

PERUBAHAN KOMPONEN VOLATIL SELAMA FERMENTASI KECAP

[Changes of Volatile Components During Soy Sauce Fermentation]

Anton Apriyantono¹⁾ dan Gono Dewi Yulianawati²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, FATETA-IPB, PO Box 220 Darmaga Bogor 16002

²⁾ Alumni Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, FATETA-IPB PO Box 220 Darmaga Bogor 16002

Diterima 30 Januari 2004 / Disetujui 19 Juni 2004

ABSTRACT

A study has been conducted to investigate changes of volatile components during soy sauce fermentation. During the fermentation, many volatile components produced may contribute to soy sauce flavor. The volatile components identified by GC-MS were classified into hydrocarbon (15), alcohol (15), aldehyde (14), ester (14), ketone (9), benzene derivative (11), fatty acid (9), furan (5), terpenoid (18), pyrazine (3), thiazole (1), pyridine (1) and sulfur containing compound (2).

Concentration of compounds found in almost all fermentation steps, such as hexanal and benzaldehyde did. These compounds may be derived from raw soybean, since they were all present in raw soybean and their concentration did not change during fermentation. Concentration of palmitic acid and benzeneacetaldehyde, in general, increased during all fermentation steps. They are probably derived from lipid degradation or microorganism activities. Concentrations of some fatty acids, esters and hydrocarbons, such as linoleic acid, methyl palmitate and heptadecane increased during salt fermentation only. Concentration of some other compounds, such as 2,4-decadienal decreased or undetected during fermentation.

The absence of some volatile compounds, e.g. (E)-nerolidol and (E,E)-farnesol in boiled soybean which were previously present in raw soybean may be due to evaporation of these compounds during boiling. Some volatile compounds such as, methyl heptadecanoate and few aromatic alcohols are likely derived from *Aspergillus sojae*, since these compounds were identified only in 0 day koji.

Key words : Soy sauce, volatile component, fermentation

PENDAHULUAN

Kecap merupakan salah satu bumbu serba guna yang banyak digunakan sebagai penyedap masakan. Kecap Indonesia terdiri dari dua jenis, yaitu kecap manis dan kecap asin dimana kecap manis lebih populer dibanding kecap asin.

Kecap dapat dibuat dengan tiga cara, fermentasi, hidrolisis kimia atau kombinasi keduanya (Yokotsuka, 1986). Kecap Indonesia sebagian besar masih dibuat dengan cara fermentasi tradisional. Cara fermentasi ini digunakan karena kecap yang dihasilkan lebih baik dibanding dengan kecap yang dihasilkan dengan cara hidrolisis kimia.

Pembuatan kecap tradisional melalui dua tahap fermentasi, yaitu fermentasi kapang dan fermentasi dalam larutan garam. Fermentasi kapang sering disebut fermentasi *koji*, sedangkan fermentasi dalam larutan garam di daerah Jawa sering disebut proses *baceman* (Roring, 1995).

Kecap yang terbuat dengan proses fermentasi ini memiliki flavor yang disukai oleh masyarakat. Flavor pada kecap manis ditentukan oleh adanya komponen volatil dan nonvolatil yang berkontribusi di dalamnya. Komponen volatil berkontribusi dalam aroma kecap yang dihasilkan. Komponen volatil ini sebagian berasal dari

proses fermentasi yang mengalami perubahan baik kualitatif maupun kuantitatif selama fermentasi. Untuk itu perlu dilakukan suatu penelitian untuk melihat bagaimana perubahan komponen volatil selama fermentasi kecap agar dapat membantu menentukan proses fermentasi yang optimal.

METODOLOGI

Bahan dan alat

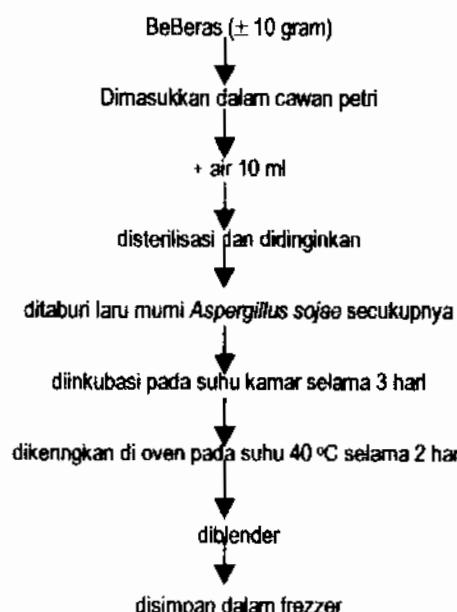
Bahan-bahan yang digunakan adalah kedelai hitam, garam, beras (ketiganya diperoleh dari pasar lokal Bogor) dan laru mumi *Aspergillus sojae*. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah dietil eter dan 1,4-diklorobenzen (keduanya memiliki tingkat kemurnian *pro analysis* dan dibuat oleh Merck).

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat masak, gentong plastik, tampah, rak fermentasi, perangkat alat distilasi ekstraksi secara simultan Likens-Nickerson, Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) model QP5000 buatan Shimadzu (Jepang), rotary-evaporator, penyuplai gas N₂, dan komputer.

Metode penelitian

Penelitian terbagi menjadi dua tahap, penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian

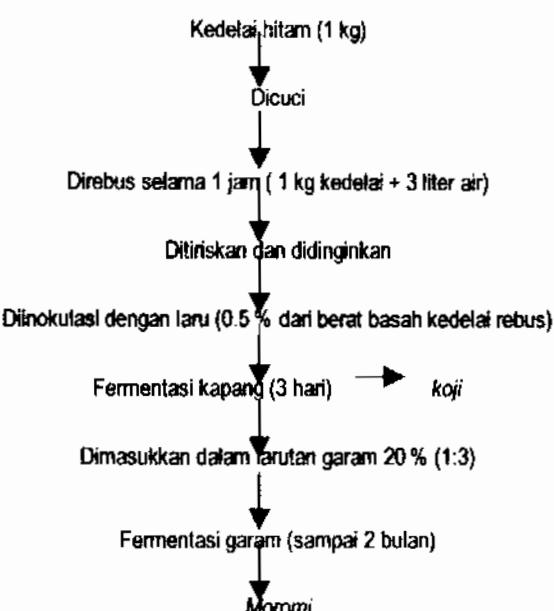
pendahuluan dilakukan pembiakan laru kapang *Aspergillus sojae* (Gambar 1) dan pencarian kondisi ekstraksi yang optimum (jumlah sampel dan lama ekstraksi). Pada penelitian utama dilakukan fermentasi kecap (Gambar 2), ekstraksi komponen volatil, dan identifikasi komponen volatil.



Gambar 1. Proses pembiakan laru kapang *aspergillus sojae*

Ekstraksi komponen volatil dilakukan dengan menggunakan alat ekstraksi-distilasi secara simultan Likens-Nickerson. Ekstraksi dilakukan selama dua jam, dengan menggunakan solven dietil eter dan standar internal diklorobenzen. Selama ekstraksi digunakan kondensor es batu di atas kondensor air. Setelah selesai ekstraksi, ekstrak volatil dipekatkan dengan rotary evaporator sampai volumenya tinggal 1-2 ml. Sebelum disuntikkan ke GC-MS ekstrak volatil dipekatkan lagi dengan menghembuskan gas nitrogen kedalamnya. Analisis komponen volatil dilakukan dengan menyuntikkan ekstrak sampel pada alat GC-MS dan dilakukan identifikasi komponen volatil dengan bantuan komputer dengan menggunakan software Class-5000 (Shimadzu, Jepang). Kolom yang digunakan untuk analisis pada GC-MS adalah kolom kapiler DB5 (J&W USA, panjang 30 m, diameter dalam 0.25 mm, ketebalan lapisan film 0.1 µm) dengan menggunakan suhu terprogram (suhu awal 40°C ditahan selama 5 menit lalu dinaikkan dengan kecepatan kenaikan suhu 3°C/menit sampai suhu 225°C lalu ditahan pada suhu akhir selama 10 menit). Gas pembawa yang digunakan adalah gas helium dengan tekanan 40.40 kPa. Hasil identifikasi komponen volatil dengan mencocokkan spektra massa dengan yang ada di database kemudian dikonfirmasi dengan mencocokkan Linear Retention Index (LRI)-nya pada fase diam kolom yang digunakan

yang didapat dari percobaan dengan yang ada di literatur untuk komponen yang sama.



Gambar 2. Proses fermentasi kecap

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pendahuluan

Kondisi ekstraksi optimum yang didapat adalah sampel yang digunakan untuk analisis sebanyak 150 g (sampel padat: kedelai mentah, kedelai rebus dan koji) dan 250 g (sampel semi padat : moromi), dengan waktu ekstraksi selama dua jam, yang dihitung setelah sampel mendidih. Berdasarkan jumlah komponen volatil yang terekstrak, ekstraksi selama dua jam ini dianggap cukup untuk mengekstrak semua komponen volatil yang terdapat dalam bahan. Selama ekstraksi dijaga agar proses evaporasi dan distilasi berjalan konstan, sehingga komponen volatil terekstrak dengan baik.

Jumlah solven yang digunakan untuk mengekstrak komponen volatil adalah 50 ml dietil eter. Pada sampel ditambahkan standar internal diklorobenzen 1 % sebanyak 0.1 ml. Pada saat ekstraksi ditambahkan air (1:3) pada sampel untuk mencegah terjadinya kegosongan pada sampel. Selain itu juga didapatkan kondisi pemekatan ekstrak sampel dengan rotary evaporator dimana suhu yang digunakan 40 °C tanpa vakum merupakan kondisi yang menghasilkan pekatkan ekstrak yang tidak banyak mengalami kehilangan senyawa volatilnya selama proses pemekatan tersebut.

Penelitian utama

Pembuatan kecap dilakukan secara tradisional, melalui dua tahap fermentasi, yaitu fermentasi kapang

dan fermentasi garam. Pada fermentasi kapang dilakukan dengan penambahan laru *Aspergillus sojae*, karena kapang inilah yang biasa digunakan dalam fermentasi kecap. Selama fermentasi kapang dan garam dilakukan pengadukan untuk mendapatkan kondisi optimum bagi pertumbuhan mikroba.

Komponen volatil yang teridentifikasi selama fermentasi berjumlah 117 komponen, yang terdeteksi pada kedelai mentah, kedelai rebus, *koji* dan *moromi*. Komponen volatil yang teridentifikasi ini terdiri dari 14 senyawa aldehid alifatik, 15 hidrokarbon, 15 alkohol alifatik dan aromatik, 11 senyawa turunan benzen, 3 senyawa pirazin, 5 senyawa furan, 9 keton alifatik dan laktone, 1 senyawa tiazol, 18 senyawa terpenoid, 14 ester, 9 asam lemak, 1 senyawa pirdin dan 2 komponen mengandung sulfur (lihat Tabel 1).

Komponen volatil yang ditemui pada hampir semua tahapan fermentasi dan jumlahnya relatif tetap antara lain adalah *hexanal*, *heptanal*, *pentadecane*, *octadecanoic acid*, γ -*nonalctone* dan *benzaldehyde*. Komponen-komponen ini diduga berasal dari bahan asal (kedelai).

Komponen yang meningkat jumlahnya selama fermentasi seperti *phenyl ethyl alcohol*, *heptadecane*, *octadecane*, *benzenacetaldehyde*, *methyl linoleate*, *linoleic acid*, *palmitic acid*, *myristic acid*, *stearic acid*, kemungkinan berasal dari hasil degradasi lipid atau aktivitas mikroba selama fermentasi.

Senyawa yang diperkirakan berubah menjadi komponen lain (bereaksi lebih lanjut) selama fermentasi adalah komponen yang termasuk kelompok ketiga, seperti 2,4-decadienal, karena komponen ini jumlahnya menurun selama fermentasi (pada akhir fermentasi tidak terdeteksi). Selain itu juga ada beberapa komponen volatil yang diduga hilang selama proses perebusan, seperti *caryophyllene*, *(E)-nerolidol*, *(E,E)-farnesol* dan α -*humulune*, dimana komponen-komponen ini hanya ditemui pada kedelai mentah, tetapi tidak ditemui pada kedelai rebus.

Ada beberapa komponen volatil yang diduga berasal dari kapang *Aspergillus sojae* (yang terdapat pada *koji* 0 hari), yaitu 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione, 2,3,3-trimethyl-bicyclo-2.1.1-heptan-2-ol, 2,6,6-trimethyl-bicyclo-3.1.1-heptan-3-ol, (1-butylhexyl) benzene dan *methyl heptadecanoate*. Hal ini terlihat dari hanya terdeteksinya komponen tersebut pada *koji* 0 hari dan tidak pada kedelai rebus. *Koji* 0 hari ini merupakan campuran kedelai rebus dengan laru *A. sojae*.

Perubahan yang terjadi selama fermentasi kapang relatif kecil, yang terlihat dari proporsi komponen volatil pada *koji* 0 sampai 3 hari yang tidak terlalu berbeda, kecuali asam palmitat mengalami peningkatan jumlahnya pada *koji* 1 hari, kemudian menurun pada *koji* 2 dan 3 hari. Kemungkinan hal ini terjadi karena adanya pemecahan lemak pada kedelai oleh enzim yang dihasilkan kapang, yang terlihat pada peningkatan jumlah asam palmitat dari kedelai rebus ke *koji* 0-1 hari.

Penurunan kandungan asam palmitat setelah fermentasi 2 dan 3 hari kemungkinan disebabkan oleh perubahan sebagian komponen tersebut menjadi bentuk ester metilnya atau digunakan oleh mikroba sebagai sumber energi.

Pada tahap fermentasi garam, komponen yang teridentifikasi hampir sama dengan komponen yang teridentifikasi pada kecap Jepang, seperti senyawa *phenylethylalcohol*, 2-acetylthiazole, 3-(methylthio) propanal dan *heptadecanoic acid*. Tetapi, komponen volatil yang terbentuk selama fermentasi ini hanya sedikit yang teridentifikasi pada kecap manis, seperti yang telah dilaporkan oleh Lie (1996) dan Husain (1996). Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar komponen volatil penyusun flavor kecap manis terbentuk saat pemasakan.

Secara umum, kelompok komponen volatil yang teridentifikasi dari kedelai mentah, kedelai rebus, *koji* dan *moromi* pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

Alkohol

Senyawa alkohol yang teridentifikasi pada penelitian ini adalah alkohol alifatik dan alkohol aromatik (Tabel 1). Alkohol yang terbentuk selama fermentasi kebanyakan merupakan alkohol alifatik, yang diduga merupakan hasil fermentasi heksosa dan sebagian kecil dari degradasi asam amino (Yokotsuka, 1986). Selain itu senyawa alkohol juga dapat terbentuk sebagai hasil dari degradasi lemak oleh enzim *lipoxygenase* (Baltes dan Song, 1992), seperti senyawa 1-octen-3-ol yang jumlahnya naik turun selama fermentasi (Gambar 3). Selain itu, juga terlihat adanya kenaikan proporsi senyawa *phenyl ethyl alcohol* selama fermentasi *moromi* (Gambar 3), yang diduga merupakan hasil dari metabolisme mikroba (bakteri laktat) selama fermentasi (Berger et al., 1992).

Komponen 2,6-bis(2-methylpropyl)pyrazine dan *methyl pyrazine* terdeteksi pada tahap fermentasi kapang dan garam, dengan proporsi yang relatif sama. Kemungkinan senyawa pirazin ini juga terbentuk selama proses ekstraksi karena adanya pemanasan asam amino dan gula yang ada pada *koji* dan *moromi*.

Aldehid

Aldehid yang teridentifikasi selama fermentasi adalah aldehid alifatik sebanyak 16 komponen. Komponen aldehid yang teridentifikasi pada semua tahap fermentasi adalah *hexanal* dan *(E)-2-octenal*, sedangkan aldehid yang teridentifikasi pada tahap fermentasi kapang dan garam adalah 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal, *methyl acetaldehyde*, *decanal* dan *nonanal*. Komponen *(E,E)-2,4-nonadienal* dan *(E)-2-decenal* hanya ditemui pada kedelai mentah. Sebagian besar senyawa aldehid berasal dari bahan asal (kedelai), kecuali aldehid yang mengalami peningkatan konsentrasi selama fermentasi, diduga berasal dari hasil metabolisme mikroba.

Tabel 1 Perubahan Komponen Volatil Selama Fermentasi Kecap (ppm)**

No	Komponen Volatil	LRI	LRI Ref	Kdimth	KdIrhs	Koji 0	Koji 1	Koji 2	Koji 3	Mor 0	Mor 5	Mor 10	Mor 20	Mor 30	Mor 60
ALKOHOL ALIFATIK dan AROMATIK															
1	3-methyl-1-butanol	739 ^a	0.2	0.1	0.2	7.1	4.9	4.5	2.9	2.0	2.1	2.0	1.9	1.3	nd
2	1-hexanol	876	865 ^b	1.9	0.4	0.5	0.3	0.1	<0.1*	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	1-octen-3-ol	989	978 ^a	3.4	1.3	1.6	1.8	12.0	11.0	5.8	5.3	7.2	3.2	5.7	5.9
4	3-octanol	1006	963 ^b	0.4	0.1	3.4	0.1*	0.1*	0.1	0.1*	nd	0.1*	7.4*	nd	0.2*
5	(E)-2-octen-1-ol	1077	1067 ^b	nd	nd	0.1*	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.5	0.3	0.1	0.1
6	1-octanol	1081	1075 ^b	nd	<0.1	0.1	nd	0.1	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	nd
7	4-methyl-1-(1-methylmethyl)bicyclo[3.1.0]hexane-3-ol	1089	nd	<0.1	<0.1	nd									
8	4-nonanol	1100	nd	<0.1*	nd										
9	Phenyl-ethyl alcohol	1124	1110 ^b	nd	nd	0.7	nd	nd	nd	0.1*	0.1*	nd	0.2	0.3	0.4
10	Mekotol	1127	1112 ^b	0.3*	0.5*	0.1*	nd	nd	nd	<0.1	nd	nd	nd	nd	nd
11	2,3,3-trimethyl-bicyclo[2.1.1]-heptan-2-ol	1180	nd	nd	<0.1*	nd									
12	a,a,4-trimethyl-3-cyclohexene-1-methanol	1196	nd	0.1	<0.1*	0.1*	nd	nd	nd	nd	nd	<0.1	nd	nd	nd
13	2,6,6-trimethyl-bicyclo[3.1.1]-heptan-3-ol	1351	nd	nd	<0.1*	nd									
14	Hexadecanol	1879	1879 ^b	0.3	nd	0.2*	nd								
15	Phytol	1952	1949 ^b	nd	0.1	0.1*	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.4
Jumlah komponen/Jumlah ppm															
		6/6.5	10/2.7	12/6.0	8/10.3	8/17.7	6/15.9	8/9.3	5/7.8	6/10.2	7/13.0	6/6.0	6/8.3		
ALDEHID ALIFATIK															
16	3-methylbutanal	659 ^m	0.6	0.1	0.1*	1.0*	nd								
17	Hexanal	804	800 ^b	5.0	3.6	0.4	0.3	0.6	0.4	0.6	0.3	0.4	0.3	0.2	0.3
18	(E)-2-hexenal	843	854 ^b	1.1	nd	nd	0.3	0.1	nd	0.1*	nd	nd	0.1*	nd	nd
19	Heptanal	903	903 ^b	0.2	<0.1	<0.1	nd	nd	0.3*	0.1	0.1	0.1	0.1*	0.1*	0.1*
20	(E)-2-octenal	1061	1062 ^b	0.3	0.1	<0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
21	Nonanal	1107	1109 ^a	0.4	0.1	0.1	nd	nd	<0.1*	nd	nd	0.1	nd	nd	0.2
22	(E)-2-nonenal	1163	1160 ^c	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1*	0.1	0.1*	0.1	nd	nd	0.1*
23	Decanal	1208	1205 ^c	nd	<0.1	nd	0.3*								
24	(E,E)-2,4-nonadienal	1219	nd	0.4	nd										
25	(E)-2-decanal	1265	1261 ^b	0.2	nd										
26	(E,E)-2,4-decadienal	1297	1291 ^b	0.3	<0.1	nd	0.1	0.1	nd						
27	(E,E)-2,4-decadienal	1322	1316 ^c	2.1	0.3	0.2	nd								
28	Methyl azelaldehydate	1439	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.5*	nd	nd	nd	nd	nd	nd
29	5-methyl-2-phenyl-2-hexenal	1449	1435 ^m	nd	nd	0.1	0.1	nd	0.2*	nd	0.1	0.1	0.1	0.1*	nd
	Jumlah komponen/Jumlah ppm		11/11.9	9/4.5	9/1.2	5/1.6	8/1.2	5/1.4	6/0.9	5/0.8	4/0.6	4/0.5	4/1.1		

Tabel 1. (Lanjutan)

No	Komponen Volatil	LRI	LRf Ref	Kdimith	Kdilbs	Koji 0	Koji 1	Koji 2	Koji 3	Mar 0	Mar 5	Mar 10	Mar 20	Mar 30	Mar 60
FURAN															
30	2,5-furandione	828	830 ^b	nd	<0.1*	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
31	2-furanacetoxyaldehyde	830	830 ^b	0.2*	nd	0.1*	0.7	0.5	0.1	0.2	0.4	0.7	1.6	1.1	7.2
32	2-furannmethanol	866	863 ^d	nd	nd	<0.1*	nd	nd	nd	nd	0.1*	nd	0.5	0.8	2.3
33	2-pentyl-furan	993	992 ^b	0.8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
34	2,3-dihydro-benzofuran	1247	nd	nd	nd	0.8	0.5	<0.1	<0.1	0.2	0.1	0.3	0.4	0.2	0.2
	Jumlah komponen/Jumlah ppm		211.0	1/<0.1	1/0.1	211.5	311.0	20/1	20/2	30/7	20/8	2/2.1	3/2.3	3/9.7	
KETON ALIFATIK dan LAKTON															
35	2-heptanone	893	890 ^b	0.2	<0.1	<0.1*	nd	<0.1*	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
36	6-methyl-5-hepten-2-one	923	nd	nd	nd	nd	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
37	(E,E)-3,5-octadiene-2-one	1098	1098 ^d	<0.1*	<0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
38	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	1146	nd	nd	<0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
39	2-decanone	1195	1192 ^b	nd	nd	nd	nd	<0.1	0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
40	γ-nonalactone	1369	1360 ^b	0.3	<0.1	<0.1	nd	<0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
41	2,6-bis(1,1-dimethylethyl)2,5-cyclohexadiene-1,4-dione	1471	1462 ^b	nd	<0.1*	<0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
42	Megastigmatrienone	1635	0.2*	<0.1*	<0.1	nd	nd	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	nd	nd
43	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	1849	1849 ^e	nd	0.1	0.1	nd	<0.1	<0.1*	<0.1*	0.1*	0.1	0.1	0.2	0.2
	Jumlah komponen/Jumlah ppm		310.7	610.3	710.4	0/0	410.2	510.4	30/2	1/0.1	210.2	210.2	210.3	310.4	
HIDROKARBON															
44	(E,E)-2,6-octadiene	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
45	3-methylene-nonane	982	0.2*	0.1	0.1*	nd	0.6	0.8*	0.4	0.2	0.3*	0.2	0.1*	0.2*	0.2
46	Undecane	1101	1100 ^c	<0.1	<0.1	<0.1	0.2	0.1*	0.1	nd	nd	0.1	0.1	0.1	0.1
47	3,3-dimethyl-1,6-heptadiene	1158	nd	<0.1*	<0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
48	Dodecane	1201	1198 ^b	nd	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	<0.1*	nd	0.1	0.1	0.1	0.2
49	3,9-dimethyl-undecane	1336	0.3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
50	Tetradecane	1402	1399 ^b	0.3	nd	nd	0.1*	nd	nd	nd	<0.1	0.1	0.1	0.1	nd
51	Pentadecane	1503	1500 ^b	0.2	<0.1*	<0.1*	nd	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
52	Hexadecane	1602	1600 ^b	0.4	<0.1	<0.1	0.1	<0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
53	Heptadecane	1704	1700 ^b	0.3	0.1	0.1	0.1	<0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.4	0.5
54	Octadecane	1800	1800 ^c	0.2	0.1	0.1	0.7	0.1	<0.1	0.2	0.6	0.2	0.3	0.3	0.3
55	Branced-alkane	1812	0.1	<0.1	0.1	0.1*	0.1	<0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3
56	2-methyl-3-propyl-dodecane	1894	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.1	nd	nd	nd

Tabel 1 (Lanjutan)

No	Komponen Volatil	LRI	LRI Ref	Kofifith	Kofibis	Kojif/0	Kojif/1	Kojif/2	Kojif/3	Mor/0	Mor/5	Mor/10	Mor/20	Mor/30	Mor/60
57	Nonadecane	1902	1900 ^b	nd	<0.1	0.3	0.1	<0.1*	0.4	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3
58	eicosane	2003	2000 ^b	nd	<0.1	nd	nd	nd	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	8.3*
	Jumlah komponen/jumlah ppm			8/2.0	11/0.5	11/0.6	8/1.5	10/1.5	10/1.4	10/2.0	9/1.5	11/1.9	11/2.2	10/2.0	11/10.8
PIRAZIN															
59	Methyl-pyrazine	822	820 ^c	nd	nd	nd	0.1	0.3	<0.1*	nd	0.1*	0.2*	0.1*	nd	nd
60	2,6-dimethyl-pyrazine	917	912 ^c	0.1	<0.1	0.1	nd	<0.1*	0.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd
61	2,6-di(2-methylpropyl)-Pyrazine	1371	nd	nd	<0.1*	nd	<0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	Jumlah komponen/jumlah ppm			10.	1/0.1	2/0.1	0/0	3/0.2	3/0.9	2/0.1	1/0.1	2/0.2	2/0.3	2/0.2	1/0.1
TIAZOL															
62	2-acetylthiazole	1022	1020 ^c	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.1	<0.1	0.1	0.1	0.1	nd
	Jumlah komponen/jumlah ppm			0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0.1	1/0.1	1/0.1	1/0.1	1/0.1	1/0.1	0/0
TURUNAN BENZEN															
63	Toluene	774 ⁱ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
64	Benzaldehyde	963	961 ^b	0.3	0.2	0.1	0.2	0.2	<0.1*	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
65	Benzeneacetaldehyde	1046	1043 ^b	0.4	0.1	0.1	1.2	1.2	0.6	2.0	1.7	3.4	3.0	3.1	6.9
66	Naphthalene	1187	1188 ^c	5.2	0.2	0.4	0.1	0.1	0.1*	0.3	nd	<0.1*	nd	nd	nd
67	5(2-propenyl)-1,3-benzodioxole (safrole)	1281	1289 ^b	1.0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
68	3-acetyl anisole	1322	1348 ^b	nd	nd	nd	0.3	0.5	0.1	0.2	1.0	1.3	2.0	2.5	2.4
69	(1-butylhexyl)benzene	1541	nd	nd	<0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
70	Benzene derivative	1690	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.2*	nd
71	(1-butylcetyl)benzene	1739	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.1	nd
72	2-isopropenylbenzophenone	1947	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.1*	0.1*	0.1	0.5	0.5	nd
73	Benzene derivative	2141	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	nd
	Jumlah komponen/jumlah ppm			46.9	3/0.5	4/0.6	4/1.8	4/2.0	4/0.8	6/2.7	4/2.9	5/4.9	6/6.5	3/9.4	
ASAM LEMAK															
74	Nonanoic acid	1278	1280 ^b	nd	nd	nd	0.1	<0.1	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	<0.1
75	Dodecanoic acid (lauric acid)	1579	1568 ^b	0.3	0.1	0.1	nd	0.1*	0.1	0.1*	0.1	0.1	0.2	0.3	
76	Tetradecanoic acid (myristic acid)	1782	1770 ^c	0.7	0.1	0.1	6.0	0.6	0.2*	0.3	0.1*	0.4	0.4	0.8	1.5
77	Pentadecanoic acid	1875	0.5	<0.1	0.3	0.2	0.1*	0.1	0.2	0.1*	0.1	0.2	0.2	0.4	0.7
78	Hexadecanoic acid (palmitic acid)	1981	1961 ^c	28.0	2.8	2.9	9.8	6.6	5.9	8.9	14.4	13.6	16.1	20.0	35.2
79	Heptadecanoic acid	2083	nd	nd	0.1*	nd	nd	<0.1	nd	0.1	0.1	0.1	0.2	0.4	
80	Linoleic acid	2154	13.9	1.6	0.3	6.7	nd	5.7*	2.6	11.7	10.1	4.8*	20.8	24.8	

Tabel 1 (Lanjutan)

No	Komponen Volatili	LRI	LRI Ref	Kdlnth	Kdlnbs	Koji 0	Koji 1	Koji 2	Koji 3	Mor 0	Mor 5	Mor 10	Mor 20	Mor 30	Mor 60
81	Oleic acid	215g	2157*	nd	0.2	0.4*	nd	19.1	0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
82	Octadecanoic acid (steanic acid)	2191		0.4	<0.1	0.2	0.3	0.4	0.4	0.6	0.3	0.6	0.4	1.0	6.7
	Jumlah komponen/Jumlah ppm			6/43.8	7/4.9	7/4.0	8/27.4	6/26.9	7/12.5	7/26.9	7/25.1	7/22.1	7/43.4	8/69.6	
PIRIDIN															
83	2-ethyl-6-methyl-pyridine	1131		nd	nd	nd	0.1	<0.1	nd						
	Jumlah komponen/Jumlah ppm			0/0	0/0	0/0	1/0.1	1/0.1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
TERPENOID															
84	2-limonene	1031	1034*	nd	1.0	0.3	0.1	0.5	0.5	0.3	0.1	0.7	0.6	0.2*	nd
85	Terpinalene	1090	1088*	nd	0.1	nd	nd	nd							
86	(Z)-neral	1246	1240*	0.7	nd										
87	(E)-geraniol	1277	1270*	0.9	nd										
88	Coprene	1378	1376*	0.5	nd										
89	(E, β)-damascenone	1384	1380*	0.6	nd	nd	<0.1	nd							
90	β -elemene	1395	1391*	nd	0.2										
91	α -gerujunene	1412	1409*	0.1*	nd										
92	caryophyllene	1424	1418*	2.7	nd	<0.1	<0.1*	<0.1	nd	nd	nd	<0.1	nd	0.1	0.1
93	(E)-geranyl acetone	1457	1453*	nd	<0.1*	nd	nd	<0.1	nd	nd	nd	nd	0.1	0.1	0.1
94	α -Humulene	1461	1454*	0.9	nd										
95	δ -cadinene	1531	1524*	0.3	nd										
96	(E)-nerolidol	1568	1564*	nd	<0.1*	nd	<0.1	nd	nd	nd	nd	<0.1	nd	nd	nd
97	Limonene diepoxide	1591		0.2	nd										
98	α -cedrol	1650	1653*	0.7	nd	nd	0.1	nd	<0.1*	0.1	nd	0.1	0.1	0.2	
99	β -bisabolol	1666	1671*	nd	<0.1	0.1	0.1	0.3							
100	(E,E)-farnesol	1720	1722*	0.4	nd										
101	(E)-farnesyl acetone	1924		nd	nd	<0.1*	nd								
	Jumlah komponen/Jumlah ppm			11/8.0	3/1.1	3/0.4	4/0.3	4/0.7	2/0.5	2/0.3	2/0.2	5/1.0	5/0.9	4/0.5	5/0.9
KOMPONEN BERSULFUR															
102	3-(methylthio)propanal	910	909*	nd	nd	0.3	0.2	nd	0.6	0.5	0.3	0.3	0.4	0.4	0.9
103	Dimethyl tetrasulfide	1213		nd	nd	<0.1	0.1*	<0.1	nd						
	Jumlah komponen/Jumlah ppm			0/0	0/0	0/0	1/0.3	2/0.2	1/0.1	2/0.6	1/0.5	1/0.3	1/0.3	1/0.4	1/0.9

Tabel 1 (lanjutan)

No	Komponen/Volatile	LRI	LRI Ref	Kdlnth	Kdlrbs	Koji 0	Koji 1	Koji 2	Koji 3	Mor 0	Mor 5	Mor 10	Mor 20	Mor 30	Mor 60
ESTER															
104	3-methyl-2-pentanoic acid methyl ester	1221		nd	nd	0.1	nd	nd	nd	0.1*	nd	nd	nd	nd	0.1#
105	menthyl acetate	1297	1294 ^b	nd	0.1*	nd	0.1	nd	nd						
106	Methyl dodecanoate	1527	1525 ^b	nd	nd	nd	nd	0.4*	5.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
107	Methyl tetradecanoate	1728	1726 ^b	nd	nd	0.1	nd	nd	nd	0.3*	nd	nd	nd	nd	nd
108	Methyl hexadecanoate (methyl-palmitate)	1932	1927 ^c	0.7	1.4	0.5	0.5	0.2	1.2	0.8*	nd	0.1*	0.3	0.5	0.8
109	Ethyl pentadecanoate	2001	1991 ^e	nd	nd	11.3*									
110	Methyl heptadecanoate	2032		nd	<0.1*	nd	nd	nd							
111	Ester	2038		nd	0.1	0.1	0.2*	0.1	0.1*	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
112	Methyl linoleate	2098	2092 ^f	1.9	nd	0.2	nd	0.2	0.4	9.8*	nd	nd	0.7	nd	nd
113	Methyl oleate	2106	0.6	nd	0.4	1.1*	2.3	1.6*	nd	nd	nd	nd	0.2	nd	nd
114	Methyl eicosadecanoate	2109	2118 ^b	nd	1.5	nd	1.3	2.5	nd	3.4	2.0	0.4	8.4	1.3	1.5
115	Methyl octadecanoate (methyl-steарат)	2135	2128 ^b	nd	0.3	nd	0.1*	nd	0.3*	0.1*	0.1*	nd	nd	0.1*	nd
116	Methyl linolenate	2170		nd	0.9	0.1*	nd	1.8	1.0	nd	nd	nd	nd	nd	nd
117	Ethy octadecanoate	>2200		nd	nd	nd	0.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Jumlah komponen/jumlah ppm			3/3.2	4/3.3	7/2.2	7/3.4	6/5.4	8/6.1	7/20.1	4/2.3	4/0.7	5/9.7	6/14.1	4/2.5	
Total Komponen/ ppm		55/84.1	54/17.8	62/15.6	48/48.2	57/57.3	57/27.0	55/49.5	46/44.4	51/46.1	53/57.1	52/78.9	51/13.7		

Keterangan :

nd : not detected

kdlnth : kedelai mentah

kdlrbs : kedelai rabus

Koji 0,1,2,3 : koji fermentasi 0, 1, 2, 3 hari

Mor 0, 5, 10, 20, 30, 60 : moromi fermentasi 0, 5, 10, 20, 30, 60 hari

Komponen ini hanya muncul pada ulangan 1 (#), ulangan 2 (*)

** ppm : jumlah komponen volatil per bahan kering tanpa abu

a. Shimoda et al., (1993), kolom DB5

b. Adams (1985), kolom DB5

c. Madringa dan Mottram (1985), kolom DB5

d. Triqui dan Reineccius (1985), kolom DB5

e. Gomez et al., (1993), kolom DB5

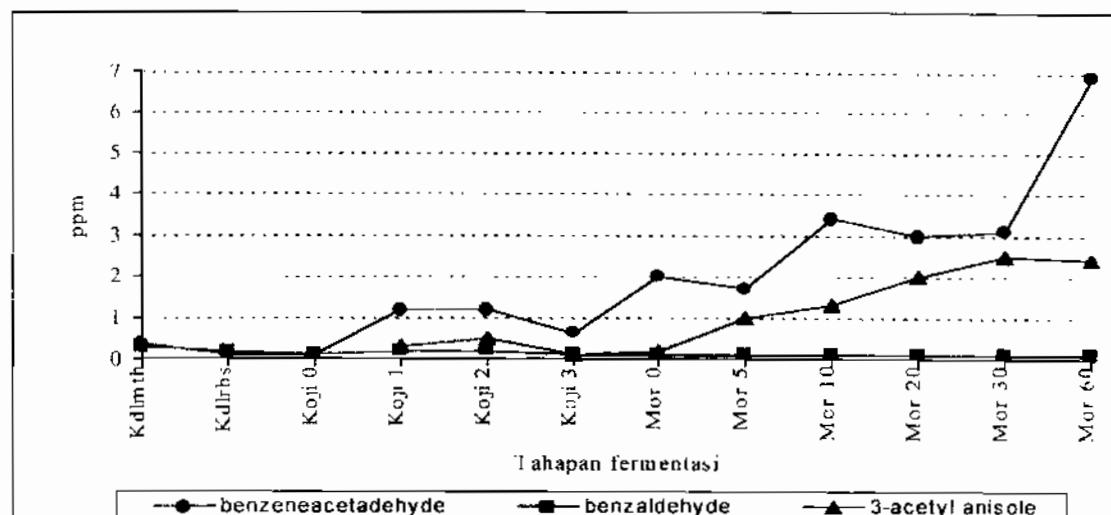
f. Lee et al., (1991), kolom DB5

g. Ramarathnam et al., (1983), kolom DB5

h. Leseigneur dan Héinen (1980), kolom DB5

i. King et al., (1983), kolom DB5

j. Beal dan Mottram (1994), kolom DB5



Gambar 3. Perubahan senyawa alkohol selama fermentasi

Keton dan lakton

Senyawa keton dan lakton yang teridentifikasi pada penelitian ini ada 9 komponen, yang terdiri dari keton alifatik dan lakton. Senyawa keton yang relatif tetap proporsinya selama fermentasi seperti komponen *2-heptanone* diduga berasal dari degradasi lipid, senyawa *megastigmatrienone* dan γ -*nonalctone* kemungkinan berasal dari bahan asal (kedelai).

Beberapa senyawa keton tidak terdeteksi lagi pada akhir fermentasi, seperti komponen *2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione* dan *2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-2,5-cyclohexadien-1,4-dione*. Kemungkinan senyawa keton ini bereaksi dengan senyawa lain membentuk senyawa nonvolatil karena gugus keton cukup reaktif.

Hidrokarbon

Komponen volatil yang termasuk dalam kelas hidrokarbon yang teridentifikasi pada penelitian ini ada 15 komponen hidrokarbon alifatik. Senyawa hidrokarbon yang diduga berasal dan kedelai adalah *3-methylene nonane*, *3,9-dimethyl undecane*, *pentadecane*, *hexadecane*, *heptadecane*, *octadecane* dan *brached alkane*, sedangkan hidrokarbon yang diduga berasal dari degradasi lipid adalah *(E,E)-2,6-octadiene*, *undecane*, *nonadecane* dan *eicosane*. Senyawa hidrokarbon relatif tetap selama fermentasi, kecuali *heptadecane* dan *octadecane* yang meningkat jumlahnya selama fermentasi.

Turunan benzen

Pada penelitian ini teridentifikasi adanya 11 senyawa turunan benzen. Senyawa *benzaldehyde*, *benzeneacetaldehyde*, *naphthalene*, *safrole*, diduga berasal dari kedelai mentah, yang tetap ada pada saat fermentasi kapang maupun fermentasi garam, sedangkan senyawa yang lain diduga berasal dari aktivitas mikroba selama fermentasi. Senyawa *benzeneacetaldehyde* dan *3-acetyl anisole* meningkat

proporsinya selama fermentasi, dimana kemungkinan senyawa ini terbentuk oleh aktivitas mikroba (Berger et al., 1992) selain berasal dan bahan asal (Gambar 4).

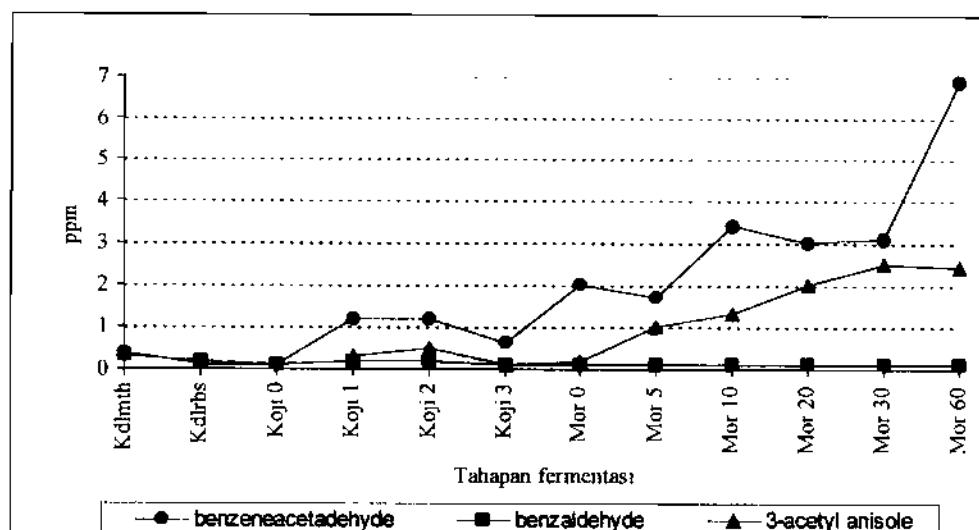
Pirazin

Pirazin merupakan salah satu komponen penting pembentuk flavor pada makanan, terutama makanan yang diolah dengan suhu tinggi seperti kopi, cerealia, coklat dan daging (Ho et al., 1989).

Pada penelitian ini ditemukan adanya 3 senyawa pirazin yaitu *methyl pyrazine*, *2,6-dimethyl pyrazine* dan *2,6-bis(2-methylpropyl)pyrazine*. Jumlah komponen pirazin yang teridentifikasi pada penelitian ini lebih sedikit dibanding komponen pirazin yang dilaporkan oleh Yokotsuka (1986) yaitu sebanyak 27 komponen, dimana hanya komponen *2,6-dimethyl pyrazine* yang teridentifikasi pada penelitian ini dari semua komponen pirazin yang teridentifikasi pada kecap Jepang. Kemungkinan senyawa pirazin lain pada kecap Jepang terbentuk saat pemasakan akibat adanya panas. Telah diketahui pirazin merupakan hasil reaksi Maillard yang terbentuk terutama melalui jalur degradasi Strecker yang melibatkan asam alfa-amino dan senyawa dikarbonil (hasil degradasi gula).

Tiazol

Senyawa tiazol yang ditemukan pada penelitian ini adalah *2-acetylthiazole*. Senyawa ini hanya ditemui pada koji 3 hari sampai moromi 30 hari dengan jumlah yang relatif sama dan tidak ditemui pada kedelai mentah atau kedelai rebus. Senyawa tiazol ini kemungkinan berasal dari reaksi degradasi Strecker yang melibatkan asam amino sistein atau interaksi antara senyawa sulfur dengan karbonil. Senyawa ini juga kemungkinan terbentuk dari degradasi tiamin dan glutation (Baltes, 1990).



Gambar 4. Perubahan senyawa turunan benzen selama fermentasi

Furan

Senyawa furan yang teridentifikasi pada penelitian ini lebih sedikit dibanding senyawa furan yang teridentifikasi pada kecap Jepang, dimana ditemukan adanya 16 senyawa furan (Yokotsuka, 1986). Hanya senyawa 2-furanmethanol yang teridentifikasi pada penelitian ini dari semua komponen furan yang teridentifikasi pada kecap Jepang.

Senyawa furan yang diduga berasal dari kedelai adalah 2-furancarboxaldehyde dan 2-pentylfuran, dimana jumlah 2-furancarboxaldehyde dan 2-furanmethanol meningkat selama fermentasi moromi akibat adanya tambahan yang diduga berasal dari hasil reaksi Maillard, sedangkan senyawa 2,3-dihydrobenzfuran baru terdeteksi pada koji 1 hari dan karena jumlahnya sangat kecil, maka perubahannya selama fermentasi tidak berarti (Gambar 5). Senyawa 2,5-furandione hanya dijumpai pada kedelai rebus, yang kemungkinan muncul akibat perlakuan pemanasan.

Asam

Asam yang teridentifikasi pada penelitian ini adalah 9 jenis asam lemak. Asam organik tidak teridentifikasi pada penelitian ini, yang menunjukkan bahwa selama fermentasi tidak terbentuk senyawa asam organik yang volatil.

Asam laurat, miristat, palmitat, linoleat, pentadecanoat dan stearat yang teridentifikasi pada hampir semua tahapan fermentasi (Gambar 6) diduga berasal dari kedelai dan mengalami peningkatan jumlah akibat terjadinya hidrolisis lipid selama fermentasi.

Ester

Senyawa ester yang teridentifikasi ada 14 komponen. Senyawa metil palmitat dan metil oleat ditemukan pada hampir semua tahapan fermentasi, yang

diduga berasal dari kedelai, sedangkan metil eikosadecanoat terbentuk setelah pemanasan. Senyawa-senyawa ester ini mengalami perubahan selama fermentasi, seperti terlihat pada Gambar 7. Perubahan yang terjadi berupa penurunan dan peningkatan konsentrasi komponen yang diduga akibat adanya metabolisme mikroba.

Piridin

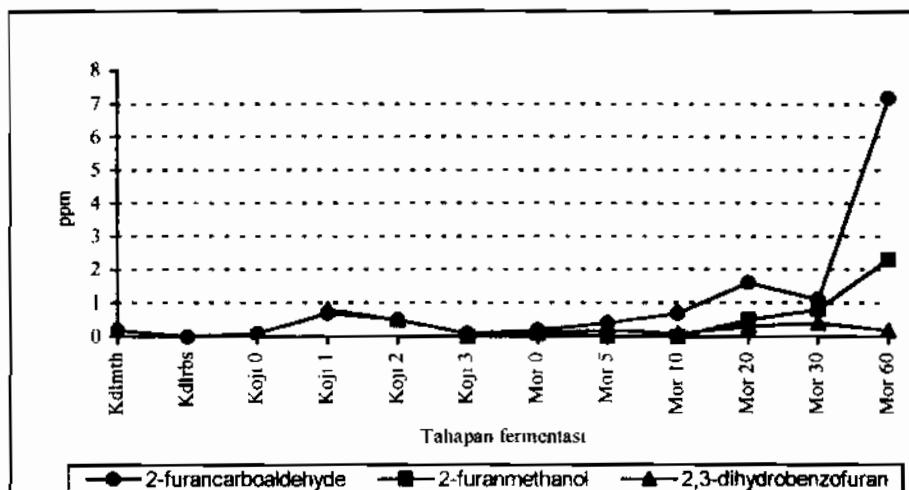
Senyawa piridin yang teridentifikasi pada penelitian ini adalah 2-ethyl-6-methyl pyridine, yang dijumpai hanya pada koji 1 dan 2 hari. Senyawa ini kemungkinan terbentuk dari aldehid (atau komponen dikarbonil) yang bereaksi dengan amonia atau α -asam amino (Vernin dan Parkanyi, 1982) pada waktu pemanasan pada tahap ekstraksi senyawa volatil.

Komponen bersulfur

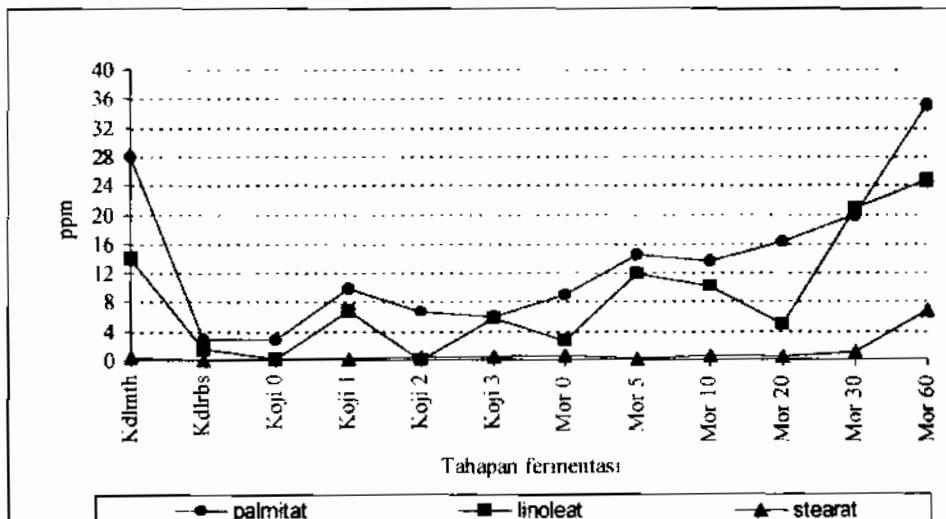
Senyawa bersulfur yang teridentifikasi adalah 3-(methylthio) propanal dan dimethyl tetrasulfide. Senyawa ini merupakan komponen flavor yang penting pada shoyu (Yokotsuka, 1986). Senyawa ini tidak hanya terbentuk selama fermentasi, tetapi dapat juga oleh pemanasan komponen yang mengandung sulfur selama proses distilasi (Yokotsuka, 1986). Senyawa bersulfur ini diduga terbentuk akibat metabolisme mikroba.

Terpenoid

Senyawa terpenoid yang teridentifikasi ada 18 komponen. Senyawa limonene-diepoxide, α -gurjunene, δ -cadinene, (Z)-neral, (E)-geranal, copaene, α -humulene dan (E,E)-famesol hanya ditemui pada kedelai mentah. Senyawa ini diduga menguap setelah pemanasan pada saat perebusan kedelai, karena sudah tidak terdeteksi lagi pada kedelai rebus.



Gambar 5. Perubahan senyawa furan selama fermentasi



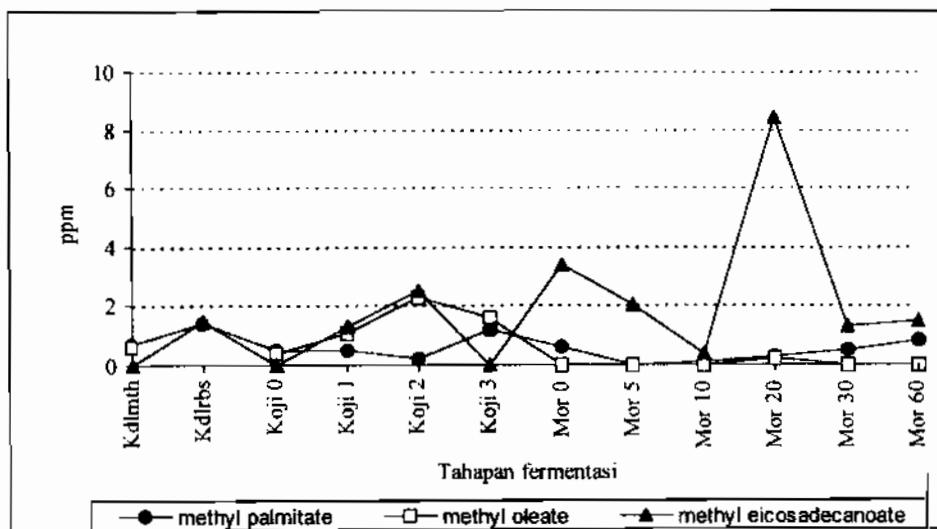
Gambar 6. Perubahan asam lemak selama fermentasi

Senyawa terpenoid yang lain diduga terbentuk selama fermentasi akibat metabolisme kapang, diantaranya *terpinolene*, *D-limonene* dan (*E*)-geranyl acetone. Pada umumnya senyawa terpenoid menurun jumlahnya selama fermentasi (*moromi*) atau tidak terdeteksi.

Pada penelitian ini tidak teridentifikasi adanya senyawa pirol, seperti pada kecap Jepang, sedangkan pada penelitian Husain (1996) teridentifikasi adanya senyawa 1-(1H-pirol)etanon, 1-(H-pirol)-1-metil-2-karboksaldehid dan 1H-pirol-2-karboksadehid pada kecap manis yang dibuat dari *moromi* 0-4 bulan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa senyawa pirol pada kecap manis diduga berasal dari hasil reaksi gula yang ditambahkan pada saat pemasakan dengan asam amino yang ada pada *moromi* karena secara umum pirol pada

bahan pangan umumnya dihasilkan melalui jalur reaksi Maillard.

Selain itu juga tidak teridentifikasi adanya senyawa fenol yang merupakan karakteristik penting pada kecap Jepang. Senyawa 4-*etilguaikol* (4-*etil-2-metoksifenol*) merupakan komponen flavor yang penting pada kecap Jepang yang dihasilkan oleh *Candida torulopsis* selama fermentasi koji menjadi *moromi* (Nunomura dan Sasaki, 1992). Pada kecap manis, komponen fenol juga tidak banyak teridentifikasi, seperti pada penelitian Lie (1996) hanya terdeteksi 9 komponen dan Husain (1996) hanya 1 komponen. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh bahan asalnya yang tidak mengandung fenol volatil seperti terlihat pada komposisi komponen volatil kedelai mentah. Disamping itu, tentu saja karena metabolisme mikroba selama fermentasi garam juga tidak menghasilkan senyawa fenol volatil.



Gambar 7. Perubahan ester selama fermentasi

KESIMPULAN

Komponen volatil yang teridentifikasi pada kedelai dan selama proses fermentasi kecap terdiri dari 15 hidrokarbon, 15 alkohol alifatik dan aromatik, 14 aldehit alifatik, 14 ester, 9 keton alifatik dan lakton, 12 turunan benzen, 9 asam lemak, 5 senyawa furan, 18 terpenoid, 3 pirazin, 1 tiazol, 1 piridin dan 2 komponen bersulfir.

Komponen volatil yang terdeteksi pada hampir semua tahapan fermentasi dengan proporsi yang relatif tetap antara lain adalah *hexanal*, *heptanal*, yang diduga berasal dari bahan asal (kedelai).

Komponen yang mengalami peningkatan proporsi selama fermentasi atau ditemui pada akhir fermentasi diantaranya yaitu *phenylethylalcohol*, *heptadecane* dan *octadecane*, kemungkinan berasal dari hasil degradasi lipid atau aktivitas mikroba selama fermentasi.

Senyawa yang diperkirakan berubah menjadi komponen lain (bereaksi lebih lanjut) selama fermentasi adalah *2,4-decadienal* karena jumlahnya menurun selama fermentasi.

Sebagian dari komponen volatil yang teridentifikasi pada penelitian ini juga ditemui pada penelitian kecap manis yang telah dilakukan oleh Lie (1996) dan Husain (1996) yang menunjukkan adanya kontribusi komponen volatil dari bahan asal ataupun dari fermentasi terhadap komposisi komponen volatil kecap manis.

Pada kecap Jepang, senyawa fenol merupakan senyawa penting dalam pembentukan flavor kecap, akan tetapi senyawa fenol ini tidak teridentifikasi pada penelitian ini.

Masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan peranan dari moromi dan komponen volati-

yang terdapat pada moromi dalam pembentukan flavor kecap. Informasi ini kemudian digabungkan dengan informasi perubahan komponen volatil selama fermentasi kecap seperti hasil penelitian ini kemudian dapat digunakan untuk menentukan proses fermentasi yang optimal, yaitu yang dapat menghasilkan kecap dengan flavor yang disukai, khususnya dari segi waktu fermentasi yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.P. 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publ. Corporation.
- Baltes, W. 1990. Roast aroma formation: the role of amino acids during the Maillard reaction. Di dalam Finot, P.A., Aeschbacher, H.U., Hurrell, R.F. dan Liardon, R. (eds.). The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology, p 43-62. Birkhauser, Verlag, Berlin.
- Beal, A.D., Mottram, D.S. 1994. Compounds contributing to the characteristic of malted barley. J.Agric. Food Chem., 42:2880-2884.
- Berger, R.G., Drawert, F., Tiefel, P. 1992. Naturally-occurring flavours from fungi, yeast and bacteria. Di dalam Patterson, R.L.S., Charlwood, B.V., Macleod, G. and Williams, A.A. (eds.). Bioformation of Flavours. The Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, Science Park, Cambridge.

- Gomez, E., Ledbetter, G.A., Hartsell, P.A. 1993. Volatile compounds in apricot, plum and their interspecific hybrids. *J. Agric. Food Chem.*, 39 : 1669-1676.
- Ho, C-T., Corlin, J.T. 1989. Formation of aroma characteristic of heterocyclic compounds in foods *Di dalam* Teranishi, R., Buttery, R.G., Shahidi, F. (eds.). *Flavor Chemistry: Trends and Developments*, p. 92-104. Am. Chem. Soc., Washington D.C.
- Husain, H. 1996. Mempelajari Pengaruh Lama Proses *Moromi* terhadap Pembentukan Prekursor Flavor dan Flavor Kecap Manis. Tesis S2 IPB. Bogor.
- Judoarmidjojo, R.M. 1987. The Studies on Kecap-Indigenous Seasoning of Indonesia. Tesis Doktor pada Tokyo University of Agriculture, Japan.
- King, M.F., Hamilton, B.L., Matthews, M.A., Rule, D.C., Field, R.A.. 1993. Isolation and identification of volatiles and condensable material in raw beef with supercritical carbon dioxide extraction. *J. Agric. Food Chem.*, 41:1974.
- Lee, R.S., Macku, C., Shibamoto, T. 1991. Isolation and identification of headspace volatiles formed in heated butter. *J. Agric. Food Chem.*, 39:1972-1975.
- Lie. 1996. Mempelajari Hubungan Antara Kesukaan Konsumen, Deskripsi Sensori dan Komposisi Komponen Volatil Kecap Manis. Skripsi Sarjana Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Bogor
- Madruga, M.S., Mottram, M.S. 1995. The effects of pH on the formation of Maillard-derived volatiles using a cooked meat system. *J. Sci. Food Agric.*, 68: 305-310.
- Nunomura, N., Sasaki, M. 1986. Soy sauce. *Di dalam* Reddy, N.R., Pierson, M.D., Salunkhe, D.K. (eds.) *Legume-based Fermented Foods*. CRC Press, Inc Boca Raton, Florida.
- Ramarathnam, N., Rubin, I.J., Diosady, L.L. 1993. Studies on meat flavor: fractionation, characterization and quantitation of volatile from uncured and cured beef and chicken. *J. Agric. Food Chem.*, 41:939-945.
- Roling, W.F.M. 1995. Traditional Indonesian Soy Sauce (Kecap) Production: Microbiology of the Brine Fermentation. Tesis Doktor. Free University of Amsterdam.
- Shimoda., M., Shibamoto, T., Noble, A.C. 1993. Evaluation of headspace volatiles of sauvignon wines by an on-column method. *J. Agric. Food Chem.*, 41:1664-1668.
- Triqui, R., Reineccius, G.A. 1995. Changes in flavor profiles with ripening of anchovy (*Engraulis encrasicholus*). *J. Agric. Food Chem.*, 43: 1883-1889.
- Vernin, G., Parkanyi, C. 1982. Mechanism of formation of heterocyclic compounds in Maillard reactions. *Di dalam* Vernin, G. (ed.) *The Chemistry of Heterocyclic Flavouring and Aroma Compounds*. Ellis Horwood, Chichester.
- Yokotsuka, T. 1986. Soy sauce biochemistry. *Didalam* Chichester, C.O. Mark, E.M. and Stewart, G.F (ed.) *Advances in Food Research* Vol. 30, 238 - 329.