JUKNAL BETA (BIUSISTEM DAN TEKNIK PEKTANIAN)

Program Studi Teknik Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana

https://ojs.unud.ac.id/index.php/beta

Volume 8, Nomor 1, April 2020

Karakteristik Asap Cair Batang Bambu Tabah (*Gigantochloa nigrociliata* BUSE-KURZ) Hasil Destilasi pada Suhu yang Berbeda

Characteristics of Liquid Smoke of Tabah Bamboo Stem (Gigantochloa nigrociliata BUSE-KURZ) on Distillation Results at Different Temperatures

Kadek Rahayu Swandewi, Pande Ketut Diah Kencana, Ni Luh Yulianti

Program Studi Teknik Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Badung, Bali, Indonesia *email: diahkencana@gmail.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini ialah agar mengetahui densitas, rendemen, serta senyawa kandungan kimia (pH, total asam, total fenol) yang terdapat didalam destilat asap cair hasil pirolisis batang bambu tabah pada suhu 125°C dan 150°C. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal yaitu menggunakan suhu (suhu 125°C dan 150°C). Analisis sidik ragam menunjukkan jika perbedaan suhu antara 125°C dan 150°C berpengaruh nyata terhadap hasil analisis destilasi asap cair pirolisis bambu tabah. Adapun hasilnya ialah densitas tertinggi 35,8575 g pada suhu 125°C dan terendah 31,629 g pada suhu 150°C, pH tertinggi 3,20 pada suhu 125°C dan terendah 3,14 pada suhu 150°C, total asam tertinggi 10,94% pada suhu 150°C dan terendah 7,70% pada suhu 125°C, total fenol tertinggi 0,65% ada suhu 150°C dan terendah 0,61% pada suhu 125°C. Analisis beda nyata terkecil menunjukkan perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh nyata terhadap pH, total asam, dan total fenol. Hasil menunjukkan adanya perbedaan karakteristik asap cair sebelum dan sesudah distilasi.

Kata kunci: asap cair, bambu tabah, destilasi

Abstract

The purpose of this study were to determine the density, yield, and chemical compounds (pH, total acid, and total phenol) contained in liquid smoke distillates as a pyrolysis result of tabah bamboo stems at temperatures of 125°C and 150°C. Furthermore, this study used a Completely Randomized Design (CRD) with a single factor that is using temperature (125°C and 150°C). Analysis of variance showed that the difference between 125°C and 150°C temperatures had a significant effect on the analysis result of tabah bamboo pyrolysis liquid smoke distillation. The results were the highest density of 35.8575g at 125°C and the lowest was 31.629g at 150°C, the highest pH was 3.20 at 125°C and the lowest was 3.14 at 150°C, the highest total acid was 10.94% at 150°C and the lowest 7.70% at 125°C, the highest total phenol was 0.65% at temperature of 150°C and the lowest was 0.61% at 125°C. The smallest real difference analysis showed that temperature of 125°C and 150°C significantly affected pH, total acid, and total phenol. The results showed differences in the characteristics of liquid smoke before and after distillation.

Keywords: distillation, liquid smoke, tabah bamboo

PENDAHULUAN

Asap cair (liquid smoke) merupakan bahan yang lebih aman digunakan untuk pengawetan bahan makanan daripada menggunakan asap secara langsung, karena zat-zat berbahaya yang ada di dalam asap, seperti tar dan komponen yang bersifat karsinogenik lainnya sudah banyak berkurang dan bahkan dapat dihilangkan. Sebelum menjadi asap cair, awalnya asap merupakan partikel padat lalu didinginkan dan kemudian menjadi cair. Asap cair digunakan sebagai pengolahan bahan makanan praktis karena mudah lebih dan dalam pengaplikasiannya tanpa mengurangi daya awet dan aroma dari produk yang akan diolah. Selain itu, penggunaan asap cair dapat mengurangi polusi udara

dan meningkatkan efisiensi pemakaian bahan bantu dalam pengolahan produk yang akan diolah itu sendiri. Penggunaan asap cair lebih baik dan menguntungkan dari pada metode pengasapan secara langsung, karena warna dan citarasa produk bisa dikendalikan, sifat karsinogenik lebih kecil, serta proses yang dapat dilakukan dengan cepat. Senyawa utama yang berperan sebagai antimikroba ialah senyawa fenol dan asam asetat, peranannya akan bekerja dengan baik apabila kedua senyawa tersebut ada secara bersamaan. Dalam produk pangan, aroma dan rasa khas produk pengasapan juga disebabkan karena adanya senyawa fenol dan karbonil.

Menurut Simon et al., (2005) menyatakan jika asap cair mempunyai beberapa kelebihan yaitu: mudah diterapkan atau praktis penggunaannya, flavour

produk lebih seragam, dan bisa digunakan secara berulang-ulang, lebih efisien dalam penggunaan bahan pengasap, bisa di aplikasikan pada berbagai jenis bahan pangan, meminimalisir polusi lingkungan dan mengurangi terbentuknya senyawa karsinogen. Penggunaan asap cair utamanya dikaitkan dengan sifat fungsionalnya, diantaranya ialah sebagai anti bakteri, antioksidan, anti jamur, dan potensinya pembentukan coklat pada produk celupan. Salah satu cara untuk mendapatkan sifat organoleptik yang diinginkan ialah dengan perlakuan destilasi, sehingga diharapkan metode destilasi bisa menghasilkan asap cair yang lebih bermutu sebagai bahan pengawet yang aman dan murah bagi kesehatan konsumen. Dalam pembuatan asap cair diperlukan proses pemurnian yaitu berupa destilasi untuk memisahkan senyawa PAH (Polisiklik Aromatik Hidrokarbon) yang berbahaya bagi kesehatan (Darmadji, 2001). Menurut Utomo et al., (2009) asap cair dikatakan aman untuk kesehatan karena tidak mengandung senyawa PAH. Salah satu jenis bambu yang dapat digunakan sebagai bahan pembuat asap cair adalah bambu tabah (Gigantochloa nigrociliata BUSE-KURZ) yang banyak tumbuh di daerah Pupuan, Kabupaten Tabanan, Provinsi Bali (Kencana et al., 2012). Banyak yang tidak mengetahui jika bambu tabah merupakan bambu asli Bali. Bambu jenis ini pun memiliki nilai gizi dan ekonomi yang tinggi. Tanaman bambu tabah merupakan tanaman yang mempunyai potensi besar untuk dikembangkan. Bambu bisa dipanen ketika berumur diatas 2 tahun lebih singkat dibandingkan dengan batang kayu lainnya. Bambu tabah ialah hasil hutan non kayu yang diduga baik untuk dijadikan bahan baku asap cair. Hal ini didasari kepada kandungan serat kasar bambu pada umumnya yang mengandung hemiselulosa dan selulosa lebih dari 65%. Pemanfaatan bambu tabah selama ini hanya diambil rebungnya untuk dikomersilkan serta dikonsumsi sehari-hari (Kencana et al., 2012). Selama ini belum banvak penelitian yang dilakukan penggunaan jenis bambu tabah sebagai bahan baku penghasil asap cair. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan beberapa variasi bahan pada pembuatan asap cair.

Tujuan

Untuk mengetahui densitas, rendemen dan kandungan senyawa kimia (pH, total asam, fenol) yang dihasilkan dari proses destilasi batang bambu tabah pada suhu 125°C dan 150°C. Serta untuk mengetahui pada suhu berapakah yang menghasilkan destilasi yang lebih baik.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ergonomika dan Perancangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Laboratorium Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, dan Laboratorium Analitik Universitas Udayana mulai bulan Juni 2018 sampai Agustus 2018.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asap cair hasil pirolisis bambu tabah. Alat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan satu unit alat destilasi asap cair yang terdiri dari labu destilasi, kondesor, kompor listrik sebagai bahan bakar pemanas destilator, termokontrol digital tipe REX-C100, gelas ukur, selang, pompa air, kertas aluminium foil, corong, botol plastik, dan kertas saring.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan percobaan terdiri dari perlakuan suhu 125°C dan 150°C, setiap percobaan diulang sebanyak 5 kali ulangan, didapatkan 10 satuan percobaan. Data hasil dianalisis penelitian dengan analisis (Analysis of Variance. ANOVA). Jika pada analisis menggunakan ANOVA terjadi pengaruh terhadap variabel yang diamati, maka selanjutnya akan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Tujuan dilakukannya uji BNT adalah untuk mengetahui adanya perbedaan atau tidak dari pemberian perlakuan yang dilakukan serta mengetahui perlakuan mana yang mendapat hasil perlakuan terbaik.

Prosedur Penelitian Persiapan Bahan

Hal pertama yang harus disiapkan adalah seperangkat alat yang digunakan untuk mendestilasi berupa labu destilasi, kondensor, kompor listrik, termokontrol digital tipe REX-C100, gelas ukur, selang, pompa air, minyak goreng, corong, botol plastik, dan kertas saring. Lalu yang kedua mempersiapkan bahan baku asap cair yang diperoleh dari hasil pirolisis grade 3 bambu tabah dengan suhu 200°C sebanyak 400 ml. Ketiga, hal yang dilakukan ialah menghidupkan kompor dan pompa air, lalu menuangkan minyak ke dalam panci, kemudian set termokontrol digital ke suhu yang dituju dengan suhu pertama 125°C dan yang kedua 150°C, lalu masukkan termokopel ke dalam panci berisi minyak dengan mempertimbangkan letak pemasangannya agar tepat dalam mengukur suhu di dalam panci berisi minyak dan tidak menggangu fungsi dari kompor listrik dalam bekerja, kemudian tunggu agar minyak mencapai suhu yang diinginkan. Selama menunggu suhu minyak tercapai, tuangkan bahan baku asap cair ke dalam labu destilasi. Setelah suhu minyak yang diinginkan tercapai (125°C dan 150°C), masukkan labu destilasi yang telah diisi asap cair ke dalam panci berisi minyak. Tutup bagian atas labu destilasi dan bagian atas panci, kemudian sesuaikan labu agar terhubung ke alat kondensor dan tutup bagian akhir alat kondesor yang terhubung ke gelas ukur sebagai wadah untuk destilat dengan kertas *aluminium foil*.

Proses Destilasi

Pemurnian asap cair dilakukan dengan cara destilasi. Destilasi bertujuan untuk memisahkan kandungan senyawa berbahaya yang terdapat di dalam asap cair grade 3. Destilasi dilakukan bertahap dengan memasukkan 400 ml asap cair dari hasil pirolisis bambu tabah grade 3 ke dalam labu destilasi dan dipanaskan menggunakan kompor listrik pada suhu 125°C dan 150°C, kemudian uap yang dihasilkan akan melewati kondensor, setelah melewati kondensor uap akan berubah menjadi cair dan ditampung ke dalam wadah destilat.

Parameter yang Diamati

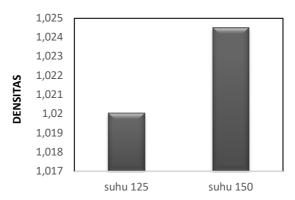
Parameter yang diamati yaitu jumlah rendemen, densitas, pH asap cair, total asam, dan total fenol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Densitas

Densitas (massa jenis) merupakan pengukuran massa pada setiap satuan volume benda. Semakin besar massa setiap volume, itu berarti jenis suatu bendanya semakin tinggi. Rata-rata massa jenis setiap benda merupakan total massa dibagi dengan dengan total volumenya.

Dari hasil destilasi asap cair bambu tabah pada suhu 125°C dan 150°C menghasilkan densitas bekisar antara 1,02004-1,0245 g/ml. Nilai densitas asap cair yang diperoleh lebih besar dari penelitian yg dilakukan Siamto (2013) dengan bahan baku kernel kelapa sawit sebesar 0,999 dan penelitian yang dilakukan oleh Arifin (2007) dengan bahan baku cangkang kelapa sawit dan tandan kosong dengan nilai densitas 1,005. Hasil penelitian ini sudah memenuhi standar mutu dari asap cair spesifikasi Jepang dengan berat jenis > 1,005 (Yatagai, 2002). Densitas asap cair hasil destilasi batang bambu tabah pada suhu 125°C memiliki nilai lebih kecil yaitu 1,02004 g/ml dibandingkan dengan suhu 150°C yang memiliki nilai 1,0245 g/ml.



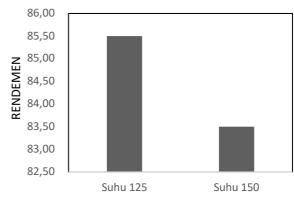
Gambar 1. Grafik nilai densitas asap cair hasil destilasi batang bambu tabah pada suhu yang berbeda.

Rendemen

Rendemen ialah salah satu parameter yang sangat penting dalam mengetahui hasil dari suatu proses. Rendemen merupakan pembanding antara kuantitas asap cair yang dihasilkan dengan bahan baku. Tujuan ditentukannya rendemen hasil destilasi ialah untuk mengetahui jumlah produk yang dihasilkan dari proses destilasi. Selain suhu destilasi, waktu destilasi juga mempengaruhi rendemen asap cair.

Dari hasil destilasi asap cair pada suhu 125°C-150°C menghasilkan rendemen berkisar antara 77,50 ml/%-87,50 ml/%. Rendemen asap cair hasil destilasi bambu tabah lebih tinggi dari pada asap cair kernel kelapa sawit *grade* I, *grade* II, dan *grade* III pada penelitian Siamto (2013) yang berkisar antara 13,32 ml/%-28,86 ml/%.

Suhu asap cair 125°C memiliki jumlah presentase rata-rata rendemen lebih tinggi yaitu dengan nilai 85,50 ml/% dibandingkan dengan suhu asap cair 150°C dengan nilai 83,50 ml/%.



Gambar 2. Grafik rata-rata persentase rendemen asap cair hasil destilasi batang bambu tabah pada suhu yang berbeda.

pН

Pengukuran nilai pH digunakan untuk mengetahui kecendrungan kenaikan/penurunan pH di dalam asap cair hasil destilasi. Nilai pH asap cair berkaitan

dengan tinggi dan rendahnya total asam tertitrasi. Rendahnya total asam tertitrasi maka pH asap cair menjadi tinggi, begitu juga sebaliknya semakin tinggi total asam tertitrasi maka pH asap cair semakin rendah. Asap cair dengan pH rendah berperan sebagai antibakteri dan antioksidan (Komarayati *et al.*, 2012).

Asap cair hasil destilasi batang bambu tabah pada suhu 125°C dan 150°C menunjukkan nilai pH berkisar antara 3,14-3,20. Berarti asap cair yang dihasilkan mempunyai kualitas yang baik yaitu sebagai antibakteri. Karena pada suhu rendah bakteri atau mikroba cenderung tidak mampu berkembang biak dan hidup dengan baik (Nurhayati, 2005; Sutin, 2008). Menurut Darmaji & Izimoto (1995) pada pH 4,0 asap cair dapat menghambat bakteri patogen dan pembusuk, sedangkan pada pH 6,0 penghambatan pertumbuhan bakteri mulai menurun.

Rata-rata nilai pH asap cair terendah terdapat pada asap cair hasil destilasi bambu tabah suhu 150°C yaitu 3,16 sedangkan rata-rata pH asap cair tertinggi terdapat pada asap cair pada suhu 125°C yaitu 3,18. Jadi asap cair pada suhu 150°C merupakan pH yang paling asam. Menurut Yatagai (2002) sifat asam ini sudah memenuhi syarat mutu asap cair Asosiasi Jepang, dimana pH untuk produk asap cair yang dipersyaratkan oleh Asosiasi Jepang yaitu antara 1,5-3,7.

Berdasarkan uji sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh signifikan terhadap nilai pH asap cair. Berdasarkan uji beda nyata terkecil, perlakuan perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH.



Gambar 3. Grafik rata-rata nilai pH asap cair hasil destilasi bambu tabah pada suhu yang berbeda.

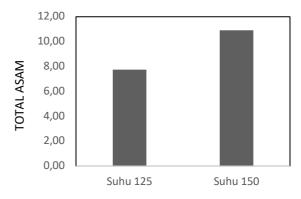
Total Asam

Senyawa-senyawa asam mempunyai peranan sebagai antibakteri dan membentuk citarasa produk asapan. Tinggi rendahnya nilai total asam akan mempengaruhi terhadap tinggi rendahnya nilai pH dan total fenol itu sendiri. Karena pH, total asam

tertitrasi dan kadar fenol saling berkaitan satu dengan yang lainya.

Menurut Daun (1979) kadar asam yang terkandung di dalam asap cair ini efektif terhadap proses penghambatan bakteri karena terdapat beberapa senyawa asam yaitu diantaranya asam asetat yang berfungsi sebagai pengawet pada bahan pangan karena mampu menghambat pertumbuhan beberapa ienis bakteri dan jamur dengan mencegah pembentukan spora. Kandungan selulosa dan hemiselulosa yang terdekomposisi selama proses pemanasan dan memberikan perbedaan nilai asam pada setiap jenis kayu.

Total asam asap cair hasil destilasi bambu tabah pada suhu 125°C dan 150°C berkisar antara 7,70%-10,94% lebih besar dibanding dengan penelitian Darmadji (1996) yang menggunakan sabut kelapa sawit, tempurung kelapa, kelobot jagung dan kulit buah kakao yakni dengan kadar asam sekitar 9,2%-9,8%. Persentase total asam asap cair pada suhu 125°C memiliki nilai 7,70%-7,76% dan nilai total asam asap cair pada suhu 150°C memiliki nilai 10,90%-10,94%. Nilai rata-rata persentase total asam asap cair hasil destilasi pada suhu yang berbeda menunjukkan rata-rata persentase asam paling tinggi adalah persentase asap cair hasil destilasi bambu tabah pada suhu 150°C yaitu 10,92%. Sedangkan nilai rata-rata persentase terendah pada suhu 125°C yaitu 7,75%. Kesamaan dari asap cair ini sejalan dengan rata-rata nilai pH terendah pada suhu 150°C yaitu 3,16. Dimana semakin tinggi nilai total asam maka semakin rendah nilai pH yang terdapat pada asap cair. Begitu pun sebaliknya, semakin rendah nilai total asam maka semakin tinggi nilai pH.

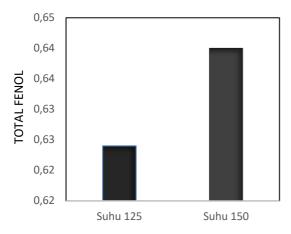


Gambar 4. Grafik rata-rata persentase total asam asap cair hasil destilasi bambu tabah pada suhu yang berbeda

Berdasarkan uji sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh signifikan terhadap persentase total asam asap cair. Berdasarkan uji beda nyata terkecil, perlakuan perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh sangat nyata terhadap persentase total asam.

Total Fenol

Senyawa fenol diduga berperan sebagai antioksidan sehingga dapat memperpanjang masa simpan produk asapan. Adapun jenis-jenis fenol yang umumnya terdapat dalam produk asapan adalah siringol dan guaiakol. Pada umumnya senyawa fenol yang terdapat di dalam asap kayu ialah hidrokarbon aromatik yang disusun dari cancan benzene dengan sejumlah gugus hidroksil yang terikat. Menurut Maga (1987) senyawa fenol bisa mengikat gugusgugus lain seperti keton, aldehid, ester dan asam. Kandungan senyawa fenol dalam asap sangat tergantung pada temperatur pirolisis bahan. Kualitas fenol pada kayu sangat bervariasi yaitu antara 10-200 mg/kg. Beberapa jenis fenol yang biasanya terdapat dalam produk asapan adalah guaiakol dan siringol. Girard (1992) mengatakan jika lignin merupakan komponen kayu yang jika terdekomposisi akan menghasilkan senyawa fenol. Maga mengungkapkan apabila semakin tinggi kandungan fenol pada bahan yang diasap umumnya akan makin tidak disukai karena fenol memberikan bau pungent (tajam) dan seperti bau terbakar.



Gambar 5. Grafik rata-rata persentase total fenol asap cair hasil pirolisis bagian batang bambu tabah dari bagian batang bambu yang berbeda

Persentase total fenol asap cair pada suhu 125°C yaitu 0,61%-0,64% sedangkan pada suhu 150°C yaitu 0,63%-0,65%. Persentase rata-rata total fenol paling tinggi dihasilkan oleh destilasi asap cair pada suhu 150°C yaitu 0,64% dan total fenol paling terendah dihasil oleh suhu 125°C yaitu 0,62% dimana perbedaan nilainya tidak berbeda jauh.

Berdasarkan uji sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh signifikan terhadap persentase total fenol asap cair. Berdasarkan uji beda nyata terkecil, perlakuan perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh nyata terhadap persentase total fenol.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Secara umum, perbedaan suhu 125°C dan 150°C berpengaruh nyata terhadap hasil pH, total asam dan total fenol. Bahwa suhu mempengaruhi densitas, rendemen, serta senyawa kandungan kimia (pH, total asam, dan total fenol) di dalam asap cair hasil destilasi bambu tabah. Asap cair pada suhu 150°C memiliki nilai paling tinggi dengan nilai pH yaitu 3,16, total fenol 0,64%, total asam 10,92%, dan densitas 1,0245 g/ml. Sedangkan suhu 125°C memiliki nilai tertinggi untuk nilai rendemen yaitu 85,50%.

Saran

Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui kelayakan asap cair hasil destilasi ini sebagai pengawet bahan makanan.

DAFTAR PUSTAKA

Arifin, Syamsul. 2007. Penelitian Sifat fisik dan Kimia Asap Cair (Liquid Smoke) dari Cangkang dan Tandan Kosong Kelapa Sawit. Politeknik Pertanian Negeri Samarinda.

Darmadji, P. 1996. Aktivitas Antibakteri Asap Cair Yang Diproduksi Dari Bermacam Macam Limbah Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada. Jurnal agritech vol. 16. No 4.

Darmadji, P. 2001. Optimasi pemurnian asap cair dengan metoda distilasi. Prosiding Seminar Nasional PATPI

Daun, R. 1979, Interaction Of Wood Smoke Component And Foods. Food technol. 5 66 -83

Girrard, J. P. 1992. Tecnologi of Meat and Meat Products. Ellis Horwoow, Newyork.

Kencana, P. K. D., Widia, W. dan Antara, N. S. 2012. Praktek Baik Budi Daya Bambu Rebung Tabah *(Gigantochloa Nigrociliata Buse-*Kurz)', pp. 1–69.

Komarayati, S., Anggraeni, I. & Pari G. (2012). Pemanfaatan cuka kayu sebagai pencegah hama/penyakit tanaman. Prosiding Seminar Nasional Kesehatan Hutan dan Kesehatan

- Pengusahaan Hutan untuk Produktivitas Hutan, 221-228. Bogor.
- Maga, J. A.1987. Smoke in Food Processing, CRC Press, Inc., Boca rotan. Florida.
- Maga, J.A. 1988. Smoke in Food Processing. CRC Press, Florida.
- Nurhayati, T., Han Roliadi and Nurliani Bermawie. 2005. Production of Mangium Wood Vinegar and Its Utilization. Jurnal of Foresty Research 2:1 (13-26). Foresty Research and Development Agency. Jakarta.
- Septian, C. Y. 2014. Rendemen dan beberapa sifat fisik asap cair (Liquid Smoke) dari kayu karet (*Hevea brasiliensis*). Samarinda: Politeknik Pertanian Negeri Samarinda.
- Siamto, A. 2013. Rendemen dan sifat fisik asap cair (Liquid Smoke) grade I dari limbah kernel kelapa sawit (*Elaeisguineensisjack*). Samarinda: Politeknik Pertanian Negeri Samarinda
- Simon R, B Calle, S Palme, D Meler, dan E Anklam. 2005. Composition and analysis of smoke liquid flavouring primary products. Journal Food Science 24(1): 143- 148. North Carolina.
- Utomo, B.S.B., Febriani, R.A, Purwaningsih, S. dan Nurhayati, T. 2009. Pengaruh konsentrasi larutan asap cair terhadap mutu belut asap yang dihasilkan. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi 4 (1): 49–58.
- Yatagai. (2002). Utilization of charcoal and wood vinegar in Japan. Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo.