manis senyawa tersebut (Fardiaz 1992).

Terdapat dua macam enzim yang berperan untuk menghasilkan *flavor* kecap pada fermentasi kapang, yaitu

enzim protease yang memberikan *meaty flavor* (gurih) dan enzim karbohidrase seperti α -amilase, amiloglukosidase, dan maltase yang berperan memberikan rasa manis (Husain 1996). Faktor yang berpengaruh terhadap kualitas rasa kecap adalah proses fermentasi oleh kapang, karena pada proses ini kapang mengeluarkan enzim yang berperan untuk memecah substrat menjadi senyawa terlarut. Kadar senyawa terlarut tersebut menentukan rasa kecap. Penambahan garam dalam proses fermentasi moromi berfungsi untuk menarik senyawa nitrogen terlarut yang ada dalam koji ke dalam larutan garam supaya kecap yang dihasilkan memiliki rasa yang enak. Rasa spesifik kecap juga ditentukan oleh jenis bumbu yang digunakan dan penambahan gula kelapa, sehingga dengan komposisi bumbu yang berbeda dapat memberikan rasa yang berbeda.

Menurut Husain (1996), selama fermentasi koji, prekursor sebagian *flavor* kecap telah terbentuk, yaitu asam amino dan gula reduksi. Rasa juga terbentuk saat proses fermentasi moromi dalam larutan garam 20% (Koswara 1997). Bakteri asam laktat akan tumbuh pada awal fermentasi, memproduksi asam laktat dan menurunkan pH moromi (Rahayu et al. 1993). Salah satu faktor yang menguntungkan dari pertumbuhan bakteri tersebut adalah terbentuknya rasa pada kecap. Penurunan pH fermentasi juga dapat menstimulasi pertumbuhan khamir yang penting dalam pembentukan rasa kecap. Penambahan ekstrak nanas saat fermentasi moromi turut memberikan cita rasa pada kecap. Menurut Arbianto (1985), penggunaan buah nanas sebagai sumber enzim bromelin akan memberikan rasa yang tidak pahit. Pada Tabel 2 menunjukkan kecap keong mas C dan D memiliki rasa yang tidak jauh berbeda meskipun peringkatnya di bawah kecap A.

Proses pemasakan bertujuan untuk mematikan mikroorganisme, menginaktivkan enzim, dan meningkatkan kualitas kecap (Husain 1996).

Uji organoleptik aroma

Berdasarkan hasil analisis statistik nonparametrik aroma, kecap A memiliki aroma yang paling disukai, sedangkan kecap keong mas dengan konsentrasi 3:1 (B) kurang disukai. Hal ini disebabkan karena proses fermentasi moromi yang berlangsung hanya 3 hari dan penambahan ekstrak nanas yang lebih sedikit dibandingkan dua perlakuan lainnya, yaitu ekstrak nanas dengan konsentrasi 3:2 (C) dan 3:3 (D), sehingga aroma yang dihasilkan kurang optimal. Selain itu, keong mas memiliki aroma anyir yang disebabkan adanya senyawa-senyawa seperti asam lemak volatil dan asam amino.

Aroma yang dihasilkan kecap dengan konsentrasi 3:1 (B) kurang disukai oleh panelis. Hal ini diduga disebabkan karena ekstrak nanas yang ditambahkan lebih sedikit dibandingkan kecap dengan konsentrasi 3:2 (C) dan 3:3 (D) (Tabel 2), sehingga aroma anyir dari daging keong mas lebih kuat.

Uji organoleptik warna

Proses karamelisasi terjadi melalui reaksi-reaksi sebagai berikut. Mula-mula setiap molekul sukrosa dipecah menjadi satu molekul glukosa dan satu molekul fruktosa (fruktosa yang kekurangan H₂O). Suhu yang tinggi mampu

mengeluarkan sebuah molekul air dari setiap molekul gula sehingga terbentuklah glukosan, suatu molekul yang analog dengan fruktosan. Proses pemecahan dan dehidrasi diikuti dengan terjadinya polimerisasi dan beberapa jenis asam akan terbentuk (Fardiaz 1992).

Adanya karamel di suatu produk umumnya dapat diindikasikan dengan adanya komponen *5-hydroxymethyl-2-furaldehyde* (HMF) yang merupakan komponen yang banyak terbentuk selama karamelisasi. Komponen ini diperoleh sebagai hasil dari proses dehidrasi pada ketoheksosa (Fardiaz 1992).

Berdasarkan analisis statistik nonparametrik, warna kecap A dan C tidak berbeda nyata karena warnanya hampir sama yaitu berwarna cokelat agak kehitaman. Peningkatan intensitas warna pada kecap amat ditentukan oleh proses *browning* pada saat pemasakan (pasteurisasi). Penambahan gula kelapa menyebabkan warna cokelat karamel dan peningkatan viskositas yang merupakan sifat spesifik kecap tradisional dan kriteria warna yang paling disukai pada kecap yaitu berwarna gelap mendekati kehitaman (Rahayu 2004).

KESIMPULAN

Kadar karbohidrat meliputi gula reduksi dan pati cenderung meningkat. Gula reduksi kecap keong mas dengan konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 masing-masing sebesar 94,0849 mg/g, 132,5846 mg/g, dan 172,7485 mg/g. Kadar pati kecap keong mas dengan konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 masing-masing sebesar 35,8643 mg/g, 48,7123 mg/g, dan 52,5068 mg/g. Kadar protein kecap keong mas dengan konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 masing-masing sebesar 1230,1960 mg/g, 1365,8907 mg/g, dan 1475,0157 mg/g. Sementara itu, kadar lemak kecap keong mas dengan konsentrasi ekstrak nanas 3:1, 3:2, dan 3:3 masing-masing sebesar 4,1333 mg/g, 6,9333 mg/g, dan 7,1333 mg/g.

Penambahan ekstrak nanas 3:3 menunjukkan hasil yang optimal dalam meningkatkan nutrisi pada pembuatan kecap keong mas melalui fermentasi koji. Semakin tinggi ekstrak nanas yang ditambahkan ke dalam daging keong mas maka kadar nutrisi yang dihasilkan juga semakin tinggi. Kecap keong mas dengan konsentrasi ekstrak nanas 3:3 mempunyai rasa, aroma, dan warna yang lebih disukai dibandingkan kecap dengan konsentrasi ekstrak nanas 3:1 dan 3:2. Jika dibandingkan kecap komersial, kecap keong mas masih kurang disukai, baik rasa, aroma, dan warna.

DAFTAR PUSTAKA

- Arbianto P, Sastramiharja I, Suriawiria U. 1985. A study towards the rationale of the soy fermentation process. In: Wijaya S (1987). *Mempelajari Penggunaan Starter Murni Kapang Aspergillus sp.* dalam Pembuatan Kecap. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Arnarningsih. 1992. Potensi Bonggol Nanas sebagai Bahan Baku Industri Enzim Bromelin. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Chairunnisa H. 1985. Hidrolisis Kasein oleh Enzim Bromelin Kasar dari Bonggol Nanas. [Tesis]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Chamidah AY, Kartikaningsih H. 2000. Pengembangan Makanan Fermentasi Tradisional Indonesia “Bekasam Ikan Mujair (*Tilapia spp.*)” Tinjauan Aspek Mikrobiologi dan Kimia. Universitas Brawijaya, Malang.
- Fardiaz D. 1992. Teknik analisis sifat kimia dan fungsional komponen pangan. Petunjuk Laboratorium. Pangan dan Gizi, Institut Pertanian, Bogor.
- Gaman PM, Sherrington KB. 1992. Ilmu Pangan: Pengantar ilmu pangan, nutrisi dan mikrobiologi. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh: Gardjito M, Naruki S, Murdiati A et al. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Hadiyanti DD. 1991. Pengaruh penggunaan enzim bromelin kasar terhadap stabilitas emulsi sosis bekicot-daging sapi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Husain H. 1996. Mempelajari Pengaruh Lama Proses Moromi Terhadap Pembentukan Prekursor dan Flavor Kecap Manis. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Indrawati T. 1980. Pembuatan kecap keong sawah dengan menggunakan enzim bromelin. PN. Balai Pustaka, Jakarta.
- Indrawati T, Bambang WSP, Hilman SD et al. 1992. Pembuatan kecap keong sawah dengan menggunakan enzim bromelin. Balai Pustaka, Semarang.
- Kartika B, Hastuti P, Supartono W. 1988. Pedoman uji inderawi bahan pangan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Koswara S. 1997. Mengenal makanan tradisional. Buletin Teknologi dan Industri Pangan. Volume 8, No. 2. IPB Press, Bogor.
- Manullang M, Tjahjo MMCS, Hermanianto J. 1995. Pengolahan kecap ikan kembung *Rastrelliger sp.* secara hidrolisis enzimatis dan fermentasi. Buletin Teknologi dan Industri Pangan, Volume VI, No. 2.
- Muljohardjo M. 1984. Nanas dan Teknologi Pengolahannya (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Liberty, Yogyakarta.
- Novijana J, Karmila M, Afianti Y et al. 1993. Pemanfaatan hama tanaman padi keong mas (*Pomacea sp.*) sebagai bahan baku pembuatan keripik. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Patra MWE. 2004. Pengaruh waktu penambahan ekstrak nanas terhadap kadar protein terlarut dan daya cerna protein ikan mas (*Cyprinus caprio* L.) secara in vitro. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rahayu A. 2004. Analisis Karbohidrat, Protein dan Lemak pada Pembuatan Kecap Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*) Terfermentasi *Aspergillus oryzae*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Rahayu ES, Indrati R, Utami T et al. 1993. Bahan pangan hasil fermentasi. UGM Press, Yogyakarta.
- Rusar RJ. 1998. Gelatin and protein digestion. www. Proteinbrom.htm. [25 Maret 2004].
- Rustiyah. 1988. Pembuatan Kecap Keong Sawah (*Pila scutala*) Menggunakan Enzim Kasar Bromelin dan Papain. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sihombing DTH. 2002. Satwa harapan I pengantar ilmu dan teknologi budidaya. Pustaka Wirausaha Muda, Bogor.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1984. Prosedur analisis untuk makanan dan pertanian. Edisi ketiga. Liberty, Yogyakarta.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1989. Analisis bahan makanan dan pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. Prosedur analisis untuk makanan dan pertanian. Edisi keempat. Liberty, Yogyakarta.
- Tjiptowiyono A. 1995. Pengaruh Penggunaan Bahan Pengempuk Daging Alami terhadap Mutu Organoleptik, Kimia dan Fisik Keong Mas (*Pomacea sp.*). [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Whistler RL, Miller JNB, Paschall EF. 1984. Starch: Chemistry and technology. Academic Press, Inc., Toronto.
- Winarno FG. 1986. Enzim pangan. PT. Gramedia, Jakarta.