

KARAKTERISTIK NIRA KELAPA FERMENTASI DENGAN METODA FERMENTASI MOROMI CHARACTERISTICS OF FERMENTED COCONUT SAP WITH MOROMI FERMENTATION METHOD

Ade Iskandar*¹⁾ dan Luthfiano Yossy Darusalam

Departemen Teknik Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
IPB Kampus Dramaga Bogor, PO BOX 220 BOGOR 16620
Email: adeisipb5263@gmail.com, luthfianoyossy@gmail.com

Makalah: Diterima 16 April 2020; Diperbaiki 11 Agustus 2020; Disetujui 20 Agustus 2020

ABSTRACT

Coconut sap consists of around 85 % water, 14% sugar and a small amount of protein, amino acids, organic acids, minerals, dyes, and fats. It has the potential to be a fermentation medium. Fermented coconut sap is expected to be a raw material for seasoning product similar to salty-sweet soy sauce. Soy sauce is made from fermented soybeans or a mixture of soybeans and wheat. Soybeans and wheat are allergens, so many consumers who are healthy-living oriented avoid to consume them. The fermented coconut sap is free of soybeans and wheat. It was made through a one-step of moromi fermentation. The temperature (35, 45 and 55 ° C) and sea salt concentrations (25 and 35%) were used in this study to determine its effect on microbiological, physico-chemical and organoleptic characteristics of fermented coconut sap. The results showed that the moromi fermentation took place the number of microbes (TPC) increased from 91 ± 46 cfu/g until the peak of growth of $(1.18 \pm 0.48) \times 10^4$ cfu/g on the day 35th and decreased into $(1.54 \pm 0.19) \times 10^3$ cfu/g on the 48th day; the pH level decreased from 6.37 ± 0.84 to 4.22 ± 0.75 , the total dissolved solids increased from 39.35 ± 0.90 % to 48.83 ± 1.88 %; reducing sugar increased from 0.13 ± 0.01 mg/l to 1.64 ± 0.45 mg/l; colour changes from clear-yellowish to dark-brown; and the dominant volatile compounds were 2-pentanone, and 4-hydroxy-4-methyl. The treatment of differences in salt content did not affect the nature of fermented juice while temperature significantly affected the reducing sugar, colour, and TPC. Organoleptic test results showed that the fermented coconut sap at 55°C and the addition of 25% sea salt was the most preferred one.

Keywords: coconut sap, fermented coconut sap, moromi, sea salt, temperature

ABSTRAK

Nira kelapa terdiri dari air sekitar 85% dan memiliki kadar gula sekitar 14 %, serta sejumlah kecil protein, asam amino, asam organik, mineral, zat warna, dan lemak. Kondisi nira kelapa seperti ini berpotensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai media fermentasi. Hasil nira kelapa fermentasi ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan baku produk bumbu masak seperti kecap asin Jepang. Kecap merupakan bumbu yang terbuat dari hasil fermentasi kedelai ataupun campuran kedelai dan gandum. Kedelai dan gandum merupakan bahan yang bersifat allergen, sehingga banyak konsumen yang sudah berorientasi hidup sehat tidak mau mengkonsumsinya. Nira kelapa fermentasi tanpa kedelai dan gandum diproses melalui satu langkah proses fermentasi moromi. Dalam penelitian ini, digunakan perlakuan suhu (35, 45 dan 55°C) dan konsentrasi garam laut (25 dan 35%). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruhnya karakter mikrobiologi, fisiko-kimia dan organoleptik dari nira terfermentasi. Hasil penelitian menunjukkan total mikroba (TPC) meningkat dari 91 ± 46 cfu/g pada hari ke-0 sampai puncak pertumbuhan menjadi $(1,18 \pm 0,48) \times 10^4$ cfu/g pada hari ke-35 dan menurun kembali sampai $(1,54 \pm 0,19) \times 10^3$ cfu/g pada hari ke-48. Seiring bertambahnya waktu tingkat pH mengalami penurunan dari $6.37 \pm 0,84$ menjadi $4,22 \pm 0,75$, total padatan terlarut meningkat dari $39,35 \pm 0,90$ menjadi $48,83 \pm 1,88$ %, gula pereduksi meningkat dari $0,13 \pm 0,01$ mg/L menjadi $1,64 \pm 0,45$ mg/L, warna berubah dari bening-kekuningan menjadi gelap-kecoklatan dan senyawa volatile dominan adalah 2-pentanone, 4-hydroxy-4-methyl. Perlakuan perbedaan kadar garam tidak berpengaruh pada sifat nira fermentasi sedangkan suhu berpengaruh nyata pada gula pereduksi, warna dan TPC. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa nira fermentasi yang paling disukai adalah hasil fermentasi pada suhu 55°C dan penambahan garam 25%.

Kata kunci: moromi, nira kelapa, garam laut, suhu, nira kelapa fermentasi

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal dunia sebagai salah satu negara dengan variasi menu makanan tradisional yang sebagian besarnya menggunakan kecap sebagai bumbu. Kecap umumnya diproduksi dengan menggunakan bahan baku kedelai ataupun campuran

dari kedelai dan gandum. Kedelai dan gandum mempunyai sifat allergen, oleh karena itu kecap memiliki kendala untuk beberapa orang. FAO (2013) mengidentifikasi delapan kelompok pangan yang umum menjadi penyebab alergi yaitu susu, telur, kacang tanah, kedelai, gandum, ikan, kerang, dan *tree nut* (Fernandez dan Asero, 2014). Nira kelapa adalah

*Penulis Korespondensi

cairan yang berasa manis yang keluar dari bunga kelapa yang masih kuncup pada saat disadap. Nira kelapa banyak mengandung gula yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Haryati *et al.* (2018) nira kelapa mempunyai pH 6,7, kadar air 85,62%; gula pereduksi 0,04%; sukrosa 13,64%, asam amino 0,17% dan vitamin C of 0,03%. Kondisi ini bisa dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi untuk mendapatkan nira terfermentasi. Nira terfermentasi sangat berpotensi menjadi bahan baku bumbu sejenis kecap asin Jepang untuk menekan permasalahan kedelai dan gandum. Ketika fermentasi berlangsung terjadi reaksi kimia pemecahan substrat yang akan menentukan flavor pada nira kelapa (Yokotsuka dan Sasaki, 1998).

Menurut Lite (2005) terdapat dua tahapan yang penting dalam fermentasi kecap secara konvensional (kedelai/gandum) yaitu fermentasi kapang (tahapan koji) sebagai fermentasi padat dan fermentasi garam (tahapan moromi) sebagai fermentasi cair. Fermentasi koji merupakan tahapan awal fermentasi kecap, yang menghasilkan enzim proteinase dan amylase. Pada tahapan fermentasi koji, protein kedelai dipecah menjadi peptida dan asam-asam amino serta memecah karbohidrat menjadi gula sederhana yang menjadi media untuk ragi dan bakteri asam laktat pada tahapan fermentasi garam (meromi) berikutnya. Pada tahapan fermentasi moromi yaitu fermentasi campuran koji dalam larutan garam, larutan garam efektif mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen yang tidak diharapkan. Pada tahapan ini, terjadi fermentasi gula sederhana oleh ragi dan bakteri asam laktat menjadi etanol dan asam laktat. Pada tahapan ini mikroorganisme penghasil enzim proteolitik tidak semuanya dihambat oleh larutan garam yang tinggi, sehingga proses proteolisis terus berlangsung dan masih terjadi pembentukan asam amino hingga tahap fermentasi moromi. Merujuk pada Haryati *et al.* (2018), karakter nira dengan kadar air yang tinggi (berbentuk cair) dan kandungan utamanya gula (sukrosa dan gula sederhana), asam amino dan Vitamin, kondisi ini mirip dengan kondisi hasil fermentasi koji. Untuk itu, prinsip fermentasi moromi pada proses fermentasi tahap kedua pada pembuatan kecap, dicoba diterapkan untuk fermentasi langsung pada nira kelapa. Hasil fermentasi diharapkan mirip dengan hasil fermentasi moromi pada proses pembuatan kecap sehingga hasil dari fermentasi ini menjadi alternatif bahan baku produk kecap asin tanpa kedelai/gandum. Selain dengan penambahan garam, untuk mengontrol pertumbuhan mikroorganisma dapat juga dilakukan dengan melakukan pengontrolan suhu (Karin *et al.*, 2014). Dengan melakukan pengontrolan suhu pada media fermentasi diharapkan akan diperoleh percepatan waktu fermentasi.

Berdasarkan uraian diatas, maka tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh

perbedaan suhu dan kadar garam terhadap sifat fisik dan kimia nira fermentasi dan mendapatkan perlakuan yang menghasilkan nira fermentasi disukai konsumen.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk pembuatan nira terfermentasi adalah nira kelapa 26% *brix* berasal dari petani produsen gula kelapa Cigenteng Sukabumi, garam laut non iodium. Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu Pereaksi DNS, *Plate Count Agar*, dan *Aquades*.

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan nira terfermentasi adalah peralatan proses fermentasi berupa toples, kain kasa, termostat, adaptor, lampu pijar, pengaduk, dan *box strerofom*. Alat yang digunakan untuk analisis berupa pH meter, refraktometer (WAY-2S Digital Abbe Refractometer), spektrofotometer, timbangan digital, *clean banch*, gelas ukur, gelas piala, tabung erlenmeyer, cawan, oven, mikropipet, dan *Quebec Colony Counter* (di Labiratorium Instrumentasi dan Laboratrium Pengemasan dan Sistem Distribusi, Departemen Teknik Industri Pertanian, Fateta-IPB), serta alat Pirolisis Spektrometri Massa Kromatografi Gas Py-GC-MS dengan merk GC Agilent seri 6890 N dan MS Agilent seri 5973 inert, (di Pusat Laboratorium Forensik, Mabes Polri, Jakarta).

Penyiapan Bahan

Nira kelapa disadap pada waktu bunga kelapa (manggar) berumur sekitar satu bulan dengan cara memotong selundang bunga (mancung) dan mayangnya diikat agar tidak terurai. Kemudian ujung mayang tersebut diiris dan dibiarkan semalam. Keesokan harinya baru dilakukan penyadapan. Sebelum penyadapan, mayang diiris tipis (2 - 3 mm) agak dilengkungkan kebawah, lalu ujungnya dimasukkan ke dalam bumbung (potongan ruas bambu) sebagai tempat menampung nira dan diikat atau digantung pada mangar. Penyadapan nira kelapa dilakukan dua kali sehari yaitu pagi hari dan sore hari. Nira kelapa yang sudah disadap kemudian dilakukan pemanasan hingga mendidih selama setengah jam sampai mencapai 26% *brix*. Setelah itu dimasukkan ke dalam jerigen plastik, ditutup rapat dan diangkut ke laboratorium Departemen Teknik Industri Pertanian, Fateta IPB.

Proses Pembuatan Nira Fermentasi

Nira kelapa fermentasi dibuat dengan fermentasi spontan mengikuti metode fermentasi moromi dengan dua kali ulangan. Nira kelapa sebanyak 2 L dimasukkan ke dalam wadah toples gelas, lalu diberi penambahan garam laut sesuai perlakuan (25% dan 35% b/b) dan diaduk sampai larut kemudian ditutup dengan menggunakan kain kasa. Nira-larutan garam tersebut selanjutnya

difermentasi/ diinkubasi dalam *box inkubator* pada suhu sesuai perlakuan (45°C, 50°C, dan 55°C). Setiap sampel diberi kode berdasarkan perlakuan suhu (A1, A2 dan A3 masing-masing untuk suhu 45°C, 50°C, dan 55°C) dan konsentrasi garam (B1 dan B2 masing-masing untuk konsentrasi garam 25% dan 35%).

Selama proses fermentasi dilakukan pengadukan secara berkala setiap pagi hari sekitar 5 menit dengan tujuan untuk menjaga keseragaman campuran nira-garam dan dilakukan sampai hari ke 48. Menurut Huang dan Teng (2004), pengadukan berfungsi untuk pertukaran udara, khamir akan tumbuh karena aerasi yang cukup, menghambat pertumbuhan bakteri anaerobik yang tidak diinginkan, mengeluarkan gas karbondioksida dan hidrogen sulfida, pewarnaan oksidatif, dan membuat homogen bahan yang difermentasi.

Karakterisasi Sifat Mikrobiologi

Uji sifat mikrobiologi terhadap nira terfermentasi dilakukan setiap 7 hari sampai hari ke 48. Pengujian karakteristik mikrobiologi dilakukan terhadap perkembangan total mikroba. Perhitungan total mikroba pada penelitian ini menggunakan metode TPC (Total Plate Count) menggunakan agar PCA sebagai media tumbuh dan dilakukan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Pembuatan media PCA dilakukan dengan melarutkan 24 gram bubuk media PCA per 100 mL aquades. Setiap hasil pengenceran diambil 1 mL kemudian diinokulasikan ke dalam cawan dengan cara sebar pada kondisi steril di dalam clean bench. Sampel pengenceran dalam cawan petri dituangkan 10-15 mL media PCA (suhu 40-45°C), kemudian dihomogenkan perlahan dengan cara diputar membentuk angka delapan. Cawan didiamkan pada suhu ruang hingga media agar memadat, kemudian diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam dengan posisi cawan dibalik (posisi agar berada diatas) supaya uap air yang dihasilkan tidak menghambat pertumbuhan mikroba. Perhitungan jumlah mikroba menggunakan alat bantu hitung Quebec Colony Counter. Perhitungan jumlah total mikroba dilakukan dengan metode Harrigan dan McCance (2014)

Karakterisasi Sifat Fisik dan Sifat Kimia Nira Fermentasi

Uji sifat fisik dan kimia terhadap nira terfermentasi dilakukan pada selang waktu yang sama dengan uji karakteristik mikrobiologi. Pengujian dilakukan terhadap derajat keasaman (pH), uji warna, total padatan terlarut, TPC, dan gula pereduksi. Selain itu, khusus untuk analisis kandungan bahan volatile hanya dilakukan pada nira hasil fermentasi pada hari ke-48

Uji Derajat Keasaman (pH)

Nilai derajat keasaman (pH) pada nira fermentasi dilakukan untuk mengukur pH nira fermentasi dengan menggunakan pH meter.

Uji Total Padatan Terlarut

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan dengan menggunakan alat WAY-2S Digital Abbe Refractometer. Pertama membersihkan prisma refraktometer dengan menggunakan aquades, kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu kering. Sampel diteteskan secukupnya diatas prisma, kemudian tutup dan arahkan bola lampu ke prisma refraktometer dan tekan tombol read. Nilai brix yang keluar kemudian dicatat.

Uji Kadar Gula Pereduksi

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah *dinitrosalicylic* (DNS). Metode DNS dipilih karena merupakan metode yang praktis dan mudah dilakukan untuk pengukuran sampel (Hasanah dan Iwan, 2015). DNS merupakan senyawa aromatis yang akan bereaksi dengan gula reduksi maupun komponen pereduksi lainnya untuk membentuk *3-amino-5-nitrosalicylic acid* (Putri, 2016). Prosedur pengukuran sebagai berikut, pertama membuat kurva standar dengan cara memasukkan larutan glukosa sebanyak 0 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL, masing-masing kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambah aquades hingga mencapai volume 10 mL. Setiap tabung reaksi diambil 1 mL ditambah dengan 3 mL DNS dan dipanaskan selama 5 menit. Kemudian larutan didinginkan dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Nilai gula pereduksi didapat dengan menambah 3 mL DNS ke dalam 1 mL sampel yang telah dilakukan pengenceran 10^{-2} . Hasil pengukuran kadar gula pereduksi menggunakan spektrofotometer diplot kedalam persamaan untuk mengetahui nilai kadar gula pereduksi yang terdapat pada sampel.

Uji Warna

Pengukuran warna dilakukan dengan menggunakan alat Colorimeter, Hunter's Lab Colorimetric System. Sistem pengukuran terdiri atas 3 parameter yaitu L, a dan b. Notasi L*: 0 (hitam) sampai 100 (putih) menyatakan cahaya pantul yang menghasilkan warna akromatik putih, abu-abu dan hitam. Notasi a* mengukur warna kromatik campuran merah-hijau dengan nilai +a* (positif) dari 0 sampai +80 untuk warna merah dan nilai -a* (negatif) dari 0 sampai -80 untuk warna hijau. Notasi b* mengukur warna kromatik campuran biru-kuning dengan nilai +b* (positif) dari 0 sampai +70 untuk warna kuning dan nilai -b* (negatif) dari 0 sampai -70 untuk warna biru. Warna sebenarnya ditunjukkan oleh nilai chroma (C*) (°) dan derajat hue (°h). Nilai Chroma (C*) merupakan nilai resultan dari a* dan b* mempunyai nilai 0 pada titik pusat dan akan bertambah sesuai dengan jarak dari nilai pusat, sedangkan nilai derajat hue (°h) dimulai dari +a sebagai sudut 0 derajat (warna merah) dan sudut 90 derajat merupakan +b (kuning, 180 akan menjadi -a (hijau) dan terkahir 270 derajat -b (biru) (Adawiyah,

2013). Nilai chroma (C^*) dan derajat Hue (h) didefinisikan dengan persamaan : Chroma (C^*) = $\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$; Hue angle ($^{\circ}h$) = $\tan^{-1} (b^*/a^*)$ (*derajat*). Nilai yang terbaca pada alat colorimeter berupa nilai a^* , b^* , C^* dan $^{\circ}h$. Nilai yang sudah terkumpul diplot pada diagram warna untuk menentukan posisi/letak warna dalam diagram warna. Selanjutnya diagram warna diedit dengan menggunakan fitur CorelDraw.

Uji Kandungan Bahan Volatil

Uji kandungan bahan volatil (mudah menguap) dilakukan dengan menggunakan GC-MS (Gas Chromatography Mass Spectrometer). Nira fermentasi yang dianalisis disuntikan ke dalam ruang unit pirolisis pada GC-MS dengan kondisi operasi yang telah disesuaikan. Kondisi operasi GC-MS yang digunakan adalah jenis kolom HP-5MS dengan diameter 0,5 mm, panjang 30 μ m, film 0,25, limit suhu -60–325 $^{\circ}$ C, gas pembawa dengan helium, laju alir 1,0 mL /menit, suhu ruang injeksi 250 $^{\circ}$ C, oven dengan suhu awal 70 $^{\circ}$ C dan 290 $^{\circ}$ C, suhu interface 290 $^{\circ}$ C dan volume injeksi 10 μ L. Pendeteksian bahan volatil berlangsung di dalam spektroskopi massa melalui perubahan senyawa menjadi molekul terionisasi. Interpretasi spektra massa dilakukan dengan membandingkan pola spektra massa suatu senyawa pada nira fermentasi dengan pola spektra massa pada *mass spectra library* koleksi National Institute Standar and Technology (NIST) yang diidentifikasi dengan prosentase Similarity Index (SI).

Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan melakukan uji hedonik terhadap 31 orang panelis tidak terlatih dengan menggunakan 4 atribut yaitu rasa, warna, aroma dan kekentalan. Panelis diminta untuk mencicipi sample yang disajikan secara acak, kemudian panelis diminta untuk memberikan tanggapan dan penilaian atas produk yang baru dicoba tersebut tanpa membandingkan dengan yang lain. Setiap panelis memberikan penilaian antara 1 sampai 5 dengan nilai yang paling tinggi adalah yang lebih disukai oleh panelis dan mengisi *scoresheet*.

Penentuan Nira Fermentasi Terbaik

Pengujian pelakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan uji indeks efektifitas (De Garmo *et al.* 1984) dengan prinsip penentuan parameter pengamatan sesuai prioritas yang kemudian ditentukan bobotnya, menentukan nilai terjelek (Ntj), nilai terbaik (Ntb), dan nilai perlakuan (Np). Selanjutnya dihitung nilai efektifitas (NE)-nya dengan persamaan $NE = (Np - Ntj) / (Ntb - Ntj)$. Nilai NE ter besar diambil sebagai yang terbaik diantara yang lainnya.

Analisis Data

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan

perlakuan penambahan garam dan perlakuan suhu fermentasi untuk melihat keragaman data. Selanjutnya apabila didapatkan hasil yang berpengaruh nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Nira Fermentasi

Komposisi nira kelapa didominasi oleh air sekitar 85,6% dan gula (sukrosa dan gula pereduksi) sekitar 13,6%. Selain itu terdapat asam amino sekitar 0,2% dan vitamin C dalam jumlah kecil (Haryati *et al.*, 2018). Nira dengan kandungan tersebut diduga dapat menjadi media atau diolah melalui proses fermentasi menjadi nira terfermentasi. Ini mengacu pada proses fermentasi moromi yang mempunyai komponen nutrisi hampir sama walaupun jumlahnya berbeda. Selama proses fermentasi diharapkan terjadi perubahan gula menjadi alkohol dan asam laktat dan protein menjadi peptida dan asam amino dan terbentuk bahan-bahan volatil yang kesemuanya itu memberikan cita rasa has nira fermentasi. Untuk mendapatkan mengendalikan proses fermentasi yang sesuai dengan yang diharapkan, maka diberikan penambahan garam dan perlakuan suhu proses.

Secara visual, garam 25% (B1) yang ditambahkan dan diaduk pada nira kelapa dapat terlarut keseluruhan, namun pada garam 35% (B2) tidak dapat larut dengan sempurna dan masih ada endapan garam di dasar nira kelapa. Penambahan garam diharapkan berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang tidak tahan hidup pada larutan dengan kadar garam tinggi. Mikroba yang tahan terhadap garam tinggi berupa bakteri, ragi dan kapang merombak gula menjadi etanol dan asam laktat. Selain itu, selama fermentasi juga terjadi pembentukan peptida dan asam amino dan bahan-bahan volatil yang kesemuanya itu merupakan komponen yang membentuk cita rasa nira fermentasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wu *et al.* (2010), bahwa pH moromi, pertumbuhan microflora, dan reaksi kimia pemecahan substrat yang menentukan flavor dari kecap dipengaruhi oleh perbedaan suhu.

Perubahan warna terjadi sesuai dengan yang diharapkan yaitu berubah dari kekuningan menjadi lebih gelap yaitu coklat kehitaman. Warna nira fermentasi berubah menjadi semakin gelap dengan adanya perubahan waktu. Walaupun suhu mempengaruhi kecepatan perubahan warna tetapi interaksi perlakuan konsentrasi garam dan suhu secara bersamaan tidak berpengaruh nyata.

Karakteristik Mikrobiologi

Pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh suhu selama fermentasi sementara kadar garam tidak menunjukkan pengaruh selama fermentasi nira. Pada Gambar 1, mulai hari ke-0 hingga hari ke-28 pertumbuhan mikroba tidak menunjukkan

perkembangan yang berarti dan masih landai atau dapat dikatakan masih mengalami fase lag. Kondisi ini sama untuk semua perlakuan kecuali perlakuan suhu 55°C dengan kadar garam 25% yang pada hari ke-21 sudah meningkat perkembangannya. Menurut Kannan (2016) pada fase lag tidak terjadi peningkatan jumlah mikroba atau pertumbuhan tetapi mikroba terus aktif secara metabolis. Pada fase ini terjadi pembiasaan terhadap lingkungan baru agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang. Total mikroba selama fermentasi meningkat terus sejak awal dari sekitar 100 cfu/g hingga mencapai puncak sekitar 16.000 cfu/g pada hari ke-35 untuk semua perlakuan kecuali perlakuan suhu 35°C dengan kadar garam 25% puncaknya tercapai pada hari ke-42. Hari ke-28 hingga hari ke-35 mikroba mengalami fase eksponensial atau fase pertumbuhan. Selama periode ini pertumbuhan seimbang, kecepatan peningkatan dapat diekspresikan dengan fungsi eksponensial alami.

Hari ke-35 hingga hari ke-48 mikroba mengalami fase kematian sehingga menyebabkan jumlah mikroba menjadi terus berkurang sampai sekitar 10% pada hari ke-48. Pertumbuhan mikroba menurun ini diduga disebabkan karena kondisi lingkungan hidup mikroba berubah dan nutrisi pada nira fermentasi yang digunakan mikroba untuk tumbuh sudah tidak cocok lagi.

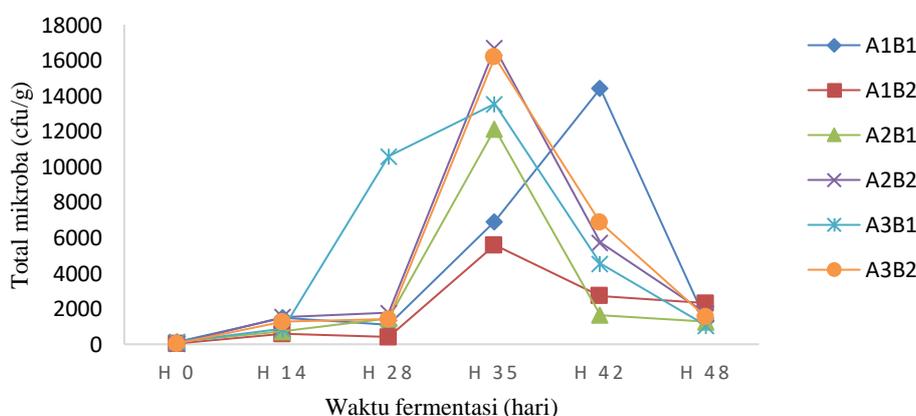
Kondisi seperti tersebut diatas menunjukkan bahwa fermentasi nira dalam garam cukup dilakukan hanya sekitar 35 hari saja dan jika akan diperpanjang maka diperlukan perlakuan lainnya sehingga mikroba masih dapat terus tumbuh. Pertumbuhan mikroba sangat penting karena total mikroba mengindikasikan mutu nira fermentasi yang dihasilkan. Menurut Pamungkas (2016), kualitas mutu terutama flavor (rasa dan aroma) nira fermentasi dapat diindikasikan oleh nilai TPC. Semakin lama fermentasi dan semakin banyak mikroorganisme yang berkembang

baik, kemampuan mikroba memecah glukosa menghasilkan metabolit primer (asam laktat dan alkohol) dan metabolit sekunder (aktifitas bakteri dan polifenol) semakin banyak (Astawan, 2008). Pada Gambar 1 juga ditunjukkan panjangnya waktu fase lag sampai 28 hari kecuali untuk suhu 55 °C hanya 14 hari. Nampaknya ada kondisi kurang cocok yang sehingga fase lag tidak terlalu panjang harus dicari solusinya sehingga waktu produksi bisa lebih cepat

Karakter Fisik dan Kimia Nira Fermentasi

Perlakuan suhu yang digunakan (45°C, 50°C, dan 55°C) berpengaruh terhadap karakter fisik dan kimia nira kelapa terfermentasi. Perubahan warna nira kelapa yang disimpan pada suhu 55°C lebih cepat berubah warnanya menjadi lebih gelap dibandingkan dengan nira kelapa yang disimpan pada suhu 50°C, demikian pula nira kelapa yang disimpan pada suhu 50°C warnanya lebih cepat berubah ke arah gelap dibandingkan dengan nira kelapa yang disimpan pada suhu 45°C.

Selama proses fermentasi, terjadi perubahan warna dan aroma pada nira fermentasi. Aroma yang muncul pada nira kelapa dikarenakan oleh komponen volatil yang terbentuk pada nira kelapa selama fermentasi. Perubahan fisik pada warna dan aroma nira fermentasi dikarenakan adanya reaksi maillard yang terjadi selama proses fermentasi. Reaksi maillard ini terjadi pada bahan yang mengandung gula dan protein tinggi yang mengalami pemanasan sehingga menimbulkan warna coklat. Terbentuknya aroma nira fermentasi dikarenakan adanya senyawa volatil yang muncul akibat reaksi non enzimatis dari reaksi maillard. Reaksi maillard terjadi antara gugus aldehyd dari gula pereduksi dengan gugus amina dari asam amino. Reaksi maillard berkontribusi dalam pembentukan warna, flavor, aroma, dan tekstur.



Gambar 1. Perubahan nilai TPC nira fermentasi terhadap waktu fermentasi

Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH awal nira kelapa adalah 6,37, selama proses fermentasi menunjukkan penurunan hingga pada hari ke-48 hingga mencapai nilai antara 4,11-4,32. Walaupun pH terus menurun seiring dengan meningkatnya waktu, namun perlakuan konsentrasi garam dan suhu baik sendiri-sendiri atau bersama-sama tidak memberikan pengaruh nyata pada penurunan pH. Nira memiliki karbohidrat yang larut dalam air yang berupa oligosakarida terdiri dari sukrosa dan gula-gula sederhana. Pada kondisi larutan garam tinggi diduga terdapat bakteri asam laktat yang memiliki enzim α -galaktosidase yang mampu menghidrolisis oligosakarida diduga menjadi asam laktat selama fermentasi hingga mampu menurunkan pH. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahayu *et al.* (1993). penurunan pH nira fermentasi disebabkan karena timbulnya asam laktat yang diproduksi bakteri asam laktat yang tumbuh pada proses fermentasi.

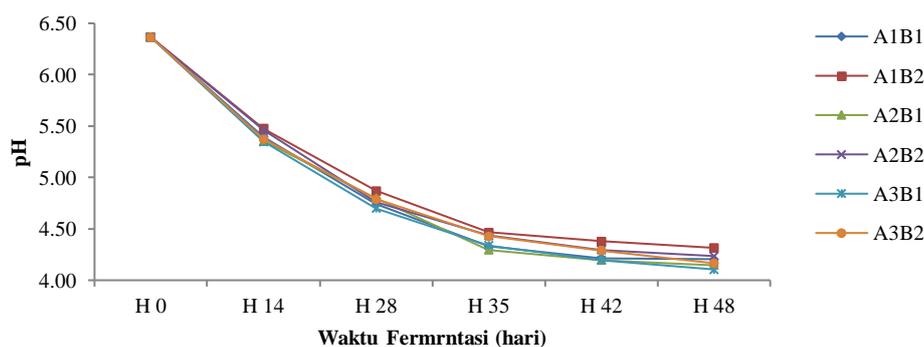
Menurut Nunomura dan Sasaki (2003) menyatakan pada tahap ini tumbuh bakteri yang mampu memproduksi asam organik terutama asam laktat, suksinat, dan fosfat. Asam-asam ini yang akan menurunkan pH larutan garam-nira. Nilai pH nira fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Bakteri *Pediococcus halophilus* yang berperan dalam fermentasi moromi pada tahap awal yang berfungsi mengubah gula sederhana menjadi asam laktat dan sekaligus menurunkan pH hingga mencapai pH optimum untuk fermentasi oleh *yeast* (Iwasaki *et*

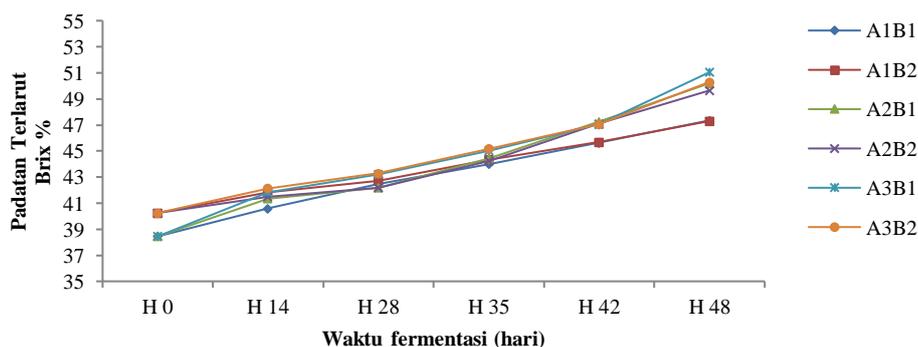
al., 1993). Penurunan pH fermentasi menstimulasi pertumbuhan *yeast* yang penting dalam pembentukan flavor. Semakin banyak *yeast* yang tumbuh akan membentuk flavor menjadi lebih enak. Menurut Sluis *et al.* (2001) setelah pH mencapai 5,0 *yeast* akan mulai tumbuh. Tahap selanjutnya terjadi fermentasi alkohol oleh *yeast Zygosaccharomyces rauxii* dan spesies *Candida*. Hasil dari fermentasi alkohol adalah etanol dan beberapa alkohol lain serta 4-hydroxyfuranones yang membentuk komponen cita rasa (flavor) nira fermentasi.

Total Padatan Terlarut

Selama proses fermentasi moromi dihasilkan senyawa sederhana yang larut dalam filtrat. Kadar total padatan terlarut selama fermentasi terus meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Semakin lama proses fermentasi berlangsung, total padatan terlarut akan semakin meningkat, namun kedua perlakuan baik garam atau suhu tidak berpengaruh nyata pada pembentukan padatan terlarut. Menurut Kader (1985), pengukuran total padatan terlarut dapat mengetahui kualitas rasa manis suatu bahan pangan karena gula merupakan komponen utama dari padatan terlarut. Hasil analisa total padatan terlarut nira fermentasi pada hari ke-48 untuk penambahan garam 25% berkisar 47,35% - 51,05% sedangkan untuk penambahan garam 35% berkisar 47,3%-50,3%. Hasil nilai total padatan terlarut dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Perubahan nilai pH nira fermentasi selama proses fermentasi moromi



Gambar 3. Perubahan nilai total padatan terlarut nira fermentasi terhadap waktu fermentasi

Hasil penelitian menunjukkan total padatan terlarut tertinggi ada pada suhu penyimpanan 55°C, sedangkan yang terendah ada pada suhu penyimpanan 45°C, namun baik perbedaan suhu maupun perbedaan garam tidak berpengaruh nyata pada nira fermentasi. Peningkatan total padatan terlarut ini diduga telah terjadi penguapan pada nira selama fermentasi, terbukti dengan semakin tinggi suhunya semakin tinggi total padatannya. Pada suhu yang lebih tinggi terjadi penguapan yang lebih cepat. Hal ini sesuai dengan Wulandari (2008), suhu yang digunakan dalam proses fermentasi dapat menguapkan air nira kelapa sedangkan garam tidak dapat diuapkan sehingga kadar garam cenderung meningkat dari waktu ke waktu.

Gula Pereduksi

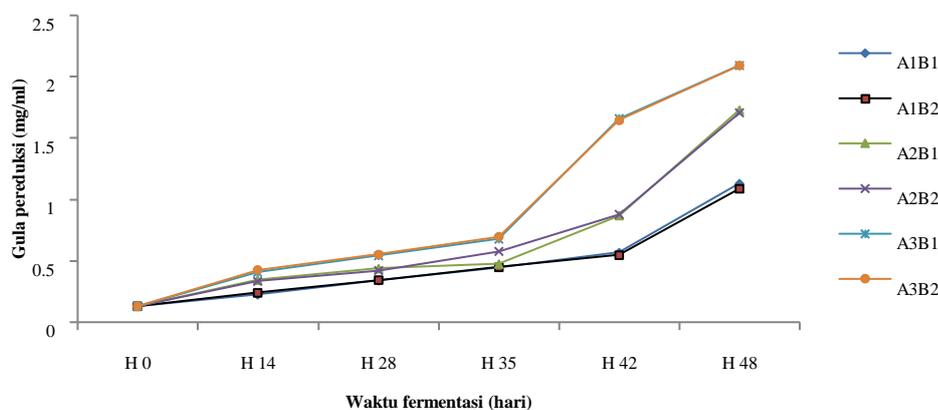
Semakin banyak komponen pereduksi yang terdapat dalam sampel, maka akan semakin banyak pula molekul *3-amino-5-nitrosalicylic acid* yang terbentuk dan mengakibatkan serapan semakin tinggi (Sastrohamidjojo, 2005). Hasil pengukuran kadar gula pereduksi dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan bahwa kadar gula pereduksi selama proses fermentasi hingga hari ke-48 terus mengalami peningkatan. Masing-masing suhu memberi pengaruh nyata sementara perbedaan konsentrasi garam dan interaksinya dengan suhu tidak memberikan pengaruh pada kandungan gula pereduksi nira fermentasi. Semakin tinggi suhu menunjukkan gula pereduksi yang terbentuk juga semakin tinggi. Kandungan tertinggi gula pereduksi terdapat pada suhu penyimpanan 55°C. Pembentukan gula pereduksi meningkat dengan kecepatan landai sampai hari ke-35. Lonjakan gula pereduksi terjadi setelah hari ke-35 untuk semua perlakuan. Pada hari ke-48 terbentuk gula pereduksi 2 kali lipat dibandingkan gula pereduksi yang terbentuk pada hari ke-42 untuk suhu 35 dan 45°C. Pembentukan gula pereduksi pada suhu 45°C terbentuk lebih cepat

dibanding suhu lainnya. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Jaya *et al.* (2016), peningkatan suhu tinggi dapat meningkatkan gula pereduksi. Suhu merupakan salah satu katalisator untuk proses inversi sukrosa sehingga kandungan monosakarida maupun turunannya meningkat dengan meningkatnya suhu fermentasi.

Selain itu, pada waktu yang bersamaan kondisi larutan menunjukkan kondisi lebih asam (Gambar 2), menunjukkan bahwa gula pereduksi juga sebagai hasil hidrolisis dari oligosakarida menjadi gula sederhana oleh asam. Dengan demikian, setelah hari ke-35 terjadi percepatan invertasi gula kompleks menjadi gula-gula sederhana. Selain itu, diduga terjadi penurunan perombakan gula sederhana menjadi komponen lain yang diharapkan. Sementara itu, pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa total padatan terlarut meningkat dengan laju yang relatif stabil setelah hari ke-35 tidak ada lonjakan total padatan terlarut, sementara gula pereduksi meningkat dengan tajam. Hal ini dapat diduga bahwa sebelum hari ke-35 sebagian besar gula pereduksi berubah menjadi komponen lain tetapi masih larut, namun setelah hari ke-35 perubahan tersebut berangsur-angsur berkurang sementara pembentukan gula pereduksi terus berlangsung. Hasil uji kadar gula pereduksi ini sejalan dengan nilai TPC (Gambar 1) yang menunjukkan penurunan jumlah mikroba setelah hari ke-42.

Peningkatan gula pereduksi tersebut diduga berkaitan dengan jumlah mikroba yang makin berkurang sehingga gula sederhana yang digunakan mikroba berkurang sementara pembentukan gula pereduksi terus berlangsung. Dengan demikian jumlah gula pereduksi setelah hari ke-42 tidak maksimum digunakan oleh mikroorganisma. Kondisi ini mendukung dugaan sebelumnya bahwa gula pereduksi pada kurun ini yang dihasilkan oleh proses hidrolisis asam.



Gambar 4. Perubahan kadar gula pereduksi nira fermentasi terhadap waktu fermentasi

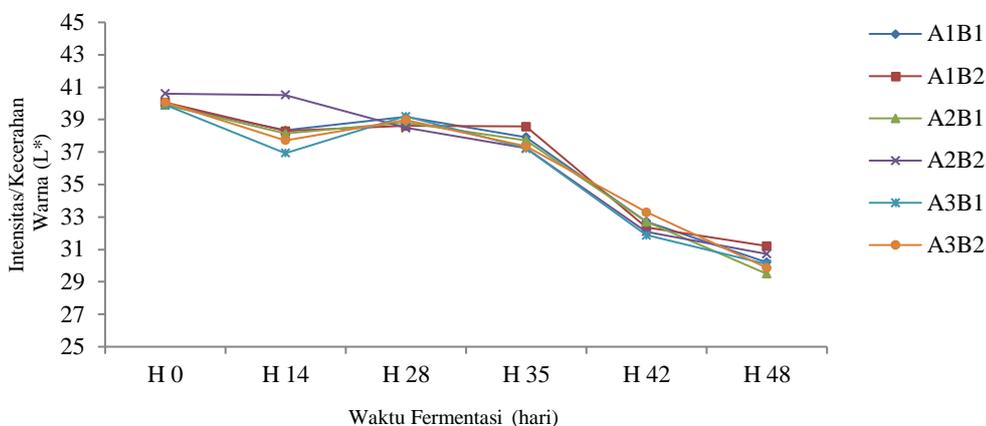
Warna

Warna produk sangat penting karena erat hubungannya dengan penilaian mutu yang dihasilkan. Menurut Adawiyah (2013), warna merupakan salah satu parameter yang penting karena berhubungan dengan kualitas, persepsi dan penerimaan konsumen. Warna kecap secara umum dipengaruhi oleh lama fermentasi. Selama fermentasi moromi, warna larutan moromi berubah menjadi coklat kehitaman dikarenakan terjadi reaksi browning antara asam amino dengan gula pereduksi (Astawan dan Astawan, 1991).

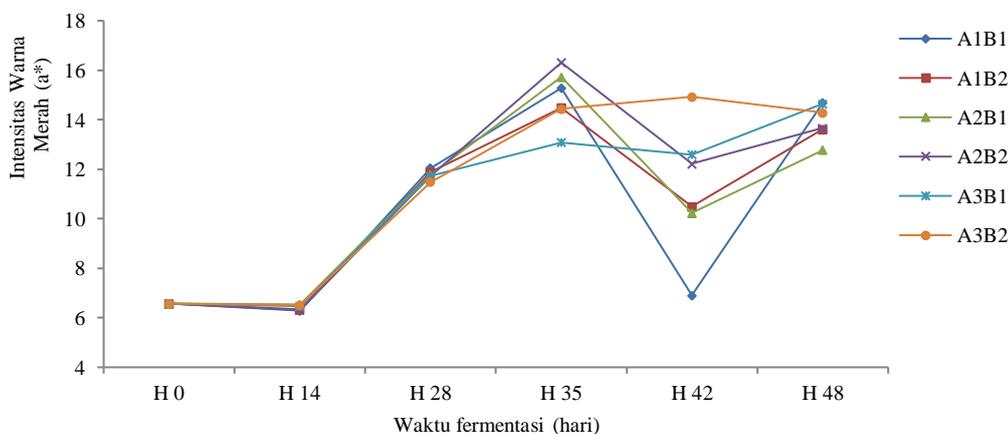
Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi berlangsung maka nilai kecerahan (notasi L*) semakin menurun atau menjadi lebih gelap. Menurunnya kecerahan berlangsung seiring bertambahnya waktu fermentasi dan mulai hari ke-35 penurunan kecerahan semakin cepat. Perlakuan suhu menunjukkan pengaruh nyata terhadap perubahan peningkatan kecerahan (L*), sedangkan perbedaan larutan garam tidak berpengaruh terhadap peningkatan kecerahan (L*) nira fermentasi.

Penurunan kecerahan atau perubahan menjadi lebih gelap karena diduga terjadinya proses pencoklatan oleh reaksi Maillard pada saat fermentasi nira.

Gambar 6 menjelaskan bahwa keberadaan kroma warna merah (a* meningkat) semakin meningkat seiring dengan makin lamanya fermentasi berlangsung sampai hari ke-35 dan selanjutnya menurun yang mengindikasikan peningkatan kroma warna hijau (a* menurun). Sama halnya pada kecerahan, perlakuan suhu menunjukkan pengaruh nyata terhadap perubahan peningkatan nilai a*, sedangkan perbedaan larutan garam tidak berpengaruh terhadap a* nira fermentasi. Meningkatnya a* ini menunjukkan kroma campuran warna nira fermentasi menjadi cenderung kemerahan dan penurunan a* menunjukkan kroma warna cenderung warna kehijauan. Hal ini mengacu pada Suyatma (2009), yang menyatakan notasi a*: warna kromatik campuran merah-hijau dengan nilai +a* (positif) dari 0 sampai +80 untuk warna merah dan nilai -a* (negatif) dari 0 sampai -80 untuk warna hijau.



Gambar 5. Perubahan intensitas warna kecerahan (L*) nira fermentasi terhadap waktu fermentasi



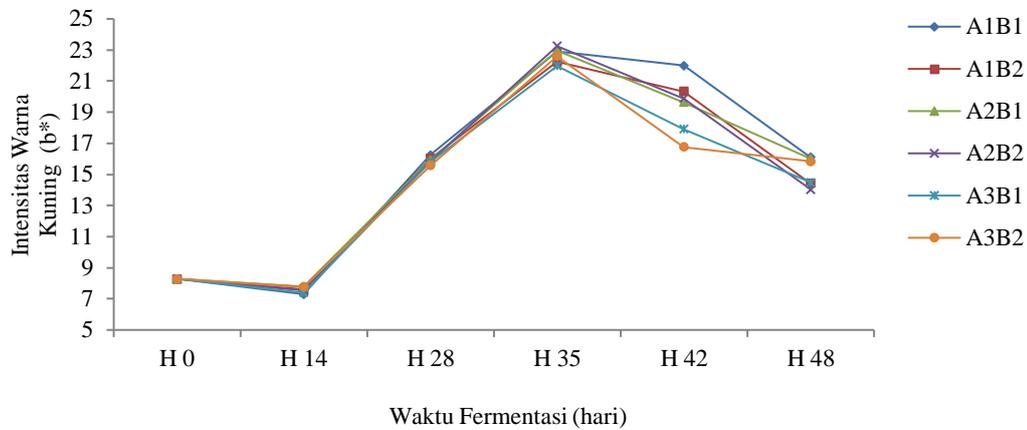
Gambar 6. Perubahan intensitas warna merah (a*) nira fermentasi terhadap waktu fermentasi

Gambar 7 memperlihatkan bahwa semakin lama waktu fermentasi berlangsung maka nilai notasi b^* semakin meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa kroma campuran warna nira fermentasi cenderung ke warna kuningnya. Hal ini merujuk kepada Suyatma (2009), yang menyatakan notasi b^* : warna kromatik campuran biru-kuning dengan nilai $+b^*$ (positif) dari 0 sampai $+70$ untuk warna kuning dan nilai $-b^*$ (negatif) dari 0 sampai -70 untuk warna biru. Kecenderungan peningkatan warna kuning berlangsung hanya sampai hari ke-35 dan setelah itu menurun yang menunjukkan kroma warna kekuningan berkurang dan kroma warna biru meningkat. Seperti halnya pada kecerahan dan warna kroma merah, perlakuan suhu menunjukkan pengaruh nyata terhadap perubahan peningkatan b^* , sedangkan perbedaan larutan garam tidak berpengaruh terhadap peningkatan b^* nira fermentasi.

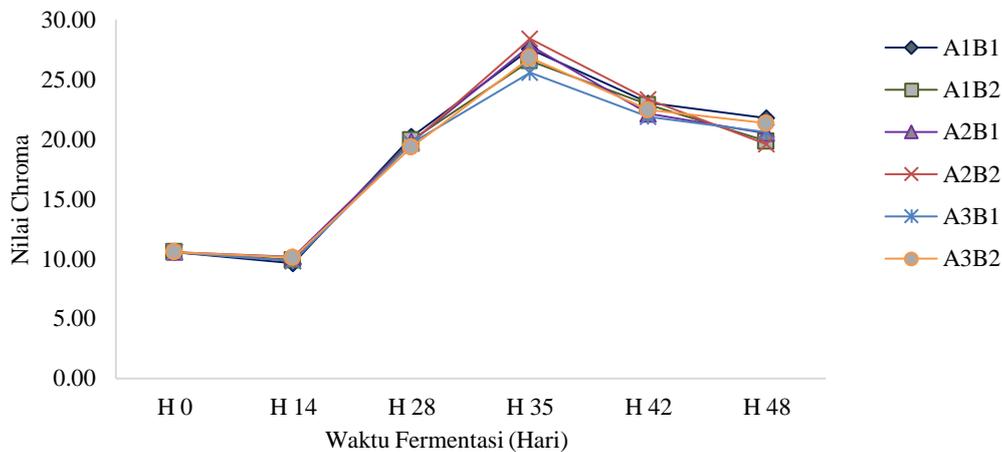
Nilai *Chroma* (C^*) ditetapkan dengan 0 pada titik pusat diagram warna dan akan bertambah sesuai dengan jarak dari nilai pusat (Adawiyah, 2013). Gambar 8 menunjukkan semakin lama waktu

fermentasi berlangsung mengakibatkan nilai *chroma* menjadi meningkat. Peningkatan nilai *chroma* dipengaruhi oleh notasi a^* dan notasi b^* , semakin tinggi nilai notasi a^* dan notasi b^* maka semakin tinggi juga nilai *Chroma* (C^*).

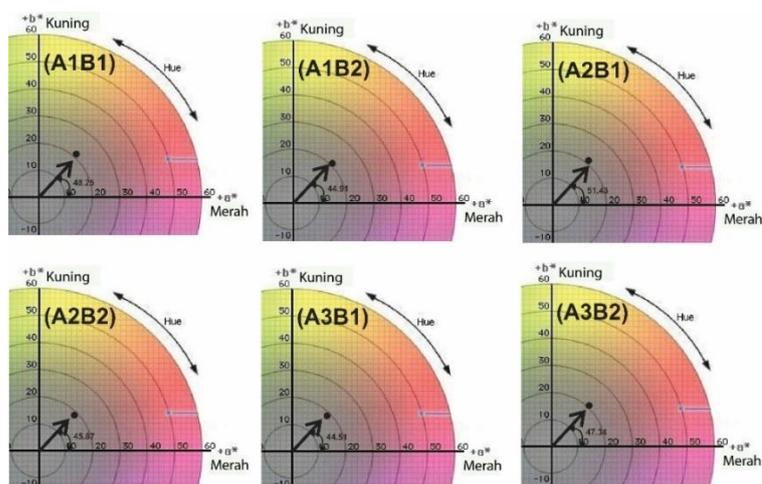
Gambar 9 memperlihatkan hubungan a^* dengan b^* yang menghasilkan derajat *hue* (h°) yang menunjukkan warna nira fermentasi. Warna nira fermentasi ditunjukkan pada titik perpotongan antara kroma (C^*) dan *hue* (h°) pada diagram warna. Warna nira fermentasi menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan mengakibatkan derajat *hue* (h°) semakin rendah sehingga warna nira fermentasi yang pada awal fermentasi berwarna bening-kekuningan berubah menjadi berwarna coklat-kehitaman. Reaksi maillard merupakan reaksi antara karbohidrat, khususnya gula pereduksi dengan gugus amina primer sebagai asam amino yang menghasilkan basa Schiff. Reaksi lebih lanjut menghasilkan aldehid aktif yang kemudian mengalami kondensasi aldol sehingga menghasilkan senyawa berwarna coklat (melanoidin).



Gambar 7. Pergerakan intensitas warna kuning (b^*) nira fermentasi terhadap waktu fermentasi



Gambar 8. Pergerakan intensitas warna *Chroma* (C^*) nira fermentasi terhadap waktu fermentasi



Gambar 9. Hubungan antara nilai *Chroma* dengan derajat *Hue* pada nira fermentasi hari ke – 48

Kandungan Volatil

Karakteristik aroma suatu bahan atau komponen volatil yang terkandung dalam suatu bahan merupakan salah satu faktor penting dalam penentuan mutu suatu bahan pangan (Pratama *et al.*, 2018). Senyawa yang dapat mempengaruhi karakteristik cita rasa (flavor) suatu komoditas dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu senyawa volatil dan non-volatil. Senyawa organik volatil merupakan senyawa organik yang mengandung karbon yang menguap pada tekanan dan suhu tertentu atau memiliki tekanan uap yang tinggi pada suhu ruang (Pratama, 2015).

Komponen bahan volatil yang teridentifikasi oleh metode GC-MS pada nira kelapa sebelum proses fermentasi moromi yaitu 2,3 *butanediol*, 2-*pentanone*, 4-*hydroxy-4-methyl*, *ethyl ester*, *decane*, *dodecane*, *octadecane*, 3-*ethyl-5-(2-ethylbutyl)-heneicoabe*, *N-Methyl-1-adamantaneacetamide*, 1,2-*Bis(trimethylsilyl) benzene*, *propionphenon*, 2'-*(trimethylsiloxy)-methyltris (trimethylsiloxy) silane*, *cyclotrisiloxane*, *hexamethyl-*, *tetrasiloxane*, *decamethyl-*, 1,4-*bis(trimethylsilyl) benzene* dan 2-*Napthalene-sulfonic acid*. Setelah dilakukan proses fermentasi moromi komponen volatil yang teridentifikasi jumlahnya berubah. Beberapa komponen yang teridentifikasi pada nira kelapa sebelum fermentasi masih ditemukan pada nira hasil fermentasi dan sebagian komponen lainnya tidak ditemukan lagi pada nira hasil fermentasi. Selain itu, ditemukan komponen baru pada nira hasil fermentasi yang sebelumnya tidak ditemukan pada nira kelapa sebelum fermentasi. Perubahan komponen tersebut merupakan hasil perubahan secara biologis oleh mikroba selama fermentasi. Keberadaan suhu memberikan pengaruh terhadap perubahan komponen volatil selama fermentasi. Suhu fermentasi berinteraksi dengan nira kelapa sehingga mempengaruhi senyawa volatil yang terkandung dan berubah secara biokimia menghasilkan komponen volatil yang baru. Menurut Antara dan Wartini (2014), proses oksidasi yang terjadi dapat

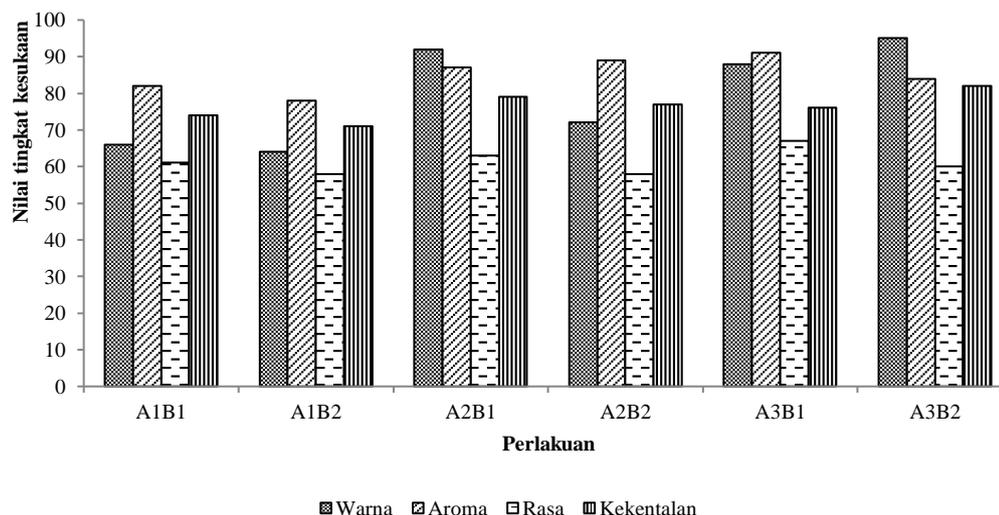
menghilangkan maupun meningkatkan atau pembentukan senyawa volatil baru.

Setelah dilakukan fermentasi teridentifikasi 8 senyawa alkohol alifatik, 1 senyawa fenol, 7 jenis asam, 13 komponen hidrokarbon alifatik, 2 senyawa furan, 5 senyawa turunan benzena, dan 3 komponen aldehid alifatik. Senyawa yang teridentifikasi hampir pada semua perlakuan setelah dilakukan proses fermentasi adalah 2,3-*butadienol*, 2-*pentanone*, 4-*hydroxy-4-methyl*, *ethylbenzene*, 5-*hydroxymethylfurfural*, *diethyl phthalate*, dan *oxirane*, 2,2' [(1-*methylethylidene*) bis (4,1-*phenylenoxymethylene*) bis-]. Senyawa yang mempunyai konsentrasi paling tinggi adalah 2-*pentanone*, 4-*hydroxy-4-methyl* sehingga komponen tersebut diduga menjadi penentu aroma nira fermentasi.

Karakteristik Organoleptik Uji Hedonik

Penilaian kesukaan panelis pada atribut warna, aroma, rasa dan kekentalan nira fermentasi disajikan pada Gambar 10. Penilaian kesukaan panelis terdiri dari atribut warna, aroma, rasa dan kekentalan nira fermentasi. Untuk atribut warna dan kekentalan nira fermentasi, panelis lebih menyukai perlakuan suhu 55°C dengan penambahan garam 35% (A3B2), sedangkan untuk atribut aroma dan rasa panelis lebih menyukai perlakuan suhu 55 °C dengan penambahan garam 25% (A3B1). Untuk atribut warna dan kekentalan, panelis lebih menyukai perlakuan suhu 55°C dengan penambahan garam 35% (A3B2), sedangkan untuk atribut aroma dan rasa panelis lebih menyukai perlakuan suhu 55°C dengan penambahan garam 25% (A3B1).

Selanjutnya untuk menentukan yang terbaik dihitung berdasarkan Nilai Efektifitasnya (Tabel 1). Berdasarkan uji indeks efektifitas, didapatkan bahwa perlakuan paling disukai dengan nilai efektif terbesar adalah nira fermentasi yang dihasilkan oleh kombinasi perlakuan suhu 55 °C dengan penambahan garam 25% (A3B1).



Gambar 10. Histogram uji organoleptik

Tabel 1. Perhitungan nilai efektifitas tiap perlakuan

Sampel	Jumlah	Pembobotan	Np-Ntj	Ntb-Ntj	NE
A1B1	283	0,16	0,01	0,03	0,24
A1B2	271	0,15	0,00	0,03	0,00
A2B1	321	0,18	0,03	0,03	0,98
A2B2	296	0,16	0,01	0,03	0,49
A3B1	322	0,18	0,03	0,03	1,00
A3B2	321	0,18	0,03	0,03	0,98
Total	1,814	1,00			

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total mikroba meningkat dari 91 ± 46 cfu/g pada hari ke-0 sampai puncak pertumbuhan menjadi $(1,18 \pm 0,48) \times 10^4$ cfu/g pada hari ke-35 dan menurun kembali sampai $(1,54 \pm 0,19) \times 10^3$ cfu/g pada hari ke-48. Tingkat pH mengalami penurunan dari $6,37 \pm 0,84$ menjadi $4,22 \pm 0,75$, total padatan terlarut meningkat dari $39,35 \pm 0,90$ menjadi $48,83 \pm 1,88\%$, gula pereduksi meningkat dari $0,13 \pm 0,01$ mg/L menjadi $1,64 \pm 0,45$ mg/L. Semakin tinggi suhu yang digunakan mengakibatkan makin cepat perubahan warna nira fermentasi dari bening–kekuningan menjadi berwarna coklat–kehitaman. Senyawa volatil dengan konsentrasi paling tinggi adalah *2-pentanone, 4-hydroxy-4-methyl*.

Perlakuan perbedaan kadar garam tidak berpengaruh pada sifat nira fermentasi sedangkan suhu berpengaruh nyata pada gula pereduksi, warna dan TPC. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa nira fermentasi yang paling disukai adalah hasil fermentasi pada suhu 55°C dan penambahan garam 25%.

Saran

Untuk meningkatkan mutu dan mempercepat proses fermentasi nira dengan fermentasi moromi, disarankan untuk memperpendek fase lag fermentasi dengan menggunakan mikroba yang sudah diseleksi terlebih dahulu (bukan fermentasi spontan).

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah DR. 2013. Pengukuran warna produk pangan. *Foodreview Indonesia*. 8(8): 52-58.
- Antara NS dan Wartini M 2014. Senyawa aroma dan citarasa (*aroma and flavor compounds*). *TPC Project Udayana University-Texas A&M University*. 2: 100-112.
- Astawan M. 2008. *Brem*. [Internet]. [diunduh 2018 Sep 01]. Tersedia pada : <http://cybermed.cbn.net>.
- Astawan M dan Astawan MW. 1991. *Teknologi Pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*. Jakarta (ID) : Akademika Pressindo.
- De Garmo EP, WG Sullivan, dan CR Candra. 1984. *Engineering Economi*. 7th edition. New York(UK): Mc Millan Publ.

- FAO. 2013. FAOSTAT database [internet]. [diunduh 2018 Des 07]. Tersedia pada: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- Fernandez-Rivas M dan Asero R. 2014. *Which foods cause food allergy and how is food allergy treated ?*. San Diego(US): Academic Press: San Diego.
- Haryanti P, Supriyadi S, Djagal WM, Umar S. 2018. Effects of Different Weather Conditions and Addition of Mangosteen Peel Powder on Chemical Properties and Antioxidant Activity of Coconut Sap. *Agritech*. 38 (3): 295-303.
- Hasanah N dan Iwan S. 2015. Aktifitas selulase isolat jamur dari limbah media tanam jamur merang. *Journal Prosedium Seminar Masyarakat Biodiv Indonesia*. 1 (5) : 1110-1115.
- Huang Tzou-Chi dan Der-Feng Teng. 2004. Soy Sauce: Manufacturing and biochemical changes. Di dalam Hui YH, Lisbeth MG, Åse SH, Jytte J, Wai-Kit Nip, Peggy SS, Fidel T, editor. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Iwasaki KI, Nakajima M, dan Sasahara H. 1993. *Rapid continous lactic acid fermentation by immobilised lactic acid bacteria for soy sauce production*. *Proc. Biochem*. 28 :39-45.
- Jaya RS, Ginting S, dan Ridwansyah. 2016. Pengaruh suhu pemanasan dan lama penyimpanan terhadap perubahan kualitas nira aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 4(1): 49-57.
- Kader AA. 1985. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. California (US): Cooperative Extension, University of California.
- Kannan I. 2016. *Essentials of Microbiology for Nurses*, 1st Edition – Ebook. New Delhi (IN): Elsevier
- Karin CV, Robert JH, dan William GV. 2010. *Microbiology for the Healthcare Professional - E-Book*. Missouri: Mosby Inc.
- Lite L. 2005. Asian fermented soybean product. Di dalam Hui Y.H., editor. *Handbook of food science, technology, and engineering* – 4 volume set. Boca Raton (US): CRC Press. Hlm 19-1 – 19-18.
- Nunomura N dan Sasaki M. 1986. *Soy Sauce*. Florida (US): CRC Press.
- Pamungkas BT. 2016. *Pembuatan Nira Kelapa Fermentasi Dengan Metode Moromi Untuk Pensubstitusi Kecap Asin* [Skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Pratama HS. 2015. *Senyawa Organik Mudah Menguap (Volatil Organic Compound)*. [Internet]. [diunduh 2018 Sep 01] Tersedia pada: <http://sentraltraining.com/senyawa-organik-mudah-menguap-volatil-organic-compound/>.
- Pratama RI, Rostini I, dan Rochima E. 2018. *Amino acid profile and volatil flavour compounds of raw and steamed patin catfish (Pangasius hypophthalmus) and narrow-barred spanish mackerel (Scomberomorus commerson)*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 116: 1-17.
- Putri S. 2016. Karakterisasi Enzim Selulase yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus Plantarum* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat [Skripsi]. Malang(ID): UIN Maulana Maliq Ibrahim.
- Rahayu ES, Indrati R, Utami T, Harmayani E, Cahyanto MN. 1993. *Bahan Pangan Hasil Fermentasi*. Yogyakarta(ID): PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Sastrohamidjojo H. 2005. *Kimia Organik, Sterokimia, Lemak, dan Protein*. Yogyakarta (ID) : Gadjah Mada University Press.
- Sluis CVD, Tramper J, dan Wijffels RH. 2001. *Enhancing and accelerating flavor formation by salt tolerant yeast in japanese soy sauce processes*. *Journal Trends in Food Science and Technology*. 12. 322-327.
- Suyatma NE. 2009. Analisis Warna. [Internet]. [diunduh 2018 Sep 01]. Tersedia pada : Anpang+Lanjut++Analisis+Warna+2009+NES.ppt.
- Wulandari AG. 2008. *Pengaruh lama Fermentasi Moromi Terhadap Kualitas Filtrat Sebagai Bahan Baku kecap* [Skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Yokotsuka TM dan Sasaki. 1998. *Fermented Protein Foods in the Orient. Microbiology of Fermented Foods 2nd Ed. Vol 1*. London(UK): Blackie Academic & Professiona.