

**KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA MOROMI KECAP DENGAN VARIASI
WAKTU PENGUKUSAN KEDELAI HITAM (*Glycine max (L) Merril*)**

SKRIPSI

Oleh

FARAH AZZAHRA



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA MOROMI KECAP DENGAN VARIASI
WAKTU PENGUKUSAN KEDELAI HITAM (*Glycine max (L) Merril*)

Oleh

FARAH AZZAHRA
NIM : 23020122130053

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Farah Azzahra
NIM : 23020122130053
Program Studi : S1 Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Karya ilmiah yang berjudul : **Karakteristik Fisikokimia Moromi Kecap dengan Variasi Waktu Pengukusan Kedelai Hitam (*Glycine max* (L) Merril)**, dan penelitian yang terkait dengan karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri.
2. Setiap ide dan kutipan dari orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam karya ilmiah ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Saya juga mengakui karya ilmiah ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh pembimbing saya, yaitu: **Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt, M.Sc.** dan **Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

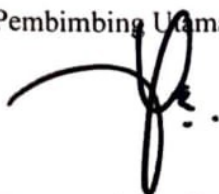
Semarang, Mei 2026

Penulis


2186DANX409448170
Farah Azzahra

Mengetahui,

Pembimbing Utama



Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt, M.Sc.

Pembimbing Anggota



Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA MOROMI
KECAP DENGAN VARIASI WAKTU
PENGUKUSAN KEDELAI HITAM (*Glycine max*
(L) Merril)

Nama Mahasiswa : FARAH AZZAHRA

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122130053

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

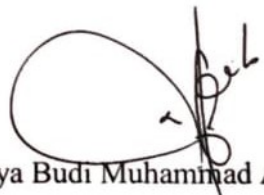
Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal...**26** JUN 2026

Pembimbing Utama



Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc.

Pembimbing Anggota



Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

FARAH AZZAHRA. 23020122130053. 2026. Karakteristik Fisikokimia Moromi Kecap dengan Variasi Waktu Pengukusan Kedelai Hitam (*Glycine max (L) Merril*). (Pembimbing: **BHAKTI ETZA SETIANI** dan **SETYA BUDI MUHAMMAD ABDUH**).

Fermentasi moromi merupakan tahap dalam produksi kecap yang membutuhkan waktu lama. Proses pengukusan dapat memicu gelatinisasi pati dan denaturasi protein, sehingga memutus ikatan kompleks protein dan karbohidrat yang berpotensi memudahkan enzim untuk proses hidrolisis yang dapat meningkatkan kualitas moromi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu pengukusan kedelai hitam terhadap total asam tertitrasi, total padatan terlarut, gula pereduksi, dan formol nitrogen moromi.

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Agustus 2025 – Februari 2026 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan untuk menguji perlakuan pengukusan pada kedelai hitam dengan waktu berbeda, yaitu 0 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, dan 120 menit. Bahan yang digunakan untuk moromi kecap, antara lain kedelai hitam, kapang *Aspergillus oryzae*, air, garam, dan akuades. Metode pembuatan moromi dilakukan dengan perendaman kedelai hitam selama 12 jam, dilanjutkan dengan pengukusan sesuai waktu perlakuan. Kedelai hitam dingin diinokulasi dengan kapang *Aspergillus oryzae* sebanyak 0,5% (b/b) untuk fermentasi koji selama 7 hari. Koji yang telah jadi ditambahkan larutan garam 20% (b/v) dengan perbandingan 1:4 (b/v) untuk proses fermentasi moromi selama 1 bulan dalam toples. Hasil kecap mentah (moromi) yang telah difermentasi disaring untuk diambil filtratnya. Preparasi sampel untuk pengujian dilakukan dengan sentrifugasi cairan moromi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk diambil supernatannya. Pengujian karakteristik fisikokimia meliputi total padatan terlarut (TPT), total asam tertitrasi, pH, gula pereduksi, dan formol nitrogen. Data dianalisis menggunakan metode *Analysis of Variances* (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5% dengan uji lanjutan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Analisis data dilakukan dengan aplikasi SPSS 26 *for windows*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengukusan kedelai hitam berpengaruh nyata terhadap total padatan terlarut, gula pereduksi, total asam tertitrasi, dan formol nitrogen moromi, akan tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap pH moromi. Pengukusan cenderung meningkatkan total padatan terlarut, gula pereduksi, total asam tertitrasi, dan formol nitrogen. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pengukusan dapat meningkatkan efektivitas hidrolisis substrat oleh ragi dan bakteri asam laktat pada fermentasi moromi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakteristik Fisikokimia Moromi Kecap dengan Variasi Waktu Pengukusan Kedelai Hitam (*Glycine max (L) Merril*)”. Penyusunan skripsi tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak sebagai berikut:

1. Orang tua penulis yaitu Bapak Rumadi dan Ibu Anisah Nafiati serta saudara-saudara penulis yang telah memberikan dukungan, doa, motivasi, dan kasih sayang dengan setulus hati kepada penulis.
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.
3. Ahmad Ni'matullah Al-Baari, S.Pt., M.P., Ph.D., selaku Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan dan Ketua Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan kegiatan penelitian.
4. Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc., selaku dosen pembimbing utama yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk melakukan bimbingan dengan memberi masukan dan memotivasi mahasiswanya untuk menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat waktu.
5. Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing anggota yang senantiasa memberikan dukungan, bimbingan dan saran selama penelitian hingga penyusunan skripsi.
6. Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P., selaku dosen wali penulis yang telah memberikan arahan, ilmu, dan bimbingan yang bermanfaat bagi penulis.
7. Semua Bapak dan Ibu dosen maupun karyawan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan ilmu, informasi, fasilitas, dan pengalaman yang dapat memotivasi penulis sehingga dapat menyelesaikan studi dengan baik.

8. Deka Ingka Agustina, Malinda Sulistiowati, dan Pinasti yang tanpa henti memberikan dukungan, motivasi, dan kasih sayang kepada penulis selama masa perkuliahan.
9. Tim penelitian kecap, yaitu Malinda Sulistiowati, Mentari Gita Ramadhani, dan Nailah Salma Razita yang telah bekerja sama dan saling membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Teman-teman “Gas Tubing”, yaitu Malinda, Pinasti, Deka, Aksa, Alva, Najma, dan Rani yang selalu mengajak penulis untuk bermain, foto bareng, makan bareng, dan hal seru lainnya. Terima kasih sudah memberikan jeda untuk tetap bisa menikmati momen di tengah sibuknya perkuliahan.
11. Semua teman-teman Teknologi Pangan 2022 yang telah kebersamai penulis untuk berbagi cerita sehingga perkuliahan penulis lebih berwarna.
12. Semua pihak yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis dalam menempuh pendidikan S-1 Teknologi Pangan di Universitas Diponegoro sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi masih terdapat banyak kekurangan sehingga kritik dan saran dari pembaca sangat dibutuhkan oleh penulis untuk menyempurnakan penulisan laporan. Penulis memohon maaf atas segala kekurangan dalam penulisan skripsi ini dan penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca serta pihak lain yang membutuhkan.

Semarang, Mei 2026

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR ILUSTRASI	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1. 1 Latar Belakang	1
1. 2 Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2. 1 Kedelai Hitam	4
2. 2 Kecap	6
2. 3 Fermentasi moromi	9
2. 4 Pengukusan	11
2. 5 Total Asam	12
2. 6 Total Padatan Terlarut	13
2. 7 Formol Nitrogen	14
2. 8 Gula pereduksi	14
BAB III MATERI DAN METODE	16
3. 1 Materi Penelitian	16
3. 2 Rancangan Percobaan	16
3. 3 Prosedur Penelitian	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Total Padatan Terlarut Moromi	22
4.2 Gula Pereduksi Moromi	24
4.3 Total Asam Titrasi dan pH Moromi	27
4.4 Formol Nitrogen Moromi	31

BAB V	SIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1	Simpulan.....	35
5.2	Saran	35
DAFTAR PUSTAKA		36
LAMPIRAN		44

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kandungan Gizi per 100 g Kedelai Hitam	6
2. Variasi Lama Pengukusan Kedelai dalam Pembuatan Kecap.....	17
3. Total Padatan Terlarut Moromi dengan Variasi Waktu Pengukusan....	22
4. Gula Pereduksi Moromi dengan Variasi Waktu Pengukusan	25
5. Total Asam dan pH Moromi dengan Variasi Waktu Pengukusan	28
6. Formol Nitrogen Moromi Hitam dengan Variasi Waktu Pengukusan..	32

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Tahapan Umum Pembuatan Kecap	8
2. Fermentasi Moromi.....	10
3. Diagram Pembuatan Moromi Kedelai Hitam	19

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data Keseluruhan Pengujian Total Padatan Terlarut Moromi	44
2. Data Keseluruhan Pengujian pH Moromi	45
3. Data Keseluruhan Pengujian Gula Pereduksi Moromi	46
4. Data Keseluruhan Pengujian Total Asam Titrasi Moromi	47
5. Data Keseluruhan Pengujian Formol Nitrogen Moromi	48
6. Output SPSS Total Padatan Terlarut Moromi.....	49
7. Output SPSS Gula Pereduksi Moromi	50
8. Output SPSS Total Asam Titrasi Moromi	51
9. Output SPSS pH Moromi.....	52
10. Output SPSS Formol Nitrogen Moromi.....	53
11. Kurva Standar Gula Pereduksi	54
12. Dokumentasi Penelitian	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecap merupakan salah satu produk fermentasi kedelai yang digunakan sebagai bumbu pelengkap masakan khususnya di Asia. Kecap dikenal sebagai bumbu tradisional dari Tiongkok yang telah tersebar ke berbagai negara dan mengalami penyesuaian bahan baku serta teknik pengolahan, sehingga menghasilkan karakteristik yang beragam. Indonesia merupakan salah satu negara dengan produksi kecap dengan jumlah besar dengan jumlah ekspor mencapai 17.703,2 ton pada tahun 2023 (Badan Pusat Statistik, 2024). Kecap di Indonesia memiliki karakteristik yang berbeda dengan negara lainnya yang disebut kecap manis. Kecap manis di Indonesia dibuat dengan cairan hasil fermentasi kedelai yang dicampur dengan pemanis berupa gula tebu atau gula aren sehingga menghasilkan kecap dengan cita rasa manis dan kental (Ernasari *et al.*, 2018).

Proses pembuatan kecap dengan metode fermentasi terdiri dari dua tahap, yaitu fermentasi koji dan fermentasi moromi. Fermentasi koji melibatkan kedelai sebagai substrat, dan *Aspergillus oryzae* sebagai inokulan. Fermentasi moromi dilakukan dengan mencampur koji dengan larutan garam untuk menghasilkan kecap dengan aroma khas dan kaya, karena terbentuknya senyawa volatil organik, seperti aldehida, alkohol, dan ester (Anwar *et al.*, 2020). Fermentasi moromi membutuhkan waktu yang lama hingga berbulan-bulan, sehingga menjadi kendala

efisiensi produksi kecap karena berdampak pada tingginya konsumsi energi, waktu, dan tempat penyimpanan.

Proses fermentasi merupakan interaksi kompleks antara substrat dalam bahan baku dan mikroorganisme. Proses fermentasi dapat dioptimalkan dengan perombakan substrat agar lebih mudah diakses oleh enzim hidrolisis. Hal ini dikarenakan nutrisi seperti karbohidrat, protein, dan lemak pada kedelai berada dalam bentuk yang belum siap digunakan (Pangestika *et al.*, 2021). Proses memasak dengan panas akan meningkatkan kesiapan nutrisi karena memecah senyawa nutrisi agar mudah digunakan oleh jamur, menghilangkan senyawa antinutrisi, dan mencegah bakteri kontaminasi (Kusumah *et al.*, 2018).

Proses pemasakan yang umum digunakan dalam skala UMKM kecap adalah pengukusan. Penelitian Xu dan Chang (2008) menyatakan bahwa proses pengukusan memiliki beberapa keunggulan, diantaranya menurunkan resiko kehilangan padatan, mempertahankan penampilan dan tekstur kacang-kacangan, mempersingkat waktu proses, serta mempertahankan retensi komponen. Proses pengukusan memicu perubahan struktur protein dan karbohidrat yang merupakan kandungan nutrisi utama dalam kedelai. Protein dalam kedelai akan mengalami denaturasi dengan suhu di bawah 100°C (Zhang *et al.*, 2022). Sementara itu, pati akan mengalami pembekakan yang berlanjut gelatinisasi pati dalam kedelai (Kusumoto *et al.*, 2021).

Penelitian terkait perlakuan awal bahan baku telah dilakukan sebelumnya, seperti perlakuan *nine steaming nine sun-drying* yang merupakan metode

tradisional masyarakat Tiongkok pada kedelai hitam oleh Liao *et al.* (2022) yang menurunkan kadar protein, karbohidrat, dan lemak meskipun kandungan asam amino relatif stabil. Penelitian Tan *et al.* (2025) menunjukkan bahwa *high-temperature steam pretreatment* dapat meningkatkan aktivitas enzim koji dan formol nitrogen pada moromi. Dengan terbatasnya kajian khusus mengenai variasi waktu pengukusan pada kedelai hitam yang lebih relevan dan terjangkau diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu pengukusan kedelai hitam terhadap dinamika karakteristik fisikokimia moromi.

1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengukusan kedelai hitam terhadap karakteristik fisikokimia moromi. Penelitian ini menganalisis total asam tertitrasi, total padatan terlarut, gula pereduksi, dan formol nitrogen moromi. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat diperoleh informasi mengenai hubungan waktu pengukusan kedelai hitam dengan kualitas moromi yang dihasilkan untuk menghasilkan kecap manis. Manfaat dari penelitian ini untuk memberi wawasan dan informasi baru mengenai pengaruh variasi waktu pengukusan kedelai hitam terhadap karakteristik moromi. Hasil penelitian ini dapat berkontribusi terhadap perkembangan teknologi fermentasi dan memperkaya literatur akademik di bidang teknologi pangan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kedelai Hitam

Kedelai hitam merupakan salah satu jenis kedelai yang memiliki ciri khas kulit berwarna hitam di bagian luar dan isi biji berwarna kuning. Berdasarkan taksonomi atau sistematik tumbuhan, kedelai hitam masuk dalam klasifikasi spesies *Glycine max (L) Merril* (Fitriana *et al.*, 2021). Kedelai hitam termasuk golongan famili *Fabaceae*, subfamili *Faboideae*, genus *Glycine*, subgenus *soja* (Li *et al.*, 2024). Menurut Liao *et al.* (2022) kedelai hitam telah dimanfaatkan di berbagai negara Asia sebagai makanan kesehatan dan bahan pengobatan oriental selama ratusan tahun. Hal ini menunjukkan bahwa kedelai hitam memiliki sejarah konsumsi global yang panjang, khususnya negara di Asia seperti Tiongkok, Jepang, Korea, Indonesia, dan India.

Kedelai hitam merupakan tanaman tropis yang memiliki potensi yang besar untuk dibudidayakan di Indonesia. Beberapa varietas kedelai hitam yang telah dibudidayakan di Indonesia, di antaranya Cikuray, Wonosari, Bantul, dan Malika yang memiliki adaptasi baik di musim hujan dan musim kemarau (Septiana *et al.*, 2022). Menurut Andajani dan Lisanty (2020) kedelai hitam memiliki produktivitas per satuan luas yang tidak kalah kompetitif dibandingkan dengan kedelai kuning yang pada dasarnya tanaman sub tropis. Palupi dan Rahmatika (2022) menyatakan bahwa varietas kedelai hitam *Glycine soja sieb.* yang lebih adaptif di daerah tropis

memiliki produktivitas rata-rata sebesar 3,45 ton/ha. Angka ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata produktivitas kedelai kuning nasional sebesar 1,5 ton/ha.

Kedelai hitam di Indonesia dikenal sebagai bahan baku kecap manis meskipun telah banyak digunakan sebagai bahan baku olahan pangan seperti susu, tempe, dan tepung sebagai upaya diversifikasi pangan. Produsen kecap cenderung memilih kedelai hitam sebagai bahan baku kecap karena memberikan warna hitam alami dan meningkatkan kandungan gizi kecap, khususnya kandungan protein dan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan kedelai kuning (Novridha *et al.*, 2021). Kedelai hitam dikenal sebagai sumber protein yang baik dengan kandungan 41,38%–44,32%, serat pangan, vitamin, dan mineral (Na, K, P, dan Fe) (Li *et al.*, 2024). Kandungan antioksidan dengan total polifenol 6,13 mg/g, flavonoid 2,19 mg/g, dan antosianin 0,65 mg/g pada kedelai hitam dapat menghasilkan produk fermentasi berkualitas tinggi (Fawwaz *et al.*, 2017). Kandungan gizi kedelai hitam dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Kandungan Gizi per 100 g Kedelai Hitam

Kandungan	Jumlah
Protein (g)	32,10
Lemak (g)	10,80
Karbohidrat (g)	30,00
Serat Makanan (g)	21,77
Mineral (Total) (g)	3,93
Fosfor (mg)	131,00
Zat Besi (mg)	6,40
Kalium (g)	1,64
Natrium (mg)	181,00
Seng (mg)	9,04
Tembaga (mg)	1,46
Mangan (mg)	3,05
Vitamin B1 (mg)	1,10
Vitamin B2 (mg)	1,20
Vitamin B3 (mg)	21,60
Vitamin B5 (mg)	6,60
Vitamin B6 (mg)	2,20

Sumber: (Bhartiya *et al.*, 2020)

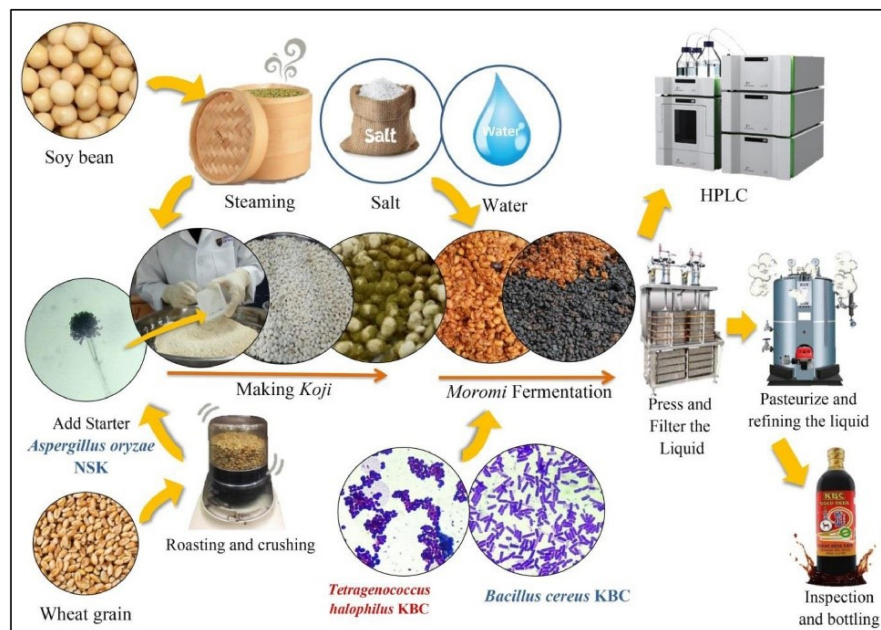
2.2 Kecap

Kecap merupakan salah satu bumbu pelengkap yang memiliki banyak jenis berdasarkan bahan baku dan proses pembuatannya. Kecap sangat populer di Asia dan banyak dikonsumsi untuk meningkatkan cita rasa masakan. Sebuah catatan menyebutkan bahwa kecap (*soy sauce*) berasal dari makanan tradisional tiongkok yang disebut *jiang* dengan bahan baku biji-bijian atau ikan yang dicampur dengan garam yang difermentasi selama 100 hari (O'toole, 2019). Proses pembuatan kecap di Tiongkok umumnya menggunakan metode fermentasi cair dengan kadar garam tinggi yang disebut *high salt liquid state fermentation soy sauce* (HLFSS) dan fermentasi padat dengan garam rendah yang disebut *low salt solid state fermentation soy sauce* (LSFSS) (Devanthi *et al.*, 2018).

Jenis kecap saat ini telah disesuaikan dengan bahan baku dan selera masyarakat di negara masing-masing. Perbedaan kecap Tiongkok dan Jepang terletak pada bahan baku, di mana kecap Tiongkok diproduksi dengan jumlah gandum yang lebih sedikit dibandingkan kedelai, sedangkan kecap Jepang menggunakan jumlah kedelai dan gandum yang sama (Ito dan Matsuyama, 2021). Kecap di Indonesia memiliki karakteristik yang berbeda dengan kecap negara lain. Kecap (*soy sauce*) lebih merujuk pada kecap asin berwarna coklat dengan konsistensi agak cair, sedangkan kecap di Indonesia lebih identik dengan cairan hitam kental dengan rasa manis, sehingga disebut kecap manis (Meutia, 2016). Kecap manis dibuat dengan penambahan gula, seperti gula pasir, gula aren dan gula kelapa dengan kadar yang cukup tinggi, sehingga meningkatkan viskositas kecap (Ernasari *et al.*, 2018). Kecap manis berdasarkan SNI 3543.1-2013 tentang kecap manis didefinisikan sebagai produk cair yang dibuat dari cairan hasil fermentasi kedelai atau bungkil kedelai ditambah gula dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan.

Proses pembuatan cairan fermentasi kecap perlu dilakukan *pretreatment* pada bahan bakunya. Bahan baku berupa kedelai yang telah dilakukan pencucian direndam dalam air selama 8-12 jam untuk meningkatkan kelembapan serta menghilangkan *fungal growth inhibitor* yang dapat menghambat pertumbuhan jamur selama fermentasi (Devanthi dan Gkatzionis, 2019). Proses pemasakan kedelai setelah direndam merupakan salah satu tahap paling penting dalam pembuatan kecap. Pemasakan kedelai dapat dilakukan melalui proses perebusan, pengukusan, dan uap bertekanan tinggi. Proses pengukusan merupakan salah satu

yang murah dan mudah dilakukan. Proses pengukusan memastikan bahwa kedelai bebas dari kontaminasi, matang, dan siap untuk proses fermentasi (Agustin *et al.*, 2024).



Ilustrasi 1. Tahapan Umum Pembuatan Kecap

Sumber: (Chong *et al.*, 2023)

Pembuatan kecap secara umum melibatkan proses fermentasi dua tahap, yaitu fermentasi koji yang dilanjutkan oleh fermentasi moromi dengan larutan garam (*brine fermentation*) (Suri *et al.*, 2024). Prinsip pembuatan kecap secara fermentasi terletak pada hidrolisis protein dan senyawa-senyawa nutrisi yang terdapat dalam kedelai secara enzimatik oleh mikroorganisme yang tumbuh (Khasanah *et al.*, 2022). Fermentasi koji dikenal sebagai fermentasi padat yang mencampurkan kedelai dengan kapang selama 3-7 hari. Kapang yang umum digunakan adalah *Aspergillus sp.*, khususnya *Aspergillus oryzae*. Menurut Lusihanne *et al.* (2023) *Aspergillus oryzae* memiliki peran utama dalam reaksi biokimia yang merombak

karbohidrat, protein, dan lemak dalam kedelai secara enzimatis. Enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae* seperti *protease*, *amilase*, *l-glutaminase*, dan *aminopeptidase* akan menghidrolisis protein kedelai menjadi peptida dan asam amino, serta merombak pati menjadi gula sederhana (Kaewkrod *et al.*, 2018). Koji yang telah difermentasi dicampur larutan garam 15-20% yang disebut fermentasi moromi selama beberapa bulan. Asam amino dan gula sederhana yang dihasilkan dari aktivitas enzimatis pada fermentasi koji akan difermentasi lebih lanjut oleh gabungan berbagai jenis mikroorganisme seperti bakteri asam laktat untuk membentuk senyawa aroma dan rasa yang unik (Zhang *et al.*, 2020). Hasil fermentasi moromi disebut dengan kecap mentah atau kecap setengah jadi. Moromi akan dilanjutkan ke tahap pemasakan dan penambahan bahan lain sesuai produk yang diinginkan, yaitu kecap asin atau kecap manis (Pangestika *et al.*, 2021).

2.3 Fermentasi moromi

Fermentasi moromi merupakan fermentasi tahap lanjut pada pembuatan kecap dan disebut dengan fase penuaan, karena prosesnya membutuhkan waktu beberapa bulan. Fermentasi moromi yang disebut juga dengan *brine fermentation* menggunakan bahan baku utama koji dan larutan garam dengan konsentrasi 17–20% (Li *et al.*, 2021). Kadar garam yang tinggi pada fermentasi moromi bermanfaat untuk mengontrol pertumbuhan mikroorganisme, mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen, dan mengawetkan produk moromi (Chong *et al.*, 2023). Aktivitas enzim hidrolitik oleh *Aspergillus oryzae* pada tahap ini cenderung menurun karena terhambat oleh kadar garam yang cukup tinggi, dan digantikan oleh mikroorgaisme lain yang lebih tahan garam (He *et al.*, 2024).



Ilustrasi 2. Fermentasi Moromi

Sumber: (Li *et al.*, 2023)

Fase fermentasi dalam tahap moromi terbagi menjadi dua fase, yakni fermentasi asam laktat yang didominasi oleh bakteri asam laktat, dilanjutkan oleh fermentasi alkohol yang didominasi oleh ragi (Devanthi dan Gkatzionis, 2019). Pada fase fermentasi asam laktat, mikroorganisme non-halofilik khususnya kapang *Aspergillus oryzae* yang telah tumbuh pada kedelai akan mati dan tergantikan oleh mikroorganisme halofilik. Hal ini menyebabkan dominasi ragi halotoleran dan bakteri asam laktat karena mereka menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan (Lülf *et al.*, 2021). Keragaman dan dominasi bakteri selama fermentasi moromi berlangsung bergantung pada bahan baku dan kultur starter yang ditambahkan. Menurut Mizuno *et al.* (2024) bakteri asam laktat yang mendominasi seiring berjalannya fermentasi moromi adalah bakteri *Tetragenococcus halophilus*. Bakteri asam laktat akan menghasilkan metabolit berupa asam laktat dan beberapa asam lainnya, yang dapat meningkatkan total asam pada produk.

Produksi asam oleh bakteri asam laktat akan memengaruhi kondisi lingkungan fermentasi dan penurunan pH (Singracha *et al.*, 2017). Kondisi pH yang semakin asam dapat menguntungkan pertumbuhan ragi yang toleran terhadap garam. Pada fase lanjut ini, pertumbuhan ragi yang berperan dalam fase fermentasi alkohol akan meningkat. Salah satu ragi yang berperan penting dalam fermentasi alkohol adalah *Zygosaccharomyces rouxii* (Wang *et al.*, 2024). *Zygosaccharomyces rouxii* berkontribusi pada produksi alkohol, seperti etanol, *branched-chain alcohols*, dan *aromatic alcohol* melalui konversi gula (Wang *et al.*, 2024). Tahap moromi sangat penting karena senyawa volatil utama, asam amino dan peptida aktif pemberi rasa, serta gula yang berkontribusi pada cita rasa akhir saus diproduksi pada tahap ini (Devanthi *et al.*, 2018). Selain itu, fermentasi moromi sangat penting karena menentukan kualitas rasa dan aroma pada kecap. Mikroorganisme yang ada dalam moromi menghasilkan senyawa aroma yang berkontribusi pada profil aroma keseluruhan kecap (Tian *et al.*, 2025). Hasil fermentasi moromi ini berupa cairan keruh yang dapat disaring untuk menghasilkan bahan baku kecap asin maupun kecap manis.

2.4 Pengukusan

Pengukusan merupakan salah satu metode memasak yang menggunakan uap air untuk memanaskan atau memproses bahan pangan. Pengukusan ini berbeda dengan pengukusan bertekanan, di mana pengukusan ini bersifat tradisional yang dilakukan dengan memanfaatkan uap air dari air mendidih di bawah tekanan atmosfer (Xu dan Chang, 2008). Ketika proses pengukusan berlangsung, uap air

masuk ke dalam kulit biji dan terpenetrasi melalui dinding sel endosperm untuk bersentuhan dengan pati yang dapat memicu proses gelatinisasi (Yang *et al.*, 2024). Menurut He *et al.* (2025) pengukusan menjadi metode yang selalu dilakukan sebelum fermentasi sorgum untuk mendorong proses gelatinisasi pati, sehingga substrat dapat beradaptasi dengan aktivitas mikroba dan enzim. Waktu pengukusan yang tidak tepat dapat menurunkan kualitas pemanfaatan pati sebagai substrat oleh mikroorganisme yang secara langsung berkaitan dengan hasil metabolit fermentasi (Zong *et al.*, 2022). Hal ini akan memengaruhi proses fermentasi selama proses produksi kecap, karena kualitas kecap sangat dipengaruhi oleh senyawa rasa dan aroma yang dihasilkan oleh mikroorganisme selama fermentasi.

2.5 Total Asam

Total asam merupakan salah satu parameter penting yang dapat menentukan mutu produk pangan yang mengandung asam. Total asam dapat diukur dengan metode titrasi. Total asam dalam suatu produk dapat dihitung dari volume volume NaOH yang dibutuhkan untuk menetralkan senyawa asam dalam produk (Saputra *et al.*, 2022). Proses fermentasi moromi dalam pembuatan bahan baku kecap melibatkan aktivitas bakteri asam laktat, khususnya *Tetragenococcus halophilus* yang mengubah karbohidrat berupa gula menjadi asam organik (Pangestika *et al.*, 2021). Hoang *et al.* (2016) menyarankan bahwa kandungan total asam pada produk kecap agar tidak lebih dari 2 g/100 ml dan kurang dari 1,4 g/100 ml berdasarkan penelitian terdahulu agar menciptakan rasa yang seimbang.

Total asam berpotensi untuk memengaruhi nilai pH lingkungan moromi. Selama fermentasi moromi, pH berperan sebagai parameter yang dapat

memengaruhi aktivitas mikroorganisme, aktivitas enzim, dan pembentukan metabolit. Bakteri asam laktat dan bakteri fermentatif halofilik akan memanfaatkan karbohidrat, protein, dan lemak sebagai nutrisi untuk menghasilkan metabolit berupa asam laktat, asam volatil, alkohol, dan ester yang berkontribusi dalam menurunkan pH moromi (Jayus *et al.*, 2020). Menurut Siwei *et al.* (2025) pH moromi yang semakin turun akibat akumulasi asam organik dapat mendorong pertumbuhan ragi *Zygosaccharomyces rouxii* yang dapat meningkatkan rasa dan aroma moromi.

2.6 Total Padatan Terlarut

Total padatan terlarut merupakan parameter yang menunjukkan gabungan total komponen terlarut dalam suatu produk yang terbentuk selama pengolahan (Setiani *et al.*, 2024). Kandungan total padatan terlarut dinyatakan dalam satuan °Brix yang dapat diukur menggunakan alat refraktometer (Kusumiyati *et al.*, 2018). Menurut Ismawati (2016) komponen yang terhitung sebagai total padatan terlarut antara lain total gula, asam organik, pigmen, dan protein. Nilai total padatan terlarut dalam pembuatan kecap diukur berdasarkan total asam organik, gula, gula pereduksi, garam, protein, dan asam amino yang dihasilkan dari proses enzimatik oleh mikroba, sehingga total padatan terlarut dalam fase moromi meningkat (Khasanah *et al.*, 2022). Total padatan terlarut sering dikaitkan dengan viskositas dan warna kecap.

2.7 Formol Nitrogen

Formol nitrogen merupakan kandungan asam amino dan peptida yang berukuran kecil yang dihasilkan selama hidrolisis protein (Setiani *et al.*, 2024). Formol nitrogen dapat diukur dengan metode titrasi, di mana formol nitrogen dihitung berdasarkan volume NaOH untuk titrasi. Formol nitrogen merupakan salah satu indikator penting dalam pembuatan kecap. Formol nitrogen dapat mewakili kandungan asam amino bebas yang berkontribusi terhadap rasa kecap (Gao *et al.*, 2025). Berdasarkan penelitian Gao *et al.* (2011) pada moromi dengan bahan baku kedelai kuning melalui proses pengukusan selama 15 menit, formol nitrogen akan mengalami peningkatan yang signifikan mulai dari hari ke 5 hingga 15 akibat dari proses proteolisis yang efektif oleh enzim protease dan peptidase dalam moromi.

2.8 Gula Pereduksi

Gula pereduksi merupakan jenis gula yang memiliki gugus aldehid atau keton bebas, sehingga memungkinkan untuk bertindak sebagai agen pereduksi (Wilberta *et al.*, 2021). Metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) adalah uji kolorimetri yang banyak digunakan untuk mengukur gula pereduksi. Reagen DNS bereaksi dengan gugus aldehida atau keton bebas dalam gula pereduksi, menghasilkan pembentukan kompleks berwarna yang dapat diukur secara spektrofotometri. Semakin tinggi absorbansi berbanding lurus dengan jumlah gula pereduksi dalam sampel. Perubahan biokimia dan mikrobiologi selama fermentasi kecap sangat kompleks, di mana gula pereduksi merupakan bagian penting dalam menyediakan sumber karbon untuk pembentukan senyawa rasa dan aroma (Hoang *et al.*, 2016).

Peningkatan gula pereduksi dalam fermentasi kecap disebabkan oleh aktivitas amilase jamur yang menghidrolisis pati dalam bahan baku, dan seperti protease dan peptidase, aktivitas enzim-enzim ini secara signifikan terhambat dalam lingkungan dengan kadar garam tinggi (Chen *et al.*, 2015).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2025 hingga Februari 2026 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kedelai hitam dari Pasar Johar, Semarang, *Aspergillus oryzae* dalam bentuk kultur stok komersial, air, garam, akuades, natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N, indikator fenolftalein (PP) 1% (Merck), Reagen DNS (Asam 3,5-Dinitrosalisilat), Kalium oksalat 30%, dan Formaldehid 40% (Merck)

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah panci kukusan, baskom, tampah, kain penutup, toples, erlenmeyer, labu ukur, pipet, buret basa, gelas ukur, gelas beaker, timbangan digital, timbangan analitik, refraktometer (Atago), pH meter (Ohaus), vortex (B-One), spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific*), kuvet, *centrifuge* (Ohaus), dan *centrifuge tube*.

3.2 Rancangan Percobaan

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga diperoleh total 20 unit percobaan. Perlakuan

yang diberikan berupa variasi waktu pengukusan kedelai hitam sebelum fermentasi, meliputi pengukusan 0 menit sebagai kontrol (P0), 30 menit (P1), 60 menit (P2), 90 menit (P3) dan 120 menit (P4). Variasi percobaan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Variasi Lama Pengukusan Kedelai dalam Pembuatan Kecap

Ulangan	Perlakuan				
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
U ₁	P ₀ U ₁	P ₁ U ₁	P ₂ U ₁	P ₃ U ₁	P ₄ U ₁
U ₂	P ₀ U ₂	P ₁ U ₂	P ₂ U ₂	P ₃ U ₂	P ₄ U ₂
U ₃	P ₀ U ₃	P ₁ U ₃	P ₂ U ₃	P ₃ U ₃	P ₄ U ₃
U ₄	P ₀ U ₄	P ₁ U ₄	P ₂ U ₄	P ₃ U ₄	P ₄ U ₄

Keterangan:

P ₀	=	Tanpa pengukusan (0 menit)
P ₁	=	Lama waktu pengukusan 30 menit
P ₂	=	Lama waktu pengukusan 60 menit
P ₃	=	Lama waktu pengukusan 90 menit
P ₄	=	Lama waktu pengukusan 120 menit

Model matematis rancangan percobaan yang diterapkan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : angka pengamatan pada ulangan moromi kedelai hitam perlakuan ke-i

(P₀, P₁, P₂, P₃, P₄)

μ : nilai tengah perlakuan

α_i : pengaruh perlakuan waktu pengukusan ke-i

ϵ_{ij} : pengaruh galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Hipotesis empiris yang digunakan dalam penelitian ini, adalah sebagai berikut.

H₀ : Tidak terdapat pengaruh lama waktu pengukusan kedelai hitam terhadap

total padatan terlarut, gula pereduksi, total asam tertitrasi, dan formol nitrogen.

H_1 : minimal terdapat satu pengaruh lama waktu pengukusan kedelai hitam terhadap total padatan terlarut, gula pereduksi, total asam tertitrasi, dan formol nitrogen.

Secara statistik, hipotesis empiris tersebut dapat dijabarkan sebagai berikut.

$$H_0 : \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

$$H_1 : \mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$$

Kriteria pengukuran analisis statistik yang digunakan adalah $\text{sig} \geq \alpha = 0,05$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak, sedangkan $\text{sig} \leq \alpha = 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

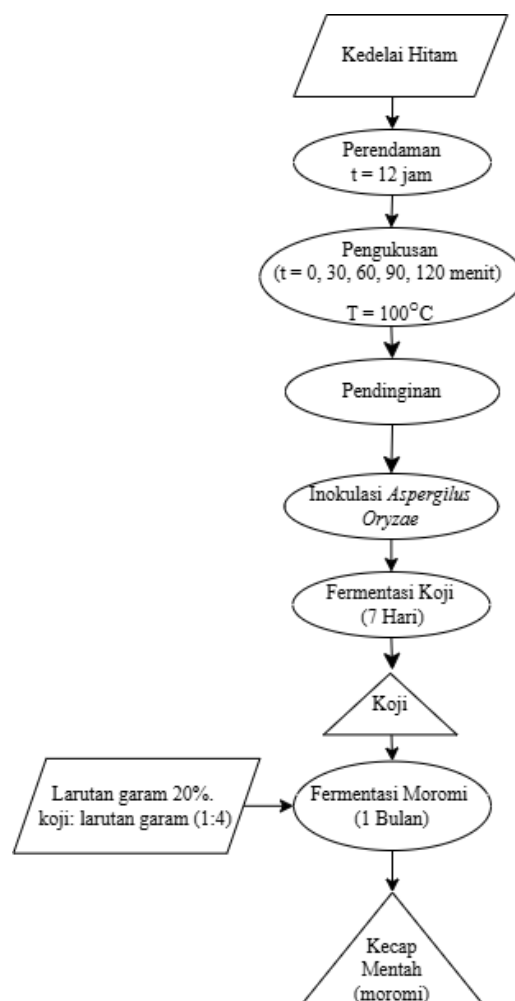
3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan meliputi pembuatan moromi kacang kedelai hitam dan pengujian parameter.

3.3.1 Pembuatan Moromi

Pembuatan kecap mentah atau moromi mengacu metode Gao *et al.* (2019). Kedelai hitam dicuci dengan air mengalir dan direndam air bersih selama 12 jam. Kedelai hitam yang telah direndam dikukus dengan empat waktu berbeda, yakni 30 menit, 60 menit, 90 menit, dan 120 menit. Kedelai hitam yang telah didinginkan diinokulasikan dengan kapang *Aspergillus oryzae* sebanyak 0,5% dari berat kedelai hitam. Sementara itu, perlakuan tanpa pengukusan langsung dilakukan inokulasi

Aspergillus oryzae setelah perendaman. Tahap ini merupakan fermentasi tahap pertama, yaitu fermentasi koji selama 7 hari. Koji yang telah jadi ditambahkan larutan garam 20% (b/v) dengan perbandingan 1:4 (b/v) untuk proses fermentasi moromi selama 1 bulan dalam toples. Hasil kecap mentah (moromi) yang telah difermentasi disaring untuk diambil cairannya. Preparasi sampel untuk uji pH, total padatan terlarut (TPT), total asam tertitiasi (TAT), gula pereduksi, dan formol nitrogen mengacu pada Li *et al.* (2023) dengan cairan moromi disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk diambil supernatannya. Alur pembuatan moromi kecap dapat dilihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Diagram Pembuatan Moromi Kedelai Hitam

3.3.2 Pengujian Parameter

3.3.2.1 Total Asam Titrasi. Pengujian total asam mengacu pada AOAC (2005) dengan metode titrasi. Sebanyak 20 ml sampel ditambahkan dengan 2 tetes indikator fenolftalein (PP) 1%. Sampel dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang menandai titik akhir titrasi. Total asam laktat pada sampel dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{N \text{ NaOH} \times V \text{ NaOH} \times BM \text{ asam laktat} \times fp}{\text{Volume Sampel} \times 1000} \times 100 \%$$

3.3.2.2 Total Padatan Terlarut. Pengujian total padatan terlarut mengacu pada SNI 01-3546-2004 tentang saus tomat menggunakan refraktometer. Pengujian ini menggunakan refraktometer digital yang dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan akuades hingga hasil pada refraktometer menunjukkan nilai 0 °Brix. Sampel diteteskan pada prisma refraktometer hingga menutupi prisma refraktometer dan tekan tombol *start*. Hasil ditampilkan dalam satuan °Brix sebagai jumlah total padatan terlarut dalam sampel.

3.3.2.3 Formol Nitrogen. Pengujian kadar formol nitrogen mengacu pada Masyrifah *et al.* (2022). Sebanyak 10 ml sampel moromi diencerkan hingga 100 ml dengan akudes. Sebanyak 10 ml sampel dimasukan ke Erlenmeyer untuk ditambahkan 0,4 ml kalium oksalat dan 2 tetes indikator PP. Campuran dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga berwarna merah muda. Sampel yang telah dititrasi ditambahkan 2 ml Formaldehid 40% dan 2 tetes indikator PP. Sampel dititrasi kembali dengan NaOH 0,1N hingga warna merah muda. Total volume titrasi dicatat dan digunakan untuk menghitung formol nitrogen dengan rumus berikut:

$$\text{Formol nitrogen (\%)} = \frac{N \text{ NaOH} \times \text{Titration formol} \times 14,008 \times fp \times fk}{\text{Volume Sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

Titration formol: Titration NaOH – Titration blanko

3.3.2.4 Gula Pereduksi. Pengujian kadar gula pereduksi dilakukan dengan metode DNS (Miller, 1959). Sebanyak 1 ml sampel diencerkan dengan menambah 99 mL akuades. Sampel yang telah diencerkan diambil 1 ml untuk ditambahkan 2 ml DNS. Campuran dipanaskan dalam waterbath suhu 99°C selama 10 menit. Larutan yang telah mencapai suhu ruang ditambahkan 2 ml akuades dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Blanko dilakukan prosedur yang sama, dengan mengganti sampel dengan akuades. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Kadar gula pereduksi diperoleh melalui rumus berikut:

$$\text{Gula reduksi (mg/ml)} = \frac{(\text{Nilai absorbansi} - \text{konstanta})}{\text{koefisien } x} \times \text{faktor pengenceran}$$

3.3.3 Analisis Data

Data hasil uji pH, total asam, total padatan terlarut, formol nitrogen, dan gula pereduksi dianalisis menggunakan metode *Analysis of Variances* (ANOVA) untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan dengan taraf signifikansi 5%. Apabila terdapat pengaruh perlakuan maka analisis data dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Analisis data dilakukan dengan aplikasi SPSS 26 *for windows*.