

**HIDROLISAT PROTEIN ECENG GONDOK (*Eichornia crassipes*) REBUS  
MENGUNAKAN STARTER KHAMIR LAUT DAN MOLASE REBUS DENGAN  
PROSES FERMENTASI**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh:  
**DIAN PUSPITASARI  
NIM. 115080301111022**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015**

**HIDROLISAT PROTEIN ECENG GONDOK (*Eichornia crassipes*) REBUS  
MENGUNAKAN STARTER KHAMIR LAUT DAN MOLASE REBUS DENGAN  
PROSES FERMENTASI**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh:  
**DIAN PUSPITASARI  
NIM. 115080301111022**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015**

repository.ub.ac.id

SKRIPSI  
HIDROLISAT PROTEIN ECENG GONDOK (*Eichornia crassipes*) REBUS  
MENGUNAKAN STARTER KHAMIR LAUT DAN MOLASE REBUS DENGAN  
PROSES FERMENTASI

Oleh:  
DIAN PUSPITASARI  
115080301111022

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 10 Agustus 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
SK Dekan No. : \_\_\_\_\_  
Tanggal : \_\_\_\_\_

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS)

NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal : \_\_\_\_\_

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Yahya, MP)

NIP. 19630706 199003 1 003

Tanggal : \_\_\_\_\_

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc.Ph.D)

NIP. 19640919 198903 1 002

Tanggal : \_\_\_\_\_

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : \_\_\_\_\_

Mengetahui

Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : \_\_\_\_\_



## PERNYATAAN ORISINALITAS

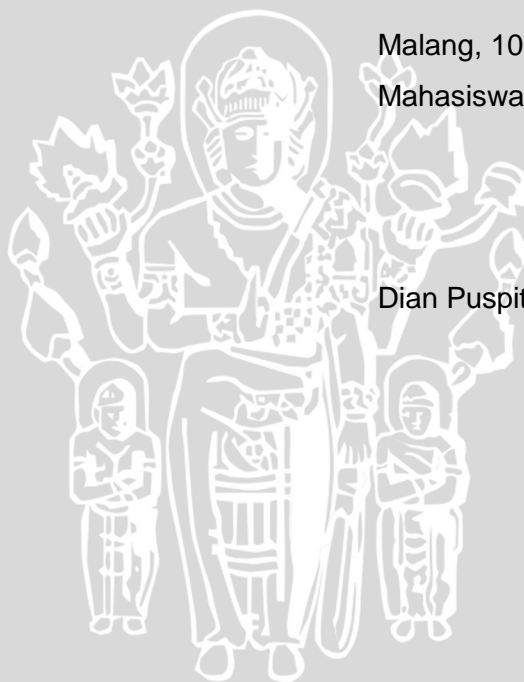
Dengan ini saya menyatakan bahwa data skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 10 Agustus 2015

Mahasiswa

Dian Puspitasari



## UCAPAN TERIMAKASIH

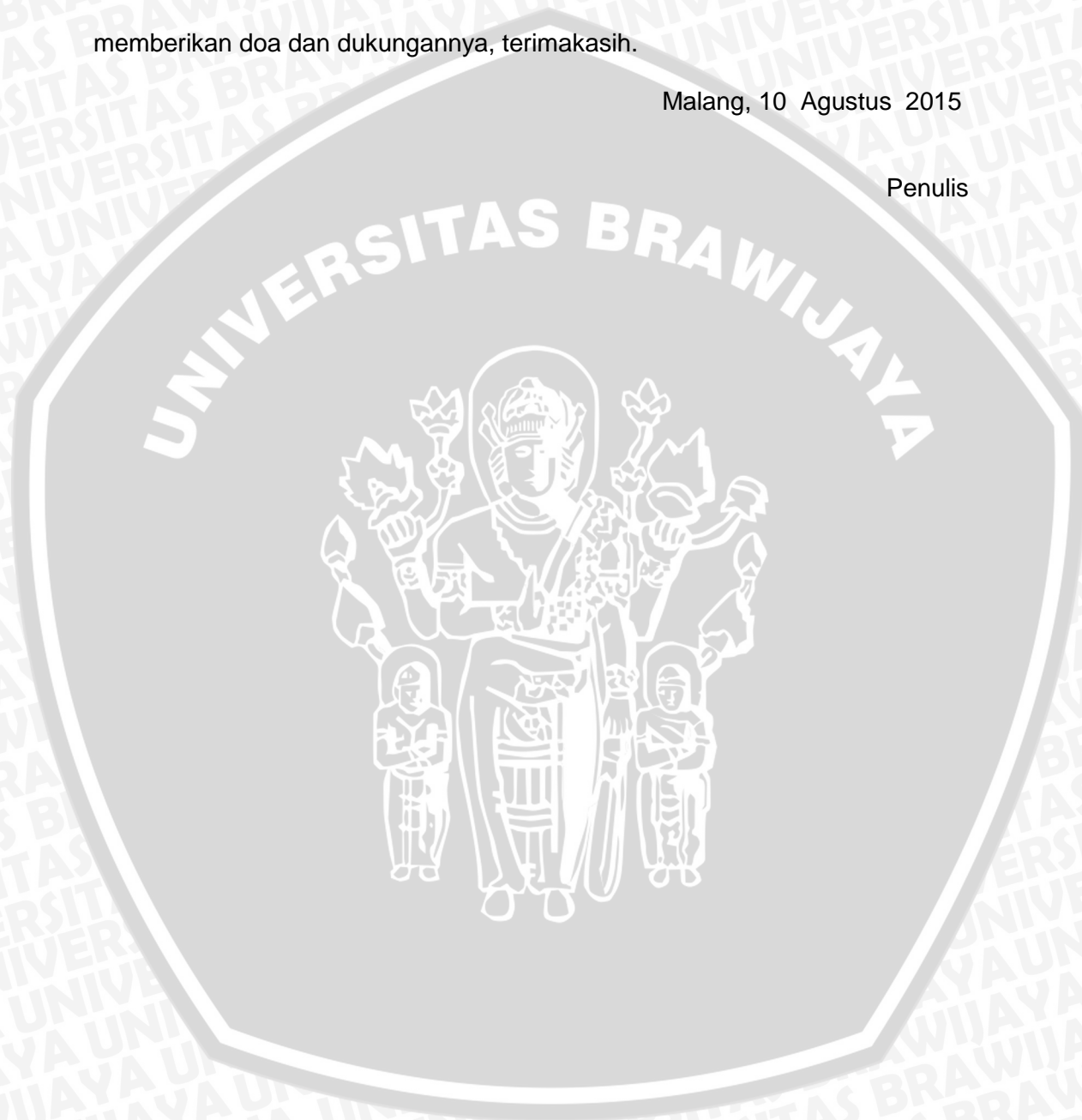
Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul "Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Rebus Menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Rebus dengan Proses Fermentasi". Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan ini tidak akan tersusun tanpa bantuan dari berbagai pihak, rasa hormat dan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu, Bapak dan Kakak tercinta atas segala doa, kasih sayang, perhatian dan dukungan yang telah beliau berikan baik dari segi moril maupun materi.
2. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, stok khamir laut dan molase yang sangat membantu penelitian saya dan Dr. Ir. Muhammad Firadus, MP selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, pengarahan dan masukan mengenai penelitian dan penyusunan laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan ilmu, kritik dan saran yang menyempurnakan laporan penulis.
4. Sahabat Tim Eceng Gondok, Reny Permata Sari, Dilla Passrelela, dan Yudha Eko Prasetyo yang saling memberikan semangat dan motivasi baik saat suka maupun duka dan selalu bersama-sama mulai dari penelitian sampai dengan sidang skripsi.
5. Semua teman-teman THP 2011, terimakasih atas segala dukungan dan semangat.
6. R. M. Fahrizal Sidqi yang telah memberikan dukungan, bantuan, semangat dan motivasi kepada penulis.

7. Elsa Anggita F.S., Putri Pertiwi, Nila Tri Rahayu, Setiyawati, dan Hasbi Nurza Putra yang selalu memberikan dukungan dan semangat serta selalu memfasilitasi penulis saat pengambilan sampel penelitian.
8. Pihak-pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu-persatu yang telah memberikan doa dan dukungannya, terimakasih.

Malang, 10 Agustus 2015

Penulis



## RINGKASAN

**DIAN PUSPITASARI. SKRIPSI.** Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Rebus Menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Rebus dengan Proses Fermentasi (di bawah Bimbingan **Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D** dan **Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP**).

Eceng gondok (*Eichornia crassipes*) merupakan salah satu tanaman air yang pertumbuhannya sangat cepat dan sering dianggap sebagai gulma air. Eceng gondok mengandung protein kasar 11,2%, serat kasar 18,3 %, BETN 57%, lemak kasar 0,9%, dan abu 12,6%. Kandungan protein kasar yang cukup tinggi pada eceng gondok berpotensi untuk dijadikan sebagai substrat dalam pembuatan hidrolisat protein. Pembuatan hidrolisat protein dengan memanfaatkan mikroorganisme dapat dilakukan melalui proses fermentasi. Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah pH, suhu, mikroorganisme, nutrisi dan lama fermentasi. Khamir laut adalah mikroorganisme yang dapat melakukan proses fermentasi dan dapat menghasilkan enzim proteinase, amilase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase. Molase mengandung gula yang cukup tinggi dan dapat digunakan sebagai nutrisi khamir laut karena mudah dicerna dan diserap oleh sel khamir.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan, dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, dan laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak pada bulan Januari - April 2015.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan volume molase rebus dan lama fermentasi yang paling tepat terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus serta untuk mendapatkan profil asam amino dari hidrolisat protein eceng gondok rebus terbaik.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki seberapa besar dan ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu RAK sederhana.

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus adalah eceng gondok, molase, inokulan khamir laut, botol plastik, kertas label dan akuades. Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus adalah kompor, panci, *waterbath*, *beaker glass* 1000 mL, timbangan digital, piring plastik, bola hisap, pipet volume 10 mL, aerator, selang, dan blender.

Prosedur penelitian yang dilakukan diantaranya adalah penentuan fase log khamir laut, pembuatan khamir laut, pembuatan media pengenceran dan perhitungan khamir laut, dan pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus. Proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus terdiri dari penyiapan bahan baku eceng gondok rebus dan molase rebus, penghalusan, penambahan kultur khamir laut 2,5 mL, pemberian aerasi, fermentasi 3, 6, 9, 12 hari, pemisahan residu dan filtrat, dan penguapan dengan oven vakum. Parameter uji meliputi pengukuran rendemen, analisis proksimat, nilai pH, daya buih, kapasitas emulsi dan analisis profil asam amino.

Hasil analisa perlakuan terbaik dengan lama fermentasi 12 hari dan penambahan volume molase rebus 300 mL yaitu kadar rendemen 49,93%, kadar air 16,65%, kadar lemak 1,40%, kadar abu 12,05%, kadar protein 21,03%, kadar karbohidrat 48,87%, pH 4,23, daya buih 0,24% dan kapasitas emulsi 52,94. Total asam amino yang dihasilkan sebesar 13,09% yang meliputi 9 asam amino esensial dan 7 asam amino non esensial.

## KATA PENGANTAR

Eceng gondok merupakan tanaman air yang melimpah dan mengganggu lingkungan perairan. Eceng gondok mengandung protein yang cukup tinggi, sehingga dirasa cocok untuk digunakan sebagai alternatif campuran pakan ternak. Pengolahan eceng gondok masih sangat terbatas. Dalam kesempatan ini penulis melakukan penelitian dengan tujuan untuk meningkatkan kadar protein dari eceng gondok melalui proses fermentasi oleh mikroorganisme khamir laut.

Laporan skripsi yang berjudul Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Rebus Menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Rebus dengan Proses Fermentasi merupakan laporan hasil penelitian yang dilakukan oleh penulis sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Pada laporan skripsi ini terdiri dari lima bab. Bab satu mengenai prndahuluan, bab dua tinjauan pustaka, bab tiga metodologi, bab 4 pembahasan, dan bab lima merupakan penutup.

Sangat disadari dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membaca.

Malang, 3 Juli 2015

Penulis



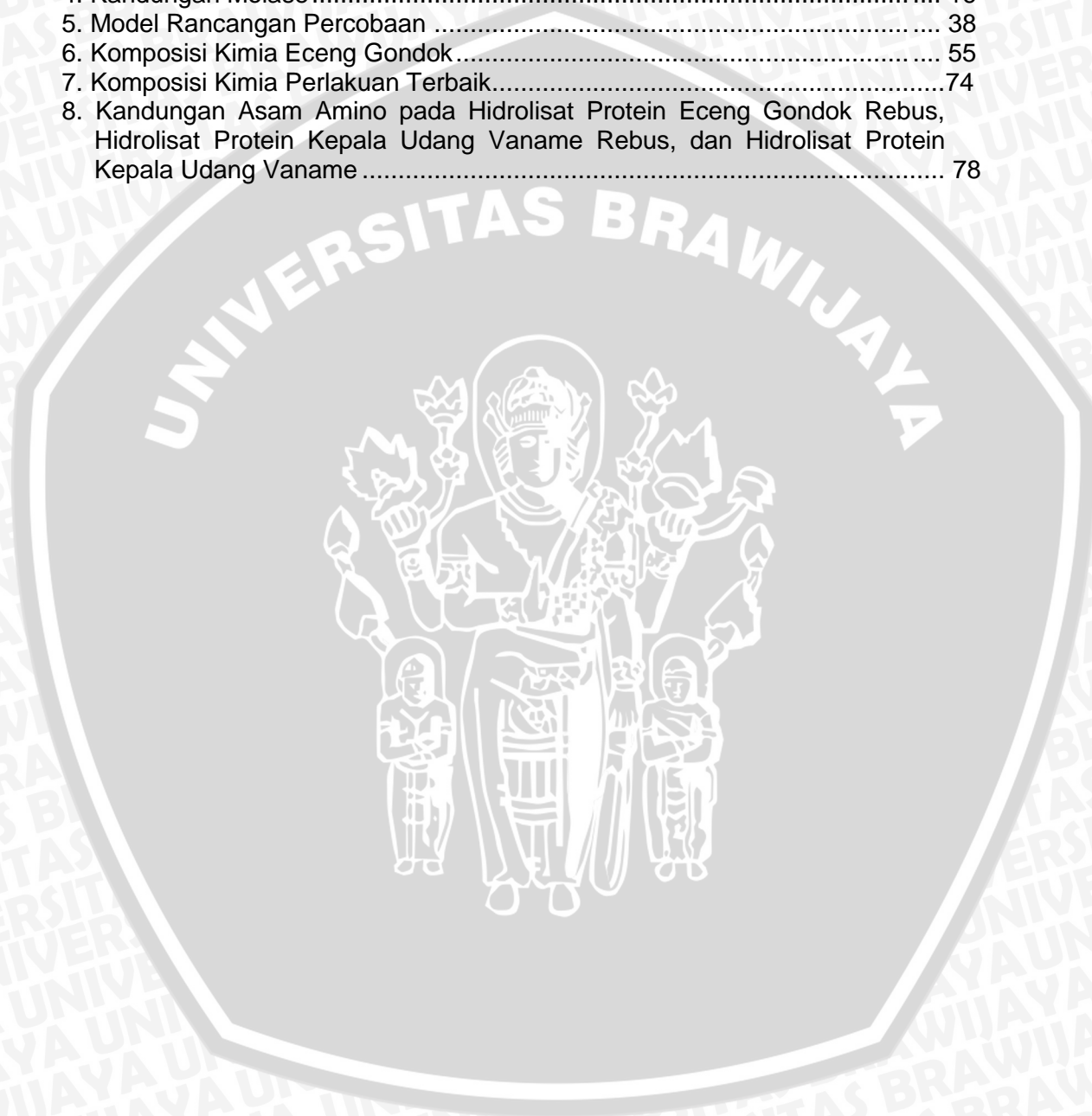
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN RINGKASAN .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN DAFTAR ISI .....</b>	<b>vii</b>
<b>HALAMAN DAFTAR TABEL .....</b>	<b>ix</b>
<b>HALAMAN DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>x</b>
<b>HALAMAN DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Hipotesis .....	5
1.5 Kegunaan Penelitian .....	6
1.6 Waktu dan Tempat .....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Eceng Gondok .....	7
2.1.1 Karakteristik Eceng Gondok .....	7
2.1.2 Komposisi Kimia eceng Gondok .....	9
2.1.3 Manfaat Eceng Gondok .....	10
2.2 Khamir Laut .....	11
2.2.1 Karakteristik Khamir Laut .....	11
2.2.2 Isolasi Khamir Laut .....	12
2.2.3 Komposisi Kimia Khamir Laut .....	13
2.2.3 Manfaat Khamir Laut .....	14
2.3 Molase .....	15
2.3.1 Karakteristik Molase .....	15
2.3.2 Manfaat Molase terhadap Khamir Laut .....	16
2.4 Perebusan .....	17
2.5 Protein dan Asam Amino .....	18
2.6 Protease .....	19
2.7 Fermentasi .....	20
2.7.1 Definisi Fermentasi .....	20
2.7.2 Efektivitas fermentasi dengan Biokatalisator Khamir Laut .....	22
2.8 Hidrolisat Protein .....	23
2.8.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein .....	23
2.8.2 Teknologi Hidrolisat Protein .....	24
2.8.1 Karakteristik Hidrolisat Protein .....	24
2.9 HPLC (High Performance Liquid Chromatography) .....	26
<b>3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian .....	28
3.1.1 Bahan Penelitian .....	28
3.1.2 Alat Penelitian .....	28
3.2 Metode Penelitian .....	29

3.2.1	Metode .....	29
3.2.2	Variabel .....	30
3.3	Prosedur Penelitian .....	30
3.3.1	Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut Mix.....	30
3.3.2	Prosedur Pembuatan Kultur Khamir Laut .....	31
3.3.3	Prosedur Pembuatan Media Pengenceran dan Perhitungan Khamir Laut .....	31
3.3.4	Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok .....	32
3.3.4.1	Prosedur Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	32
3.3.4.2	Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	36
3.4	Rancangan Penelitian dan Analisa Data .....	38
3.5	Pengamatan.....	39
3.5.1	Rendemen .....	39
3.5.2	Analisa Proksimat.....	40
3.5.2.1	Analisis Kadar Air metode Thermogravimetri .....	40
3.5.2.1	Analisis Kadar Abu metode Gravimetri .....	40
3.5.2.1	Analisis Kadar Lemak metode <i>Goldfish</i> .....	40
3.5.2.1	Analisis Kadar Protein metode <i>Kjeldahl</i> .....	41
3.5.2.1	Analisis Kadar Karbohidrat metode <i>by Difference</i> .....	41
3.5.3	Nilai pH .....	41
3.5.4	Kapasitas Emulsi .....	42
3.5.5	Daya Buih .....	42
3.5.6	Analisis Profil Asam Amino .....	42
3.5.7	Analisis Derajat Hidrolisis .....	44
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1	Penelitian Pendahuluan .....	45
4.1.1	Penentuan Fase Logaritmik.....	48
4.1.2	Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi Optimal .....	46
4.1.3	Volume Khamir Laut yang Optimal .....	53
4.1.4	Komposisi Kimia Eceng Gondok Rebus .....	54
4.2	Penelitian Utama .....	55
4.2.1	Rendemen .....	56
4.2.2	Analisis Proksimat.....	57
4.2.3	Analisis Derajat Keasaman (pH).....	67
4.2.4	Analisis Daya Buih .....	69
4.2.5	Analisis Kapasitas Emulsi.....	71
4.3	Hidrolisat Protein Eceng Gondok Terbaik .....	73
4.4	Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus.....	74
4.5	Analisis Profil Asam Amino .....	77
4.6	Analisa Derajat Hidrolisis .....	80
<b>5.</b>	<b>PENUTUP</b>	
5.1	Kesimpulan .....	81
5.2	Saran .....	81
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	82

DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Asam Amino Daun Eceng Gondok .....	10
2. Komposisi Sel Khamir Laut .....	13
3. Kandungan Nutrisi Khamir Laut .....	14
4. Kandungan Molase .....	16
5. Model Rancangan Percobaan .....	38
6. Komposisi Kimia Eceng Gondok .....	55
7. Komposisi Kimia Perlakuan Terbaik .....	74
8. Kandungan Asam Amino pada Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus, Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname Rebus, dan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname .....	78



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Morfologi Eceng Gondok.....	7
2. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus.....	35
3. Diagram Alir pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	37
4. Pertumbuhan Sel Khamir Laut dengan Pengamatan setiap 12 Jam selama 96 Jam.....	45
5. Foto Kepadatan Khamir Laut dengan Perbesaran 1000x.....	47
6. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	50
7. Nilai pH Campuran Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	51
8. Nilai pH Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	52
9. Nilai pH Filtrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	52
10. Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	56
11. Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	57
12. Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	58
13. Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	59
14. Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	60
15. Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	61
16. Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	62
17. Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	63
18. Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	64
19. Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	65
20. Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	66
21. Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	67
22. Kadar pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	68
23. Kadar pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	68
24. Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	70
25. Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	70
26. Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....	72
27. Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan	

Lama Fermentasi yang Berbeda .....72  
28. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus.....76



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kultur Khamir Laut .....	89
2. Diagram Alir Pembuatan Kultur Khamir Laut Mix .....	90
3. Perhitungan Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut .....	91
4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut .....	92
5. Diagram Alir Analisis Kadar Air .....	93
6. Diagram Alir Analisis Kadar Abu .....	94
7. Diagram Alir Analisis Kadar Lemak .....	95
8. Diagram Alir Analisis Kadar Protein .....	96
9. Data Kepadatan Sel Khamir Laut .....	97
10. Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Dilakukan Pengenceran .....	98
11. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut .....	99
12. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan .....	101
13. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut .....	106
14. Dokumentasi Pembuatan Media dan Pengenceran Khamir Laut .....	108
15. Dokumentasi Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	109
16. Dokumentasi Analisis Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	111
17. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	112
18. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Hidrolisat protein Eceng Gondok Rebus.....	113
19. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus.....	114
20. Dokumentasi Analisis pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	116
21. Dokumentasi Analisis Daya Buih Hidrolisat protein Eceng Gondok Rebus.....	117
22. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus .....	118
23. Hasil Analisis Nilai Rendemen Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	119
24. Hasil Analisis Nilai pH Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	120
25. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	121
26. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein	

Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	122
27. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	124
28. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	126
29. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	128
30. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	130
31. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	132
32. Data Pengamatan dan Analisis Data Derajat Keasaman (pH) Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	134
33. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	136
34. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....	138
35. Hasil Uji Profil Asam Amino .....	140
36. Derajat Hidrolisis Hidrolisat Protein Eceng Gondok ( <i>Eichornia crassipes</i> ) Rebus Menggunakan Starter Khamir Laut dan Moalse Rebus dengan Proses Fermentasi.....	140

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) merupakan salah satu tanaman air yang banyak tumbuh di sungai, pematang sawah atau waduk. Tumbuhan ini mengambang di permukaan air, memiliki daun yang tebal dan gelembung yang membuatnya mengapung. Keberadaan tanaman ini lebih sering dianggap sebagai gulma air yang sangat merugikan manusia, karena menyebabkan pendangkalan sungai atau waduk serta menyebabkan penguapan air dan penurunan unsur hara yang cukup besar. Eceng gondok memiliki kemampuan untuk beradaptasi dari perubahan ekstrim laju air, perubahan kadar nutrisi, pH (derajat keasaman tanah), temperatur dan ketinggian air. Eceng gondok dapat berkembang pesat dalam kondisi air yang mengandung nutrisi yang tinggi, terutama di daerah yang memiliki kadar nitrogen, potasium dan pospat. Tanaman ini berkembang biak dengan cara vegetatif dengan stolon dan juga secara generatif dengan biji (Asjayani, 2014).

Gangguan yang diakibatkan oleh tanaman eceng gondok adalah dapat menyebar di area yang luas dan menutupi permukaan air, dapat mengurangi cahaya yang masuk ke dalam badan air yang mengakibatkan berkurangnya kandungan oksigen terlarut yang ada dalam air. Populasi eceng gondok yang meningkat setiap harinya, harus segera dicarikan solusi agar tidak mencemari lingkungan perairan. Sittadewi (2007) menyatakan bahwa eceng gondok yang tumbuh liar di permukaan air dapat dimanfaatkan sebagai bahan kerajinan, bahan pakan dan kompos.

Mangisah *et al.*, (2006) menyatakan bahwa eceng gondok mengandung protein kasar 11,2%, serat kasar 18,3 %, BETN 57%, lemak kasar 0,9%, dan abu 12,6%. Dari komposisi kimia di atas, perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan



nilai tambah dari eceng gondok. Melihat kandungan protein kasar yang cukup tinggi (11,2%), eceng gondok berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku (substrat) dalam pembuatan hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan hasil hidrolisis protein secara enzimatik atau kimiawi yang mengandung peptida yang berat molekulnya lebih rendah dan asam amino bebas. Pembuatan hidrolisat protein merupakan salah satu usaha dalam menambah sumber protein yang kaya dengan asam amino. Hidrolisat protein mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida.

Hidrolisat protein dengan menggunakan bahan baku eceng gondok berpotensi untuk digunakan sebagai suplemen dalam pembuatan pakan ternak. Hidrolisat protein eceng gondok adalah salah satu pengolahan yang memanfaatkan eceng gondok sebagai substrat sehingga pada hasil akhirnya diperoleh kandungan protein yang lebih tinggi dari bahan bakunya. Pemanfaatan eceng gondok sebagai substrat dengan perlakuan perebusan diharapkan dapat meningkatkan daya cerna protein pada hidrolisat. Sejalan dengan berlangsungnya proses perebusan, protein akan mengalami proses denaturasi sehingga membentuk struktur yang lebih sederhana dan lebih mudah untuk dicerna (Nurjanah *et al.*, 2014).

Salah satu pembuatan hidrolisat protein yaitu dengan memanfaatkan mikroba melalui proses fermentasi. Fermentasi merupakan suatu cara untuk merubah substrat (bahan organik) dengan menggunakan mikroba yang dapat berlangsung secara aerob maupun anaerob. Ketersediaan oksigen harus diatur selama proses fermentasi. Hal ini berhubungan dengan sifat mikroorganisme yang digunakan (Jannah, 2010).

Proses fermentasi dapat memberikan nilai tambah dan meningkatkan kandungan gizi dari produk. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh

Mangisah *et al.*, (2003) yang menyatakan bahwa kadar protein kasar dari eceng gondok yang terfermentasi dengan *Aspergillus niger* meningkat menjadi 13,55%. Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi diantaranya adalah derajat keasaman (pH), suhu, mikroorganisme, waktu, dan nutrisi mikroorganisme (Endah *et al.*, 2007). Lama fermentasi yang tepat dapat menghasilkan hidrolisat protein eceng gondok dengan kandungan nutrisi yang optimal karena kandungan nutrisi pada bahan baku dipecah menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana

Proses fermentasi mendayagunakan aktivitas mikroba tertentu. Mikroba yang banyak digunakan dalam proses fermentasi antara lain kapang, khamir dan bakteri. Pemilihan mikroba harus sesuai dengan produk akhir yang dihasilkan, dalam hal ini adalah hidrolisat protein eceng gondok. Penggunaan enzim dari mikroba dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan karena produk hidrolisat terhindar dari kerusakan (Kurniawan, 2012). Mikroba yang biasa digunakan dalam proses fermentasi adalah mikroba yang bersifat non patogenik, nutrisinya spesifik dan mudah untuk dikultur seperti khamir.

Khamir laut merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat melakukan proses fermentasi. Sukoso (2012) menyatakan bahwa khamir lauit menghasilkan berbagai enzim diantaranya seperti enzim proteinase, amilase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase. Khamir laut yang merupakan mikroorganisme bersel tunggal membutuhkan nutrisi seperti sumber karbon dan nitrogen untuk kehidupannya. Sumber karbon yang efisien dan mudah didapatkan yaitu molase.

Husen (2015) mengungkapkan bahwa molase mengandung gula 50 - 60% dan gula yang terkandung di dalam molase tersebut mudah dicerna dan diserap oleh sel. Perlakuan molase dengan proses perebusan dapat

menyebabkan sebagian sukrosa dalam molase akan terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana (glukosa dan fruktosa) (Susanto dan Setyohadi, 2011), dimana senyawa karbon dari jenis monosakarida dapat diserap lebih cepat oleh mikroorganisme dibanding dengan senyawa karbon dari jenis disakarida (sukrosa dan maltosa). Penggunaan molase rebus dengan volume yang tepat dapat mengoptimalkan pertumbuhan khamir laut pada proses hidrolisis. Rohim (2014) menyatakan bahwa penambahan molase rebus sampai 50% selama fermentasi 72 jam dapat meningkatkan hasil biomassa sel khamir laut.

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pemanfaatan eceng gondok sebagai substrat pada pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan starter khamir laut dan sumber karbon molase rebus sehingga perlu dilakukan penelitian dan diharapkan dapat meningkatkan kandungan protein dari eceng gondok. Dari penjelasan di atas diperlukan kajian yang membahas mengenai pembuatan hidrolisat protein eceng gondok menggunakan starter khamir laut sebagai biokatalisator.

## 1.2 Rumusan Masalah

Eceng gondok merupakan tumbuhan air yang perkembangbiakannya sangat pesat dan memberikan efek negatif bagi perairan, tetapi kandungan nutrisi pada eceng gondok ini cukup tinggi. Kandungan protein yang cukup tinggi pada eceng gondok berpeluang untuk dijadikan sebagai suplemen pakan ternak melalui proses fermentasi. Pembuatan hidrolisat protein dengan khamir laut berpotensi untuk meningkatkan kandungan protein pada eceng gondok. Penggunaan eceng gondok rebus dan molase rebus akan berpengaruh pada

hidrolisat protein yang dihasilkan. Dari uraian di atas didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok rebus?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan?
- Bagaimana profil asam amino dari perlakuan terbaik hidrolisat protein eceng gondok rebus?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian pengaruh penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok (*Eichornia crassipes*) rebus adalah:

- Untuk mendapatkan volume molase rebus yang paling tepat terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus.
- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang paling tepat terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus.
- Untuk mendapatkan profil asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus terbaik.

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Penambahan molase rebus diduga berpengaruh terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus.
- Lama fermentasi yang berbeda diduga berpengaruh terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus.

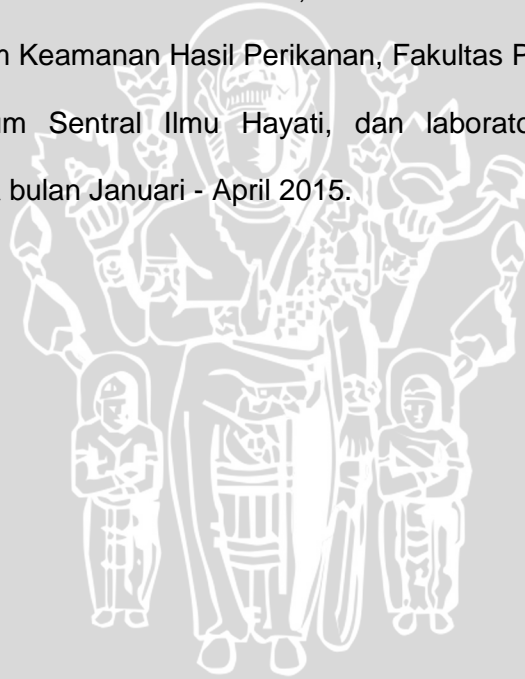
- Perlakuan terbaik diduga menghasilkan profil asam amino yang bagus.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus menggunakan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut.

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan, dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, dan laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak pada bulan Januari - April 2015.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Eceng Gondok

#### 2.1.1 Karakteristik Eceng Gondok

Klasifikasi tumbuhan eceng gondok menurut Coniwanti *et al.*, (2009) adalah sebagai berikut:

Divisio : Embryophytasi phonogama

Sub Divisio : Spermathopyta

Klas : Monocotyledoneae

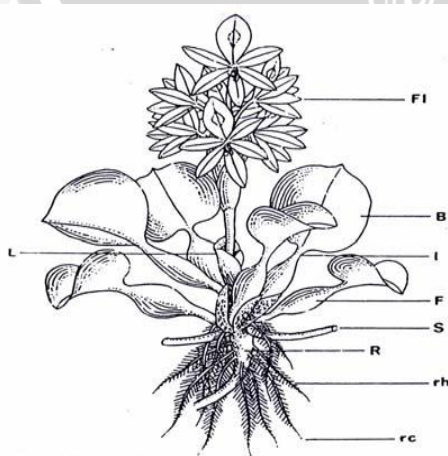
Ordo : Ferinosae

Famili : Pontederiaceae

Genus : Eichhornia

Spesies : *Eichhornia crassipes*

Eceng gondok merupakan tumbuhan air yang mengambang di permukaan air, memiliki daun yang tebal dan gelembung yang membuatnya mengapung (Muladi, 2001). Tinggi eceng gondok sekitar 0,4-0,8 m. Daunnya tunggal dan berbentuk oval. Pangkal tangkai daun menggelembung. Permukaan daunnya licin dan berwarna hijau. Bunganya termasuk bunga majemuk, berbentuk bulir, kelopaknya berbentuk tabung. Akarnya merupakan akar serabut.



Gambar 1. Morfologi Eceng Gondok

Keterangan:

B = Helai daun (leaf blade)

F = Pengampung (float)

I = Leher daun (Isthmus)

L = Ligula

R = akar (Root)

rh = Akar rambut (root hair)

rc = Ujung akar

S = Stolon (Daylistio, 2006)

Eceng gondok (*Eichornia crassipes*) adalah tumbuhan yang mengambang yang dapat menutupi permukaan air. Tumbuhan tersebut memiliki kemampuan untuk beradaptasi dari perubahan ekstrim laju air, perubahan kadar nutrisi, pH (derajat keasaman tanah), temperatur dan ketinggian air. Pertumbuhan eceng gondok yang cepat sering dianggap gulma di perairan, karena dapat menutupi permukaan danau dalam waktu singkat sehingga mengganggu aktivitas dalam air. Karena ketersediaannya yang melimpah, eceng gondok dimanfaatkan untuk berbagai keperluan (Asjayani, 2014).

Perkembangan eceng gondok umumnya dengan cara vegetatif yaitu menggunakan stolon. Kondisi optimum untuk memperbanyak diri memerlukan waktu antara 11-18 hari. Perairan yang ditumbuhi eceng gondok memberikan pengayaan CO<sub>2</sub>. Rumpun anakan akan memproduksi CO<sub>2</sub> sampai 39% lebih dari berat kering dibandingkan dari tanaman induk. Secara fisiologis eceng gondok dapat berperan secara tidak langsung dalam mengatasi bahan pencemar perairan karena dapat bertahan hidup dengan cara membentuk rumpun. Akar tumbuh subur dan lebat serta berwarna hitam dengan permukaan ungu. Oksigen hasil fotosintesis di daun dan tangkai daun ditransfer ke akar yang permukaannya luas serta air yang berada di sekitarnya (Haryanti *et al.*, 2009).

### 2.1.2 Komposisi Kimia Eceng Gondok

Komposisi kimia eceng gondok tergantung pada kandungan unsure hara tempatnya tumbuh, dan sifat daya serap tanaman tersebut. Eceng gondok mempunyai sifat dapat menyerap logam-logam berat dan senyawa sulfida. Selain itu eceng gondok mengandung protein lebih dari 11,5% dan mengandung selulosa yang lebih besar dari pada non selulosa seperti lignin, abu, lemak, dan zat-zat lain. Komposisi tepung eceng gondok dalam bentuk bahan kering menurut Mahmilia (2005), adalah protein kasar 6,31%, lemak kasar 2,83%, serat kasar 26,61%, Ca dan P masing-masing 0,47 dan 0,66%, abu 16,12% serta BETN 48,14%. Eceng gondok mengandung anti nutrisi berupa nitrat 0,3%, oksalat 0,6% dan sianida 30 mg/kg basah. Namun dalam penggunaannya sebagai ransum unggas sangat terbatas, karena bahan ini mempunyai kandungan gizi yang rendah dengan kandungan serat kasar yang cukup tinggi.

Hasil analisis proksimat eceng gondok segar menurut laboratorium Ilmu Makanan ternak (2005), yaitu mengandung kadar air sebesar 94,09%, kadar abu 1,415, protein kasar 0,71%, lemak kasar 0,07%, serat kasar 2,19% dan bahan ekstrak tanpa nitrogen 1,25%. Dalam 100% bahan kering eceng gondok mengandung protein kasar dan BETN yang cukup tinggi yaitu 11,2% dan 20%. Mangisah *et al.*, (2009) menambahkan kadar protein kasar daun eceng gondok fermentasi meningkat dari 11,39% menjadi 18,84%) dan kadar serat kasar dari 36,59% menjadi 15,73% dibanding dengan daun eceng gondok yang tidak difermentasi.



Kandungan asam amino pada daun dan petiol eceng gondok dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Asam Amino Daun Eceng Gondok

Asam Amino	Daun (%)
Alanine	3,4
Arginine	3,56
Asparagine	5,05
Cysteine	0,42
Cystine	0,84
Glutamine	5,9
Glycine	3,02
Histidine	1,1
Isoleucine	2,31
Leucine	5,06
Lysine	2,69
Methionine	1,27
Phenylalanine	3,39
Proline	2,72
Serine	2,56
Threonine	2,63
Tyrosine	2,16
Valine	2,79

Sumber: Virabalin *et al.*, (1993)

### 2.1.3 Manfaat Eceng Gondok

Eceng gondok merupakan gulma air yang memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi sehingga sering merusak lingkungan perairan. Kandungan protein yang tinggi pada eceng gondok dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak ruminansia maupun unggas. Kandungan air dan serat kasar yang tinggi membuat eceng gondok susah dicerna oleh hewan ternak. Tingginya kadar serat kasar pada eceng gondok menyebabkan perlu dilakukan pengolahan, salah satunya dengan fermentasi. Fermentasi oleh mikroorganisme mampu mengubah makromolekul kompleks menjadi molekul sederhana yang mudah dicerna oleh unggas dan tidak menghasilkan senyawa kimia beracun (Bidura *et al.*, 2005).

Pesatnya eceng gondok akan berpengaruh terhadap kadar CO<sub>2</sub> yang terdapat di perairan. Peningkatan CO<sub>2</sub> pada air akan mempengaruhi proses fotosintesis. Eceng gondok dapat dimanfaatkan dalam produksi biogas karena

kandungan hemiselulosa yang cukup tinggi. Hemiselulosa merupakan polisakarida kompleks yang merupakan campuran dari polimer. Jika hemiselulosa dihidrolisis akan menghasilkan produk campuran turunan yang dapat diolah dengan metode anaerobik digesti untuk menghasilkan dua senyawa campuran sederhana berupa metan dan karbondioksida yang biasa disebut dengan biogas (Yonathan *et al.*, 2013).

Eceng gondok merupakan tanaman air yang dapat menghasilkan gas yang antara lain berupa gas ammonium sulfat, gas hidrogen, nitrogen dan metan yang dapat diperoleh dengan cara fermentasi. Eceng gondok sebagai bahan baku pupuk tanaman mengandung unsur NPK yang merupakan tiga unsur utama yang dibutuhkan tanaman. Kandungan NPK kompos eceng gondok (dalam % berat kering) masing- masing adalah 1,18 N; 1,09 P; 1,40 K, sedangkan kadar C organik sebesar 17,29 dan rasio C/N sebesar 14,65 (Ratihqah *et al.*, 2008).

## **2.2 Khamir Laut**

### **2.2.1 Karakteristik Khamir Laut**

Khamir adalah organisme seluler dari golongan jamur dan bersifat kemoorganotrof. Khamir yang merupakan protein sel tunggal, bereproduksi seksual dengan spora dan reproduksi aseksual dengan pembelahan atau pertunasan. Dalam saluran pencernaan khamir mampu memproduksi berbagai enzim diantaranya adalah enzim protease, enzim amilase dan enzim lipase yang akan membantu pencernaan makanan dalam tubuh hewan. Sebagai sumber protein, khamir memiliki keunggulan, yaitu memiliki laju pertumbuhan yang tinggi, mampu tumbuh pada kepadatan sel yang tinggi, memiliki daya cerna yang tinggi, memiliki kandungan nutrisi yang tinggi, tidak bersifat racun dan mudah untuk didapatkan (Febriani, 2006). Fardiaz (1989) menyatakan sel khamir mempunyai

ukuran yang bervariasi, yaitu dengan panjang 1-5  $\mu\text{m}$  sampai 20-50  $\mu\text{m}$  dan lebar 1-10  $\mu\text{m}$ .

Khamir laut merupakan khamir yang mampu hidup pada lingkungan yang bersalinitas tinggi. Karakteristik dari khamir laut tidak berbeda jauh dari khamir biasa, yang membedakan hanya habitat dari khamir tersebut. Khamir laut dapat melekat pada mukosa usus hewan, sehingga berpotensi sebagai suplemen probiotik bagi kesehatan hewan. Toleransi pH dan suhu khamir laut untuk hidup yaitu pada kisaran pH 4-4,5 dan kisaran suhu optimum pertumbuhannya 25-30°C (Fardiaz., 1989). Selama pertumbuhan, sel khamir laut dapat menghasilkan beberapa senyawa, diantaranya nukleotida, asam amino, dan faktor tumbuh yang belum teridentifikasi yang menstimulir pertumbuhan dan enzim. Khamir laut juga mengandung vitamin B kompleks seperti thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin. Husen (2014) menambahkan bahwa untuk menunjang kebutuhan hidupnya khamir laut memerlukan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen. Pada uji fermentasi gula, khamir laut mempunyai reaksi positif pada gula dekstrosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, raffinosa, trehalosa, dan negatif pada gula laktosa.

### 2.2.2 Isolasi Khamir Laut

Khamir laut yang bersifat halotoleran (tahan terhadap kadar garam tinggi) dan bersifat fermentatif telah ditemukan di sebagian besar pantai laut dan sungai. Urano *et al.*, (2001), mendapatkan khamir laut yang bersifat halotoleran dan fermentatif di berbagai lingkungan perairan di Jepang, baik di perairan sungai serta di pantai laut. Batas toleransi NaCl untuk pertumbuhan khamir laut 2,3-2,5 M dan khamir sungai 1,2-1,9 M. Sedangkan kemampuan khamir laut fermentatif pada kadar garam dibawah 2,5 M adalah 17-31% pada pantai laut dan 0,4% pada sungai.

Isolasi khamir laut dilakukan dengan memasukkan sampel air laut ke dalam media mineral cair. Kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang dan di shaker dengan kecepatan 120 rpm. Isolasi dilakukan dengan menggunakan pengenceran  $10^{-4}$  dengan air laut steril. Sampel diambil sebanyak 1 ml untuk dibiakkan di media mineral cair dengan metode cawan sebar. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari. Setiap koloni yang berbeda dimurnikan kembali pada medium padat. Isolasi khamir yang diperoleh kemudian dikarakterisasi (Rahmawaty, 2009).

### 2.2.3 Komposisi Kimia Khamir Laut

Ahmad (2005) menyatakan komposisi kimia dari khamir laut *Saccharomyces* sp. terdiri dari protein kasar 50-52 %, karbihidrat 30-37 %, lemak 4-5 % dan mineral sebesar 7-8 %.

Tabel 2. Komposisi Sel Khamir *Saccharomyces* sp.

Senyawa	Jumlah (%)
Abu	5,0 - 9,5
Asam Nukleat	6,0 - 12,0
Lemak	2,0 - 6,0
Nitrogen	7,5 - 8,5

Sumber: Ahmad (2005)

Khamir laut merupakan salah satu jenis khamir yang diisolasi dari laut. Khamir termasuk fungi, tetapi dibedakan dari kapang karena bentuknya yang uniseluler. Kandungan nutrisi, asam amino, asam lemak, dan mineral kultur khamir laut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Nutrisi Khamir Laut

Kandungan		Persentase (%)	mg/100 g	
Analisa proksimat:	Bahan kering oven	71,85	-	
	Protein	28,29	-	
	Lemak	0,34	-	
	BETN	4,33	-	
	Serat Kasar	0,95	-	
	Abu	66,09	-	
Asam amino esensial :	Arginin	0,206	-	
	Histidin	0,262	-	
	Isoleucin	0,310	-	
	Leucin	0,318	-	
	Lisin	0,463	-	
	Threonin	0,187	-	
	Metionin + sistin	0,773	-	
	Valin	0,342	-	
	Phenylalanin	0,274	-	
	Asam Lemak :	Oleat	14,447	-
		Linoleat	7,469	-
Linolenat		0,875	-	
Stearat		28,726	-	
Laurat		1,842	-	
Palmitat		17,437	-	
Mineral :	Ca	-	2.161	
	P	-	2.276	
	Cl	-	7.452,459	
	Mn	-	2.844	
	Zn	-	266.241	
	Mg	0,09	-	

Sumber : Febriani (2010)

#### 2.2.4 Manfaat Khamir Laut

Pada saat ini, khamir paling banyak digunakan untuk keperluan berbagai industri dalam proses produksi fermentasi minuman beralkohol, biomasa, ekstrak untuk keperluan industri kimia dan produksi protein rekombinan untuk menunjang kegiatan bioteknologi khususnya bidang molekuler biologi. Peranan khamir dalam bidang biologi molekuler adalah sebagai mikroba eukariot uniseluler yang mempunyai kemampuan untuk disisipkan dengan gen mikroba yang lain. Khamir memiliki komponen terbesar glukosa dan manan serta terdapat kitin dan protein sedangkan membran selnya terdiri atas lipid dan protein (Yomes, 2006).

Ahmad (2005) menyatakan bahwa selain untuk keperluan pembuatan roti dan bioteknologi untuk manusia, khamir jenis *S. cerevisiae* juga dipakai untuk meningkatkan kesehatan ternak yaitu sebagai probiotik dan imunostimulan dalam bentuk feed additive. Ternak yang dapat mengkonsumsi *S. cerevisiae* adalah golongan ikan, ruminansia dan unggas. Keuntungan penggunaan *S. cerevisiae* sebagai probiotik adalah tidak membunuh mikroba bahkan menambah jumlah mikroba yang menguntungkan, berbeda dengan antibiotika dapat membunuh mikroba yang merugikan maupun menguntungkan tubuh, dan mempunyai efek resistensi. Demikian pula dengan penggunaan *S. cerevisiae* sebagai bahan imunostimulan. Imunostimulan berfungsi untuk meningkatkan kesehatan tubuh dengan cara meningkatkan sistem pertahanan terhadap penyakit-penyakit yang disebabkan bakteri, cendawan, virus dan lainnya, sedangkan penggunaan antibiotika hanya untuk membunuh bakteri.

### **2.3 Molase**

#### **2.3.1 Karakteristik Molase**

Molase (tetes tebu) merupakan limbah dari pengolahan tebu yang berupa cairan kental berwarna coklat tua kehitaman, berbau manis dan rasanya pahit. Molase diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula dan masih mengandung gula 50 – 60 %, asam amino dan mineral. Valensi (2012) mengungkapkan gula – gula yang terkandung di dalam molase tersebut mudah dicerna dan diserap oleh sel. Molase memiliki kandungan kalori yang cukup tinggi, karena terdiri dari glukosa dan fruktosa. Ditambahkan Steviani (2011), bahwa molase tidak dapat dikristalkan karena kandungan glukosa dan fruktosanya. Jumlah molase dan komposisinya tergantung dari keadaan tebu dan proses pembuatan gula di pabrik.

Kandungan gula yang cukup tinggi menyebabkan molase termasuk dalam kelompok bahan pangan yang awet. Molase masih banyak mengandung gula dan asam-asam organik yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi dalam proses fermentasi (Fifendy *et al.*, 2013). Tamad dan Maryanto (2010) mengungkapkan bahwa molase yang merupakan sumber karbon mengandung sukrosa 30 – 40 %, K, Ca, Mg, Fe, Na dan P. Molase juga mengandung senyawa N, asam aspartat, asam glutamat dan vitamin (niasin, asam pantetonat, riboflavin dan biotin). Simanjutak (2009) menyatakan bahwa pH molase berkisar antara 5,5-6,5. Molase yang disimpan pada suhu 30 – 35°C, hanya sedikit sekali mengalami kerusakan. Kerusakan yang timbul yaitu kehilangan gula yang difermentasikan sebanyak 2 – 3 % dari konsentrasi awal (Valensi, 2012). Komposisi nutrisi molase dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Nutrisi Molase

Nutrisi	Presentase (%)
Agar	15-24
Sukrosa	30-40
Gula tereduksi	15-32
Protein kasar	2-4,6
K <sub>2</sub> O	3-6,5
Na <sub>2</sub> O	0,5-3
Ca	0,5-4,7
Mg	0,5-1,7
Cu	0-0,4
Zn	0,1-1,5
P <sub>2</sub> O	0,01-0,3

Sumber: Kusumawardhani (2003)

### 2.3.2 Manfaat Molase terhadap Pertumbuhan Khamir Laut

Molase yang merupakan limbah dari pembuatan gula pasir sering dimanfaatkan dalam proses fermentasi sebagai bahan pembuat alkohol, dan bahan pembuatan sirup dan minuman (Wulandari *et al.*, 2012). Selain itu upaya lain untuk memanfaatkan molase adalah sebagai bahan pakan ternak. Karena kandungan nutrisi yang lengkap seperti karbohidrat, protein dan glukosa, molase

juga digunakan untuk mengkultur bakteri. Kandungan nutrisi pada molase dapat digunakan sebagai sumber energi mikroorganisme (Suminto, 2008).

Kandungan nutrisi yang cukup tinggi pada molase sering dijadikan sebagai sumber karbon dalam media fermentasi. Menurut Simanjutak (2009), molase banyak mengandung gula dan asam-asam organik. Kandungan gula dari molase terutama sukrosa berkisar 40-55 %, sehingga molase dijadikan sebagai bahan alternatif untuk pengganti glukosa untuk memenuhi kebutuhan khamir (yeast) pada proses fermentasi. Selain itu molase merupakan salah satu bahan tambahan yang telah terbukti mampu mengurangi kerusakan bahan kering terutama karbohidrat yang mudah larut dan memperbaiki proses fermentasi (Jasin, 2004).

#### **2.4 Perebusan**

Pengolahan panas merupakan salah satu cara yang telah dikembangkan untuk memperpanjang daya simpan bahan pangan. Pengolahan dapat menghasilkan produk pangan dengan sifat-sifat yang diinginkan yaitu aman, bergizi, dan dapat diterima dengan baik secara sensori maupun kimia sehingga dapat lebih diterima oleh konsumen. Pengolahan juga dapat menimbulkan hal yang sebaliknya seperti kehilangan zat-zat gizi dan perubahan sensori (warna, tekstur, bau, dan cita rasa) yang kurang disukai (Budy, 2014).

Perebusan memiliki kelebihan yaitu mendestruksi dan menurunkan jumlah mikroba, meningkatkan daya cerna zat gizi, mengubah tekstur, warna, dan cita rasa yang diinginkan, dan meningkatkan kelarutan zat gizi. Namun demikian, perebusan juga mengakibatkan kehilangan beberapa zat gizi terutama zat-zat yang larut dalam air misalnya asam askorbat dan mineral. Denaturasi protein merupakan penyebab utama kehilangan air dan perubahan tekstur pada bahan pangan. Sejalan dengan terjadinya proses denaturasi ikatan peptida pada



protein mengalami kerusakan sehingga molekul protein lebih sederhana dan lebih mudah dicerna oleh mikroorganisme. Proses perebusan juga dapat menyebabkan terlarutnya protein pada air sebagai media perebusan, sehingga pada saat bahan dipisahkan dari air perebusan menyebabkan turunnya kandungan protein dan asam amino pada bahan saat dianalisis. Asam amino yang menurun setelah proses perebusan saat dianalisis disebabkan karena asam amino merupakan penyusun protein (Nurjannah *et al.*, 2014).

Pemanasan seperti perebusan juga dapat memberikan pengaruh dalam perubahan komponen kimia dari molase, dimana molase merupakan hasil samping dari pembuatan gula yang mengandung sukrosa 48-55%. Sukrosa bersifat non pereduksi karena tidak mempunyai gugus OH bebas yang reaktif, tetapi selama pemanasan sukrosa dihidrolisis menjadi monosakarida jenis glukosa dan fruktosa yang merupakan gula pereduksi sehingga lebih mudah dicerna oleh mikroorganisme (Susanto dan Setyohadi, 2011).

## 2.5 Protein dan Asam Amino

Protein merupakan salah satu kelompok makronutrien yang berperan penting dalam pembentukan biomolekul sebagai sumber energi. Struktur protein yaitu mengandung N, di samping C, H, O, S dan kadang kadang P, Fe dan Cu dengan protein). Protein dalam bahan makanan sangat penting dalam proses kehidupan organisme. Fungsi protein pada makhluk hidup diantaranya sebagai bahan bakar atau energi karena mengandung karbon, sebagai zat pengatur yaitu mengatur berbagai proses tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung (Maharani dan Yusrin, 2010). Tingginya nilai protein pada bahan pangan dapat ditentukan dari asam amino dan daya cerna protein itu sendiri.

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein. Asam amino dibagi menjadi dua kelompok yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi di dalam tubuh sehingga harus ditambahkan melalui asupan makanan. Sedangkan asam amino non esensial yaitu asam amino yang dapat diproduksi oleh tubuh. kandungan protein atau asam amino pada tepung ikan dipengaruhi oleh bahan baku ikan yang digunakan serta proses pembuatannya (Sitompul, 2004).

Berdasarkan polaritas gugus - R, asam amino menurut Sumarno *et al.*, (2002) dibedakan menjadi 4 golongan yaitu:

- (1) asam amino dengan gugus - R yang bersifat nonpolar, seperti alanin, leusin, isoleusin, valin, prolin, fenilalanin, triptofan dan metionin,
- (2) asam amino dengan gugus - R polar tidak bermuatan, seperti serin, treonin, tirosin, asparagin, glutamin, sistein dan glisin,
- (3) asam amino dengan gugus - R polar bermuatan positif, seperti lisin, arginin dan histidin,
- (4) asam amino dengan gugus - R polar bermuatan negatif, seperti asam aspartat dan asam glutamat.

## 2.6 Protease

Enzim protease dapat digunakan untuk mempercepat laju hidrolisis dalam konversi biomassa digestasi anaerobik (Romano,2009). Enzim protease juga disebut dengan enzim proteolitik atau proteinase. Protease menguraikan protein menjadi molekul yang lebih kecil, dimana setiap enzim protease memiliki kemampuan yang berbed-beda dalam menghidrolisis ikatan peptida Dengan proses enzimatik, substrat yang berupa senyawa organik kompleks tersuspensi dengan molekul besar. Substrat dapat diubah menjadi senyawa organik sederhana dengan molekul kecil yang mudah larut sehingga dapat

dimetabolisme langsung oleh mikroorganisme (Purwati *et al.*, 2011). Enzim protease juga dapat menghasilkan produk hidrolisat yang bersifat mudah larut dan menjadi sumber nutrisi yang digunakan oleh mikroorganisme pembentuk asam-asam organik. Enzim protease akan bekerja optimal pada kisaran pH 4,5-7,0 dan suhu dengan kisaran 55-75°C.

Enzim protease digunakan sebagai biokatalisator pada berbagai reaksi kimia diantaranya yaitu reaksi hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerisasi, adisi, transfer gugus, dan pemutusan rantai karbon. Penelitian tentang isolasi protease dan aplikasinya telah dilakukan oleh beberapa peneliti seperti isolasi protease alkali termostabil dari *B. thermoglucosidasius* AF-01 dan penggunaan protease dari *Bacillus* sp. dalam mendeproteinasi lateks. Pertumbuhan mikroorganisme proteolitik penghasil enzim protease juga membutuhkan kofaktor sebagai sumber mineral seperti, mangan, kalsium, besi, nitrogen, sulfur, dan magnesium, karena mikroorganisme juga membutuhkan nutrisi yang lengkap (Kandolla *et al.*, 2012).

## 2.7 Fermentasi

### 2.7.1 Definisi Fermentasi

Pada awalnya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses perubahan glukosa menjadi etanol yang berlangsung secara anaerob. Kemudian istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan oleh mikroorganisme. Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi suatu proses yang merubah substrat menjadi bahan organik atau komponen yang mengandung bahan organik dengan bantuan mikroorganisme. Fermentasi merupakan kegiatan mikroorganisme pada bahan pangan sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki. Mikroorganisme yang umumnya terlibat dalam fermentasi adalah bakteri, khamir, dan kapang. Fermentasi dapat dilakukan dengan menggunakan kultur murni atau kultur

campuran. Fermentasi menggunakan kultur murni umumnya dilakukan pada proses fermentasi tradisional yang memanfaatkan mikroorganisme yang ada di lingkungan (Jannah, 2010).

Teknologi fermentasi merupakan salah satu upaya manusia dalam memanfaatkan bahan-bahan yang harganya relatif murah menjadi produk yang bernilai ekonomi tinggi dan berguna bagi kesejahteraan manusia. Bahan pangan yang telah mengalami fermentasi akan mempunyai nilai gizi yang lebih besar dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini disebabkan karena mikroba bersifat katabolik atau memecah komponen-komponen yang kompleks menjadi zat-zat yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna dan dapat memecah bahan-bahan dengan enzim-enzim tertentu yang semula tidak dapat dicerna oleh manusia. Hal dasar yang dapat membedakan antara fermentasi dengan proses pembusukan adalah fermentasi menghasilkan zat-zat yang memberikan rasa dan aroma yang spesifik dan disukai orang, sedangkan proses pembusukan adalah proses yang menghasilkan bau busuk (Murniyati dan Sunarman, 2000).

Proses fermentasi tergantung pada banyak sedikitnya khamir yang ditambahkan dalam bahan. Juwita (2012) menyatakan bahwa lamanya proses fermentasi tergantung pada bahan baku yang digunakan dan jenis produk yang akan dihasilkan. Semakin lama fermentasi maka asam yang dihasilkan akan lebih banyak. Proses terjadinya penurunan pH dapat terjadi dari awal fermentasi yang diakibatkan oleh terbentuknya asam-asam selama proses fermentasi berlangsung. Asam-asam yang terbentuk yang berupa asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat dapat menurunkan pH dari produk fermentasi. faktor yang mempengaruhi berlangsungnya proses fermentasi diantaranya adalah:

a. Keasaman (pH)

Tingkat keasaman sangat berpengaruh dalam perkembangan bakteri. Kondisi keasaman yang baik untuk bakteri adalah 4,5 - 5,5.

b. Mikroba

Fermentasi biasanya dilakukan oleh mikroorganisme yang dihasilkan dari kultur murni di laboratorium. Mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi bisa bersifat aerob maupun anaerob.

c. Suhu

Suhu fermentasi sangat menentukan jenis mikroba yang dominan dapat hidup selama proses fermentasi terjadi. Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan yang maksimal, suhu pertumbuhan minimal, dan suhu optimal.

d. Oksigen

Selama proses fermentasi berlangsung, oksigen harus diatur sebaik mungkin untuk memperbanyak atau menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau membentuk sel-sel baru.

e. Waktu

Laju pertumbuhan mikroba bervariasi menurut spesies dan kondisi pertumbuhannya. Pada kondisi optimal, bakteri akan membelah sekali setiap 20 menit.

### 2.7.2 Efektivitas Fermentasi dengan Biokatalisator Khamir Laut

Proses fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroorganisme penyebab fermentasi pada substrat bahan organik. Syarat mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi adalah mampu menghasilkan enzim dalam jumlah yang besar. Dari organisme-organisme yang memfermentasi bahan pangan yang paling penting adalah bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam asetat dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol. Khamir adalah salah satu mikroorganisme bersel tunggal dengan wujud kehidupan yang lengkap sehingga khamir memiliki produktivitas enzim dan kapasitas fermentatif

yang lebih tinggi dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya (bakteri dan jamur) (Budy, 2014).

Khamir dapat memanfaatkan heksosa monosakarida seperti glukosa, fruktosa, mannose dan galaktosa sebagai nutrisi pertumbuhannya. Pada proses fermentasi, penguraian glukosa menjadi piruvat, alkohol, laktat, atau CO<sub>2</sub> dan air dapat berlangsung melalui beberapa jalan metabolisme, tergantung keadaan lingkungan, keadaan sel, atau macam jasadnya. Widyanti (2010) menyatakan bahwa satu macam jasad hidup dapat melakukan satu atau lebih jalur metabolisme penguraian glukosa, tergantung keperluan dan proses penguraian tersebut.

## **2.8 Hidrolisat Protein**

### **2.8.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein**

Hidrolisis diartikan sebagai pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana. Menurut Haslaniza *et al.*, (2010), hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hidrolisat protein adalah hasil hidrolisis protein secara enzimatik atau kimiawi yang mengandung peptida yang berat molekulnya lebih rendah dan asam amino bebas. Pembuatan hidrolisat protein merupakan salah satu usaha dalam menambah sumber protein yang kaya dengan asam amino. Produk hidrolisat mempunyai kelarutan pada air yang tinggi, kapasitas emulsinya baik, kemampuan mengembang besar serta mudah diserap oleh tubuh (Purbasari,2008).

Produk hidrolisat protein mempunyai kadar protein yang tinggi sehingga cocok untuk digunakan sebagai fortifikasi bahan pangan berprotein rendah

(Haslina, 2012). Hidrolisat protein memiliki beberapa kegunaan pada industri pangan, pakan maupun farmasi. Pada industri pangan, hidrolisat protein dapat ditambahkan ke dalam formula makanan non-alergenik untuk bayi dan suplemen makanan diet. Pada industri pakan, hidrolisat dapat disubstitusikan dengan tujuan untuk pengkayaan protein pada pakan yang akan dihasilkan.

### **2.8.2 Teknologi Hidrolisat Protein**

Proses hidrolisis dapat dilakukan dengan penambahan asam, basa maupun enzim. Penambahan asam maupun basa dapat merusak beberapa gugus asam serta menghasilkan senyawa karsinogenik pada hidrolisat protein yang dihasilkan. Seiring dengan perkembangan teknologi pada pengolahan pangan, mengarah pada penggunaan bahan yang lebih aman untuk menggantikan penggunaan bahan-bahan kimia yang berbahaya, yaitu hidrolisis menggunakan enzim. Peningkatan konsentrasi enzim ternyata akan meningkatkan volume hidrolisat protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Kecepatan katalisis enzim meningkat pada konsentrasi enzim yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim berlebih, maka proses tersebut tidak efisien. Penggunaan enzim dalam proses hidrolisis diharapkan lebih menguntungkan dari pada menggunakan asam maupun basa.

Pada pembuatan hidrolisat protein secara garis besar terdiri dari proses pemasakan, pengepresan dan penggilingan. Kholilah (2002), menyatakan bahwa pemasakan (perebusan) diperlukan untuk mendenaturasi protein dan memecah dinding sel sehingga lemak dan air dapat dikeluarkan. Dalam proses hidrolisis protein akan mengalami pemecahan secara bertahap menjadi suatu molekul peptida yang sederhana dan asam amino. Purbasari (2008) menambahkan bila hidrolisis berjalan sempurna maka akan dihasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 18-20 macam asam amino.

### 2.8.3 Karakteristik Hidrolisat Protein

Produk hidrolisat protein ikan memiliki karakteristik warna yang berbeda-beda tergantung dari pigmen bahan baku yang digunakan. Penggunaan panas selama proses hidrolisis kemungkinan menjadi penyebab terjadinya pencoklatan pada HPI (Ariyani *et al.*, 2003). Purbasari (2008) menambahkan bahwa faktor yang mempengaruhi kecepatan hidrolisis dan kekhasan hidrolisat yang dihasilkan adalah suhu, pH, waktu, dan konsentrasi bahan penghidrolisis sedangkan warna, bau, rasa dan tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan baku, kondisi serta enzim penghidrolisis yang digunakan. Bila dilakukan secara sempurna maka diperoleh hidrolisat dengan 18 sampai 20 macam asam amino.

Hidrolisat protein mempunyai sifat kelarutan yang tinggi seiring dengan meningkatnya nilai derajat hidrolisis. Produk hidrolisat protein memiliki pH terbaik untuk kondisi hidrolisis terbaik yaitu pada pH 3-4, karena sesuai dengan aktivitas optimum enzim proteolitik. Selain itu produk hidrolisat protein umumnya mengalami peningkatan kandungan protein dari hasil hidrolisis enzim protease. Koesoemawardani *et al.*, (2011) menambahkan dengan meningkatnya protein terlarut maka kapasitas pengikatan lemak akan mengalami penurunan. Sifat fungsional protein HPI dapat diketahui dari derajat keasaman, stabilitas emulsi dan daya buih

Derajat keasaman (pH) berhubungan dengan daya simpan produk. Apabila produk yang memiliki nilai pH tinggi maka tidak dapat disimpan lama tetapi jika pH rendah maka pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk akan dihambat dan dapat memperpanjang daya simpan. Nilai pH setelah fermentasi relatif mengalami penurunan. Husen (2014) menambahkan bahwa penurunan pH hidrolisat protein yang relatif rendah menyebabkan ion  $H^+$  akan berikatan dengan  $NH_3^+$  pada struktur asam amino protein membentuk  $NH_4^+$ . Proses pengikatan



tersebut menyebabkan ikatan antara atom nitrogen dengan atom hidrogen lainnya terputus, sehingga enzim terdenaturasi.

Produk hidrolisat mempunyai kelarutan pada air yang tinggi, kapasitas emulsinya baik, kemampuan mengembang besar serta mudah diserap tubuh (Purbasari, 2008). Daya emulsi merupakan kemampuan hidrolisat protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutan produk. Rieuwpassa *et al.*, (2013) menyatakan bahwa kapasitas emulsi disebabkan oleh kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak yang berkaitan dengan keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik asam amino.

Daya buih berkaitan erat dengan sifat *amfoter* asam amino, dimana daya buih berkaitan dengan asam amino hidrofobik, sedangkan kapasitas emulsi berkaitan dengan asam amino hidrofobik (nonpolar) dan hidrofilik (polar). Koesoemawardani *et al.*, (2010) menyatakan bahwa hidrolisat yang mempunyai nilai protein terlarut yang tinggi maka daya buihnya juga tinggi, sedangkan untuk penentuan karakteristik buih dapat dilihat dari kekuatan asam amino dalam memerangkap gas.

## 2.9 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Penggunaan teknik kromatografi cair kinerja tinggi, atau HPLC membuka dimensi baru dalam analisis protein, peptida dan asam amino, terutama dari segi efektivitas pemisahan, kecepatan analisis dan sensitivitas deteksi. Hal ini karena HPLC dapat memisahkan campuran analit secara langsung dalam kolom yang sesuai, seperti dalam metoda analisis asam amino. Derivatisasi dalam HPLC bertujuan untuk mengubah analit menjadi bentuk yang dapat terdeteksi oleh sistem detektor yang digunakan, sesuai dengan sensitivitas yang diperlukan. Untuk mendapatkan sensitivitas dan selektivitas yang tinggi digunakan detektor

spektrofluorometer. Dalam hal ini derivatisasi dilakukan agar diperoleh senyawa yang berfluoresensi kuat. Derivatisasi asam amino dengan *o*-ftalaldehid (OPA) atau dengan 1-dimetilaminonaftalen-5-sulfonil klorida (dansil klorida) sering dilakukan secara pra-kolom maupun pasca-kolom (Sumarno *et al.*, 2002).

Metode pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul komponen antara fase gerak dan fase diam yang kepolarannya berbeda. Apabila molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fase diam maka komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fase diam. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fase diam (Lestari, 2014).

HPLC atau yang biasa dikenal dengan KCKT memiliki prinsip kromatografi, yang didalamnya terdapat proses pemisahan dan sekaligus pengukuran. Metode KCKT memiliki beberapa kelebihan yaitu waktu analisis cepat, volume sampel yang diperlukan sedikit, kepekaan tinggi, kolom dapat digunakan kembali, dan dapat digunakan untuk sampel organik ataupun anorganik (Sabrina *et al.*, 2011). Tekanan yang digunakan pada HPLC dapat mencapai 5.000 *psi*, bahkan beberapa alat dirancang menggunakan sampai 10.000 *psi*. Oleh karena HPLC merupakan pengembangan dari kromatografi kolom, maka tergantung pada kolom yang digunakan pada HPLC. Kolom HPLC dapat berupa kromatografi kolom partisi, tografi kolom adsorpsi, kromatografi gel, kromatografi penukar ion.

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk kultur khamir laut terdiri dari air laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), starter khamir laut, plastik, plastik *wrap*, dan kapas. Bahan-bahan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari stok khamir laut mix, gula pasir, pupuk daun (hortigro), kapas, alkohol, dan tissue. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein eceng gondok adalah eceng gondok yang terdiri dari akar, batang dan daun yang diperoleh dari Bendungan Selorejo Kecamatan Ngantang Kabupaten Malang, Jawa Timur. Dimana setiap 100 gram eceng gondok memiliki kisaran berat akar 30,12 gram, batang 35,91 gram, dan daun 34,65 gram sebagai bahan dasar pembuatan hidrolisat protein eceng gondok. Bahan lain yang digunakan yaitu molase (tetes tebu) yang diperoleh dari pabrik tebu Kebon Agung, Pakisaji, Malang, inokulan khamir laut mix, botol plastik sebagai fermentor, kertas label dan akuades.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia terdiri dari silika gel, benang kasur, kertas saring, petroleum eter,  $H_2SO_4$ , tablet kjeldahl, akuades,  $H_3BO_3$ , NaOH, indikator *metil orange*, kertas label, dan minyak jagung.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir laut terdiri dari botol kaca, kompor, panci perebusan, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, aerator, selang, corong, dan beaker glass 1000 mL. Peralatan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut mix terdiri dari mikroskop, *Petroff-Hauser Chamber (Haemocytometer)*, mikropipet, *cover glass*,

rak tabung reaksi, tabung reaksi, *vortex mixer*, bola hisap, pipet volume 10 mL, erlenmeyer, gelas ukur 100 mL, timbangan digital, spatula, bunsen, sprayer, dan corong.

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein eceng gondok terdiri dari kompor, panci, *waterbath*, *beaker glass* 1000 mL, timbangan digital, piring plastik, bola hisap, pipet volume 10 mL, aerator, selang, dan blender.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia terdiri dari pH meter, oven, desikator, botol timbang, loyang, *crushable tang*, *goldfish*, sampel tube, gelas piala, gelas ukur 100 mL, corong, timbangan digital, kuvet, sentrifus, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, cawan petri, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass* 50 mL, kurs porselen, destruksi, destilasi, statif, buret, *hot plate*, dan *muffle*.

## 3.2 Metode Penelitian

### 3.2.1 Metode

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang secara sengaja dilakukan oleh peneliti terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna diamati pengaruhnya (Jaedun, 2011). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki seberapa besar dan ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir, 2005).

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu pembuatan kultur khamir laut mix untuk mendapatkan inokulan khamir laut mix yang dipanen pada

fase pertumbuhan atau log. Setelah itu, inokulan yang diperoleh digunakan sebagai biokatalisator dengan tujuan untuk mengetahui hidrolisat protein eceng gondok yang optimal berdasarkan analisis proksimat, pH, kapasitas emulsi, dan daya buih, sehingga dari hasil yang terbaik digunakan untuk acuan dalam analisis profil asam amino.

### 3.2.2 Variabel

Variabel ialah suatu karakteristik yang memiliki dua atau lebih nilai atau sifat yang berdiri sendiri-sendiri. Variabel terdiri dari variabel bebas dan terikat. Variabel bebas ialah faktor yang menyebabkan suatu pengaruh sedangkan variabel terikat ialah faktor yang diakibatkan oleh pengaruh tersebut (hasil) (Sevilla *et al.*, 2006). Penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah volume molase dan lama fermentasi, sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah analisis proksimat (meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), pH, daya buih, kapasitas emulsi, dan profil asam amino.

## 3.3 Prosedur Penelitian

### 3.3.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut mix

Prosedur penentuan fase log dilakukan dengan pengamatan melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap 12 jam sekali kultur khamir laut mix untuk diukur kepadatannya dengan menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop. Berdasarkan penelitian Jannah (2012), hasil tingkat kekeruhan dan pengamatan mikroskop menunjukkan bahwa pertumbuhan khamir laut pada hari ke-3 mempunyai tingkat kekeruhan yang paling tinggi dimana khamir laut mengalami pembelahan sangat cepat dan dikenal dengan istilah fase log. Sedangkan menurut Akili (2012) menyatakan

bahwa pertumbuhan khamir laut yang paling tinggi terdapat pada hari ke-2. Oleh karena itu, dilakukan pengamatan kultur khamir laut mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-4 untuk mengetahui tingkat pertumbuhan khamir laut yang paling optimum.

### 3.3.2 Prosedur Pembuatan Kultur Khamir Laut

Prosedur pertama yang dilakukan dalam penentuan fase log yaitu mengkultur khamir laut. Tahapan dalam mengkultur khamir laut yaitu disiapkan bahan-bahan seperti air laut, gula pasir, pupuk daun, dan biakan khamir laut. Air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Air laut steril yang sudah dingin kemudian dimasukkan ke dalam botol gelas kaca, lalu ditambahkan gula pasir 0,5% sebagai sumber nutrisi dan pupuk daun 0,2% sebagai sumber nitrogen (v:b) serta dihomogenkan sehingga diperoleh media khamir laut. Lalu ditambah starter khamir laut sebanyak 0,2% dari air laut yang digunakan (v:v) dan dihomogenkan. Kultur khamir laut yang telah siap kemudian ditutup dengan kapas dan dilapisi plastik *wrap* untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan, lalu diberi aerasi yang cukup untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut. Aerasi dilakukan selama empat hari untuk dilakukan pengamatan tingkat kepadatan sel khamir laut. Diagram alir kultur khamir laut mix dapat dilihat pada lampiran 2.

### 3.3.3 Prosedur Pembuatan Media Pengenceran dan Perhitungan Khamir Laut

Prosedur perhitungan kepadatan sel khamir laut yaitu pada hari pertama sampai hari ke-empat kultur khamir laut yang telah diaerasi diambil sebanyak 1 mL untuk dilakukan pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Namun terlebih dahulu

disiapkan media yang akan digunakan. Adapun prosedur pembuatan media khamir laut menurut Akili (2012) yaitu air laut sebanyak 100 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Lalu diambil air laut steril sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 0,25% (b/v) dan pupuk daun sebanyak 0,1% (b/v) serta dihomogenkan. Setelah media yang akan digunakan siap, langkah selanjutnya adalah perhitungan kepadatan sel khamir laut mix dengan menggunakan *haemocytometer*.

Prosedur kerja perhitungan kepadatan sel khamir laut mix yaitu diambil 9 mL media khamir laut dan dimasukkan pada masing-masing lima tabung reaksi untuk diberi perlakuan tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$  dan sebagai blanko. Tabung reaksi  $10^{-1}$  yang telah berisi media diberi kultur khamir laut mix sebanyak 1 mL yang telah diaerasi, lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex mixer*. Setelah itu, dari tabung reaksi  $10^{-1}$  yang telah dihomogenkan diambil sebanyak 1 mL untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi  $10^{-2}$  dan dihomogenkan, serta dilakukan pengenceran dengan cara yang sama sampai tabung reaksi  $10^{-4}$ . Selanjutnya, dari hasil pengenceran  $10^{-4}$  diuji kepadatan khamir laut mix dengan *haemocytometer*. Diagram alir pembuatan media pengenceran khamir laut dapat dilihat pada lampiran 4.

### 3.3.4 Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok

#### 3.3.4.1 Prosedur Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus

Pada pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus, yaitu menggunakan eceng gondok rebus dan molase rebus dengan starter khamir laut. Husen (2014), menyatakan bahwa khamir bersifat aerob obligat meskipun ada beberapa yang bersifat anaerob fakultatif. Khamir dapat bereproduksi secara

vegetatif dan generatif. Silalahi dan Ikhsan (2014), menyatakan bahwa sebagian besar fermentasi berlangsung secara aerobik, sehingga membutuhkan sejumlah oksigen. Kebutuhan oksigen dapat dipenuhi dengan cara menggunakan aerasi untuk memberikan suplai oksigen. Pada proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok terdiri dari penelitian pendahuluan untuk menentukan volume molase rebus dan volume khamir laut yang ditambahkan serta lama waktu fermentasi hidrolisat protein eceng gondok rebus.

Penelitian pendahuluan yang dilakukan terdiri dari penentuan volume molase rebus dan lama fermentasi yang optimal serta penentuan volume khamir laut yang ditambahkan. Penentuan volume molase rebus dan lama fermentasi dilakukan empat kali percobaan. Penentuan volume khamir laut meliputi 2 kali percobaan dengan penambahan khamir laut sebanyak 1,25 mL dan 2,5 mL.

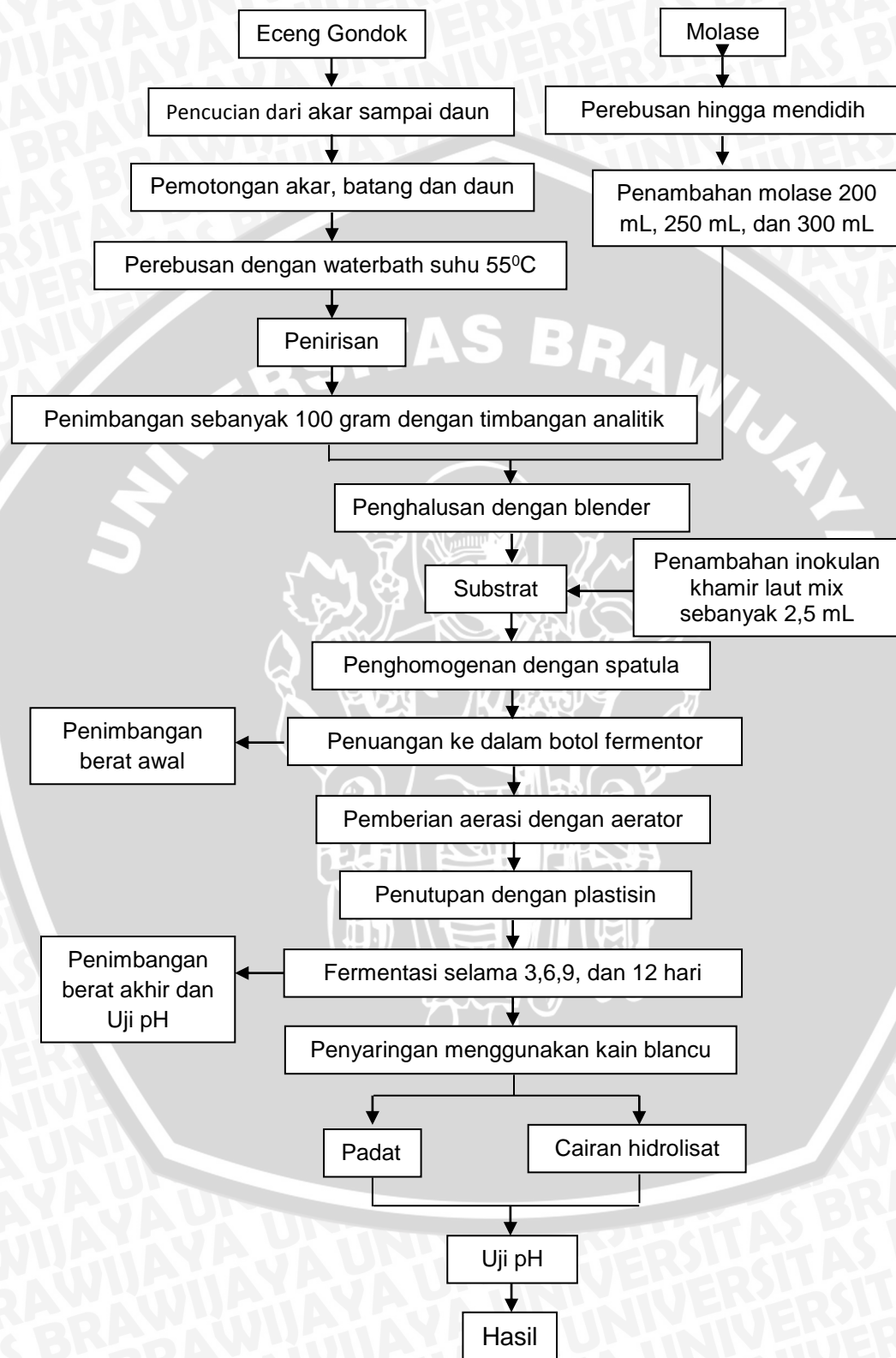
Pengujian yang dilakukan dalam penelitian pendahuluan meliputi pengamatan organoleptik, perhitungan rendemen, dan pengukuran pH. Pengamatan organoleptik diamati dari segi warna, penampakan dan bau dari hasil fermentasi eceng gondok. Hatmiko *et al.*, (2010) menyatakan bahwa fermentasi yang baik memiliki warna yang tidak jauh berbeda dengan warna bahan bakunya, memiliki pH rendah dan beraroma asam, bertekstur lembut, tidak berjamur dan tidak berlendir.

Pengukuran rendemen dilakukan dengan menghitung berat awal sebelum difermentasi dan berat akhir setelah fermentasi, kemudian dihitung % rendemen. Rendemen merupakan jumlah persentase sampel akhir setelah proses fermentasi dan dinyatakan dalam % (persen). Purbasari (2008) menyatakan bahwa rendemen produk hidrolisat protein merupakan persentase banyaknya produk hidrolisat yang dihasilkan terhadap bahan yang digunakan sebelum proses hidrolisis.



Pengukuran pH dilakukan pada sampel hidrolisat protein eceng gondok rebus pada kontrol (hari ke-0) dan fermentasi 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari. Residu dan filtrat hasil penyaringan juga dilakukan pengukuran pH untuk mengetahui bahwa produk benar-benar telah mengalami fermentasi. Simanjorang (2012) menyatakan penurunan pH selama fermentasi disebabkan oleh terbentuknya peptida maupun asam-asam amino semakin banyak, yang disebabkan pemecahan protein oleh enzim. Selain itu, kontaminan dari enzim yang ditambahkan juga mempengaruhi perubahan pH hidrolisat. Prosedur pengujian pH yaitu elektroda dibilas dengan menggunakan akuades dan dikeringkan dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam larutan buffer (larutan penyangga) pH 4 dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka 4. Elektroda dicuci lagi dengan akuades dan dikeringkan dengan tissue. Lalu elektroda dicelupkan ke dalam larutan buffer pH 7 dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sampel yang akan diuji dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka yang konstan dan dicatat angka yang dihasilkan.

Diagram alir penelitian pendahuluan pembuatan hidrolisat protein eceng gondook rebus dapat dilihat pada Gambar 2.

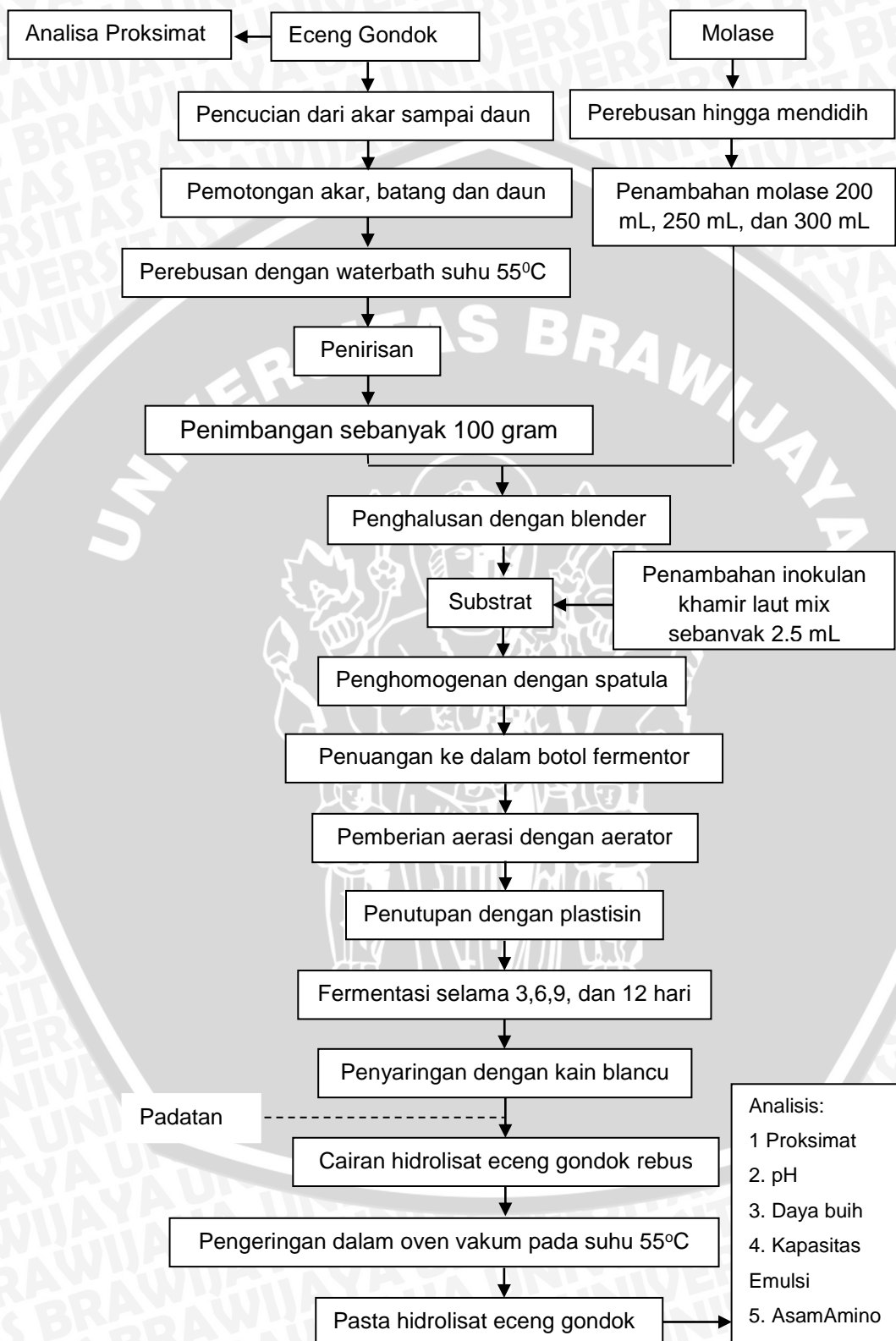


Gambar 2. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus (modifikasi Budy, 2014).

#### 3.3.4.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus

Prosedur pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus yaitu eceng gondok dicuci hingga bersih dari akar sampai daun kemudian dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dipanaskan di waterbath dengan menggunakan akuades perbandingan 1:2 (b:v) pada suhu 55°C selama 15 menit. Setelah itu ditiriskan, ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam blender dan ditambahkan molase rebus dengan volume yang berbeda yaitu 200 mL, 250 mL, dan 300 mL dan dihaluskan. Substrat yang telah siap, ditambah inokulan khamir laut mix sebanyak 2,5 mL, kemudian ditutup dan diberi aerasi yang cukup untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut mix. Lalu difermentasi selama 3, 6, 9 dan 12 hari pada suhu ruang. Kemudian sampel disaring dengan menggunakan kain blacu hingga didapatkan cairan hidrolisat protein eceng gondok rebus. Lalu dipastakan dengan menggunakan oven vakum pada suhu 55°C sampai menjadi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dan dilakukan pengujian yang meliputi analisis proksimat, pH, daya buih, dan kapasitas emulsi. Sampel dengan hasil terbaik digunakan dalam uji profil asam amino.

Diagram alir pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 3. Diagram Alir pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus (modifikasi Body, 2014)

### 3.4 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah RAK (Rancangan Acak Kelompok). Rancangan Acak Kelompok (RAK) merupakan rancangan percobaan yang digunakan pada kondisi tempat yang tidak homogen. Bila kita menghadapi kondisi tempat percobaan tidak homogen, maka dipakai prinsip pengawasan setempat (*local control*), artinya tempat percobaan harus dikelompokkan menjadi bagian-bagian yang relatif homogen. Pada bagian yang sudah dianggap homogen bisa dikatakan sah (*valid*) untuk mengadakan pengujian (Sastrosupadi, 2000).

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga perlakuan dan lima kelompok. Dengan perlakuan molase rebus 200 mL, molase rebus 250 mL, molase rebus 300 mL dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu kelompok hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12. Rancangan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Model rancangan percobaan penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Model Rancangan Percobaan

Perlakuan Volume Molase Rebus	Kelompok					Total	Rerata
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari		
200 mL							
250 mL							
300 mL							

Data yang diperoleh akan dilakukan analisa dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan uji F dengan membandingkan antara Fhitung dengan F tabel.

- Jika  $F_{hitung} < F_{tabel\ 5\%}$ , maka perlakuan tidak berbeda nyata.
- Jika  $F_{hitung} > F_{tabel\ 1\ \%}$ , maka perlakuan menyebabkan hasil sangat berbeda nyata.

- Jika  $F \text{ tabel } 5\% < F \text{ hitung} < F \text{ tabel } 1\%$ , maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata.

Metode analisa yang digunakan adalah sidik ragam yang mengikuti model sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  = Nilai tengah umum

$T_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$B_j$  = Pengaruh blok ke-j

$\epsilon_{ij}$  = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$BNT = \text{Nilai } t \text{ tabel} \times \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ galat}}{\text{Ulangan}}}$

### 3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi rendemen, analisa proksimat (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat *by difference*), pH, daya buih, kapasitas emulsi, dan profil asam amino.

#### 3.5.1 Rendemen (Purbasari, 2008)

Angka rendemen adalah rasio dari berat awal dan berat akhir fermentasi. Rendemen merupakan persentase dari berat akhir setelah proses dibanding dengan berat awal dan dinyatakan dalam % (persen). Rendemen produk hidrolisat protein eceng gondok adalah persentase dari banyaknya produk hidrolisat yang dihasilkan dibanding dengan berat bahan baku sebelum proses fermentasi.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{B}{A} \times 100\%$$

Keterangan : A = berat awal sampel setelah pencampuran (gram)

B = berat akhir hidrolisat setelah fermentasi/dikeringkan (gram)

### 3.5.2 Analisis Proksimat

#### 3.5.2.1 Analisis Kadar Air (Andarwulan *et al.*, 2011)

Metode pengujian kadar air yang digunakan yaitu metode pengeringan menggunakan oven. Prinsip analisis kadar air menggunakan metode oven yaitu mengeringkan sampel dalam oven pada suhu 100°C - 105°C sampai diperoleh berat konstan. Metode ini dilakukan dengan cara mengeluarkan air dari bahan dengan bantuan panas. Analisis kadar air dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### 3.5.2.2 Analisis Kadar Abu (Andarwulan *et al.*, 2011)

Analisis kadar abu dilakukan dengan metode pengabuan kering yaitu menggunakan suhu tinggi pada tanur pengabuan (*furnace*). Prinsip dari metode ini yaitu abu dalam bahan ditetapkan dengan menimbang residu hasil pembakaran komponen bahan organik pada suhu 550-600°C. Pembakaran dilakukan tanpa adanya nyala api sampai terbentuk abu berwarna putih keabuan dan mencapai berat konstan. Analisis kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 6.

#### 3.5.2.3 Analisis Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.*, 2003)

Metode yang digunakan dalam uji kadar lemak yaitu metode ekstraksi *Goldfish*. Prinsip dari metode ini yaitu menghitung persentase kadar lemak dengan melarutkan lemak pada sampel dengan menggunakan pelarut non polar. Metode ini sangat praktis dan mudah pemakaiannya. Analisis kadar lemak dengan metode *goldfish* dapat dilihat pada Lampiran 7.

#### 3.5.2.4 Analisis Kadar Protein (Andarwulan *et al.*, 2011)

Metode yang digunakan dalam analisis protein yaitu menggunakan metode Kjeldahl. Metode ini sangat umum digunakan dalam menentukan kadar protein dalam bahan pangan. Prinsip dalam menggunakan metode ini yaitu pengujian dilakukan dengan beberapa tahapan antara lain tahap penghancuran (destruksi), tahap netralisasi dan distilasi, tahap titrasi. Analisis kadar protein dapat dilihat pada Lampiran 8.

#### 3.5.2.5 Analisis Kadar Karbohidrat *by difference*

Penentuan kadar karbohidrat pada sampel dengan cara perhitungan kasar (*Carbohydrate by difference*) merupakan cara penentuan karbohidrat tanpa melakukan analisis melainkan dengan cara perhitungan. Penentuan karbohidrat dengan cara ini paling sering dijumpai dan dilakukan karena caranya yang mudah. cara perhitungan karbohidrat *by different* adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - \% (\text{Air} + \text{Lemak} + \text{Protein} + \text{Abu})$$

#### 3.5.3 Nilai pH (Haryadi *et al.*, 2013)

Nilai pH merupakan salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam proses fermentasi. Pengukuran pH hidrolisat protein eceng gondok dilakukan dengan menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam 1 gram pasta hidrolisat protein yang sudah dilarutkan dengan 10 mL aquadest. Kemudian pH meter akan bekerja secara otomatis. Pada saat pertama dihidupkan angka yang ditunjukkan oleh *display* masih berubah-ubah dan ditunggu sampai angka digital stabil. Selanjutnya elektroda dicelupkan ke dalam larutan sampel. Elektroda dibiarkan tercelup beberapa saat sampai diperoleh nilai pH yang stabil dan kemudian dicatat nilai pH sampel yang didapat. Setelah itu elektroda dibilas dengan aquadest.



### 3.5.4 Kapasitas Emulsi (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

Kapasitas emulsi adalah kemampuan larutan atau suspensi protein untuk mengemulsikan minyak. Kapasitas emulsi menyatakan jumlah lemak yang masih dapat diikat yang tidak menyebabkan emulsi pecah. Kapasitas emulsi diukur dengan cara 5 g sampel ditambahkan 20 ml aquadest dan 20 ml minyak jagung, kemudian dihomogenkan selama 1 menit dan disentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit.

### 3.5.5 Daya Buih (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

Buih terbentuk karena terbukanya ikatan polipeptida dalam molekul protein pada waktu pengocokan sehingga rantai protein menjadi lebih panjang, kemudian udara masuk diantara molekul-molekul protein yang rantainya telah terbuka dan tertahan sehingga volumenya bertambah. Pengukuran daya buih dapat dilakukan dengan cara sampel 1 g ditambahkan ke dalam 10 ml aquadest dan dihomogenkan selama satu menit. Campuran larutan sampel dipindahkan ke dalam 25 ml beaker glass. Kapasitas busa dilihat dari busa yang terbentuk dibandingkan dengan kapasitas volume awal. Stabilitas busa merupakan rasio dari kapasitas busa selama waktu observasi dibandingkan dengan kapasitas busa awal.

### 3.5.6 Analisis Profil Asam Amino

Penentuan profil asam amino dari hidrolisat protein eceng gondok rebus yaitu menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Analisis asam amino dilakukan dengan menggunakan HPLC. Prosedur analisis asam amino adalah sebagai berikut:

## a. Larutan Standar/ Larutan Baku

- Dipipet 40  $\mu$ l Std mix asam amino
- Ditambahkan 40  $\mu$ l internal standar AABA
- Ditambahkan 920  $\mu$ l aquabidest
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Diambil 10  $\mu$ l standar
- Ditambahkan 70  $\mu$ l AccQ-Fluor Borate
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Ditambahkan 20  $\mu$ l reagent fluor A
- Dihomogenkan dengan vortex mixer dan didiamkan selama 1 menit
- Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C
- Disuntikkan pada HPLC

## b. Larutan Sampel

- Ditimbang 0,1 gram sampel
- Ditambahkan 5 mL HCl 6 N dan dihomogenkan dengan vortex mixer
- Dihidrolisis selama 22 jam pada suhu 110°C
- Didinginkan dan pindahkan ke labu ukur 50 mL dan tambahkan aquabidest sampai tanda batas
- Disaring dengan filter 0,45  $\mu$ m
- Dipipet 500  $\mu$ l filtrate, 40  $\mu$ m AABA dan  $\pm$  460  $\mu$ l aquabidest
- Dipipet 10  $\mu$ l larutan
- Ditambahkan 70  $\mu$ l AccQ-Fluor Borate dan dihomogenkan dengan vortex mixer
- Ditambahkan 20  $\mu$ l reagent fluor A, dihomogenkan dengan vortex mixer dan didiamkan selama 1 menit
- Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C
- Disuntikkan pada HPLC

- Perhitungan

$$\text{Asam amino (mg/100 gram)} = \frac{(\text{area komponen}) \text{ sampel} \times \text{konsentrasi standar} \times \text{BM} \times \text{fp}}{\text{area AABA}} \times 100 \text{ gram}$$

$$\frac{(\text{area komponen}) \text{ standar} \times 1.000.000 \times \text{bobot sampel (g)} \times 1000}{\text{Area AABA}}$$

Kondisi alat HPLC saat berlangsungnya analisis asam amino sebagai berikut:

Kolom : AccQtag column (4,9 x 150 mm)

Temperature : 37°C

Fase Gerak : Acetonitril 60 % - AccqTag Eluent A, sistem gradien komposisi

Laju Alir : 1,0 mL per menit

Detektor : Fluorescence, Eksitasi = 250 nm, emisi = 395 nm

Volume penyuntikan : 5 µL

### 3.5.7 Analisis Derajat Hidrolisis (Kurniawan *et al.*, 2012)

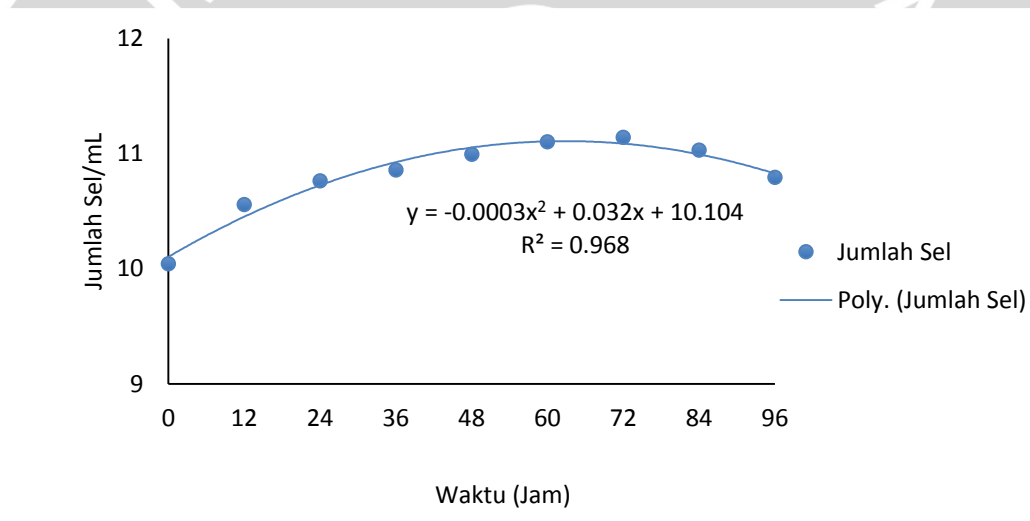
Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan enzim dalam menguraikan bahan organik. Untuk mengukur derajat hidrolisis protein yaitu dengan cara membandingkan nitrogen total yang terdapat pada hidrolisat protein yang dihasilkan dengan nitrogen total pada bahan baku yang digunakan. Derajat hidrolisis juga digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Pendahuluan

#### 4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Fase pertumbuhan bakteri meliputi fase permulaan, fase pertumbuhan di percepat, fase logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase stationer atau fase menuju kematian dan fase kematian. Pertumbuhan khamir laut ini ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pertumbuhan sel pada lama waktu kultur tertentu yang dilihat dari pengamatan melalui hemositometer pada mikroskop. Hasil pengamatan pertumbuhan khamir laut dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pertumbuhan sel khamir laut dengan pengamatan setiap 12 jam selama 96 jam.

Gambar 4 menunjukkan pertumbuhan sel khamir laut. Pada fase adaptasi/lag jam ke-0 hingga jam ke-12 terlihat meningkat. Fase ini merupakan fase dimana sel khamir laut mulai berkembang biak namun terjadi secara lambat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Fauziah *et al.*, (2013) dimana selama fase adaptasi, mikroba mengalami suatu masa dimana selnya menjadi lebih besar tetapi jumlahnya tetap sama atau sedikit sekali terjadi perkembangan populasi meskipun metabolisme sel terus berlangsung.

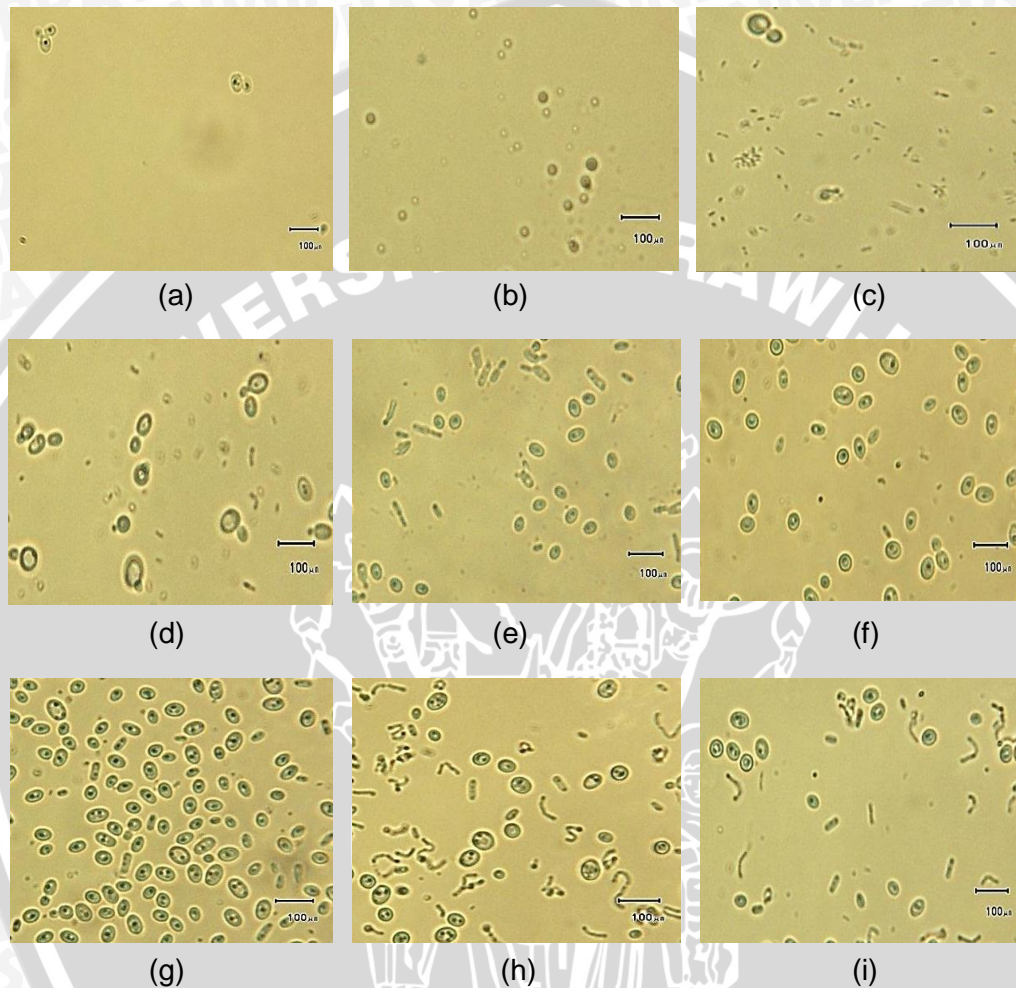
Pada jam ke-12 hingga jam ke-72 pertumbuhan sel khamir laut semakin meningkat tajam. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat khamir laut mampu beradaptasi dan memanfaatkan pupuk hortigro sebagai sumber nitrogen secara efisien sehingga tidak memerlukan waktu yang lama untuk tumbuh dan bereproduksi (Sugoro, 2006).

Pada jam ke-12 hingga jam ke-72 pertumbuhan khamir terus mengalami peningkatan. Hal tersebut ditandai dengan adanya perubahan yang terjadi pada biakkan khamir laut. Perubahan tersebut yaitu adanya kekeruhan yang menunjukkan bahwa khamir laut mulai mengalami pertumbuhan. Titik optimasi pertumbuhan sel khamir laut yang diamati dengan menggunakan mikroskop menunjukkan hasil bahwa pertumbuhan khamir laut tertinggi terdapat pada jam ke-72. Pada saat jam ke-72 khamir laut mengalami pembelahan sehingga memiliki jumlah sel yang banyak yang biasa dikenal dengan fase logaritmik. Fase logaritmik sel yaitu fase dimana sel khamir membelah dengan cepat dan konstan. Selama fase log, sel membelah terus menerus secara konstan dengan kecepatan pertumbuhan yang tinggi (Fauziah *et al.*, 2013).

Pada jam ke-84 dan jam ke-96 jumlah sel khamir laut mengalami penurunan. Hal tersebut dimungkinkan karena pertumbuhan khamir laut yang cepat tidak diimbangi dengan tersedianya nutrisi yang cukup dan pada akhirnya menyebabkan pertumbuhan khamir laut menjadi lambat. Fase ini disebut dengan fase stationer atau fase menuju kematian. Hal ini dimungkinkan bahwa faktor yang mempercepat kematian adalah berkurangnya jumlah nutrisi dan cadangan energi di dalam sel yang mulai habis. Jumlah sel yang tumbuh akan sama dengan jumlah sel yang mati dan semakin lama jumlah sel yang mati akan semakin banyak sehingga jumlah sel akan berkurang. Selain itu juga adanya metabolit primer dan sekunder yang apabila dalam jumlah berlebih akan dapat

menghambat pertumbuhan khamir laut yang akan menyebabkan kematian sel (Budy, 2014).

Kepadatan sel khamir laut yang diamati dengan hemositometri pada mikroskop perbesaran 1000x dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Foto kepadatan khamir laut dengan pembesaran 1000x; jam ke-0 (a), jam ke-12 (b), jam ke-24 (c), jam ke-36 (d), jam ke-48 (e), jam ke-60 (f), jam ke-72 (g), jam ke-84 (h), jam ke-96 (i).

Gambar 5 menunjukkan bahwa khamir laut berbentuk bulat atau oval dan muncul suatu gelembung kecil dari permukaan sel khamir laut. Gelembung ini secara bertahap membesar dan mencapai ukuran yang sama dengan sel induk khamir. Gelembung kecil pada permukaan sel khamir laut disebut konodia. Banyaknya konodia menunjukkan bahwa khamir laut tumbuh dengan cara membentuk tunas (budding). Pada gambar 5 (g) terlihat bahwa konodia terlihat

banyak dan siap untuk dilepaskan. Hal ini menunjukkan bahwa pada jam ke-72 sel khamir laut mengalami fase logaritmik dimana sel tumbuh dan melakukan pertunasan sel dengan cepat. Fardiaz (1989) menyatakan bahwa pada proses pertunasan suatu saluran terbentuk dari vakuola di dekat nukleus menuju dinding sel yang terdekat dengan vakuola. Karena penipisan dinding sel, maka pada dinding sel tersebut protoplasma akan tersembul ke luar, kemudian membesar, dan diisi dengan komponen-komponen nukleus dan sitoplasma dari induknya melalui saluran yang terbentuk. Tunas terus tumbuh dan membentuk dinding sel baru, dan jika ukuran tunas sudah hampir sama besar dengan induknya, komponen-komponen nukleus terpisah menjadi dua dan terbentuk dinding penyekat. Selanjutnya anak sel melepaskan diri dari induknya atau tetap menempel pada induknya dan membentuk tunas baru. Sel khamir dewasa yang telah matang dapat membentuk kira-kira 24 anak sel melalui pertunasan.

#### **4.1.2 Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Optimal**

Penentuan volume molase rebus dan lama fermentasi dalam penelitian pendahuluan digunakan sebagai landasan dalam melakukan penelitian utama. Pada penentuan ini dilakukan 3 kali percobaan dengan bahan baku eceng gondok rebus 50 gram dan 1 kali percobaan dengan 100 gram eceng gondok rebus. Penentuan volume molase rebus pada percobaan pertama didasari oleh penelitian Mangisah *et al.*, (2006) yang menyatakan dalam pembuatan fermentasi daun eceng gondok, daun eceng gondok ditimbang sebanyak 200 gram untuk setiap perlakuan kemudian ditambah tetes sebanyak 5% dari berat daun eceng gondok. Volume molase rebus yang ditambahkan dalam percobaan pertama yaitu 2,5 mL dan 5 mL, pada percobaan kedua yaitu 25 mL dan 50 mL, pada percobaan ketiga yaitu 75 mL, 100 mL, 125 mL dan 150 mL dan pada percobaan keempat yaitu 200 mL, 250 mL, dan 300 mL. Data Pengamatan

volume molase rebus dan lama fermentasi penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 13.

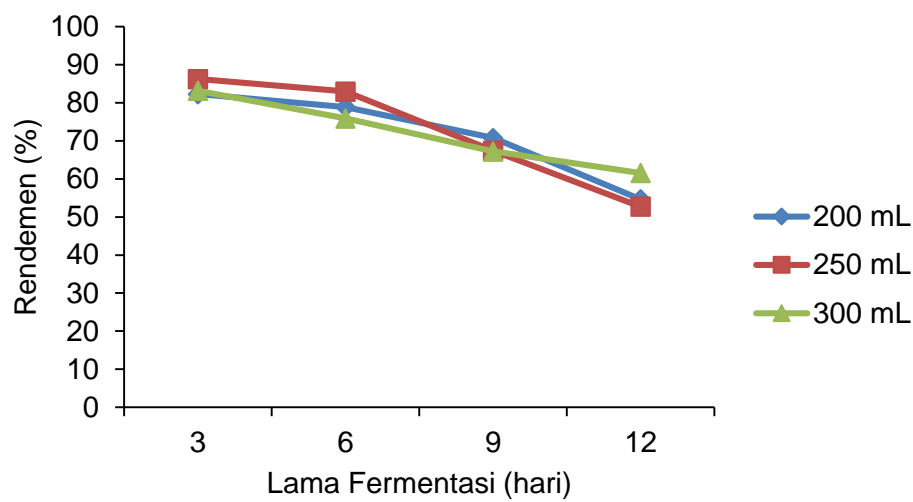
Hasil dari percobaan pertama dengan volume molase rebus 2,5 mL dan 5 mL yaitu substrat berbau pesing dan berwarna coklat kehijauan setelah fermentasi 2 hari. Pada percobaan kedua menunjukkan hasil bahwa volume molase 25 mL dan 50 mL berbau pesing dan tumbuh jamur setelah fermentasi 3 hari. Hal tersebut dimungkinkan karena kurangnya cairan pada sampel yang menyebabkan sampel terlalu padat dan kesulitan pada saat aerasi sehingga proses agitasi tidak berjalan dengan sempurna.

Pada percobaan ketiga dengan volume molase rebus 75 mL, 100 mL, 125 mL dan 150 mL. Hasil menunjukkan pada fermentasi hari ke-6 cairan pada substrat mulai habis dan tumbuh jamur. Hal ini dimungkinkan karena pertumbuhan khamir semakin pesat dan tidak didukung oleh nutrisi yang cukup, selain itu selama fermentasi berlangsung akan menghasilkan asam-asam dan CO<sub>2</sub> yang bersifat mudah menguap sehingga dapat keluar melalui selang pembuangan dan cairan yang terdapat pada sampel akan berkurang. Rahmadi (2003) menyatakan bahwa selama fermentasi akan menghasilkan metabolit, alkohol, asam (asam laktat, asam butirat, dan asam asetat), CO<sub>2</sub>, dan air.

Pada percobaan keempat, volume molase dinaikkan 2 kali dari percobaan ketiga yaitu menjadi 200 mL, 250 mL, dan 300 mL dengan menggunakan eceng gondok rebus sebanyak 100 gram sebagai substrat dan menunjukkan hasil bahwa hidrolisat protein eceng gondok rebus memiliki bau khas fermentasi dan bau molase rebus pada hari ke-9. Hal tersebut terjadi karena volume molase rebus yang ditambahkan memiliki perbandingan yang lebih banyak dari bahan baku yang digunakan, sehingga saat aerasi dapat berjalan dengan baik. Selain itu, volume molase yang ditingkatkan dimungkinkan dapat mencukupi kebutuhan nutrisi dari khamir laut. Kecepatan aerasi dalam fermentasi menggunakan



medium molase rebus dan kontrol (gula) sangat dibutuhkan khamir laut dalam pertumbuhan sel dan untuk mengatur jumlah oksigen terlarut pada medium fermentasi (Budy, 2014). Adapun data rendemen yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 24. Rendemen penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6.

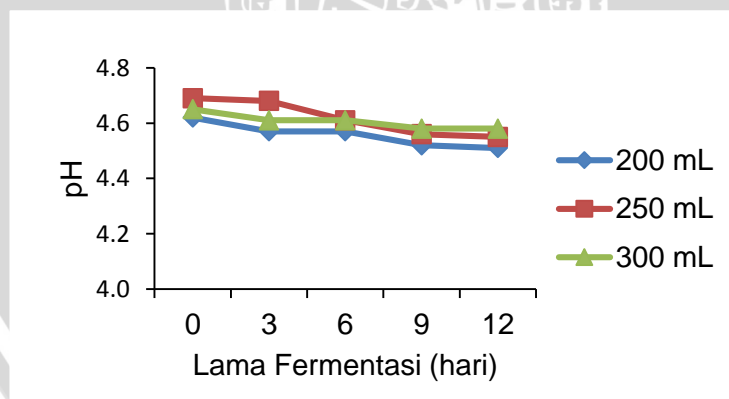


Gambar 6. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 6 menunjukkan adanya penurunan nilai rendemen dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Hal ini dimungkinkan semakin lama fermentasi, semakin banyak cairan yang hilang karena semakin banyak bahan organik yang dimanfaatkan oleh khamir laut untuk proses metabolisme. Liawati (1992) menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis yang tinggi menyebabkan terurainya protein menjadi asam amino yang kemudian berubah menjadi  $H_2O$ ,  $CO_2$ , dan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen ( $NH_3$ , skatol, indol, kadaverin, dan putresin), sehingga semakin lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa volatil dan nilai rendemen cairan akan mengalami penurunan. Hatmiko *et al.*, (2010) menambahkan bahwa fermentasi yang baik memiliki warna yang tidak jauh berbeda dengan warna bahan

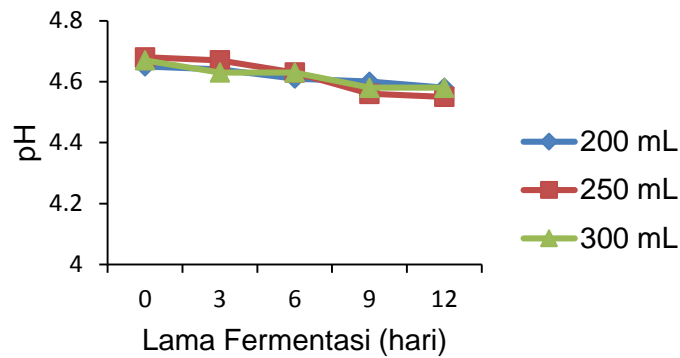
bakunya, memiliki pH rendah dan beraroma asam, bertekstur lembut, tidak berjamur dan tidak berlendir.

Selanjutnya hidrolisat protein eceng gondok dengan volume molase rebus 200 mL, 250 mL dan 300 mL dilakukan pengukuran pH kontrol, setelah difermentasi dan setelah penyaringan dengan kain blacu. Hal ini dilakukan untuk mengetahui bahwa sampel sudah terfermentasi dengan maksimal atau belum. Azizah *et al.*, (2012) menyatakan bahwa pH awal substrat perlu diketahui agar fermentasi dapat berjalan dengan optimal. Fardiaz (1989) menambahkan bahwa khamir dapat tumbuh optimal pada kisaran pH 4-6,5. Substrat yang berupa eceng gondok rebus dan molase rebus yang digunakan mengandung pH antara 5-5,5 sehingga cocok untuk digunakan sebagai substrat dalam fermentasi hidrolisat protein eceng gondok rebus ini. Adapun hasil analisis data pH yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 25. Nilai pH dari hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 7, Gambar 8, dan Gambar 9.



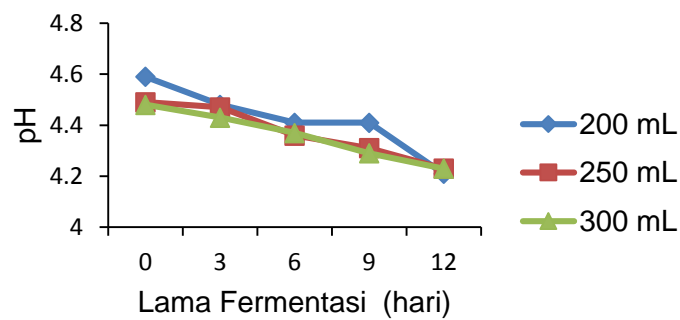
Gambar 7. Nilai pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 7 menunjukkan bahwa pH hidrolisat protein eceng gondok yang terdiri dari filtrat dan residu dengan lama fermentasi sampai 12 hari konstan di kisaran pH 4,5 - 4,7 baik untuk volume molase 200 mL, 250 mL dan 300 mL.



Gambar 8. Nilai pH Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 8 menunjukkan bahwa residu hidrolisat protein eceng gondok pada volume molase rebus 200 mL, 250 mL, dan 300 mL mempunyai kisaran pH 4,5 - 4,7 pada lama fermentasi 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari.



Gambar 9. Nilai pH Filtrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 9 menunjukkan bahwa filtrat hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan volume molase rebus 200 mL, 250 mL, dan 300 mL dengan lama fermentasi 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari mempunyai kisaran pH 4,6 - 4,2. Lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak mikroba yang aktif memanfaatkan karbohidrat dan menghasilkan asam yang lebih banyak. Asam yang dihasilkan oleh mikroba akan diekskresikan keluar sel sehingga terakumulasi dalam cairan hasil fermentasi (Kunaepah, 2008). Noviana (2012) menambahkan bahwa nilai pH setelah fermentasi relatif mengalami penurunan karena penambahan asam yang

mengakibatkan peningkatan konsentrasi ion hidrogen dalam produk sehingga pH menjadi rendah.

Oleh karena itu volume molase rebus yang digunakan dalam penelitian utama yaitu 200 mL, 250 mL, dan 300 mL sedangkan lama fermentasi yang digunakan dalam penelitian utama menggunakan acuan 12 hari dengan kisaran penurunan lama fermentasi 3 hari menjadi 3, 6, 9, dan 12 hari. Pada penelitian utama yang diambil adalah cairan fermentasi hasil penyaringan dengan kain blacu, karena diasumsikan proses penyaringan dapat memisahkan antara produk hidrolisat dengan substrat yang terdiri dari eceng gondok rebus dan molase rebus, kemudian dijadikan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan dioven vakum menggunakan suhu 55°C. Suhu yang digunakan relatif rendah (55°C) karena dimungkinkan pada suhu tersebut tidak merusak kandungan nutrisi pada hidrolisat protein. Widadi (2011) menyatakan bahwa hidrolisat protein dapat berbentuk cair, pasta atau tepung yang bersifat higroskopis, dimana hidrolisat protein cair mengandung padatan sebesar 30% sedangkan hidrolisat protein yang berbentuk pasta mengandung padatan sebesar 65%.

#### 4.1.3 Volume Khamir Laut yang Optimal

Penentuan volume khamir laut yang optimal pada penelitian pendahuluan digunakan sebagai landasan untuk melakukan penelitian utama dalam menambahkan khamir laut untuk fermentasi eceng gondok rebus. Volume khamir laut yang ditambahkan merupakan hasil kultur pada fase logaritmik. Penentuan volume khamir laut didasari oleh percobaan Mangisah *et al.*, (2006) yang menyatakan dalam pembuatan fermentasi daun eceng gondok, daun eceng gondok ditimbang sebanyak 200 gram untuk setiap perlakuan kemudian ditambah starter *Aspergillus niger* sebanyak 2,5% dari berat daun eceng gondok.

Pada penentuan ini dilakukan percobaan dengan menggunakan volume khamir laut 1,25 mL dan 2,5 mL.

Hasil dari percobaan volume khamir laut 1,25 mL menunjukkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok rebus hanya dapat bertahan hingga fermentasi 6 hari dan volume khamir laut 2,5 mL dapat bertahan hingga fermentasi 9 hari. Hal ini dimungkinkan karena volume khamir laut yang terlalu sedikit tidak mampu menghidrolisis substrat dengan baik sedangkan volume khamir 2,5 mL dapat menghidrolisis dan memanfaatkan substrat yang disediakan. Semakin banyak khamir laut yang ditambahkan, dimungkinkan khamir laut dapat mendegradasi dan memanfaatkan substrat yang ada dengan optimal sehingga cairan hidrolisat berkurang. Hidrolisis protein dipengaruhi oleh konsentrasi bahan-bahan penghidrolisis, suhu, dan waktu hidrolisis serta tekanan udara. Peningkatan konsentrasi enzim ternyata akan meningkatkan volume hidrolisat protein ikan yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Kecepatan katalisis enzim meningkat pada konsentrasi enzim yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim berlebih, maka proses hidrolisis tidak efisien (Febriani, 2008).

#### 4.1.4 Komposisi Kimia Eceng Gondok Rebus

Bahan baku dalam penelitian ini adalah eceng gondok (*Eichornia crassipes*) rebus. Bahan baku berasal dari Waduk Solerejo, Kecamatan Ngantang, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Setiap individu dari eceng gondok memiliki komposisi kimia yang berbeda-beda. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan faktor habitat, spesies, musim dan umur dari eceng gondok. Marlina (1999) menjelaskan bahwa pada analisis bahan baku dari pakan hijauan segar maka untuk dapat dianalisis sampel harus melalui proses pengeringan terlebih dahulu. Komposisi kimia dari eceng gondok rebus dan segar dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Komposisi Kimia Eceng Gondok

Komposisi Kimia (%)	Eceng Gondok Rebus	Eceng gondok Segar
Bahan Kering	6,45	5,72
Kadar Abu*	15,91	22,90
Protein Kasar*	10,53	12,78
Serat Kasar*	55,57	22,40
Lemak Kasar*	1,06	1,05

\* Berdasarkan 100% bahan kering

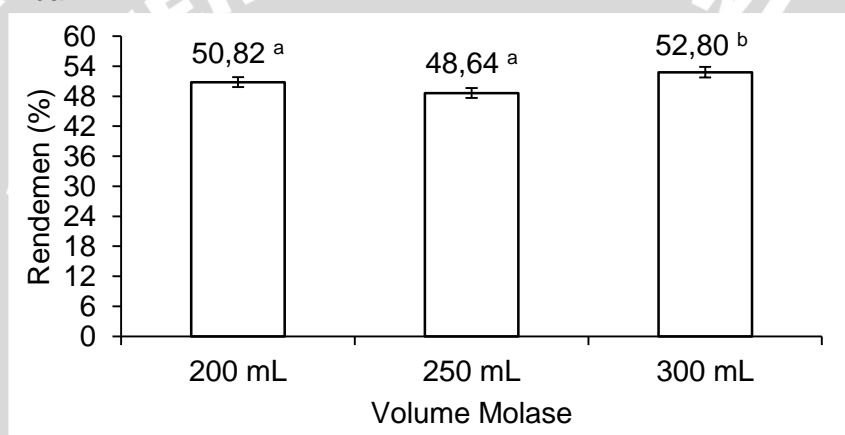
Tabel 6 menunjukkan komposisi kimia eceng gondok rebus mengandung kadar abu, protein kasar, serat kasar dan lemak kasar masing masing 15,91%; 10,53%; 55,57%; dan 1,06% dalam 100% berat kering. Nurjanah *et al.*, (2014) menyatakan bahwa perebusan dapat mengakibatkan hilangnya beberapa zat gizi terutama zat-zat yang larut dalam air misalnya protein. Diharapkan dengan proses fermentasi, kadar protein eceng gondok mengalami kenaikan dan serat kasar akan mengalami penurunan seperti yang dijelaskan oleh Mahmilia (2005) bahwa proses bioteknologi dengan menggunakan teknologi fermentasi substrat padat mempunyai prospek untuk meningkatkan kandungan gizi dari bahan-bahan yang bermutu rendah.

#### 4.2 Penelitian Utama

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan didapatkan perlakuan penambahan volume molase rebus 200 mL, 250 mL, 300 mL dan lama fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari. Selanjutnya hasil penelitian pendahuluan tersebut digunakan untuk penelitian utama dalam bentuk pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus. Pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan kemudian dianalisis rendemen, analisis proksimat, pH, kapasitas emulsi, dan daya buih. Hasil analisis nilai rendemen dan kandungan nutrisi hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 26.

#### 4.2.1 Rendemen

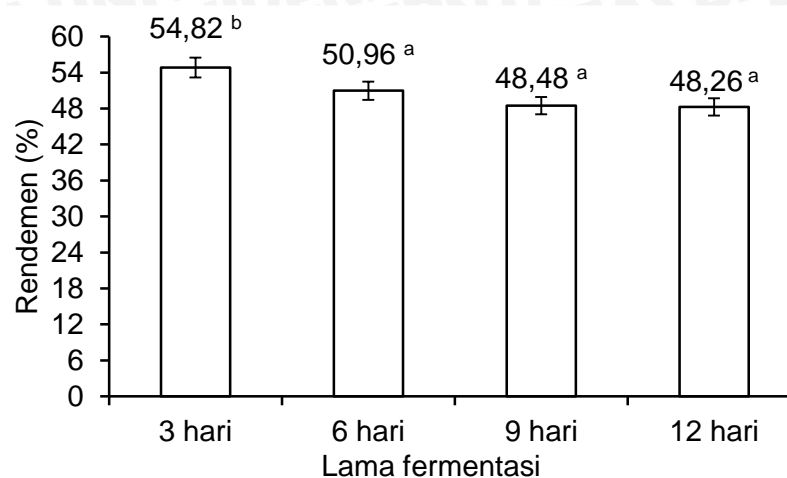
Data pengamatan rendemen pada hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan perlakuan lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 27. Hasil analisis data menunjukkan bahwa rendemen hidrolisat protein eceng gondok rebus pada tiap perlakuan berbeda nyata ( $P < 0,05$  %) dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Rendemen hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan perlakuan lama fermentasi dan penambahan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 10 dan Gambar 11.



Gambar 10. Rata-rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Gambar 10 menunjukkan bahwa semakin banyak volume rebus yang ditambahkan, rata-rata kadar rendemen hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan mengalami peningkatan. Peningkatan rendemen diduga karena proses perebusan pada molase rebus menyebabkan sukrosa pada molase mengalami hidrolisis menjadi monosakarida glukosa dan fruktosa sehingga lebih mudah dicerna oleh khamir laut. Semakin banyak nutrisi yang tersedia oleh khamir laut, maka kemampuan dari khamir laut dalam menghidrolisis substrat lebih tinggi sehingga kadar rendemen yang dihasilkan juga semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Husen (2014) yang menyatakan bahwa semakin bertambahnya volume molase pada hidrolisat protein, maka

kadar rendemen yang dihasilkan semakin tinggi karena semakin banyak substrat yang dapat dihidrolisis sehingga rendemen yang dihasilkan semakin banyak.



Gambar 11. Rata-rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 11 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, rata-rata kadar rendemen hidrolisat protein eceng gondok rebus semakin mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan semakin lama proses fermentasi, maka semakin banyak bahan organik yang digunakan khamir laut untuk metabolisme sehingga senyawa-senyawa volatil yang dibebaskan juga semakin banyak. Said *et al.*, (2008) menambahkan bahwa penurunan rendemen dengan meningkatnya lama fermentasi disebabkan karena perombakan glukosa menjadi karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) serta mengalami penguapan sehingga persentase rendemen berkurang.

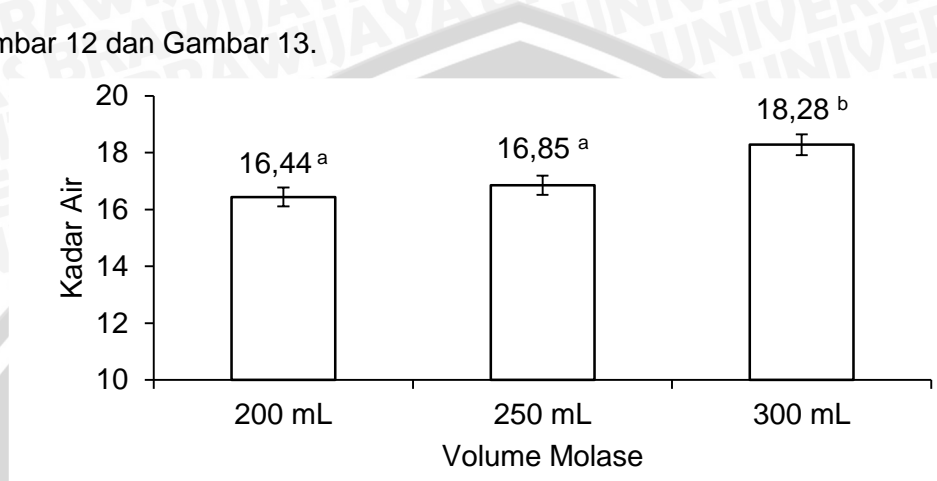
#### 4.2.2 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus

##### a. Kadar Air

Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 28. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus dan



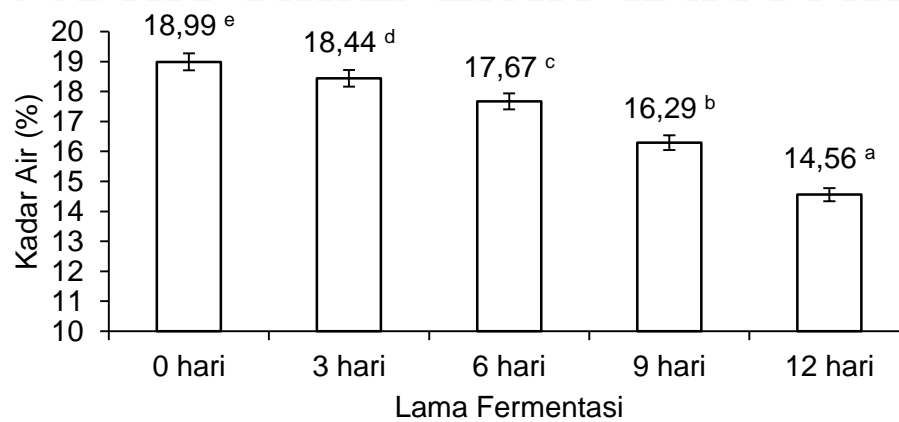
lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05\%$ ) terhadap kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Kadar air kontrol dan hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13.



Gambar 12. Rata-rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Gambar 12 menunjukkan bahwa rata-rata kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan berbeda nyata dengan semakin bertambahnya volume molase rebus. Meningkatnya kadar air diduga karena tingginya kadar air pada molase sehingga semakin banyak molase yang ditambahkan maka kadar air semakin meningkat. Yuniasari (2009) melaporkan bahwa molase mengandung kadar air sebesar 17-25%. Hal ini sesuai dengan penelitian Budy (2014) yang menyatakan bahwa penambahan molase akan meningkatkan kadar air dari hidrolisat karena molase yang berbentuk cairan mengandung 18-20% air. Peningkatan kadar air juga dimungkinkan karena pada saat proses metabolisme, khamir laut menghidrolisis substrat dan menghasilkan air. Semakin banyak volume molase rebus yang ditambahkan, maka kadar karbohidrat juga semakin tinggi dan saat proses fermentasi terjadi khamir juga memanfaatkan karbohidrat sebagai nutrisinya. Rahmadi (2003) menambahkan bahwa karbohidrat yang mudah terfermentasi adalah gula- gula sederhana yang

kemudian diubah menjadi energi dengan hasil sampingan berupa metabolit, alkohol, asam, CO<sub>2</sub> dan air.



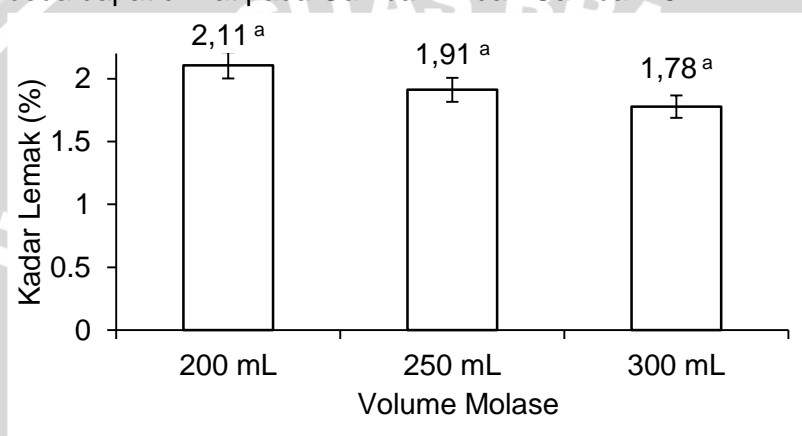
Gambar 13. Rata-rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 13 menunjukkan rata-rata kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Penurunan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan semakin lamanya waktu fermentasi dimungkinkan karena adanya pelepasan ion (H<sup>+</sup>) dan (OH<sup>-</sup>) saat proses metabolisme. Hidrolisis eceng gondok rebus oleh khamir laut juga diduga menjadi penyebab menurunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air akibat kehilangan gugus hidroksil, sehingga kadar air mengalami penurunan. Anggraeni dan Yuwono (2014) menyatakan bahwa semakin lama proses fermentasi, maka kadar air semakin menurun karena saat fermentasi terjadi degradasi karbohidrat oleh mikroorganisme. Widyasaputra dan Yuwono (2013) menambahkan bahwa semakin lama fermentasi maka kadar air akan semakin turun karena selama fermentasi terjadi hidrolisis oleh mikroba menjadi senyawa yang lebih sederhana disertai dengan pelepasan air.

#### b. Kadar Lemak

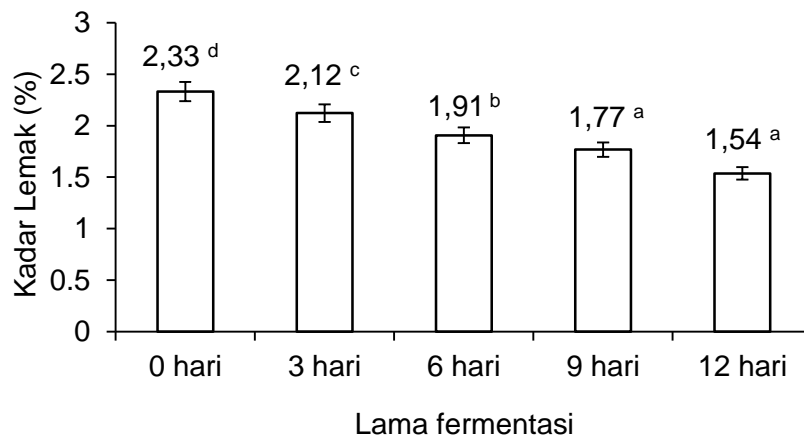
Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan

penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 29. Hasil analisis data menunjukkan bahwa penambahan volume molase rebus tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P>0,05$ ) sedangkan perlakuan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $P<0,05$ ) terhadap kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14 dan Gambar 15.



Gambar 14. Rata-rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Gambar 14 menunjukkan bahwa rata-rata kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan seiring dengan penambahan volume molase rebus. Penurunan kadar lemak yang tidak berbeda nyata dengan semakin banyaknya molase yang ditambahkan diduga karena kesetimbangan massa. Semakin meningkatnya komponen gizi yang lain, maka kadar lemak mengalami penurunan. Winarso (2003) menambahkan bahwa kandungan proksimat berkaitan dengan kesetimbangan massa, dimana kadar protein berbanding terbalik dengan kandungan lainnya. Peningkatan protein dengan semakin banyaknya volume molase rebus yang ditambahkan dapat menurunkan kadar lemak hidrolisat protein eceng gondok rebus.



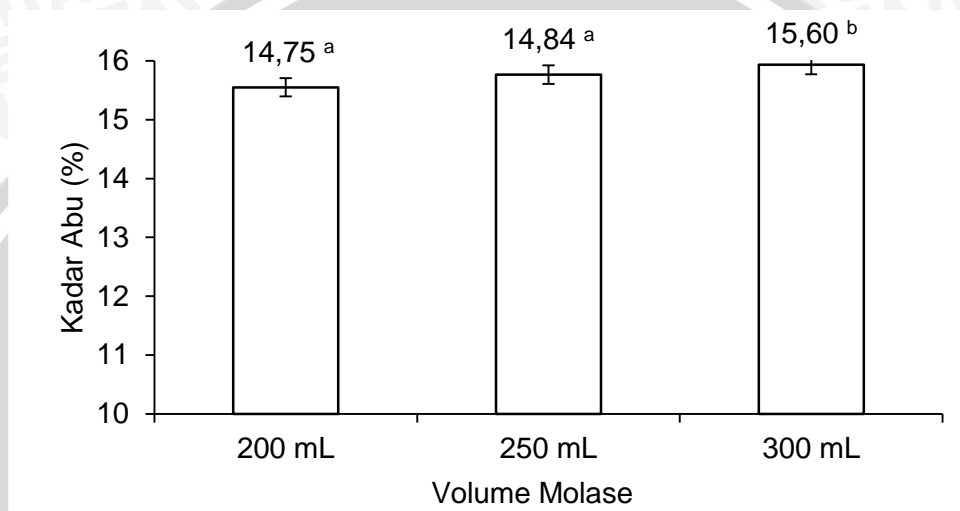
Gambar 15. Rata-rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Waktu Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 15 menunjukkan bahwa rata-rata kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Penurunan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dimungkinkan karena terjadinya proses hidrolisis oleh khamir laut sehingga lemak terdegradasi menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Hamid *et al.*, (1999) menyatakan bahwa penurunan kadar lemak selama proses fermentasi terjadi karena adanya penguraian asam lemak menjadi  $\text{CO}_2$  karena oksidasi sempurna asam lemak oleh enzim yang diproduksi kapang. Supriyati *et al.*, (1998) menambahkan bahwa penurunan kadar lemak terjadi karena lemak dikonsumsi oleh kapang untuk pertumbuhannya, dimana kapang yang menghasilkan enzim lipase dapat mengkatalis proses hidrolisis, sintesis ester dan alkoholisis. Dengan adanya aktivitas enzim lipase maka produk fermentasi yang dihasilkan akan mengalami penurunan kadar lemak.

### c. Kadar Abu

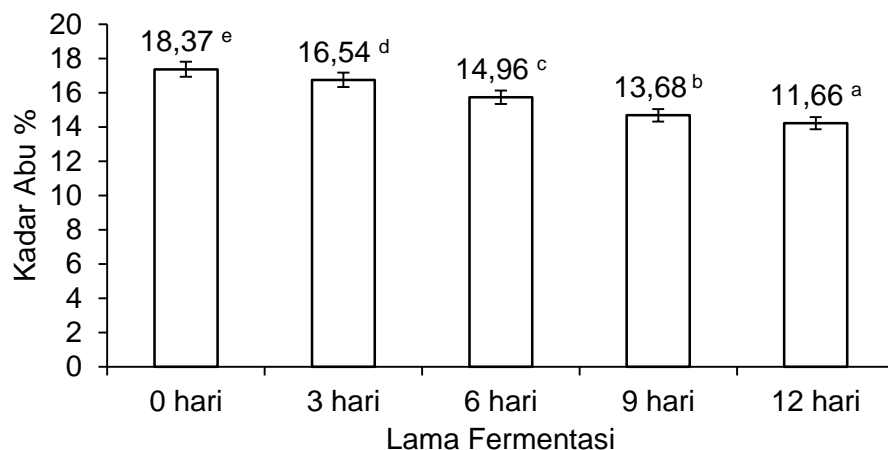
Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada

Lampiran 30. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 16 dan Gambar 17.



Gambar 16. Rata-rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Gambar 16 menunjukkan bahwa rata-rata kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus berbeda nyata dengan penambahan volume molase rebus. Hal ini diduga karena semakin banyak molase rebus yang ditambahkan, maka mineral yang terkandung di dalamnya akan semakin banyak dan mendukung pertumbuhan khamir laut. Rohim (2014) mengungkapkan bahwa molase rebus mengandung kadar abu sebesar 4,95%. Gunawan *et al.*, (2013) menyatakan bahwa mineral merupakan salah satu pelengkap nutrisi bagi proses metabolisme mikroba dan proses fermentasi akan berlangsung dengan optimal dengan adanya mineral.



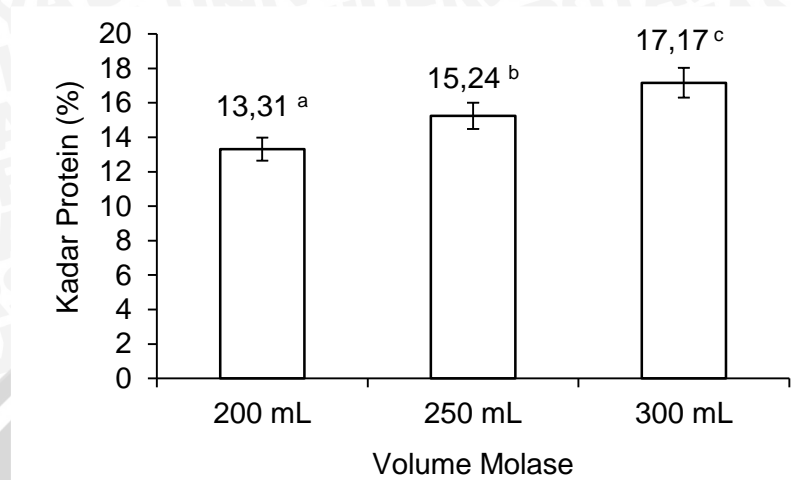
Gambar 17. Rata-rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 17 menunjukkan bahwa rata-rata kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Menurunnya kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dimungkinkan karena semakin lama fermentasi, nutrisi semakin berkurang dan khamir laut memanfaatkan mineral sebagai nutrisi pertumbuhannya saat proses metabolisme. Sutrisno *et al.*, (2004) menyatakan bahwa peningkatan lama fermentasi cenderung menurunkan kadar abu karena terlepasnya ikatan fosfor pada ikatan asam fitat oleh enzim fitase, sehingga fosfor yang terlepas digunakan oleh bakteri sebagai nutrisi dalam proses metabolisme.

#### d. Kadar Protein

Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 31. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan volume molase rebus memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Kadar protein pasta hidrolisat

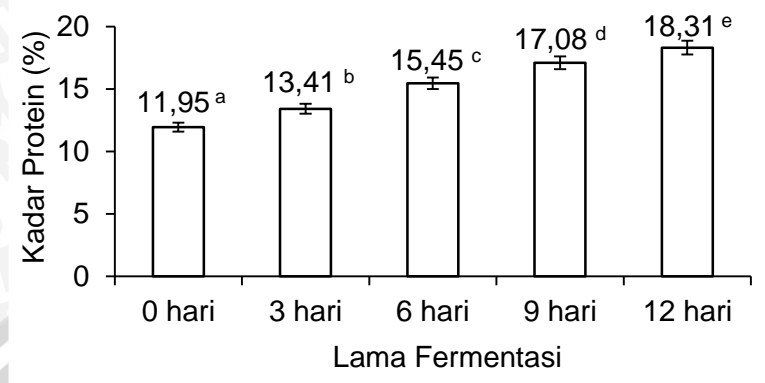
protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 18 dan Gambar 19.



Gambar 18. Rata-rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Gambar 18 menunjukkan bahwa rata-rata kadar protein dari pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami peningkatan seiring dengan semakin bertambahnya volume molase rebus. Peningkatan kadar protein diduga karena semakin banyak volume molase rebus yang ditambahkan maka semakin banyak nutrisi yang tersedia untuk pertumbuhan khamir laut, sehingga khamir laut yang tumbuh semakin banyak dan memperbanyak biomassa sel khamir laut. Selain itu semakin banyak molase rebus yang ditambahkan diduga dapat menghidrolisis protein secara optimal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Faharuddin (2014) yang menyatakan bahwa urea, molase dan kalsium karbonat dalam fermentasi dapat meningkatkan protein kasar, karena ketiganya digunakan sebagai sumber energi bagi bakteri sehingga mampu bekerja optimal dalam proses fermentasi. Mangisah *et al.*, (2003) menambahkan bahwa peningkatan protein terjadi karena adanya pertumbuhan mikroba sehingga menyebabkan adanya penambahan miselium yang berarti terjadi peningkatan unsur nitrogen, selain itu protein bahan akan diubah menjadi asam

amino, kemudian menjadi  $\text{NH}_3$  dan selanjutnya digunakan untuk membentuk protein tubuh mikroba.



Gambar 19. Rata-rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Rebus yang Berbeda.

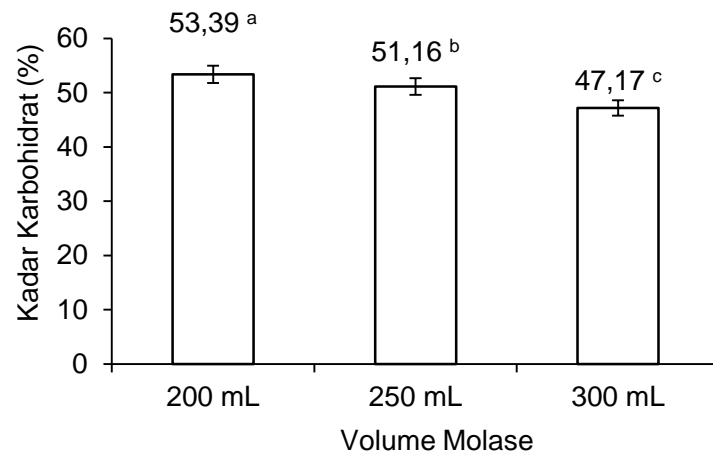
Gambar 19 menunjukkan bahwa rata-rata kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami peningkatan seiring dengan semakin bertambahnya lama waktu fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak khamir laut yang tumbuh, dimana khamir laut merupakan mikroorganisme penghasil protein sel tunggal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mangisah *et al.*, (2003) yang menyatakan bahwa fermentasi 3 minggu dapat menaikkan protein kasar eceng gondok dari 11,2% menjadi 13,55% karena selama proses fermentasi mikroba akan mengeluarkan enzim-enzim yang tersusun dari protein dan mikroba ini digunakan sebagai sumber protein sel tunggal.

#### e. Kadar Karbohidrat

Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 32. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ )

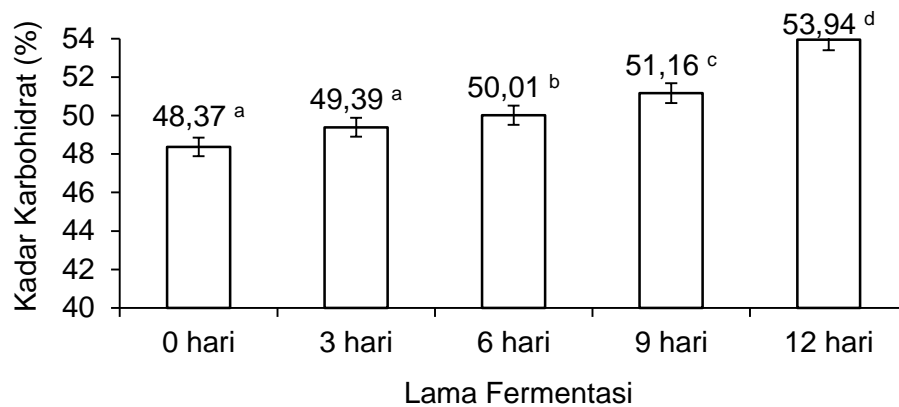


terhadap kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 20 dan Gambar 21.



Gambar 20. Rata-rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda.

Gambar 20 menunjukkan bahwa rata-rata kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan dengan semakin banyaknya volume molase rebus yang ditambahkan. Pada volume molase rebus 300 mL diduga khamir laut yang tumbuh semakin banyak dan memanfaatkan karbohidrat sebagai sumber nutrisi pada proses metabolisme, sehingga kadar karbohidrat mengalami penurunan. Widiastuti *et al.*, (2014) menambahkan bahwa penurunan karbohidrat terjadi karena pemecahan senyawa karbohidrat kompleks menjadi senyawa karbohidrat yang lebih sederhana yang mudah dicerna oleh mikroorganisme. Anggraeni dan Yuwono (2014) menambahkan bahwa penurunan kadar karbohidrat disebabkan pada proses fermentasi terjadi pemecahan pati oleh aktivitas mikroba menjadi gula sederhana dan digunakan untuk nutrisi dan sumber energi bagi mikroorganisme



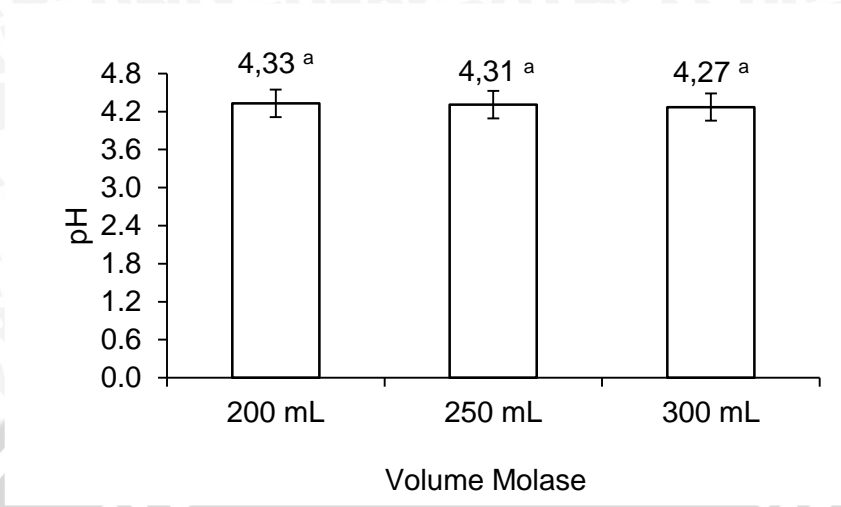
Gambar 21. Rata-rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Waktu Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 21 menunjukkan bahwa rata-rata kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus berbeda nyata dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Semakin lama proses fermentasi, rata-rata kadar karbohidrat semakin mengalami peningkatan. Hal ini diduga semakin lama proses fermentasi semakin banyak khamir laut yang tumbuh sehingga enzim amilase dari khamir laut menghidrolisis karbohidrat menjadi molekul glukosa bebas dan menyebabkan kadar karbohidrat mengalami peningkatan. Risnoyatiningsih (2011) menambahkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa, maka semakin meningkat kadar glukosanya karena waktu kontak antara enzim dan karbohidrat semakin lama.

#### 4.2.3 Analisis Derajat Keasaman (pH)

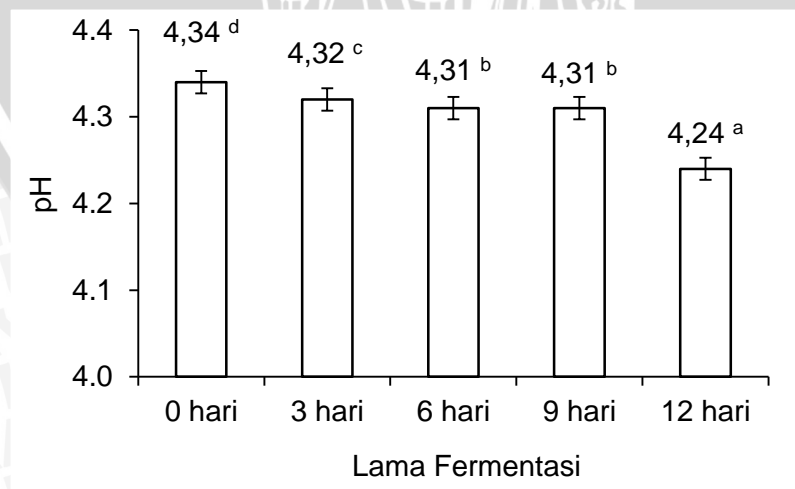
Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 33. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P > 0,05$ ) sedangkan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap pH pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. pH pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase

rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 22 dan Gambar 23.



Gambar 22. Rata-rata Nilai pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda.

Gambar 22 menunjukkan bahwa rata-rata pH pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus tidak memberikan pengaruh yang nyata dengan semakin meningkatnya volume molase rebus yang ditambahkan. Hal ini diduga karena khamir laut belum menghidrolisis substrat dengan proporsi yang sama, akibatnya banyaknya asam yang dihasilkan dari ketiga formulasi hampir sama. pH yang didapatkan berkisar antara 4-5 menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik karena pertumbuhan khamir yang baik antara pH 3-6 (Oktavia *et al.*, 2012).



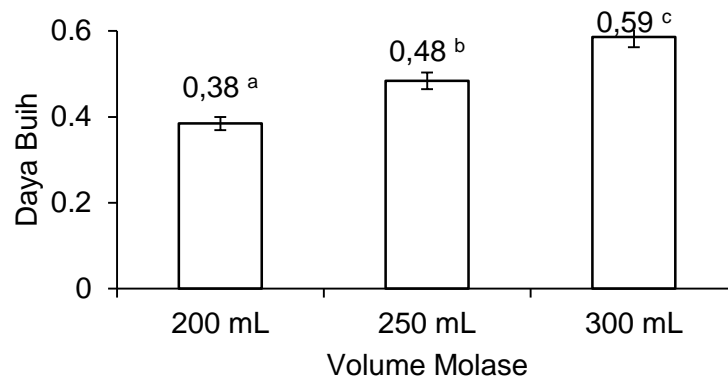
Gambar 23. Rata-rata Nilai pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.



Gambar 23 menunjukkan bahwa rata-rata pH pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Penurunan kadar pH dimungkinkan karena terjadinya degradasi bahan organik karbohidrat saat fermentasi yang memicu banyaknya asam yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan penelitian Yunika (2015) yang menyatakan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin rendah pH yang dihasilkan. Arief *et al.*, (2011) menyatakan penurunan kadar pH dengan meningkatnya lama fermentasi terjadi karena bakteri mampu mendegradasi substrat secara optimal dan digunakan sebagai nutrisi dalam pertumbuhannya sehingga menghasilkan asam asetat sebagai metabolit primer dan asam-asam organik dalam jumlah kecil sebagai metabolit sekunder.

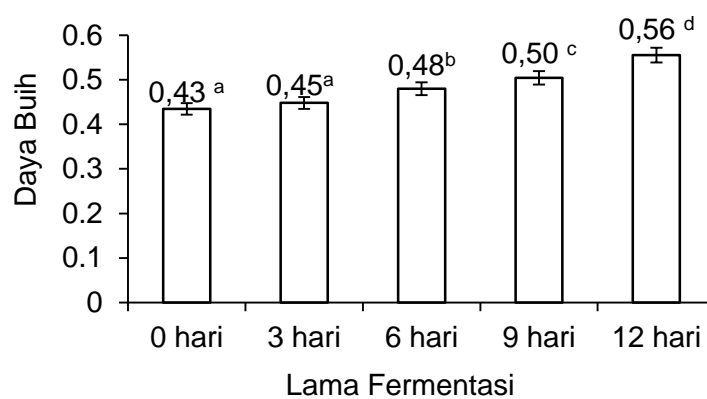
#### 4.2.4 Analisis Daya Buih

Data pengamatan dan analisis daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 34. Hasil analisis data menunjukkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT. Daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 24 dan Gambar 25.



Gambar 24. Rata-rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Gambar 24 menunjukkan bahwa rata-rata daya buih dari pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami peningkatan dengan semakin bertambahnya volume molase rebus. Meningkatnya daya buih dengan semakin bertambahnya volume molase rebus dimungkinkan molase dapat menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan khamir laut sehingga khamir laut yang tumbuh semakin banyak sehingga biomassa khamir laut bertambah dan protein meningkat. Rieuwpassa (2013) menyatakan bahwa kekuatan protein dalam memerangkap gas adalah faktor utama yang menentukan karakteristik dari buih protein. Kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia dari protein



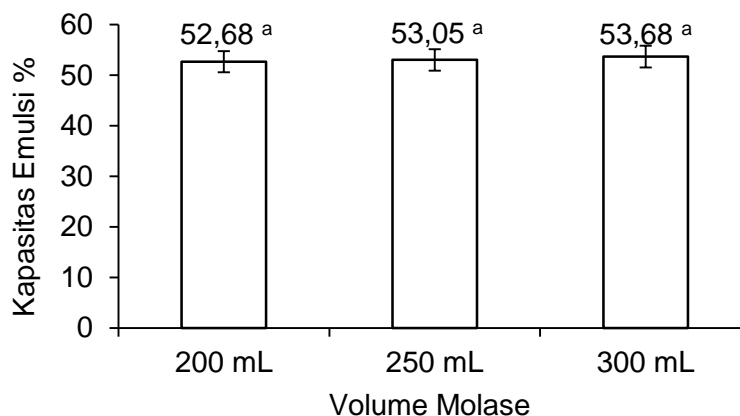
Gambar 25. Rata-rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 25 menunjukkan bahwa rata-rata daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami peningkatan seiring dengan semakin

bertambahnya lama waktu fermentasi. Peningkatan ini dimungkinkan karena semakin lama proses fermentasi maka semakin banyak peptida hidrofobik yang dihasilkan dan dapat mengabsorpsi antara fase udara dan fase air sehingga dapat membentuk daya buih yang banyak. Buih adalah bentuk dispersi koloida gas dalam cairan dimana daya buih protein sangat dipengaruhi oleh sifat fisikokimia terutama dari sifat molekul protein yang menentukan keberhasilan terbentuknya kondisi sifat fungsional. Daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama proses fermentasi. Hidrolisat yang mempunyai kadar protein tinggi, maka daya buihnya juga akan tinggi (Koesoemawardhani *et al.*, 2011). Bahar *et al.*, (2011) menambahkan bahwa daya buih disebabkan karena hidrolisat protein mempunyai gugus hidrofobik yang lebih banyak. Adanya gugus hidrofobik pada permukaan akan memfasilitasi polipeptida yang akan memproduksi buih.

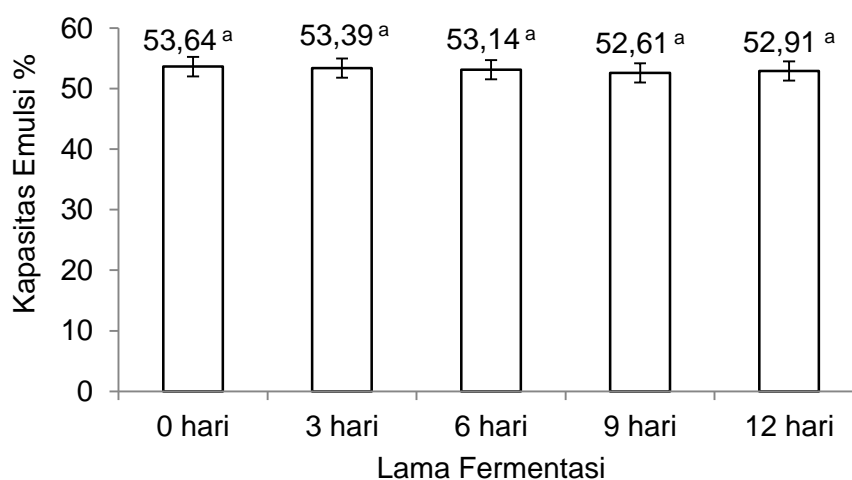
#### 4.2.5 Analisis Kapasitas Emulsi

Data pengamatan dan analisis kapasitas emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 35. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase rebus tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan. Kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 26 dan Gambar 27.



Gambar 26. Rata-rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda.

Gambar 26 menunjukkan bahwa rata-rata kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus tidak berbeda nyata seiring dengan semakin meningkatnya volume molase rebus yang ditambahkan. Emulsi yang dihasilkan dari ketiga formulasi hampir sama. Emulsi diduga berkaitan dengan banyaknya asam amino yang terdapat pada hidrolisat protein eceng gondok rebus karena gugus polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus polar pada air dan gugus non polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus non polar pada minyak sehingga terbentuklah emulsi. Koesoemawardani *et al.*, (2011) mengatakan bahwa asam amino hasil hidrolisis sebagian akan diserap oleh minyak yang memicu terbentuknya emulsi pada hidrolisat protein.



Gambar 27. Rata-rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 27 menunjukkan bahwa rata-rata kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus tidak memberikan pengaruh yang nyata dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena kandungan asam amino yang dihasilkan selama proses fermentasi hampir sama sehingga kapasitas emulsi yang dihasilkan tidak jauh berbeda. Hidrolisat protein eceng gondok rebus yang menghasilkan emulsi tinggi dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi untuk produk pakan. Emulsi memiliki kemampuan untuk menyatukan bahan yang tidak saling melarut karena molekulnya terdiri dari gugus hidrofobik dan gugus hidrofilik. Gugus hidrofobik mampu berikatan dengan minyak atau bahan lain yang bersifat non polar sedangkan gugus hidrofilik mampu berikatan dengan air atau bahan lain yang bersifat polar (Mardawati *et al.*, 2011). Koesoemawardani *et al.*, (2011) menambahkan bahwa hidrolisat mempunyai kemampuan mengikat senyawa yang berbeda (air dan minyak) karena mempunyai golongan peptida hidrofobik dan hidrofilik. Kemampuan kapasitas pengikatan lemak bergantung pada peptida hidrofobik (non polar) dan muatan dari asam aminonya. Meningkatnya jumlah protein maka kapasitas pengikatan lemak akan menurun.

#### **4.3 Hidrolisat Protein Eceng Gondok Terbaik**

Penelitian ini dimaksudkan untuk meningkatkan kadar protein dari eceng gondok, sehingga pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan dari proses fermentasi mengandung kadar protein yang lebih tinggi dari bahan baku. Pada penentuan hidrolisat protein terbaik didasarkan pada kadar protein yang dihasilkan dari masing-masing formulasi hidrolisat protein. Berdasarkan hasil analisis kadar protein pada pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus diperoleh hasil tertinggi yaitu pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase rebus 300 mL. Komposisi kimia



perlakuan terbaik pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dibandingkan dengan bahan baku dan fermentasi eceng gondok dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Komposisi Kimia Perlakuan Terbaik dibandingkan Eceng Gondok Rebus dan Fermentasi Eceng Gondok

Komposisi Kimia	Eceng Gondok Rebus	Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	Fermentasi Eceng Gondok*
Kadar Air (%)	-	16,65	-
Kadar Lemak (%)	1,06	1,40	-
Kadar Abu (%)	15,91	12,05	-
Kadar Protein (%)	10,53	21,03	13,55
Kadar Karbohidrat (%)	-	48,87	-
pH	-	4,23	-
Daya Buih	-	0,24	-
Kapasitas Emuls (%)	-	52,94	-

Sumber : \* Mangisah *et al.*, (2003)

Tabel 7 menunjukkan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus lebih tinggi dibandingkan kadar protein dari eceng gondok rebus dan fermentasi eceng gondok. Penggunaan khamir laut dapat meningkatkan kandungan protein karena khamir laut merupakan protein sel tunggal. Dengan ketersediaan nutrisi yang cukup, khamir laut dapat tumbuh dan biomassa sel akan bertambah banyak, akibatnya dapat meningkatkan kadar protein dari produk. Sesuai dengan penelitian Mangisah *et al.*, (2003) bahwa peningkatan protein terjadi karena adanya pertumbuhan mikroba sehingga menyebabkan adanya penambahan miselium yang berarti terjadi peningkatan unsur nitrogen, selain itu protein bahan akan diubah menjadi asam amino, kemudian menjadi  $\text{NH}_3$  dan selanjutnya digunakan untuk membentuk protein tubuh mikroba.

#### 4.4 Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus

Metode pemisahan umum HPLC tergantung sifat polaritas senyawa dalam eluat yaitu fase normal dan fase terbalik. Pada penelitian ini menggunakan HPLC fase terbalik karena fase gerak yang digunakan bersifat polar dan fase diam bersifat non polar. Fase gerak berupa zat cair yang disebut eluen atau

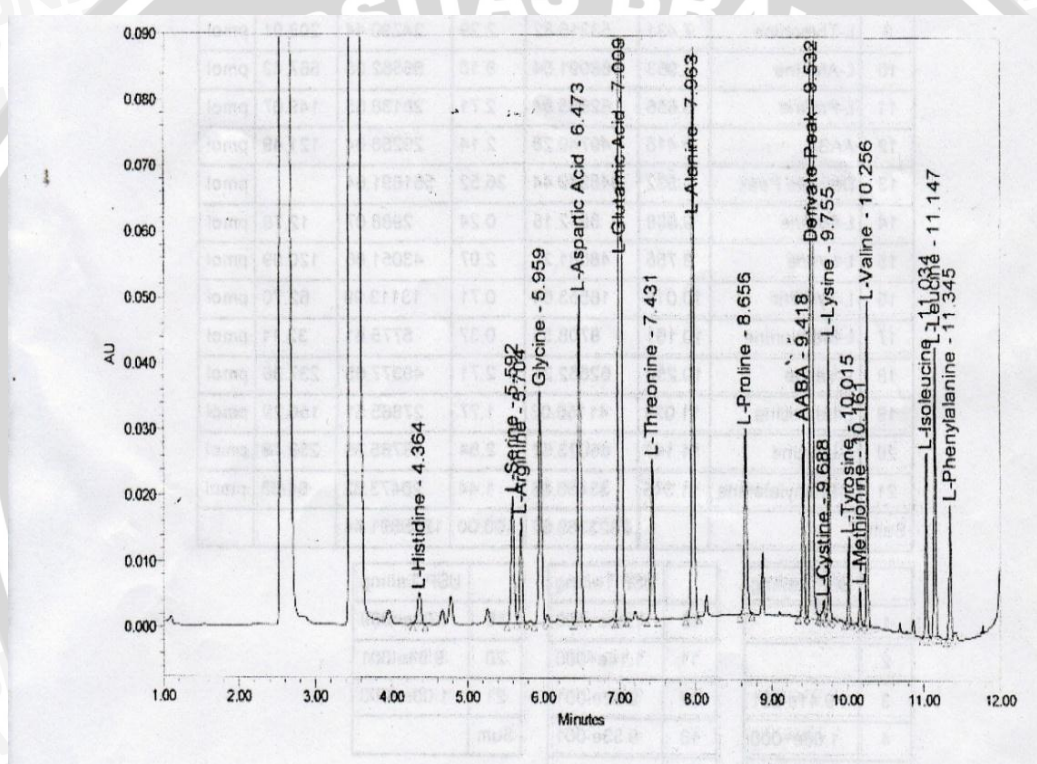
pelarut sedangkan fase diam berupa silika gel yang mengandung hidrokarbon panjang berupa atom karbon C-18. Fase gerak pada penelitian ini menggunakan acetonitril 60%.

Analisis asam amino diawali dengan proses hidrolisis. Pada tahap ini, hidrolisis rantai polipeptida yang sempurna dilakukan dengan HCl 6 N pada suhu 110°C selama 22 jam. Hidrolisis dilakukan dengan HCl karena HCl dapat memecah ikatan peptida secara sempurna dan dapat dengan mudah hilang dari hidrolisat dengan adanya penguapan. Setelah larutan di hidrolisis, hidrolisat yang diperoleh kemudian didinginkan pada suhu kamar. Kemudian isi tabung dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Hasil dari proses hidrolisis menghasilkan larutan hitam kecoklatan sehingga tidak bisa langsung di injeksikan ke dalam HPLC. Sebelum dilakukan injeksi ke dalam alat HPLC hasil hidrolisis di filter terlebih dahulu dengan menggunakan membran filter berpori 0,45 µm. Hal ini bertujuan untuk memisahkan asam amino dari komponen lain yang dapat mengganggu proses pada saat analisis dan menghilangkan zat yang dapat merusak kolom HPLC. Setelah proses filtrasi menggunakan membran filter 0,45 µm, larutan akan terlihat bening dan bersih. Sampel asam amino ditambahkan dengan AABA (*Alpha Amino Butyric Acid*) sebagai larutan internal standar. Penambahan larutan standar internal digunakan untuk mengoreksi hilangnya residu asam amino selama proses hidrolisis karena aliran atau penghancuran.

Sampel mulai diderivatisasi dengan menambahkan 70 µl AccQ fluor borate dan 20 µl reagen fluor A ke dalam 10 µl filtrat. Kemudian divortex dan didiamkan selama 1 menit serta diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Selanjutnya disuntikkan pada HPLC. Sampel dilakukan proses derivatisasi asam amino yang bertujuan agar menghasilkan derivat yang mampu berfluoresensi sehingga pengukuran menjadi lebih selektif dan sensitif. Agen penderivat dapat

bereaksi dengan asam amino primer dan asam amino sekunder dan menghasilkan derivat fluoresen dengan eksitasi 250 nm dan emisi 395 nm.

Kromatogram HPLC merupakan hubungan antara waktu sebagai absis dan tanggap detektor sebagai ordinat pada sistem, dimana titik nol dinyatakan sebagai saat dimulainya injeksi sampel. Kromatogram asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan volume molase rebus 300 mL dan lama fermentasi 12 hari yang dianalisis asam amino menggunakan HPLC dapat dilihat pada Gambar 28.



Gambar 28. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus Terbaik.

Gambar 28 menunjukkan kromatogram dari asam amino yang terkandung pada hidrolisat protein eceng gondok rebus terbaik. Prinsip HPLC atau yang biasa disebut dengan KCKT adalah fase gerak cair dialirkan dengan bantuan pompa melalui kolom detektor. Sampel dimasukkan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan. Syafiqoh (2014) menyatakan bahwa berdasarkan kepolaran fase diam dan fase gerak, HPLC dikelompokkan menjadi HPLC fase

normal dan fase terbalik. Pada fase terbalik fase diam bersifat non polar dan fase gerak bersifat polar. Di dalam kolom terjadi proses pemisahan komponen-komponen cairan. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut dengan fase diam, solut yang interaksinya kurang kuat dengan fase diam akan keluar dari kolom terlebih dahulu dan sebaliknya (Lestari, 2014). Setiap komponen campuran yang keluar dari kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Masing-masing asam amino akan terpisah dan terelusi dari kolom dengan waktu retensi yang berbeda-beda. Asam amino yang bersifat polar akan mempunyai waktu retensi yang lebih singkat sedangkan asam amino yang bersifat non polar mempunyai waktu retensi yang lebih lama. Berdasarkan gambar di atas, asam amino histidin bersifat polar bermuatan positif dan mempunyai ikatan elektrostatik yang kuat sehingga dengan waktu retensi yang singkat jenis asam amino ini akan keluar lebih cepat. Asam amino penilalanin bersifat nonpolar sehingga mempunyai waktu retensi yang lebih lama dan keluar terakhir.

#### **4.5 Analisis Profil Asam Amino**

Berdasarkan hasil analisis kadar protein dan parameter hidrolisat protein eceng gondok rebus yang lain diperoleh hasil terbaik yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume 300 mL. Hasil terbaik hidrolisat protein eceng gondok rebus ini dianalisis total asam amino untuk mengetahui asam-asam amino yang terkandung di hidrolisat protein eceng gondok rebus ini. Analisis data total asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus dapat dilihat pada Lampiran 36. Kandungan asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus perlakuan terbaik dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Kandungan Asam Amino pada Hidrolisat Protein dari Eceng Gondok Rebus dan Daun Eceng Gondok.

No	Jenis Asam Amino	Satuan	Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	Daun Eceng Gondok <sup>1</sup>	Tepung Ikan <sup>2</sup>	Bungkil Kedelai <sup>2</sup>	Telur Ayam Ras <sup>3</sup>
<b>Esensial</b>							
1	Valin	%	0,49	2,79	3,27	3,47	0,27
2	Threonin	%	0,45	2,63	2,34	2,02	0,30
3	Lisin	%	0,40	2,69	2,82	2,31	0,42
4	Isoleusin	%	0,38	2,31	2,37	2,61	0,26
5	Histidin	%	0,17	1,1	0,78	0,87	0,14
6	Phenilalanin	%	0,39	3,39	2,37	2,92	0,40
7	Arginin	%	0,44	3,56	3,75	3,07	0,47
8	Leusin	%	0,62	5,06	3,99	3,03	0,60
9	Metionin	%	0,09	1,27	0,99	2,35	0,12
<b>Non Esensial</b>							
1	Aspartat	%	1,15	5,05	4,41	3,06	0,87
2	Serin	%	0,37	2,56	3,75	1,20	0,48
3	Alanin	%	1,16	3,4	3,12	2,95	0,47
4	Glutamat	%	5,72	5,9	7,05	3,81	1,05
5	Tirosin	%	0,21	2,16	1,59	2,60	0,23
5	Prolin	%	0,54	2,72	3,93	2,40	0,28
7	Glisin	%	0,50	3,02	3,83	2,65	0,27
8	Sistin	%	-	0,84	0,63	0,50	-
	Total	%	13,09	50,87	55,11	46,91	6,63

Sumber : 1. Daun Eceng Gondok (Virabalin *et al.*, 1993)

2. Sitompul (2004)

3. Heny (2002) dengan uji *High Speed Amino Acid Analyzer*

Tabel 8 menunjukkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok rebus memiliki 16 jenis asam amino. Asam amino yang tidak terdeteksi (sistin) dimungkinkan karena kandungan asam amino tersebut sangat rendah sehingga tidak terdeteksi. Produk hidrolisat protein eceng gondok rebus mengandung 9 asam amino esensial dan 7 asam amino non esensial. Mutu protein juga dinilai dari kandungan asam amino yang terkandung dalam protein tersebut. Protein yang dapat menyediakan asam amino esensial mempunyai mutu yang tinggi. Asam amino esensial yang mempunyai kadar tertinggi adalah leusin. Asam amino non esensial yang mempunyai kadar tertinggi adalah glutamat sebesar 5,72%. Asam glutamat merupakan asam amino nonesensial yang berperan dalam menunjang fungsi otak dan memperkuat ingatan. Husen (2015) menyatakan

bahwa proses analisis menggunakan hidrolisis asam mempunyai derajat analisis yang lebih tinggi yang menyebabkan asam amino glutamin mengalami deaminasi membentuk asam glutamat. Hidayat (2011) menambahkan bahwa pada umumnya kandungan asam amino non esensial yang paling banyak ditemukan yaitu asam glutamat, asam aspartat, alanin, dan taurin.

Jika dilihat dari jumlah asam amino untuk hidrolisat protein eceng gondok rebus dan daun eceng gondok pada tabel di atas, asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus mengandung asam amino yang lebih rendah bila dibandingkan dengan daun eceng gondok. Daun eceng gondok mengandung asam amino yang lebih besar karena pada tumbuhan eceng gondok kandungan protein paling tinggi terletak pada daun. Pada hidrolisat protein eceng gondok rebus yang digunakan adalah campuran dari akar, batang dan daun eceng gondok sehingga proporsi bahan baku yang berbeda diduga akan mempengaruhi hasil asam amino yang dihasilkan. Hasil penelitian asam amino dari hidrolisat protein eceng gondok tersebut menyatakan bahwa asam amino sistin mengalami kerusakan selama proses hidrolisis asam berlangsung, selain itu juga karena proses pengeringan dan derivatisasi. Purbasari (2008) menyatakan bahwa protein yang terhidrolisis akan membebaskan asam amino sehingga banyaknya asam amino bebas yang terdapat pada produk dapat digunakan sebagai parameter untuk menunjukkan kesempurnaan proses hidrolisis. Akili (2012) menyatakan bahwa enzim dari khamir laut masih memiliki tingkat kemurnian yang rendah dan adanya inhibitor pada enzim tersebut menyebabkan rendahnya kemampuan dalam menghidrolisis bahan.

Tabel di atas juga memperlihatkan bahwa asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus lebih rendah dari pada asam amino tepung ikan dan bungkil kedelai. Perbedaan ini dikarenakan adanya perbedaan bahan baku yang digunakan. Sitompul (2004) menyatakan bahwa tepung ikan dan bungkil kedelai

mengandung protein kasar yang cukup tinggi masing-masing berkisar antara 58-68% dan 43-48%. Adanya proses perebusan eceng gondok pada pembuatan hidrolisat protein diduga akan menyebabkan protein rusak dan terdenaturasi. Nurjanah *et al.*, (2014) menambahkan bahwa perebusan menyebabkan semua asam amino esensial dan non esensial menurun karena selama proses perebusan terjadi denaturasi protein. Proses perebusan juga menyebabkan terlarutnya protein pada air sebagai media perebusan, sehingga pada saat bahan dipisahkan dari air, kandungan protein dan asam amino menurun.

Tabel 8 juga memperlihatkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok rebus memiliki kandungan asam amino yang lebih tinggi dibanding dengan asam amino telur ayam ras. Hal ini diduga karena uji yang digunakan untuk menganalisis asam amino hidrolisat protein eceng gondok rebus dan asam amino telur ayam ras berbeda, sehingga tingkat ketelitiannya juga berbeda. Hidrolisat protein eceng gondok rebus diuji profil asam amino dengan metode HPLC sedangkan telur ayam ras diuji profil asam amino dengan metode High Speed Amino Acid Analyzer. Haslina (2002) menyatakan bahwa produk hidrolisat protein dapat digunakan sebagai fortifikasi bahan pangan yang mengandung protein rendah. Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok rebus berpeluang untuk disubstitusikan pada pakan ternak karena memiliki jumlah asam amino yang tinggi dan dapat menyediakan asam amino esensial, namun hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat keamanan dari hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan.

#### **4.6 Analisa Derajat Hidrolisis**

Hidrolisis diartikan sebagai pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana. Pada proses hidrolisis sebuah ikatan antara dua atom dipecah. Berdasarkan mekanisme pengikatan enzim terhadap substrat, proses

hidrolisis tersusun atas dua tahap reaksi. Reaksi pertama adalah reaksi asilasi untuk membentuk ikatan kompleks enzim substrat, sedangkan reaksi kedua adalah reaksi deasilasi yang ditandai dengan hidrolisis ikatan kompleks enzim substrat menjadi produk dan enzim (Purbasari, 2008).

Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN), derajat hidrolisis digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis (Haslaniza *et al.* 2010). Hidrolisis protein akan menambah kepolaran protein sehingga molekul protein yang tidak larut dalam air akan larut dengan adanya proses hidrolisis (Hidayat, 2005). Enzim mengkatalisis proses enzimatik pada saat dicampurkan dengan substrat. Widadi (2011) menyatakan bahwa pada tahap awal proses hidrolisis, enzim akan diserap ke dalam suspensi partikel substrat kemudian di dalamnya terjadi pemutusan ikatan peptida yang terjadi secara simultan. Pada konsentrasi tertentu, kecepatan hidrolisis akan mengalami penurunan dan memasuki tahap stasioner.

Nilai derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Nilai derajat hidrolisis hidrolisat protein eceng gondok rebus dapat dilihat pada Lampiran 36. Nilai derajat hidrolisis mengalami peningkatan seiring dengan semakin lamanya proses fermentasi. Hal ini diduga karena semakin lama proses fermentasi, semakin banyak khamir laut yang tumbuh dan memproduksi enzim protease sehingga dapat menghidrolisis substrat dengan optimal. Nilai derajat hidrolisis pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 1,01% dan setelah mengalami fermentasi selama 12 hari meningkat menjadi 2,00%. Semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek maka derajat hidrolisisnya semakin tinggi.



## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian dengan judul Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) adalah:

- Volume molase rebus yang tepat terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus adalah volume molase rebus 300 mL dengan kandungan nutrisi sebesar 18,28% kadar air, 1,78% kadar lemak, 15,60% kadar abu, 17,17% kadar protein, 47,17% kadar karbohidrat, 4,27 pH, 0,59 daya buih, dan 53,68% kapasitas emulsi.
- Lama fermentasi yang tepat terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus adalah pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 14,56% kadar air, 1,54% kadar lemak, 18,37% kadar abu, 18,31% kadar protein, 53,94% kadar karbohidrat, 4,24 pH, 0,56 daya buih, dan 52,91% kapasitas emulsi.
- Total asam amino yang dihasilkan pada volume molase 300 mL dan lama fermentasi 12 hari yaitu sebesar 13,09% dengan 9 jenis asam amino esensial dan 7 jenis asam amino non esensial.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan pengujian kadar protein pada sampel setelah difermentasi dan setelah dilakukan penyaringan serta dilakukan proses pemisahan pada hidrolisat protein yang dihasilkan untuk memisahkan produk hidrolisat protein dengan substrat, sehingga produk yang dihasilkan adalah produk hidrolisat protein murni.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official Methods of Analysis the Association of Official Analytical Chemist 16th Edition. Virginia-Arlington, USA.
- Ahmad, R.Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. *Wartazoa*. 15 (1).
- Akili, Y. R. R. 2012. Karakteristik Ekstraseluler Khamir Laut yang dipanen pada Fase Log dan Aktivitas Hidrolisisnya terhadap Kualitas Protein Ikan Peperek (*Leiognathus* sp.). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 97 hlm.
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawari. 2011. Analisa Pangan. Dian Rakyat: Jakarta
- Anggraeni, Y.P dan S.S. Yuwono. 2014. Pengaruh Fermentasi Alami pada *Chips Ubi Jalar (Ipomoea batatas)* terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Terfermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2)
- Anggraini, V.P., Silvia, A., Yohane, M., Sri, H., dan Sylvia, Y.S. 2014. Pengaruh Fortifikasi Konsentrat Protein Kedelai dan Fermentasi terhadap Kadar Gizi Tepung Jali. 5 (1). ISSN: 2087-0922
- Arief, R. W., Irma, I., dan Yusmasarani. 2011. Penurunan Kadar Asam Fitat Tepung Jagung selama Proses Fermentasi Menggunakan Ragi Tape. Seminar Nasional Serealia 2011
- Ariyani, F., M. Saleh, Tazwir, dan N. Hak. 2003. Optimasi Proses Produksi Hidrolisat Protein Ikan (HPI) dari Mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Perikanan. Indonesia*. 9 (5): 11-21.
- Asjayani, R. 2014. Aplikasi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) pada Level dan Lama Simpan terhadap Kualitas Telur Ayam Ras. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Azizah, N., A.N. Al-Baarri., dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi GAs pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1 (2)
- Bahar, A., A. T. Suproborini., dan Y. Witono. 2011. Optimasi Proses Pembuatan Isolat Protein Tempe Campuran Kedelai (*Glycine max* Merr) dan Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*). ISBN 978-602-98902-1-1
- Bidura, I.G.N.G., N.L.G. Sumardani, T. Istri Putri dan I.B.G. Partama. 2005. Pengaruh Pemberian Ransum Terfermentasi terhadap Pertambahan Berat Badan, Karkas dan Jumlah Lemak Abdomen pada Itik Bali. *JPPT*. 33 (4) : 274 – 281.

- Budy, D. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Rebus. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Coniwanti, P., S. Novalina., dan I.K. Putri. 2009. Pengaruh Konsentrasi Larutan Etanol, Temperatur dan Waktu Pemasakan pada Pembuatan Pulp Eceng Gondok Melalui Proses Organosolv. *Jurnal Teknik Kimia*. 4 (16).
- Endah, R.D., D. Sperisa., A. Nur., Paryanto. 2007. Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut. *Gema Teknik*. 2 (10).
- Faharuddin. 2014. Analisis Kandungan Bahan Kering, Bahan Organik dan Protein Kasar Silase Pucuk Tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang Difermentasi dengan Urea, Molases dan Kalsium Karbonat. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 308 hlm.
- Fathony, A. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Febriani, M. 2006. Substitusi Protein Hewani dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut untuk Pakan Patin (*Pangasius* sp.) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes* *sltivelis*). *Jurnal Perikanan (Journal Fisheries Science)*. 7 (2).
- Febriani, M. 2010. Penggunaan Khamir Laut sebagai Biokatalisator dalam Pembuatan Silase Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Salah Satu Bahan Alternatif Pakan Ikan. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010.
- Fifendy, M., Eldini., dan Irdawati. 2013. Pengaruh Pemanfaatan Molase terhadap Jumlah Mikroba dan Ketebalan Nata pada Teh Kombucha. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.
- Hamid, H., Purwadaria, T., Haryati, T., dan Sinurat, A.P. 1999. Perubahan Nilai Bilangan Peroksida Bungkil Kelapa dalam Proses Penyimpanan dan Fermentasi dengan *Aspergillus Niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 4 (2).
- Hartono, R. 2011. Bioteknologi Pengembangan Tanaman Resisten terhadap Hama dan Penyakit. UPI.
- Haryadi., Nurliana., dan Sugito. 2013. Nilai pH dan Jumlah Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing Setelah Difermentasi dengan Penambahan Gula dengan Lama Inkubasi yang Berbeda. *Jurnal Medika Veterinaria*. 7 (1).

- Haryanti, S., N. Setiari., R.B. Astuti., E.D. Hastuti., dan Y. Nurchayati. 2009. Respon Fisiologi dan Anatomi Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart) Solm) Di Berbagai Perairan Tercemar. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1).
- Haslaniza, H. 2010. The Effects of Enzyme Concentration, Temperature and Incubation Time On Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipitate from Cockle (*Anadara granosa*) Meat Wash Water. *International Food Research Journal*. 17: 147-152.
- Haslina. 2012. Nilai Gizi dan Daya Cerna Protein Patilo sebagai Makanan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis niloticus*). Prosiding Semnas FAI. Hlm 252-256.
- Hatmiko, S.P., N. Cholis., dan B. Soejosopoetro. 2010. Pengaruh Pakan Fermentasi Menggunakan Bakteri *Azotobacter* terhadap pH, Daya Mengikat Air, dan Susut Masak Daging Kelinci. Universitas Brawijaya. Malang.
- Heny. 2002. Perbandingan Kadar Asam Amino dalam Telur Ayam Ras dan Telur Bebek dengan *High Speed Amino Acid Analyzer*. Thesis. Fakultas Farmasi. Universitas Surabaya. Surabaya.
- Hernaman, I., R. Hidayat., dan Mansyur. 2005. Pengaruh Penggunaan Molases dalam Pembuatan Silase Campuran Ampas Tahu dan Pucuk Tebu Kering terhadap Nilai pH dan Komposisi Zat-Zat Makanannya. *Jurnal Ilmu Ternak*. 5 (2).
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 70 hlm.
- Husen, R.A.H. 2015. Pengaruh Penambahan Volume Molase Segar yang Berbeda terhadap Karakteristik Hidrolisat Protein Kerang Hijau (*Perna viridis*) Segar Selama Masa Fermentasi dengan Starter Khamir Laut. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Pelatihan Penulisan Artikel Ilmiah. LPMP Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. 13 hlm.
- Jannah, A. K. 2012. Pengaruh Khamir Laut Jenis Campuran yang Dipanen Pada Fase Log dalam Menghidrolisis Protein Kerang Darah (*Anadara granosa*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Jannah, A.M. 2010. Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi untuk Menghasilkan Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia*. 17 (1).
- Jasin, I. 2014. Pengaruh Penambahan Molases dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi PO Terhadap Kualitas Silase Rumpot Gajah (*Pennisetum purpureum*). *Agripeternakan*. 14(1).

- Juwita, R. 2012. Studi Produksi Alkohol dari tetes tebu (*Saccharum officinarum*) selama Proses Fermentasi. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Kandolla, H., H. Natsir., dan Maming. 2012. Pengaruh Penambahan  $\text{CaCl}_2$  Terhadap Produksi Enzim Protease dari *Bacillus licheniformis* HSA3-1a. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Kholilah, W. 2002. Daya Terima dan Gizi Biskuit dengan Penambahan Konsentrat Protein Ikan Layang (*Decapterus russelli ruppel.*) dan Difortifikasi Zat Besi. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Koesoemawardani, D., F. Nurainy, dan S. Handayani. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Rucah. *Jurnal Natur Indonesia*. 13 (3).
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Thesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kurniawan., S. Lestari., S. Hanggita. 2012. Hidrolisis Protein Tinta Cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan Enzim Papain. 1(1).
- Kusumawardhani, T, 2003. Pengaruh Penambahan Molases sebagai Aditif pada Ensilase Campuran 55% Tebon Jagung (*Zea mays*) dan 45% Litter Broiler terhadap Kecernaan dan Produksi Gas secara In-vitro. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Laboratorium Ilmu Makanan Ternak. 2005. Pemanfaatan Daun Eceng Gondok sebagai Bahan Pakan Unggas. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Lestari, S. W. 2014. Validasi Metode Penetapan Kadar Aliskiren dalam Plasma Darah secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Liawati. 1992. Mempelajari Pengaruh Perbedaan Perendaman dengan Mumbu Ekstrak dan Larutan Garam terhadap Daya Awet Cumi-Cumi (*Loligo edulis*) Asap. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Maharani, E.T., Dan Yusrin. 2010. Kadar Protein Kista Artemia Curah yang Dijual Petambak Kota Rembang dengan Variasi Suhu Penyimpanan. Prosiding Seminar Nasional Unimus.
- Mahmilia, F. 2005. Perubahan Nilai Gizi Tepung Eceng Gondok Fermentasi dan Pemanfaatannya sebagai Ransum Ayam Pedaging. JITV Vol. 10 No. 2.
- Mangisah, I., B. Sukamto., dan M.H. Nasution. 2006. Implementasi daun Eceng Gondok Fermentasi dalam Ransum Itik. *Jurnal Indonesia Tropika Animal Agricultur*. 34 (2).
- Mangisah, I., Maulana, H.N., Sri, S. 2003. Evaluasi Nilai Nutrisi Eceng Gondok Terfermentasi *Aspergillus niger* sebagai Alternatif Pakan. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Mardawati, E., R. Andoyo., dan O. Panggabean. 2011. Pengaruh Penggunaan Telur dan Gum Xanthan Terhadap Beberapa Karakteristik Mie Basah Sorgum Berbahan Baku Tepung Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Kultivar Lokal. ISBN 978-602-98902-1-1
- Marlina, N. 1999. Konversi Data Hasil Analisis Proksimat ke dalam Bahan Segar. Lokakarya Fungsional Non Peneliti 1999.
- Murniyati, A. S., dan Sunarman. 2000. Pendinginan, Pembekuan dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta.
- Nazir, M. 2005. Metode Penelitian. PT. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar Untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Fermentor Air-Lift 18 Liter. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nurjanah., A.M. Jacob., R.N. Ulma., S. Puspitasari.,T. Hidayat. 2014. Komposisi Kimia Kupang Merah (*Musculista senhausia*) Segar dan Rebus. *Depik*. 3 (3).
- Oktavia, H. T., Sri, S., Endro, S. 2012. Pemanfaatan Limbah Air Cucian Beras sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Padat Secara Fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Artikel Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Puspitojati, E. 2014. Pengaruh Penggunaan Bakteri Asam Laktat Selama Fermentasi pada Kualitas *Modified Cassava Flour* (Mocaf). STPPM. Yogyakarta.
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganisme Campuran terhadap Komposisi Kimia Limbah Kubis. *Jurnal Indonesia Tropika Animal Agriculture*. 28(2).
- Riani, S., I. Hindun., M.A.K. Budiyanto. 2012. Pengembangan Media Pembelajaran Berbasis Multimedia Interaktif untuk Meningkatkan Pemahaman Materi Bioteknologi Modern Siswa Kelas XII SMA. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 1(1).
- Rieuwpassa, F. J., J. Santoso, dan W. Trilaksani. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Konsentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropik*. 5 (2).
- Risnoyatingsih, Sri. 2011. Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa secara Enzimatis. *Jurnal Teknik Kimia*. (5) (2).
- Rohim, A. 2014. Pengaruh Perbedaan Penambahan Kadar Molase Rebus pada Medium Gula Terhadap Biomassa Sel Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

- Sabrina, A., S. Wonorahardjo., dan N. Zakia. 2011. Perbandingan Metode Spektrofotometri UV-Vis dan KCKT (Kromatografi cair Kinerja Tinggi) pada Analisis Kadar Asam Benzoat dan Kafein dalam Teh Kemasan. Artikel. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Said, M.I., Johana, C.L., dan Asteria. 2008. Karakteristik Tepung Telur Ayam Ras yang Difermentasi dengan Ragi Tape secara Aerob. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Sevilla, C. G., J. A. Ochave, T. G. Punsalan, B. P. Regala, dan G. G. Uriarte. 2006. Pengantar Metode Penelitian. UI Press. Jakarta.
- Silalahi F.Y dan F, Ikhsan. 2014. Fermentasi Fruitghurt dengan Variasi Kulit Buah Upaya dalam Pemanfaatan Limbah Cair Buah. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Simanjourang, E., N. Kurniawati., dan Z. Hasan. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (4).
- Simanjutak, R. 2009. Studi Pembuatan Etanol dari Limbah Gula (Molase). Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sitompul, S. 2004. Analisis Asam Amino dalam Tepung Ikan dan Bungkil Kedelai. *Buletin Teknik Pertanian*. 9 (1).
- Sittadewi, E.H. 2007. Pengolahan Bahan Organik Eceng Gondok menjadi Media Tumbuh untuk Mendukung Pertanian Organik. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 8 (3).
- Steviani, S. 2011. Pengaruh Penambahan Molase dalam berbagai Media pada Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sugoro, I. Gobel., dan N. Lelaningtyas. 2006. Optimasi Sumber Nitrogen Probiotik Khamir R1 dan R110 dalam Medium Ekstrak Singkong. Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner.
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB. Malang.
- Sulistyaningrum, L.C. 2008. Optimasi Fermentasi. Skripsi. FMIPA. Universitas Indonesia.
- Sumarno., S. Noegroheti., Narsito., I.I. Falah. 2002. Estimasi Kadar Protein dalam Bahan Pangan Melalui Analisis Nitrogen Total dan Analisis Asam Amino. *Majalah Farmasi Indonesia*. 13 (1).
- Suminto. 2008. Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Alkaligenus* sp. dan *Flavobacterium* sp. yang Diisolasi dari Usus Udag pada Media Kultur Molase dan Kaolin. *Jurnal Saintek Perikanan*. 4 (1).

- Supriyati., Pasaribu, T., Hamid, D., dan Sinurat, A. 1998. Fermentasi Bungkil Inti Sawit secara Substrat Padat dengan Menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 3 (3).
- Susanto, W. H. dan B. R. Setyohadi. 2011. Pengaruh Varietas Apel (*Malus sylvestris*) dan Lama Fermentasi oleh Khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Pra-Pengolahan Terhadap Karakteristik Sirup. *J. Teknologi Pertanian*. 12 (3).
- Sutrisno, C.I., R.I. Pujaningsih., dan S. Sumarsih. 2004. Utilitas Kulit Pisang pada Proses Fermentasi dengan Penambahan Tetes. *Publikasi/rip-cis-ssm/2004*.
- Tamad dan J. Maryanto. 2010. Media Pembawa Alternatif Inokulan Mikroba Pelarut Fosfat Berbasis Limbah Pertanian. *Jurnal Agrikultur*. 14 (2).
- Urano, N., M. Yamazaki, and R. Ueno. 2001. Distribution of Halotolerant and/or Fermentative Yeasts in Aquatic Environments. *Journal Tokyo University of Fisheries*. 87: 23-29.
- Utomo, R., S.P.S. Budhi., dan I.F. Astuti. 2013. Pengaruh Level Onggok sebagai Aditif terhadap Kualitas Silase Isi Rumen Sapi. *Buletin Peternakan*. 37 (3).
- Virabalin, R., Kositsup, B., and Punnapayak, H. 1993. Leaf Protein Concentrate from Water Hyacinth. *Journal of Aquatic Plant Management*. 31:207-209.
- Widadi, I. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. IPB. Bogor.
- Widiastuti, N.K.S., Citra, D.A.R., dan Sukarso, A.A. 2014. Pengaruh Penggunaan Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) sebagai Substrat Pembuatan Tempe terhadap Daya Terima Konsumen dan Pengembangannya sebagai Bahan Praktikum Mikrobiologi. Universitas Mataram. Mataram.
- Widyasaputra, R., dan S. S. Yuwono. 2013. Pengaruh Fermentasi Alami *Chips* terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Putih (*Ipomoea batatas* L) Terfermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 1 (1).
- Wulandari, E., T. Idiyanti., dan E. Sinaga. 2012. Limbah Molase : Pemanfaatan sebagai Sumber Karbohidrat untuk Perkembangbiakan Mikroorganisme. *Valensi*. 2 (5).
- Yonathan, A., A.R. Prasetya., dan B. Pramudono. 2013. Produksi Biogas dari Eceng Gondok (*Eicchornia crassipes*): Kajian Konsistensi dan pH terhadap Biogas Dihasilkan. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2 (2).
- Yunika, K. R. 2015. Pengaruh Lama Fermentasi dan Perbedaan Konsentrasi Molase terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Ikan Lele (*Clarias sp.*) Rebus. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.



## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Perhitungan Kultur Khamir Laut

Air laut = 1 Liter = 1000 mL

Gula pasir 0,5%

$$= \frac{0,5}{100} \times 1000 \text{ mL} = 5 \text{ mL} = 5 \text{ cc} = 5 \text{ cm}^3 = 5 \text{ gram}$$

Jadi, gula pasir yang digunakan sebanyak 5 gram

Pupuk daun 0,2%

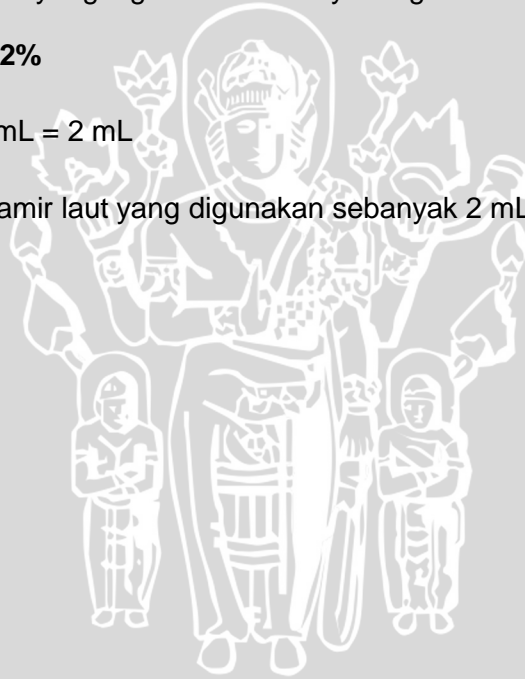
$$= \frac{0,2}{100} \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL} = 2 \text{ cc} = 2 \text{ cm}^3 = 2 \text{ gram}$$

Jadi, pupuk daun yang digunakan sebanyak 2 gram

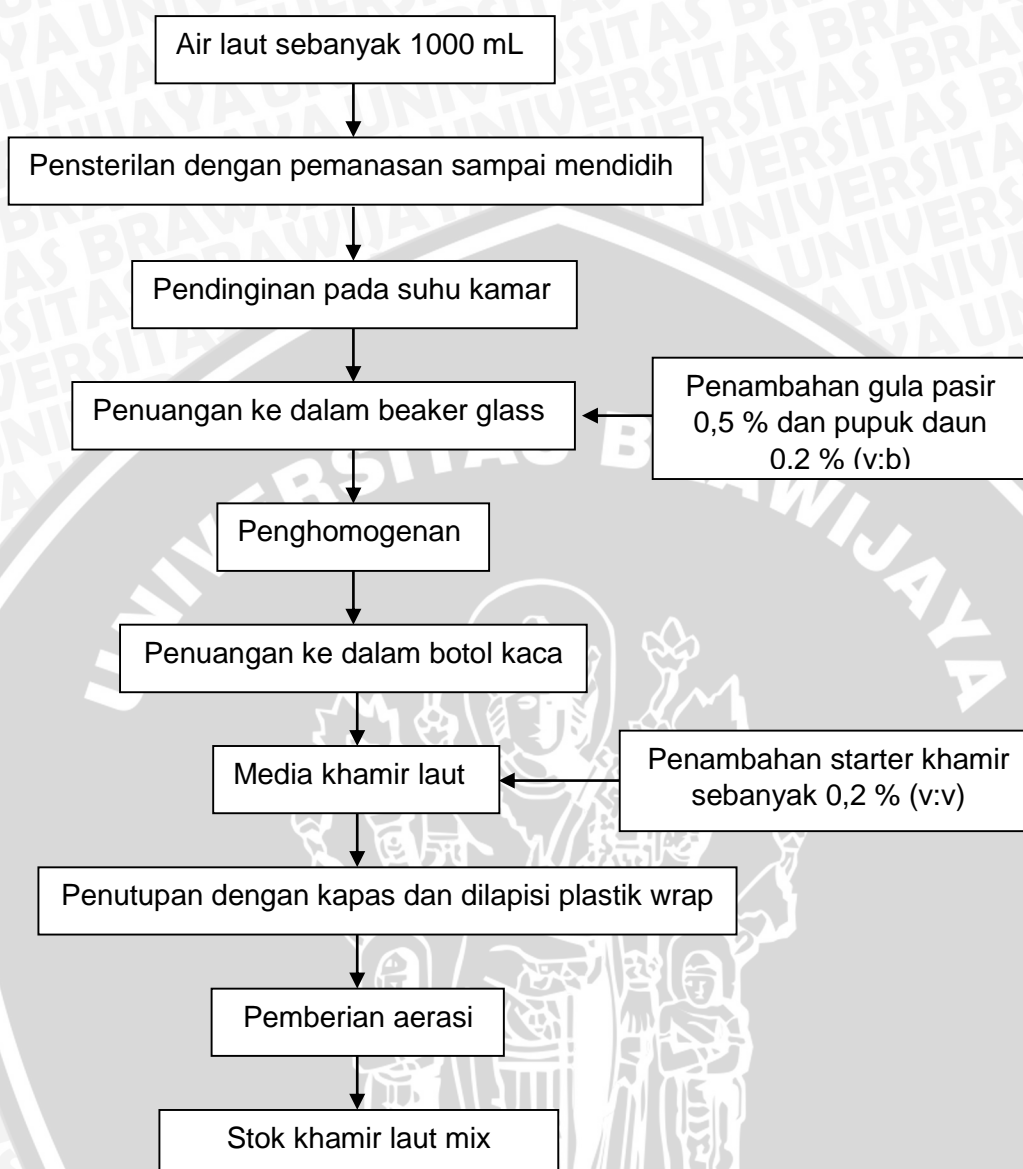
Starter khamir laut 0,2%

$$= \frac{0,2}{100} \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL}$$

Jadi, starter khamir laut yang digunakan sebanyak 2 mL



## Lampiran 2. Diagram Alir Pembuatan Kultur Khamir Laut Mix



**Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut****Air laut = 50 mL****Gula pasir 0,25%**

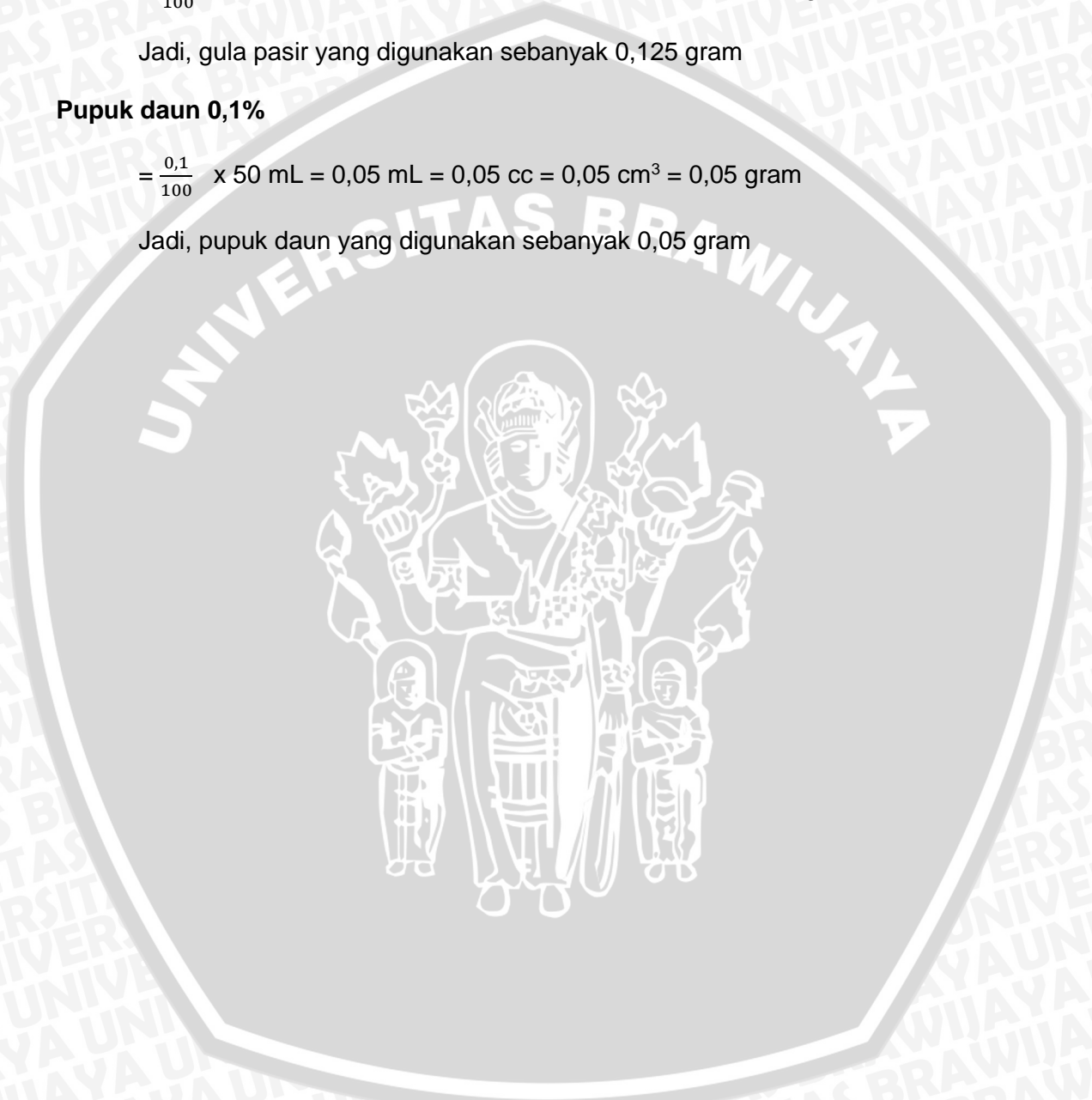
$$= \frac{0,25}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

Jadi, gula pasir yang digunakan sebanyak 0,125 gram

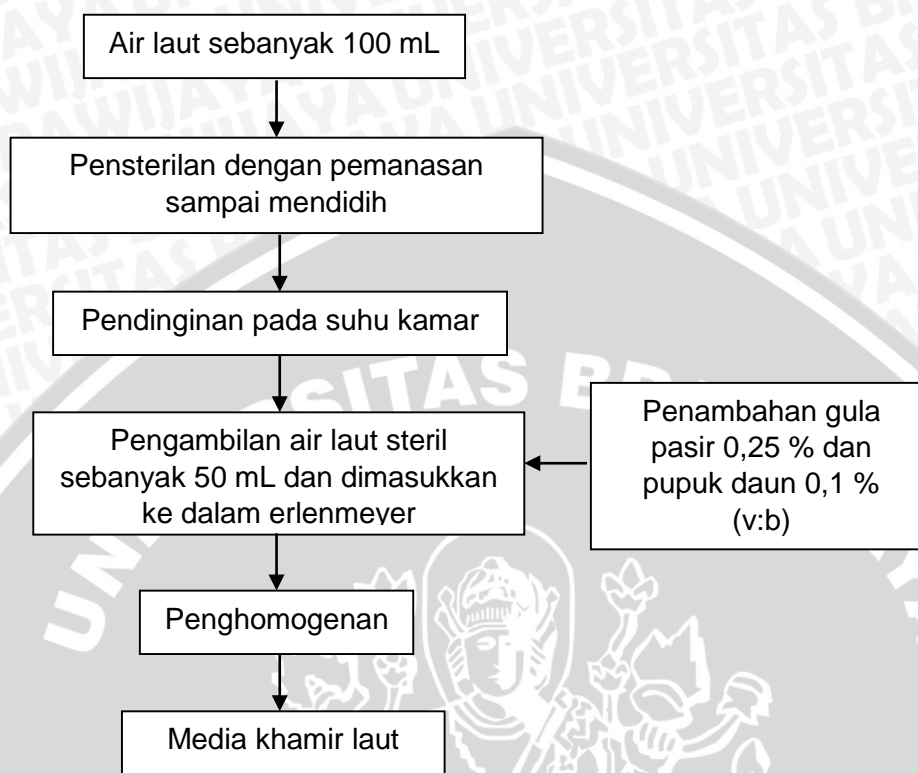
**Pupuk daun 0,1%**

$$= \frac{0,1}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,05 \text{ mL} = 0,05 \text{ cc} = 0,05 \text{ cm}^3 = 0,05 \text{ gram}$$

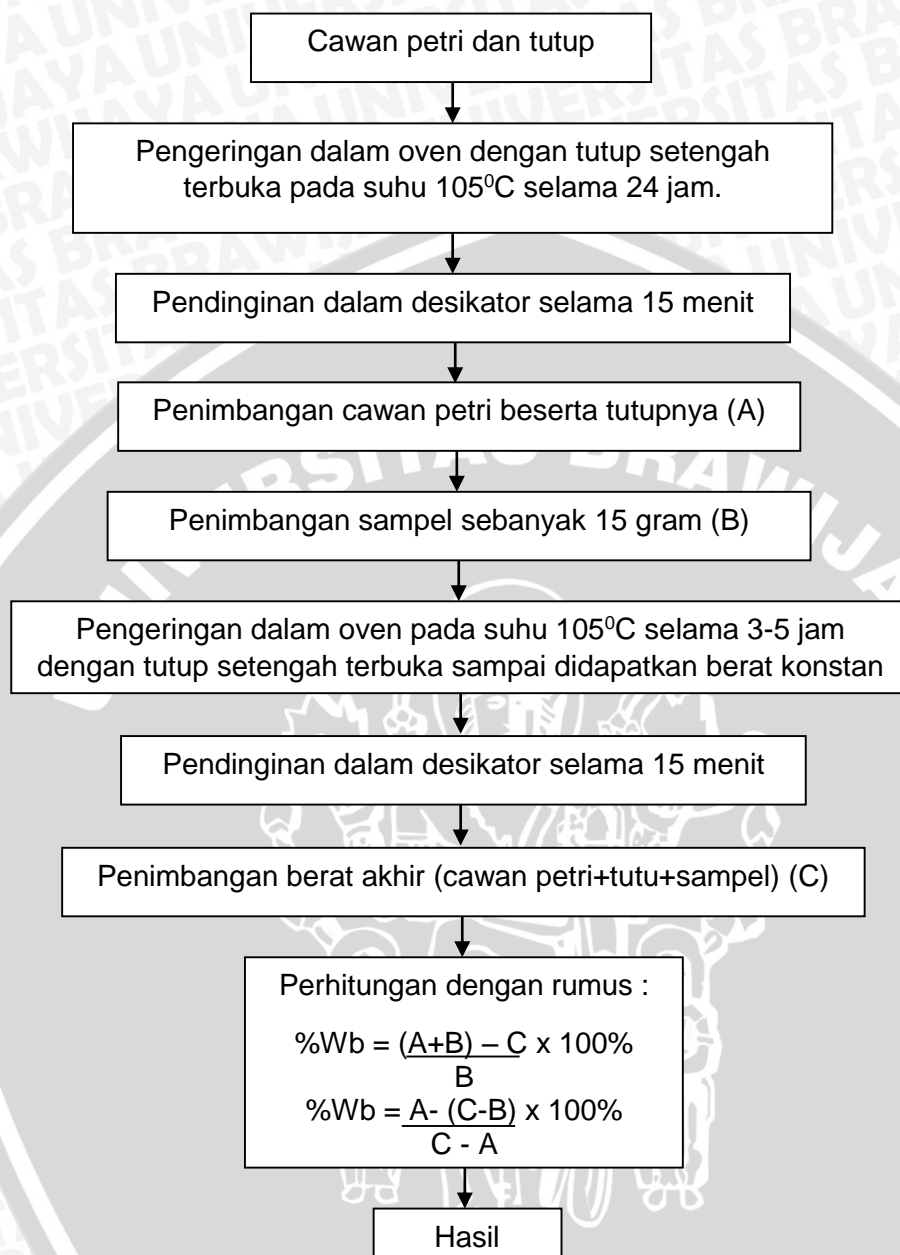
Jadi, pupuk daun yang digunakan sebanyak 0,05 gram

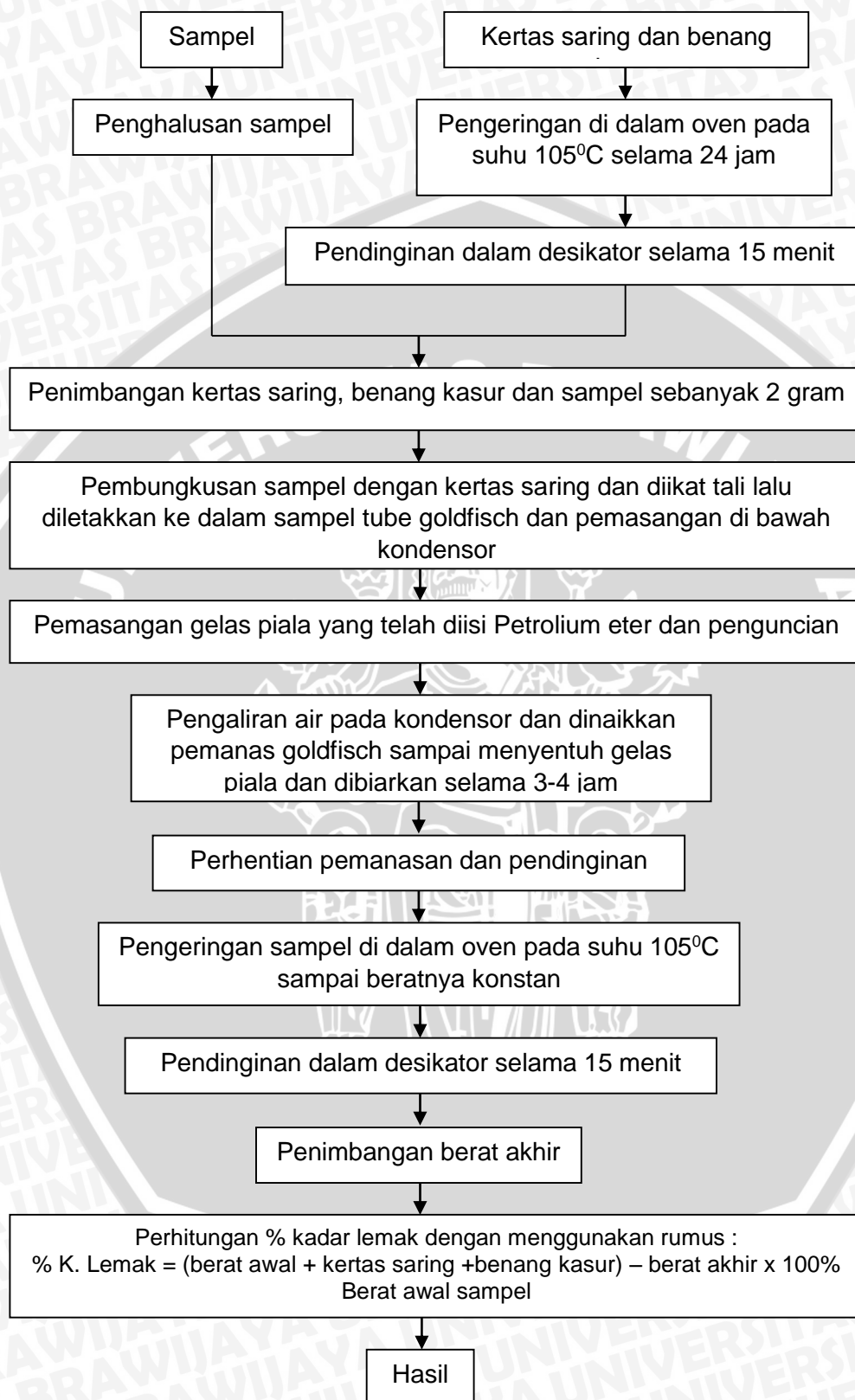


## Lampiran 4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir laut

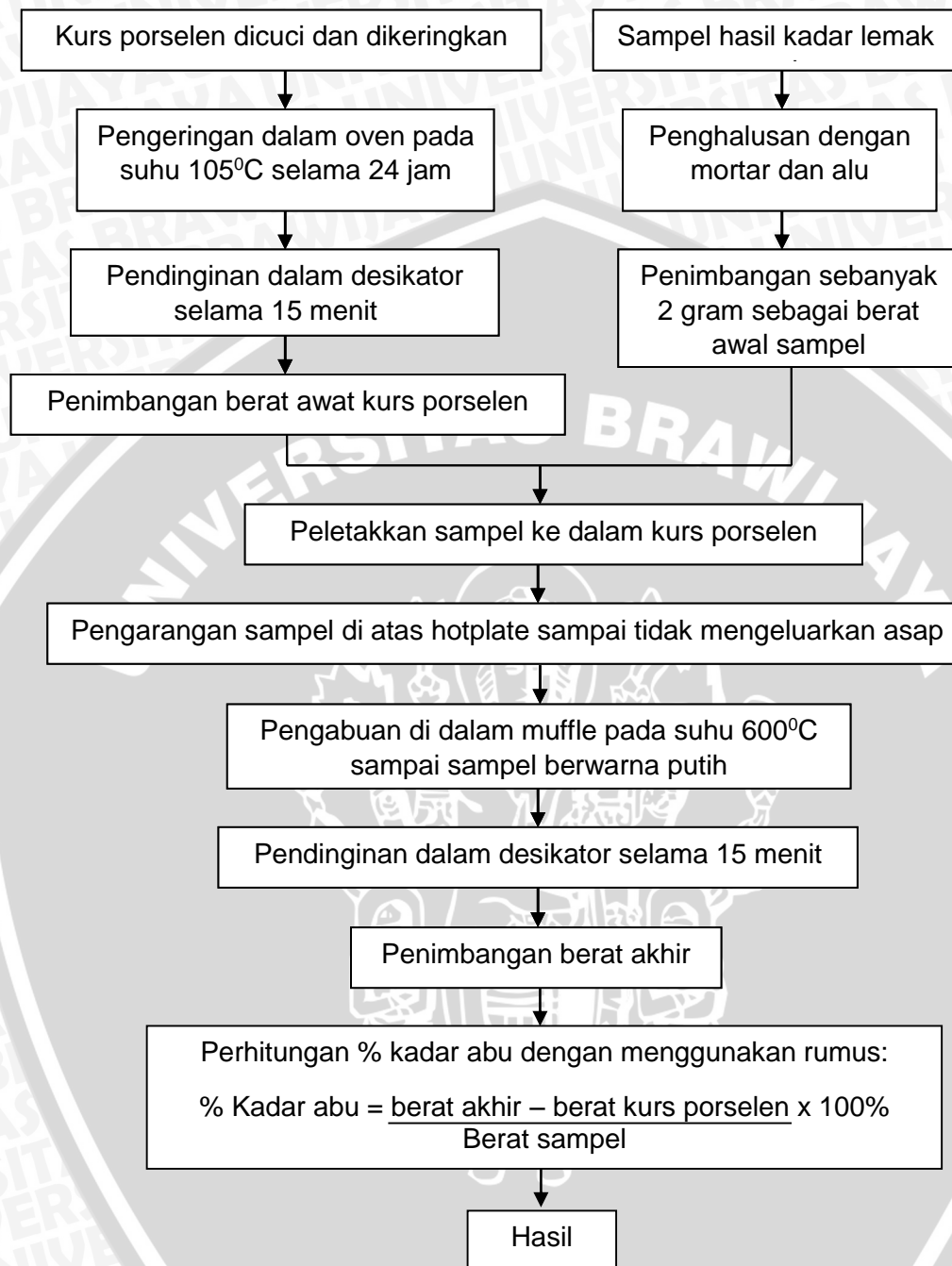


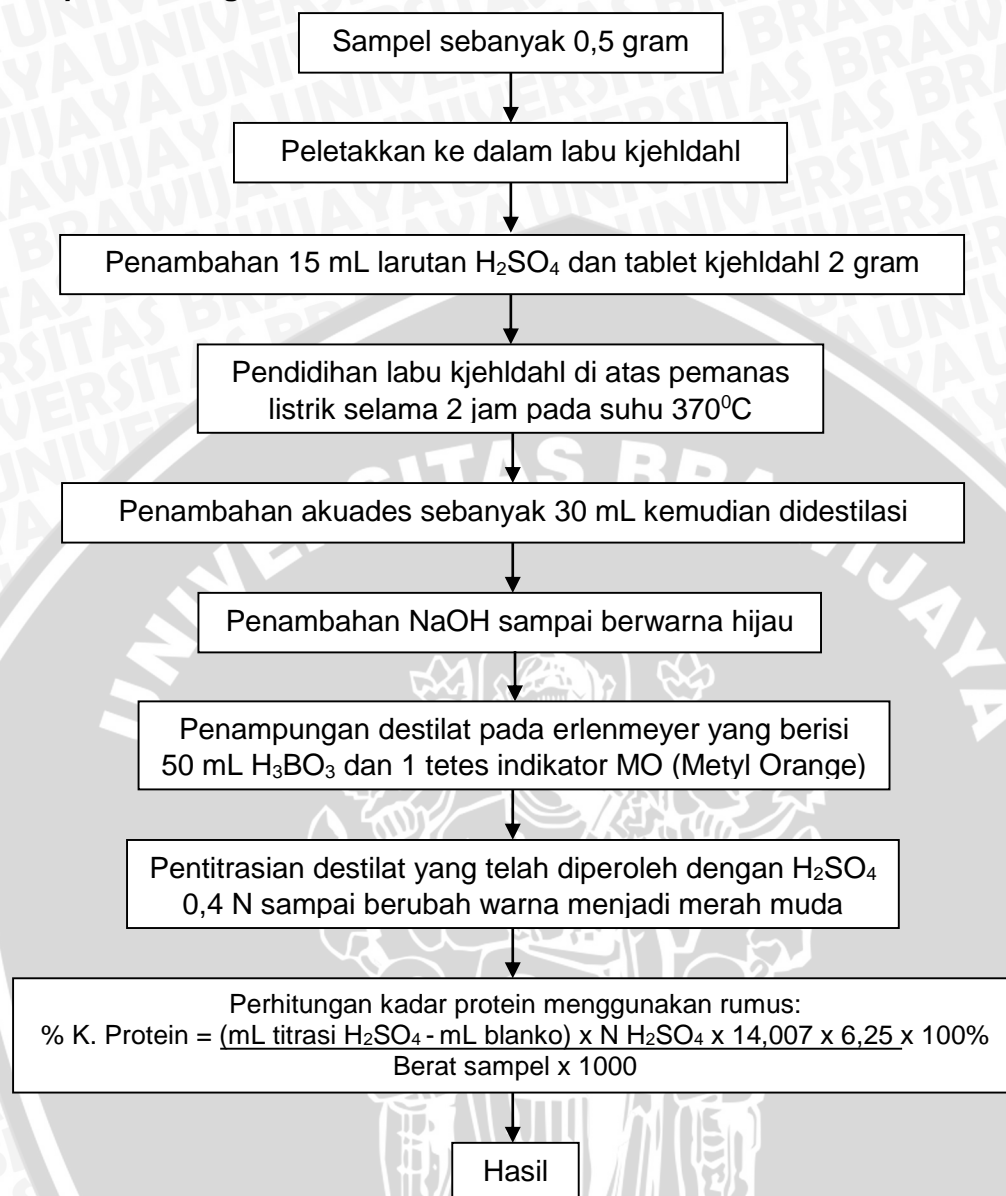
## Lampiran 5. Diagram Alir Analisis Kadar Air



**Lampiran 6. Diagram Alir Analisis Kadar Lemak**

## Lampiran 7. Diagram Alir Analisis Kadar Abu



**Lampiran 8. Diagram Alir Analisis Kadar Protein**



**Lampiran 9. Data Kepadatan Sel Khamir Laut**

Kolom	Jam Ke-									
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	
Pojok kanan atas	4	20	21	33	39	52	54	39	25	
Pojok kanan bawah	5	16	19	34	36	49	59	41	22	
Pojok kiri atas	4	12	23	21	40	47	57	45	26	
Pojok kiri bawah	4	11	29	19	48	46	54	43	24	
Pojok tengah	5	13	24	37	34	59	52	46	27	
Jumlah	22	72	116	144	197	253	276	214	124	
Jumlah sel (kotak sedang)	4,4	14,4	23,2	28,8	39,4	50,6	55,2	42,8	24,8	

## Lampiran 10. Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Saat Dilakukan Pengenceran

Pengamatan Jam ke-0

Hasil kepadatan sel khamir laut pada pengenceran  $10^{-4}$  menggunakan hemositometer pada mikroskop dan pengambilan sampel menggunakan mikropipet ukuran 50 mikrolit = 0,05 mL yaitu 10,0414 sel

$$0,05 \text{ mL} \approx 10,0414 \text{ sel}$$

$$5 \text{ mL} = 1004,14 \text{ sel}$$

$$1 \text{ mL} = 200,828 \text{ sel}$$

$$1 \text{ tabung reaksi} = 10 \text{ mL} \approx 2008,28 \text{ sel (tabung } 10^{-4}\text{)}$$

$$10^{-3} = 20082,8 \text{ sel}$$

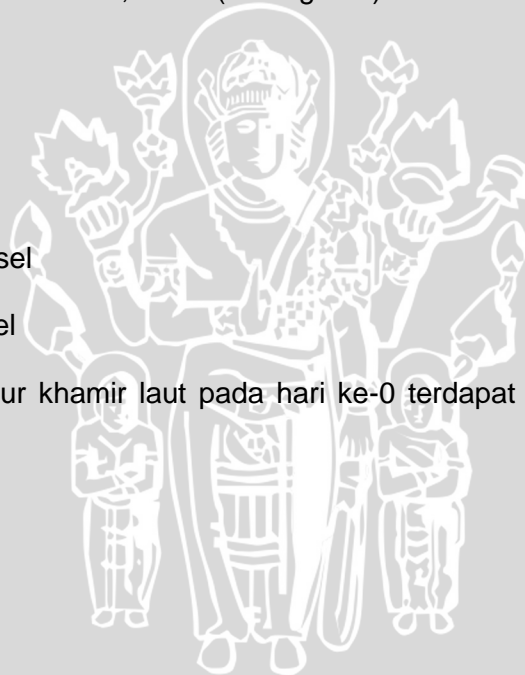
$$10^{-2} = 200828 \text{ sel}$$

$$10^{-1} = 2008280 \text{ sel}$$

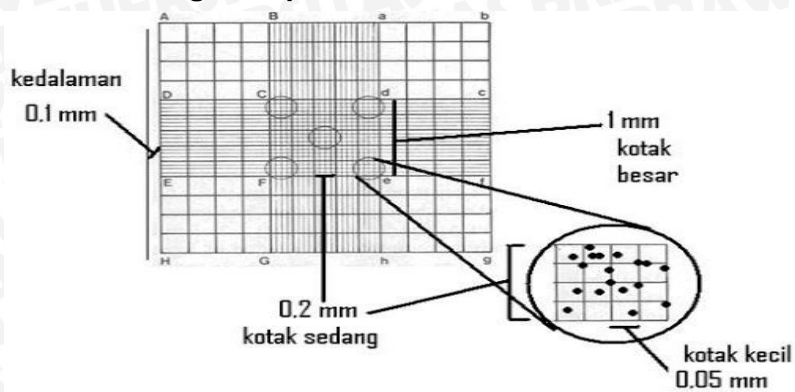
$$1 \text{ mL} = 2,00828 \times 10^6 \text{ sel}$$

$$1 \text{ Lt} = 2,00828 \times 10^9 \text{ sel}$$

Jadi dalam 1 liter kultur khamir laut pada hari ke-0 terdapat  $2,00828 \times 10^9$  sel khamir laut.



### Lampiran 11. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

$$\text{Luas kotak sedang} = p \times l$$

$$= 0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ mm}$$

$$= 0,04 \text{ mm}^2$$

$$\text{Volume kotak sedang} = 0,04 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}$$

$$= 0,004 \text{ mm}^3$$

$$\text{Karena } 1 \text{ mL} = 1 \text{ cm}^3$$

$$\text{maka, } = 0,04 \text{ mm}^3$$

$$= 0,000004 \text{ cm}^3$$

$$= 4 \times 10^{-6} \text{ mL}$$

Jadi, formula dalam menentukan jumlah sel yaitu:

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{\text{Jumlah sel}}{4 \times 10^{-6} \times \text{faktor pengencer } (10^{-4})}$$

Atau

$$\text{Jumlah sel/mL} = \text{jumlah sel} \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$$

**Pengamatan jam ke- 0**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 4,4 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 1,1 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,0414$$

**Pengamatan jam ke-60**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 50,6 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 12,65 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 11,1021$$

**Pengamatan jam ke-12**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 14,4 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 3,6 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,5563$$

**Pengamatan jam ke-72**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 55,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 13,8 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 11,1399$$

**Pengamatan jam ke- 24**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 23,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 5,8 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,7634$$

**Pengamatan jam ke-84**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 42,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 10,7 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 11,0294$$

**Pengamatan jam ke-36**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 28,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 7,2 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,8573$$

**Pengamatan jam ke-96**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 24,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 6,2 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,7924$$





**Pengamatan jam ke-48**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 39,4 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 9,85 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \end{aligned}$$





$$\text{Log sel/mL} = 10,9934$$

## Lampiran 12. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan








- Penelitian Pendahuluan Pertama

Keterangan	Foto Penelitian
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 2,5 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau pesing</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 2,5 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau pesing</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 5 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau pesing</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 5 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau pesing</li> </ul>	

- Penelitian Pendahuluan Kedua

Keterangan	Foto Penelitian
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 25 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 3 hari</li><li>• Berwarna hijau kecoklatan</li><li>• Berbau busuk</li></ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 25 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 3 hari</li><li>• Berwarna hijau kecoklatan</li><li>• Berbau busuk</li></ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 50 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 3 hari</li><li>• Berwarna coklat</li><li>• Berbau busuk</li></ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 50 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 3 hari</li><li>• Berwarna coklat</li><li>• Berbau busuk</li></ul>	

- Penelitian Pendahuluan Ketiga

Keterangan	Foto Penelitian
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 75 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat tua</li> <li>• Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 75 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat tua</li> <li>• Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 100 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 100 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Setelah 6 hari berbau busuk dan tumbuh jamur</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 125 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 125 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 150 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur</li> </ul>	







**Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 150 mL dan 2,5 mL khamir laut**

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat kehitaman
- Setelah 6 hari cairan mulai habis dan tumbuh jamur





- Penelitian Pendahuluan Keempat

Keterangan	Foto Penelitian
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 200 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 12 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase rebus</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 200 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 12 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase rebus</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 250 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 12 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase rebus</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 250 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 12 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase rebus</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 300 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 12 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase rebus</li> </ul>	
<p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 300 mL dan 2,5 mL khamir laut</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 12 hari</li> <li>• Berwarna coklat kehitaman</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase rebus</li> </ul>	

Lampiran 13. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut



Air laut sebanyak 1000 mL



Penimbangan gula pasir sebanyak 5 gram



Perebusan air



Pensterilan dengan pemanasan sampai mendidih



Penimbangan pupuk daun sebanyak 2 gram



Sterilisasi botol kaca



Pendinginan pada suhu kamar



Sterilisasi peralatan pipet volume



Penuangan pada beaker glass



Sterilisasi selang





Penambahan gula pasir 5 gram



Penambahan pupuk daun 2



Penghomogenan



Penutupan dengan kapas



Penambahan starter khamir laut sebanyak 2 mL



Penuangan ke dalam botol gelas



Penutupan dengan plastik wrap

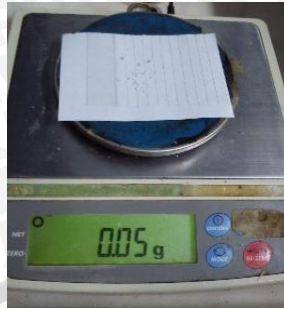


Pemberian aerasi selama 3 hari

Lampiran 14. Dokumentasi Pembutan Media dan Pengenceran Khamir Laut



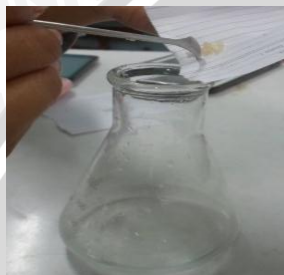
Sterilisasi peralatan



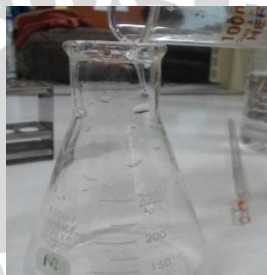
Penimbangan pupuk daun sebanyak 0,05



Penimbangan gula pasir sebanyak 0,125 gram



Penambahan gula pasir dan pupuk daun



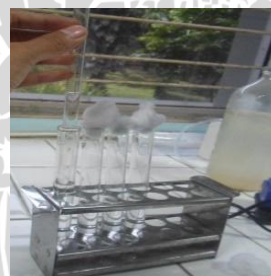
Penuangan ke dalam erlenmeyer



Pengukuran volume air laut



Penghomogenan



Penuangan media ke dalam tabung reaksi



Penambahan kultur khamir laut sebanyak 1 mL



Hasil pengenceran



Penghomogenan dengan vortex mixer



Pengenceran bertingkat ( $10^{-1}$  –  $10^{-4}$ )

**Lampiran 15. Dokumentasi Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus**



Eceng gondok



Pencucian hingga bersih



Penirisan



Penambahan akuades b/v (1:2) dan perebusan dengan waterbath suhu 55°C selama 15 menit



Pemotongan



Penimbangan sebanyak 100 gram



Penimbangan sebanyak 100 gram



Penambahan molase rebus 200 mL, 250 mL, dan 300



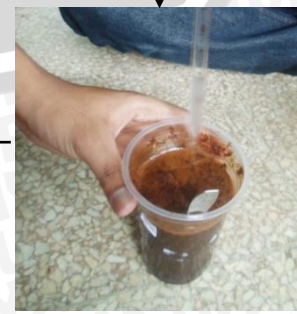
Penghalusan dengan blender



Pemasukan ke botol



Penghomogenan



Penambahan inokulan khamir laut 2,5 mL



Penimbangan berat awal



Pemberian aerasi 3, 6, 9, 12 hari



Penyaringan dengan kain blacu



Pengeringan dalam oven vakum dengan suhu 55°C



Penuangan ke dalam cawan petri



Penimbangan filtrat



Pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus



**Lampiran 16. Dokumentasi Analisis Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus**



Pengeringan cawan petri dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam dengan tutup setengah terbuka



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan cawan petri beserta tutupnya



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Pengeringan dalam oven dengan suhu 105°C selama 4 jam dengan tutup setengah terbuka



Penimbangan sampel sebanyak 15 gram



Penimbangan berat akhir

Lampiran 17. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus



Pengeringan kertas saring dan benang kasur pada suhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat kertas saring



Penimbangan berat sampel



Penghalusan sampel dari kadar air



Penimbangan berat benang kasur



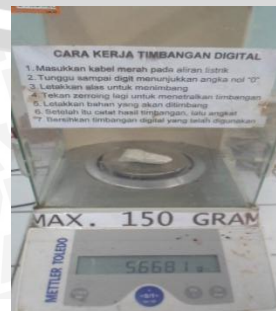
Pembungkusan sampel



Pengekstrasian lemak pada *goldfish* selama 3 - 4 jam



Pengeringan sampel pada suhu 105°C selama 24 jam



Penimbangan berat akhir



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



**Lampiran 18. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus**



Pengeringan cawan porselen pada suhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator



Penimbangan berat cawan porselen



Pengarangan di atas hot plate sampai tidak mengeluarkan asap



Penimbangan sampel sebanyak 2 gram



Penghalusan sampel dari kadar lemak



Pengabuan dalam muffle pada suhu 600°C sampai sampel berwarna putih



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat akhir

**Lampiran 19. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus**



Penimbangan sampel sebanyak 0,5 gram



Penghalusan tablet kjeldahl



Penimbangan tablet kjeldahl sebanyak 2



Pemanasan pada suhu 370°C selama 2 jam



Penambahan 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ke dalam labu destruksi



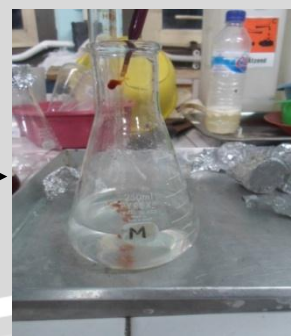
Penuangan sampel dan tablet kjeldahl 2 gram



Sampel hasil destruksi berwarna kehijauan

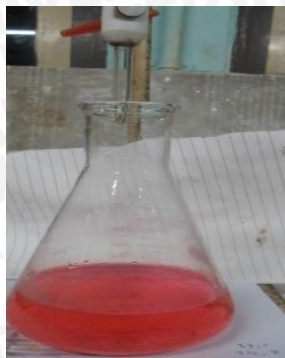


Penambahan akuades sebanyak 30 mL



Penambahan 1,5 gram H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dan akuades 50 mL, dan metyl orange ke dalam erlenmeyer





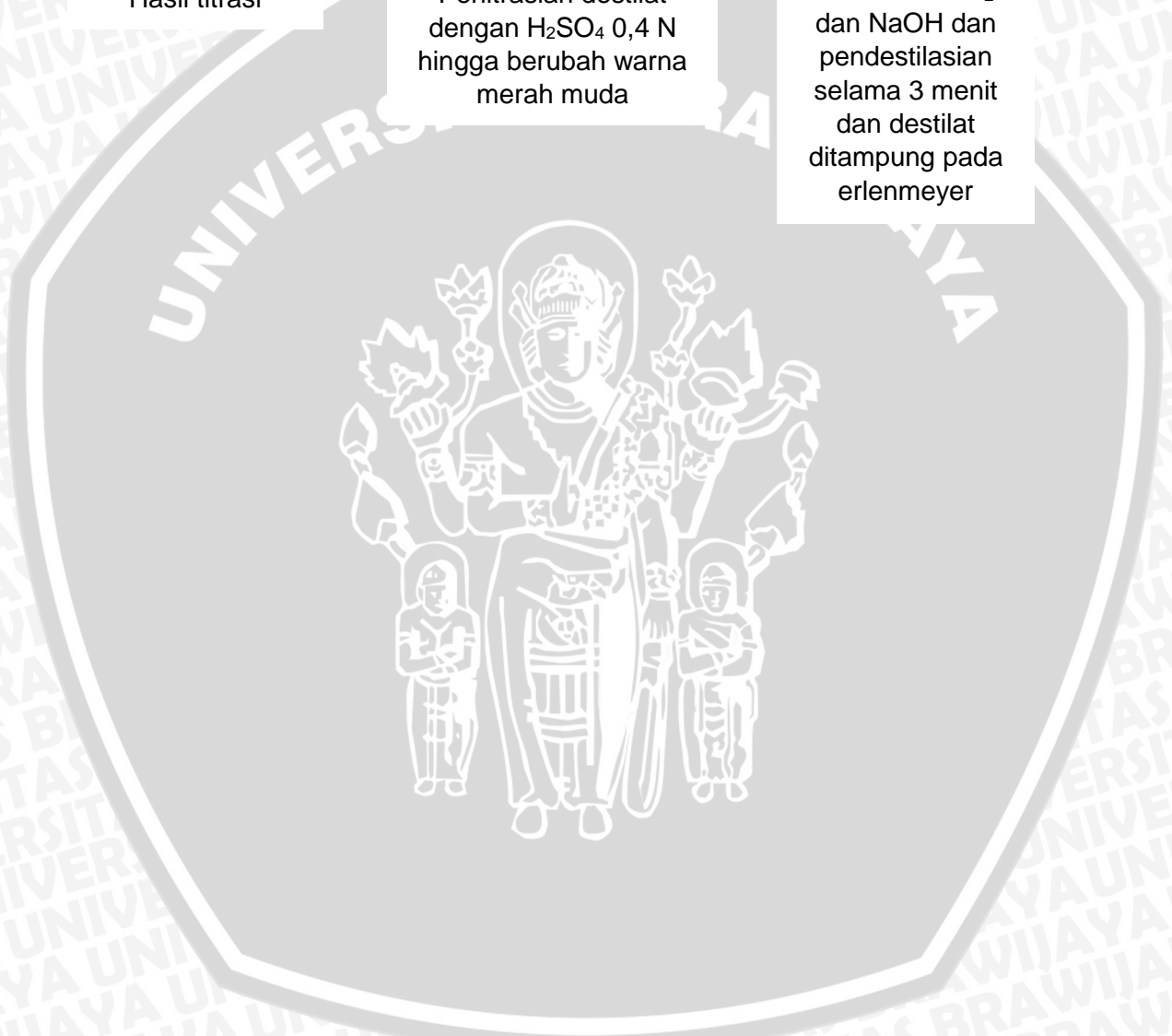
Hasil titrasi



Penitrasian destilat dengan  $H_2SO_4$  0,4 N hingga berubah warna merah muda



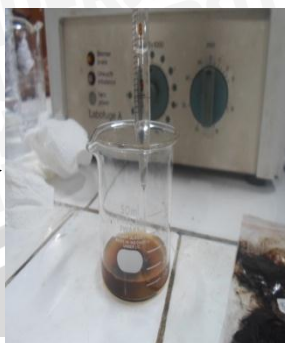
Penambahan  $H_2O$  dan NaOH dan pendestilasian selama 3 menit dan destilat ditampung pada erlenmeyer



Lampiran 20. Dokumentasi Analisis pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



Penambahan aquades sebanyak 10 mL



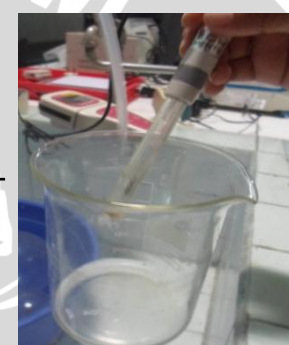
Penghomogenan



Pencelupan elektroda pada sampel



Hidupkan pH meter



Pembilasan elektroda pH meter menggunakan akuades



Pengukuran nilai pH hingga nilai stabil



### Lampiran 21. Dokumentasi Analisis Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



Penuangan ke dalam cuvet



Pengukuran akuades sebanyak 10 mL



Daya buih yang terbentuk



Pengocokan sampel selama 1 menit



Penambahan akuades

**Lampiran 22. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus**



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



Penuangan dalam cuvet



Penambahan akuades sebanyak 5 mL ke dalam cuvet



Penghomogenan dengan sentrifuge dengan kecepatan 7500 rpm sekama 5 menit



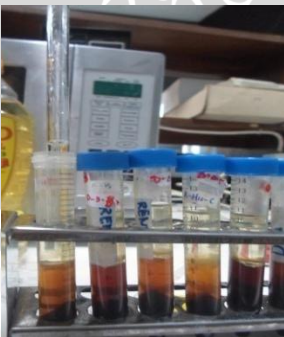
Peletakkan ke dalam sentrifuge



Penambahan minyak jagung sebanyak 5 mL ke dalam cuvet



Hasil sentrifuge



Penghilangan fase minyak pada sampel



Pengukuran volume emulsi

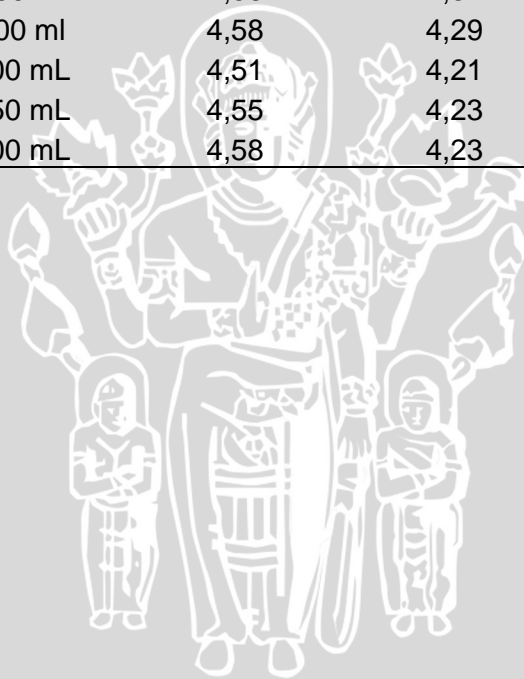
**Lampiran 23. Hasil Analisis Nilai Rendemen Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.**

Lama Fermentasi	Volume Molase	Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Rendemen (%)
3 hari	200 ml	310,13	245,96	79,31
	250 ml	360,92	300,29	83,20
	300 ml	409,15	311,21	76,06
6 hari	200 ml	311,72	255,15	81,85
	250 ml	361,94	311,27	86,00
	300 ml	410,08	340,23	82,97
9 hari	200 ml	310,84	219,92	70,75
	250 ml	360,67	243,12	67,41
	300 ml	408,61	274,73	67,24
12 hari	200 ml	310,94	169,92	54,65
	250 ml	360,19	189,95	52,74
	300 ml	408,96	251,83	61,58



**Lampiran 24. Hasil Analisis Nilai pH Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.**

Lama Fermentasi	Volume Molase	pH Campuran	pH Filtrat	pH Residu
0 hari	200 ml	4,62	4,59	4,65
	250 ml	4,69	4,49	4,68
	300 ml	4,65	4,48	4,67
3 hari	200 ml	4,57	4,48	4,64
	250 ml	4,68	4,47	4,67
	300 ml	4,61	4,43	4,63
6 hari	200 ml	4,57	4,41	4,61
	250 ml	4,61	4,36	4,63
	300 ml	4,61	4,37	4,63
9 hari	200 ml	4,52	4,41	4,6
	250 ml	4,56	4,31	4,56
	300 ml	4,58	4,29	4,58
12 hari	200 mL	4,51	4,21	4,58
	250 mL	4,55	4,23	4,55
	300 mL	4,58	4,23	4,58





**Lampiran 25. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Perlakuan		Hasil Analisis								
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	Rendemen (%)	Kadar Air (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Karbohidrat (%)	pH	Kapasitas Emulsi (%)	Daya Buih (ml)
0 hari (Kontrol)	200 ml	-	18,3345	2,5160	18,2991	10,6366	50,2138	4,36	52,9338	0,1166
	250 ml	-	18,8343	2,3485	18,2670	11,7744	48,7758	4,35	53,7268	0,1476
	300 ml	-	19,7909	2,1245	18,5317	13,4332	46,1197	4,32	54,2558	0,1707
3 hari	200 ml	53,9158	17,8074	2,2766	16,1994	11,8292	51,8874	4,36	52,5967	0,1166
	250 ml	50,3782	18,3555	2,1062	16,4640	13,6607	49,4136	4,34	53,386	0,1511
	300 ml	60,1737	19,1491	1,9816	17,2564	14,7508	46,8620	4,26	54,1975	0,1804
6 hari	200 ml	52,8083	17,3388	2,1028	14,5891	13,4276	52,5417	4,35	52,5612	0,1271
	250 ml	49,5659	17,5066	1,8755	14,5871	15,7206	50,3102	4,32	53,1102	0,1620
	300 ml	50,5074	18,1794	1,7413	15,7066	17,1991	47,1736	4,26	53,7375	0,1908
9 hari	200 ml	48,7699	15,5621	1,9367	13,2363	14,6159	54,6490	4,34	52,0255	0,1361
	250 ml	47,5964	15,6735	1,7573	13,3559	19,1992	50,0140	4,32	52,5189	0,1698
	300 ml	50,5721	17,6373	1,6079	14,4539	19,4366	46,8642	4,28	53,2926	0,1988
12 hari	200 ml	47,7946	13,1704	1,7000	11,4285	16,0320	57,6692	4,26	53,2815	0,1447
	250 ml	47,0326	13,8674	1,4740	11,5016	17,8585	55,2985	4,24	52,5110	0,1753
	300 ml	49,9381	16,6488	1,4028	12,0549	21,0275	48,8660	4,23	52,9399	0,2355

**Lampiran 26. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
3 hari	200 ml	53,32	54,49	53,93	161,75	53,92	0,58
	250 ml	51,45	49,94	49,74	151,13	50,38	0,93
	300 ml	63,26	58,05	59,22	180,52	60,17	2,73
6 hari	200 ml	52,18	51,15	55,09	158,43	52,81	2,04
	250 ml	49,24	49,59	49,87	148,70	49,57	0,32
	300 ml	55,06	46,60	49,86	151,52	50,51	4,27
9 hari	200 ml	46,51	48,34	51,46	146,31	48,77	2,50
	250 ml	52,48	40,89	49,42	142,79	47,60	6,01
	300 ml	50,32	48,20	53,19	151,72	50,57	2,50
12 hari	200 ml	44,56	46,23	52,59	143,38	47,79	4,24
	250 ml	46,58	44,45	50,07	141,10	47,03	2,83
	300 ml	47,82	49,48	52,52	149,81	49,94	2,39

Perlakuan	Kelompok				
	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	161,75	158,43	146,31	143,38	609,87
250 mL	151,13	148,70	142,79	141,10	583,72
300 mL	180,52	151,52	151,72	149,81	633,57
Total	493,40	458,65	440,82	434,30	1827,16

FK	92736,44
JK Total	648,23
JK Ulangan	233,91
JK Perlakuan	103,64
JK Galat	310,68

**ANOVA**

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	3	233,91	77,97	7,53	2,92	4,51
Perlakuan	2	103,64	51,82	5,00	3,32	5,39
Galat	30	310,68	10,36			
Total	35	648,23				

Tabel t 0,05	1,69
Tabel BNT 5%	3,45

Perlakuan n	Kelompok				Total	Rerata	Std. Dev
	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	53,92	52,81	48,77	47,79	203,29	50,82	2,99
250 mL	50,38	49,57	47,60	47,03	194,57	48,64	1,59
300 mL	60,17	50,51	50,57	49,94	211,19	52,80	4,93
Total	164,47	152,88	146,94	144,77	609,05	152,26	8,83
Rerata	54,82	50,96	48,98	48,26	203,02	50,75	2,94

Perlakuan	Rerata	250 mL	200 mL	300 mL	notasi
250 mL	48,64	0,00			a
200 mL	50,82	2,18	0,00		a
300 mL	52,80	4,15	1,98	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	notasi
12 hari	48,26	0,00				a
9 hari	48,48	0,22	0,00			a
6 hari	50,96	2,71	2,48	0,00		a
3 hari	54,82	6,57	6,34	3,86	0,00	b

**Lampiran 27. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan	Lama Fermentasi	Volume Molase	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
	250 ml	18,54	18,44	19,52	56,50	18,83	0,59	
	300 ml	19,84	19,65	19,88	59,37	19,79	0,12	
3 hari	200 ml	17,39	17,58	18,46	53,42	17,81	0,57	
	250 ml	18,11	18,30	18,66	55,07	18,36	0,28	
	300 ml	18,88	18,86	19,71	57,45	19,15	0,49	
6 hari	200 ml	17,05	17,73	17,23	52,02	17,34	0,35	
	250 ml	17,26	17,86	17,40	52,52	17,51	0,31	
	300 ml	18,07	18,10	18,37	54,54	18,18	0,17	
9 hari	200 ml	15,77	15,08	15,83	46,69	15,56	0,42	
	250 ml	15,03	16,05	15,94	47,02	15,67	0,56	
	300 ml	17,54	17,38	17,99	52,91	17,64	0,31	
12 hari	200 ml	13,03	13,47	13,01	39,51	13,17	0,26	
	250 ml	13,52	14,17	13,92	41,60	13,87	0,33	
	300 ml	16,92	17,19	15,84	49,95	16,65	0,72	

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	55,00	53,42	52,02	46,69	39,51	246,64
250 mL	56,50	55,07	52,52	47,02	41,60	252,71
300 mL	59,37	57,45	54,54	52,91	49,95	274,22
Total	170,88	165,94	159,07	146,62	131,06	773,57

FK	13297,95
JK Total	155,38
JK Perlakuan	28,00
JK ulang	114,59
JK Galat	12,79

**ANOVA**

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	114,59	28,65	85,11	2,62	3,86
Perlakuan	2	28	14,00	41,59	3,25	5,21
Galat	38	12,79	0,34			
Total	44	155,38				

Tabel t 0,05	1,67
Tabel BNT 5%	0,62

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerat a	Std. Dev.
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	18,33	17,8 1	17,3 4	15,5 6	13,17	82,21	16,44	2,11
250 mL	18,83	18,3 6	17,5 1	15,6 7	13,87	84,24	16,85	2,06
300 mL	19,79	19,1 5	18,1 8	17,6 4	16,65	91,41	18,28	1,24
Total	56,96	55,3 1	53,0 2	48,8 7	43,69	257,8 6	51,57	5,35
Rerata	18,99	18,4 4	17,6 7	16,2 9	14,56	85,95	17,19	1,78

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	notasi
		200 mL	16,44	0,00	
250 mL	16,85	0,41	0,00		a
300 mL	18,28	1,84	1,43	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	notasi
		12 hari	14,56	0,00			
9 hari	16,29	1,73	0,00				b
6 hari	17,67	3,11	1,38	0,00			c
3 hari	18,44	3,88	2,15	0,77	0,00		d
0 hari	18,99	4,43	2,70	1,32	0,55	0,00	e

**Lampiran 28. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan	Volume Molase	Ulangan	Ulangan	Ulangan	Total	Rerata	Std. Dev.
		1	2	3			
0 hari	200 ml	2,71	2,01	2,82	7,55	2,52	0,44
	250 ml	2,32	1,91	2,82	7,05	2,35	0,46
	300 ml	2,26	1,75	2,36	6,37	2,12	0,33
3 hari	200 ml	2,63	1,94	2,26	6,83	2,28	0,34
	250 ml	2,31	1,85	2,16	6,32	2,11	0,23
	300 ml	2,21	1,60	2,13	5,94	1,98	0,34
6 hari	200 ml	2,47	1,72	2,11	6,31	2,10	0,37
	250 ml	2,19	1,52	1,92	5,63	1,88	0,34
	300 ml	2,02	1,37	1,83	5,22	1,74	0,34
9 hari	200 ml	2,26	1,78	1,77	5,81	1,94	0,28
	250 ml	2,02	1,47	1,78	5,27	1,76	0,28
	300 ml	1,99	1,28	1,56	4,82	1,61	0,36
12 hari	200 ml	2,20	1,59	1,31	5,10	1,70	0,46
	250 ml	1,86	1,27	1,29	4,42	1,47	0,33
	300 ml	1,91	1,21	1,18	4,31	1,44	0,41

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	7,55	6,83	6,31	5,81	5,10	31,60
250 mL	7,05	6,32	5,63	5,27	4,42	28,68
300 mL	6,37	5,94	5,22	4,82	4,31	26,67
Total	20,97	19,09	17,16	15,91	13,83	86,96

FK	168,03
JK Total	8,10
JK Perlakuan	0,82
JK Ulangan	3,40
JK Galat	3,88

**ANOVA**

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	3,40	0,85	8,32	2,62	3,86
Perlakuan	2	0,82	0,41	3,99	3,25	5,21
Galat	38	3,88	0,10			
Total	44	8,10				



Tabel t 0,05	1,689
Tabel BNT 5%	0,34

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	Std. Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	2,52	2,28	2,10	1,94	1,70	10,53	2,11	0,31
250 mL	2,35	2,11	1,88	1,76	1,47	9,56	1,91	0,33
300 mL	2,12	1,98	1,74	1,61	1,44	8,89	1,78	0,28
Total	6,99	6,36	5,72	5,30	4,61	28,99	5,80	0,92
Rerata	2,33	2,12	1,91	1,77	1,54	9,66	1,93	0,31

Perlakuan	Rerata	300 ml	250 ml	200 ml	notasi
		1,78	1,91	2,11	
300 mL	1,78	0,00			a
250 mL	1,91	0,13	0,00		a
200 mL	2,11	0,33	0,19	0,00	a

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	notasi
		1,54	1,77	1,91	2,12	2,33	
12 hari	1,54	0,00					a
9 hari	1,77	0,23	0,00				a
6 hari	1,91	0,37	0,14	0,00			b
3 hari	2,12	0,58	0,35	0,22	0,00		c
0 hari	2,33	0,79	0,56	0,42	0,21	0,00	d



**Lampiran 29. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
0 hari	200 ml	18,16	18,39	18,35	54,90	18,30	0,12
	250 ml	18,23	18,21	18,36	54,80	18,27	0,08
	300 ml	18,23	18,96	18,40	55,60	18,53	0,38
3 hari	200 ml	16,01	16,01	16,58	48,60	16,20	0,33
	250 ml	16,50	16,11	16,78	49,39	16,46	0,34
	300 ml	16,49	17,36	17,91	51,77	17,26	0,72
6 hari	200 ml	14,68	14,25	14,84	43,77	14,59	0,31
	250 ml	14,44	14,74	14,58	43,76	14,59	0,15
	300 ml	15,53	15,90	15,68	47,12	15,71	0,18
9 hari	200 ml	13,37	13,00	13,34	39,71	13,24	0,20
	250 ml	13,38	13,11	13,58	40,07	13,36	0,23
	300 ml	14,45	14,00	14,91	43,36	14,45	0,45
12 hari	200 ml	11,04	11,78	11,47	34,29	11,43	0,37
	250 ml	11,08	11,88	11,54	34,50	11,50	0,40
	300 ml	12,19	12,00	11,98	36,16	12,05	0,12

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	54,90	48,60	43,77	39,71	34,29	221,26
250 mL	54,80	49,39	43,76	40,07	34,50	222,53
300 mL	55,60	51,77	47,12	43,36	36,16	234,01
Total	165,29	149,76	134,65	123,14	104,95	677,79

FK	10209,01
JK Total	253,13
JK Ulang	241,94
JK Perlak	6,58
JK Galat	4,60

**ANOVA**

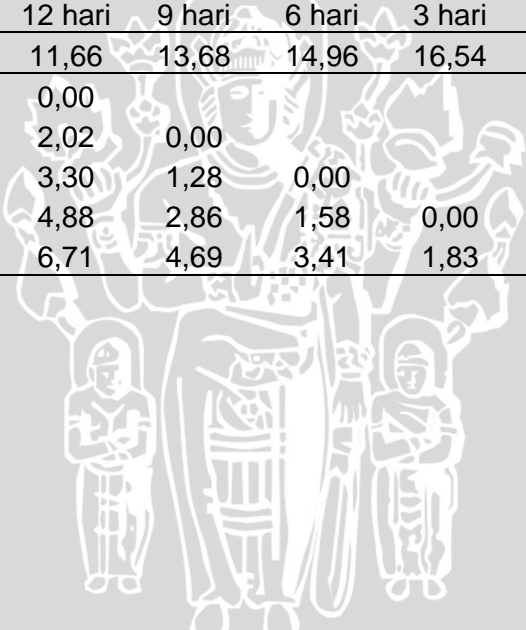
SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	241,94	60,49	499,32	2,62	3,86
Perlakuan	2	6,58	3,29	27,16	3,25	5,21
Galat	38	4,60	0,12			
Total	44	253,13				

Tabel t 0,05	1,69
Tabel BNT 5%	0,37

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total	Rerata	Std. Dev
200 mL	18,30	16,20	14,59	13,24	11,43	73,75	14,75	2,65
250 mL	18,27	16,46	14,59	13,36	11,50	74,18	14,84	2,64
300 mL	18,53	17,26	15,71	14,45	12,05	78,00	15,60	2,51
Total	55,10	49,92	44,88	41,05	34,98	225,93	45,19	7,78
Rerata	18,37	16,64	14,96	13,68	11,66	75,31	15,06	2,59

Perlakuan	200 mL	250 mL	300 mL	notasi	
Rerata	14,75	14,84	15,60		
200 mL	14,75	0,00		a	
250 mL	14,84	0,09	0,00	a	
300 mL	15,60	0,85	0,76	0,00	b

Kelompok	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	notasi	
Rerata	11,66	13,68	14,96	16,54	18,37		
12 hari	11,66	0,00				a	
9 hari	13,68	2,02	0,00			b	
6 hari	14,96	3,30	1,28	0,00		c	
3 hari	16,54	4,88	2,86	1,58	0,00	d	
0 hari	18,37	6,71	4,69	3,41	1,83	0,00	e



**Lampiran 30. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
0 hari	200 ml	10,49	10,37	11,05	31,91	10,64	0,36
	250 ml	11,83	11,80	11,69	35,32	11,77	0,07
	300 ml	13,29	13,80	13,21	40,30	13,43	0,32
3 hari	200 ml	11,16	12,45	11,88	35,49	11,83	0,64
	250 ml	13,07	13,98	13,93	40,98	13,66	0,51
	300 ml	14,50	14,49	15,26	44,25	14,75	0,44
6 hari	200 ml	12,54	14,61	13,13	40,28	13,43	1,07
	250 ml	14,47	16,64	16,05	47,16	15,72	1,12
	300 ml	15,35	18,77	17,48	51,60	17,20	1,73
9 hari	200 ml	14,67	14,56	14,62	43,85	14,62	0,06
	250 ml	17,36	17,46	16,77	51,60	17,20	0,37
	300 ml	19,41	19,34	19,56	58,31	19,44	0,11
12 hari	200 ml	16,73	15,34	16,02	48,10	16,03	0,69
	250 ml	17,46	18,15	17,96	53,58	17,86	0,35
	300 ml	20,07	21,56	21,45	63,08	21,03	0,83

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	31,91	35,49	40,28	43,85	48,10	199,62
250 mL	35,32	40,98	47,16	51,60	53,58	228,64
300 mL	40,30	44,25	51,60	58,31	63,08	257,54
Total	107,53	120,72	139,04	153,76	164,75	685,81

FK	10451,77
JK Total	378,87
JK Ulangan	243,15
JK Perlakuan	111,81
JK Galat	23,90

**ANOVA**

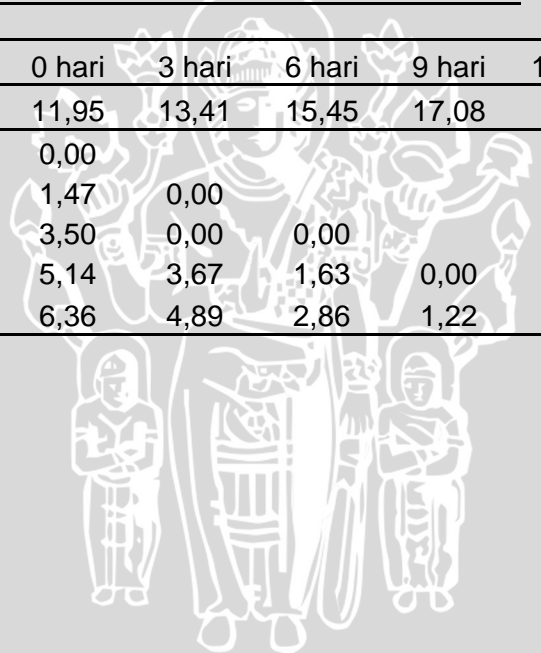
SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	243,15	60,79	96,63	2,62	3,86
Perlakuan	2	111,81	55,91	88,87	3,25	5,21
Galat	38	23,91	0,63			
Total	44	378,87				

Tabel t 0,05	1,69
Tabel BNT 5%	0,85

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	Std. Dev.
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	10,64	11,83	13,43	14,62	16,03	66,54	13,31	2,15
250 mL	11,77	13,66	15,72	17,20	17,86	76,21	15,24	2,52
300 mL	13,43	14,75	17,20	19,44	21,03	85,85	17,17	3,16
Total	35,84	40,24	46,35	51,25	54,92	228,60	45,72	7,80
Rerata	11,95	13,41	15,45	17,08	18,31	76,20	15,24	2,60

Perlakuan	200 mL	250 mL	300 mL	notasi	
	Rerata	13,31	15,24		17,17
200 mL	13,31	0,00		a	
250 mL	15,24	1,93	0,00	b	
300 mL	17,17	3,86	1,93	0,00	c

Kelompok	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	notasi	
	Rerata	11,95	13,41	15,45	17,08		18,31
0 hari	11,95	0,00				a	
3 hari	13,41	1,47	0,00			b	
6 hari	15,45	3,50	0,00	0,00		c	
9 hari	17,08	5,14	3,67	1,63	0,00	d	
12 hari	18,31	6,36	4,89	2,86	1,22	0,00	e



**Lampiran 31. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
0 hari	200 ml	50,46	50,84	49,34	150,64	50,21	0,78
	250 ml	49,09	49,63	47,61	146,33	48,78	1,04
	300 ml	46,37	45,83	46,15	138,36	46,12	0,27
3 hari	200 ml	52,82	52,02	50,82	155,66	51,89	1,00
	250 ml	50,01	49,76	48,47	148,24	49,41	0,82
	300 ml	47,91	47,69	44,98	140,59	46,86	1,63
6 hari	200 ml	53,25	51,69	52,69	157,63	52,54	0,79
	250 ml	51,64	49,24	50,05	150,93	50,31	1,22
	300 ml	49,02	45,86	46,64	141,52	47,17	1,65
9 hari	200 ml	53,93	55,58	54,44	163,95	54,65	0,84
	250 ml	52,21	51,91	51,93	156,04	52,01	0,17
	300 ml	46,61	48,00	45,89	140,49	46,83	1,07
12 hari	200 ml	57,00	57,82	58,19	173,01	57,67	0,61
	250 ml	56,08	54,53	55,29	165,90	55,30	0,78
	300 ml	49,01	48,04	49,55	146,60	48,87	0,77

	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	150,64	155,66	157,63	163,95	173,01	800,88
250 mL	146,33	148,24	150,93	156,04	165,90	767,44
300 mL	138,36	140,59	141,52	140,49	146,60	707,56
Total	435,33	444,49	450,08	460,48	485,50	2275,88

FK	115102,77
JK Total	520,25
JK Ulang	164,67
JK Perlak	298,07
JK Galat	57,51

**ANOVA**

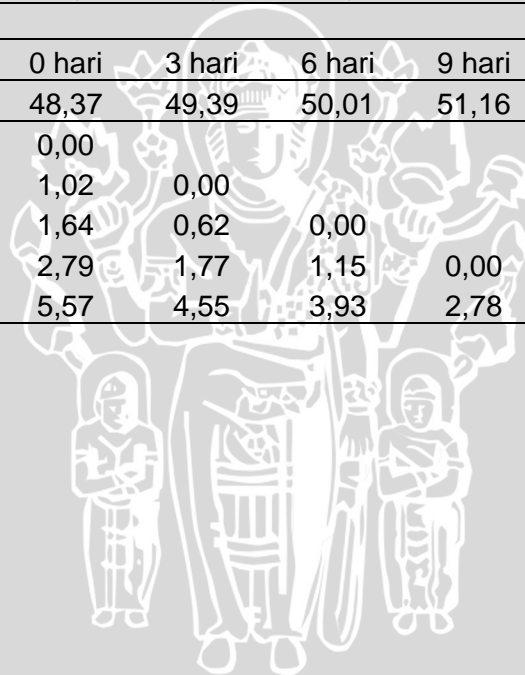
SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	164,67	41,17	27,20	2,62	3,86
Perlakuan	2	298,07	149,04	98,47	3,25	5,21
Galat	38	57,51	1,51			
Total	44	520,25				

Tabel t 0,05	1,68595
Tabel BNT 5%	1,31

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	Std. Dev.
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	50,21	51,89	52,54	54,65	57,67	266,96	53,39	2,87
250 mL	48,78	49,41	50,31	52,01	55,30	255,81	51,16	2,61
300 mL	46,12	46,86	47,17	46,83	48,87	235,85	47,17	1,02
Total	145,11	148,16	150,03	153,49	161,83	758,63	151,73	6,42
Rerata	48,37	49,39	50,01	51,16	53,94	252,88	50,58	2,14

Perlakuan	Rerata	300 mL	250 mL	200 mL	notasi
		47,17	51,16	53,39	
300 mL	47,17	0,00			a
250 mL	51,16	3,99	0,00		b
200 mL	53,39	6,22	2,23	0,00	c

Kelompok	Rerata	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	notasi
		48,37	49,39	50,01	51,16	53,94	
0 hari	48,37	0,00					a
3 hari	49,39	1,02	0,00				a
6 hari	50,01	1,64	0,62	0,00			b
9 hari	51,16	2,79	1,77	1,15	0,00		c
12 hari	53,94	5,57	4,55	3,93	2,78	0,00	d



**Lampiran 32. Data Pengamatan dan Analisis Data Derajat Keasaman (pH) Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rata-rata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
0 hari	200 ml	4,43	4,30	4,36	13,09	4,36	0,07
	250 ml	4,43	4,28	4,35	13,06	4,35	0,08
	300 ml	4,43	4,21	4,31	12,95	4,32	0,11
3 hari	200 ml	4,29	4,43	4,36	13,08	4,36	0,07
	250 ml	4,28	4,39	4,34	13,01	4,34	0,06
	300 ml	4,22	4,29	4,26	12,77	4,26	0,04
6 hari	200 ml	4,26	4,43	4,35	13,04	4,35	0,09
	250 ml	4,26	4,37	4,32	12,95	4,32	0,06
	300 ml	4,23	4,26	4,28	12,77	4,26	0,03
9 hari	200 ml	4,38	4,29	4,34	13,01	4,34	0,05
	250 ml	4,36	4,27	4,32	12,95	4,32	0,05
	300 ml	4,35	4,21	4,29	12,85	4,28	0,07
12 hari	200 ml	4,21	4,30	4,26	12,77	4,26	0,05
	250 ml	4,20	4,28	4,25	12,73	4,24	0,04
	300 ml	4,18	4,27	4,23	12,68	4,23	0,05

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	13,09	13,08	13,04	13,01	12,77	64,99
250 mL	13,06	13,01	12,95	12,95	12,73	64,70
300 mL	12,95	12,77	12,77	12,85	12,68	64,02
Total	39,10	38,86	38,76	38,81	38,18	193,71

FK	833,86
JK Total	0,20
JK Ulangan	0,05
JK Perlakuan	0,03
JK Galat	0,12

**ANOVA**

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	0,05	0,01	4,07	2,62	3,86
Perlakuan	2	0,03	0,02	5,24	3,25	5,21
Galat	38	0,12	0,00			
Total	44	0,20				

Tabel t 0,05	1,69
Tabel BNT 5%	0,06

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	Std. Dev.
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	4,36	4,36	4,35	4,34	4,26	21,66	4,33	0,04
250 mL	4,35	4,34	4,32	4,32	4,24	21,57	4,31	0,04
300 mL	4,32	4,26	4,26	4,28	4,23	21,34	4,27	0,03
Total	13,03	12,95	12,92	12,94	12,73	64,57	12,91	0,11
Rerata	4,34	4,32	4,31	4,31	4,24	21,52	4,30	0,04

Perlakuan	300 mL 250 mL 200 mL				notasi
	Rerata	4,27	4,31	4,33	
300 mL	4,27	0,0000			a
250 mL	4,31	0,0400	0,0000		a
200 mL	4,33	0,0600	0,0200	0,0000	a

Kelompok	12 hari 6 hari 9 hari 3 hari 0 hari						notasi
	Rerata	4,24	4,31	4,31	4,32	4,34	
12 hari	4,24	0,00					a
6 hari	4,31	0,07	0,00				b
9 hari	4,31	0,07	0,00	0,00			b
3 hari	4,32	0,08	0,01	0,01	0,00		c
0 hari	4,34	0,10	0,03	0,03	0,02	0,00	d



**Lampiran 33. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
0 hari	200 ml	0,11	0,12	0,12	0,35	0,12	0,01
	250 ml	0,13	0,17	0,15	0,44	0,15	0,02
	300 ml	0,17	0,19	0,16	0,51	0,17	0,02
3 hari	200 ml	0,11	0,12	0,12	0,35	0,12	0,01
	250 ml	0,14	0,16	0,15	0,45	0,15	0,01
	300 ml	0,17	0,20	0,17	0,54	0,18	0,02
6 hari	200 ml	0,12	0,14	0,13	0,38	0,13	0,01
	250 ml	0,16	0,17	0,16	0,49	0,16	0,00
	300 ml	0,18	0,20	0,19	0,57	0,19	0,01
9 hari	200 ml	0,12	0,15	0,14	0,41	0,14	0,01
	250 ml	0,17	0,17	0,18	0,51	0,17	0,01
	300 ml	0,20	0,21	0,18	0,60	0,20	0,01
12 hari	200 ml	0,13	0,16	0,15	0,43	0,14	0,01
	250 ml	0,17	0,18	0,18	0,53	0,18	0,01
	300 ml	0,25	0,26	0,20	0,71	0,24	0,03

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	0,35	0,35	0,38	0,41	0,43	1,92
250 mL	0,44	0,45	0,49	0,51	0,53	2,42
300 mL	0,51	0,54	0,57	0,60	0,71	2,93
Total	1,30	1,34	1,44	1,51	1,67	7,27

FK	1,17
JK Total	0,05
JK Ulangan	0,01
JK Perlakuan	0,03
JK Galat	0,01

**ANOVA**

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	0,01	0,00	11,63	2,62	3,86
Perlakuan	2	0,03	0,02	84,25	3,25	5,21
Galat	38	0,01	0,00			
Total	44	0,05				

Tabel t 0,05	1,69
Tabel BNT 5%	0,02

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	Std. Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	0,35	0,35	0,38	0,41	0,43	1,92	0,38	0,04
250 mL	0,44	0,45	0,49	0,51	0,53	2,42	0,48	0,04
300 mL	0,51	0,54	0,57	0,60	0,71	2,93	0,59	0,07
Total	1,30	1,34	1,44	1,51	1,67	7,27	1,45	0,14
Rerata	0,43	0,45	0,48	0,50	0,56	2,42	0,48	0,05

Perlakuan	200 mL	250 mL	300 mL	notasi	
	Rerata	0,3846	0,4836		0,5857
200 mL	0,38	0,00		a	
250 mL	0,48	0,10	0,00	b	
300 mL	0,59	0,20	0,10	0,00	c

Kelompok	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	notasi	
	Rerata	0,43	0,45	0,48	0,50		0,56
0 hari	0,43	0,00				a	
3 hari	0,45	0,01	0,00			a	
6 hari	0,48	0,05	0,03	0,00		b	
9 hari	0,50	0,07	0,06	0,02	0,00	c	
12 hari	0,56	0,12	0,11	0,08	0,04	0,00	d

**Lampiran 34. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

**Data Pengamatan**

Perlakuan		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Total	Rerata	Std. Dev.
Lama Fermentasi	Volume Molase						
0 hari	200 ml	51,89	53,21	53,70	158,80	52,93	0,94
	250 ml	53,27	53,70	54,21	161,18	53,73	0,47
	300 ml	53,33	54,72	54,72	162,77	54,26	0,80
3 hari	200 ml	51,85	52,73	53,21	157,79	52,60	0,69
	250 ml	52,38	53,57	54,21	160,16	53,39	0,93
	300 ml	53,33	54,63	54,63	162,59	54,20	0,75
6 hari	200 ml	51,85	52,68	53,15	157,68	52,56	0,66
	250 ml	52,29	53,33	53,70	159,33	53,11	0,73
	300 ml	53,15	54,29	53,77	161,21	53,74	0,57
9 hari	200 ml	51,40	52,38	52,29	156,08	52,03	0,54
	250 ml	51,89	53,33	52,34	157,56	52,52	0,74
	300 ml	52,38	54,29	53,21	159,88	53,29	0,96
12 hari	200 ml	51,40	56,19	52,25	159,84	53,28	2,55
	250 ml	51,79	53,33	52,38	157,50	52,50	0,78
	300 ml	52,73	54,21	51,89	158,82	52,94	1,17

Perlakuan	Kelompok					Total
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	
200 mL	158,80	157,79	157,68	156,08	159,84	790,20
250 mL	161,18	160,16	159,33	157,56	157,50	795,73
300 mL	162,77	162,59	161,21	159,88	158,82	805,27
Total	482,75	480,54	478,23	473,51	476,16	2391,19

FK	127062,2
JK Total	48,14
JK Ulangan	5,81
JK Perlakuan	7,75
JK Galat	34,58

**ANOVA**

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Ulangan	4	5,81	1,45	1,60	2,62	3,86
Perlakuan	2	7,75	3,88	4,26	3,25	5,21
Galat	38	34,58	0,91			
Total	44	48,14				

Tabel t 0,05	1,69
Tabel BNT 5%	1,02

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	Std. Dev.
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	52,93	52,60	52,56	52,03	53,28	263,40	52,68	0,47
250 mL	53,73	53,39	53,11	52,52	52,50	265,24	53,05	0,54
300 mL	54,26	54,20	53,74	53,29	52,94	268,42	53,68	0,57
Total	160,92	160,18	159,41	157,84	158,72	797,06	159,41	1,21
Rerata	53,64	53,39	53,14	52,61	52,91	265,69	53,14	0,40

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	notasi
		52,68	53,05	53,68	
200 mL	52,68	0,00			a
250 mL	53,05	0,37	0,00		a
300 mL	53,68	1,00	0,64	0,00	a

Kelompok	Rerata	9 hari	12 hari	6 hari	3 hari	0 hari	notasi
		52,62	52,91	53,14	53,39	53,64	
9 hari	52,62	0,00					a
12 hari	52,91	0,29	0,00				a
6 hari	53,14	0,52	0,23	0,00			a
3 hari	53,39	0,77	0,49	0,26	0,00		a
0 hari	53,64	1,02	0,73	0,50	0,25	0,00	a

## Lampiran 35. Hasil Uji Profil Asam Amino



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
 LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI (LSIH)  
 Jl. Veteran Malang  
 Telp./Fax. +62 341 559054  
<http://lsih.ub.ac.id> Email: [labsentralub@ub.ac.id](mailto:labsentralub@ub.ac.id) ; [labsentralub@gmail.com](mailto:labsentralub@gmail.com)

**SERTIFIKAT HASIL ANALISA**

(CERTIFICATE OF ANALYSIS)

No: 050/LSIH-UB/3-COA/V/2015

**Nama Pemilik** : Dian Puspitasari  
 (Name)

**Tgl. Diterima**  
 Date Received

: 18 Mei 2015

**Alamat** : FPIK UB  
 (Address)

**Tgl. Penerbitan Sertifikat** : 10 Juni 2015  
 Date of Certificate Issued

**Telp./ HP.** : 0822 3426 3473  
 (Phone/HP.)

**Jenis Uji** : Asam amino  
 ( Type of Analysis)

**Hasil** :  
 (Result)

Jenis sampel (Sample Name)	No. Rujukan (Reference Number)	Jenis Uji (Analysis)	Hasil Analisa (Analysis Result)	Metode Analisis (Analysis Method)
Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dan Molase Rebus	282/S-UJ/LSIH- UB/V/2015	Asam amino	Terlampir	HPLC



Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si.  
 Manajer Teknis/ Technical Manager

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK SAMPEL-SAMPEL TERSEBUT DI ATAS.  
 (THE RESULTS OF THESE TESTS RELATE ONLY TO THE SAMPLE(S) SUBMITTED)

DP/5.10.8.02/LSIH

Halaman 1 dari 1





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI (LSIH)

Jl. Veteran Malang  
Telp./Fax. +62 341 559054

Email: labsentralub@ub.ac.id ; labsentralub@gmail.com <http://lsih.ub.ac.id>

Lampiran No:050/LSIH-UB/3-LU/V/2015

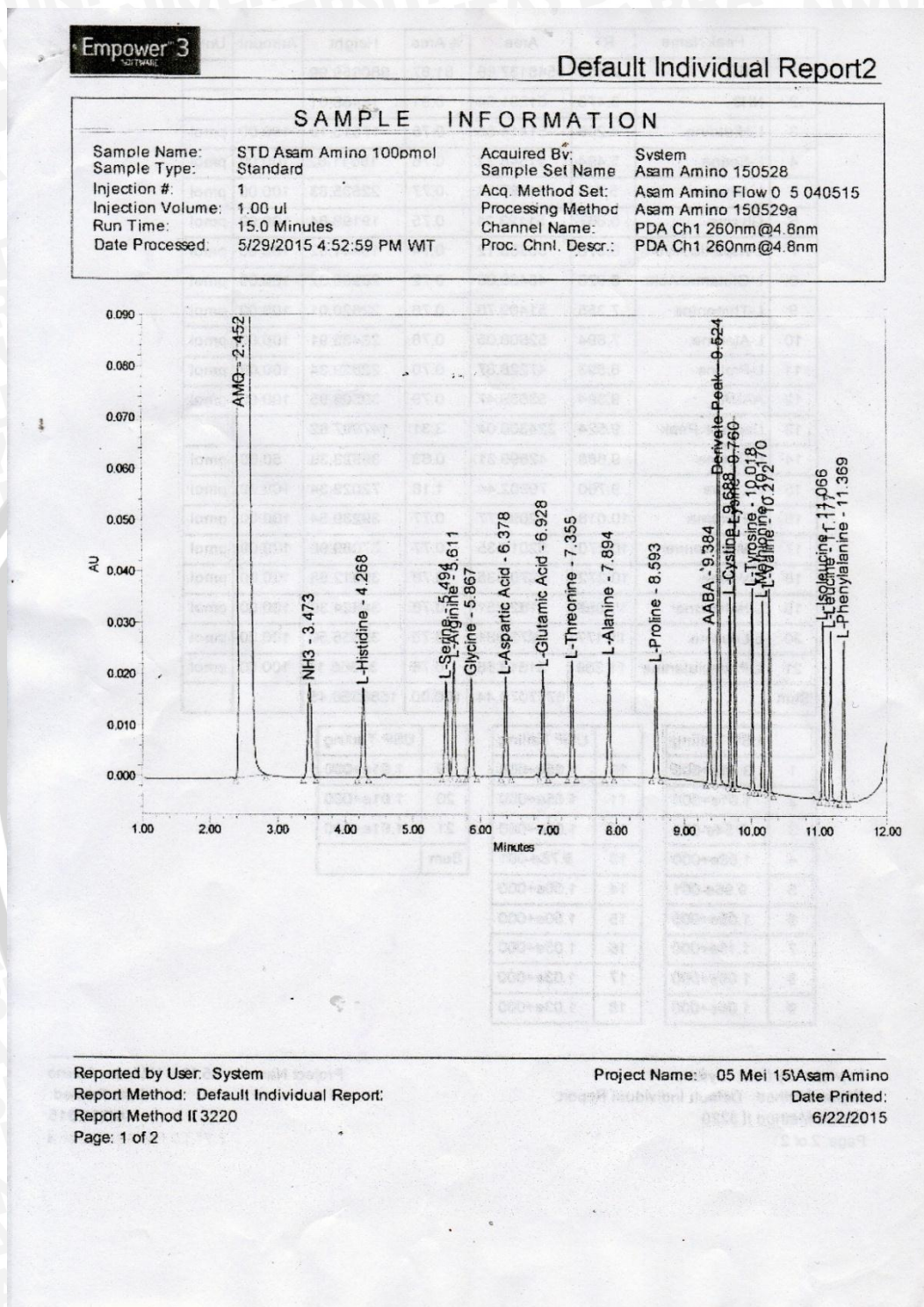
Kode sampel Uji : Hidrolisat protein eceng gondok rebus dan molase rebus

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Valin	%	0.49
	Threonin	%	0.45
	Lisin (Lysine HCl)	%	0.40
	Serin	%	0.37
	Isoleusin	%	0.38
	Alanin	%	1.16
	Histidin	%	0.17
	Phenilalanin	%	0.39
	Glutamat	%	5.72
	Tirosin	%	0.21
	Prolin	%	0.54
	Arginin	%	0.44
	Glisin	%	0.50
	Leusin	%	0.62
	Aspartat	%	1.15
	Metionin	%	0.09
	Sistin	%	Not detected
<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>13.09</b>	



• Kromatogram Hidrolisat Protein Standart



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1	AMQ	2.452	5548137.66	81.87	880659.99		
2	NH3	3.473	61391.04	0.91	18488.01		
3	L-Histidine	4.268	51414.85	0.76	17613.19	100.00	pmol
4	L-Serine	5.494	51548.22	0.76	18611.62	100.00	pmol
5	L-Arginine	5.611	51867.33	0.77	22535.83	100.00	pmol
6	Glycine	5.867	51123.21	0.75	19198.84	100.00	pmol
7	L-Aspartic Acid	6.378	50353.12	0.74	19441.62	100.00	pmol
8	L-Glutamic Acid	6.928	48460.66	0.72	20990.32	100.00	pmol
9	L-Threonine	7.355	51409.70	0.76	22620.01	100.00	pmol
10	L-Alanine	7.894	52608.05	0.78	23435.91	100.00	pmol
11	L-Proline	8.593	47228.87	0.70	22029.34	100.00	pmol
12	AABA	9.384	53639.47	0.79	30506.95	100.00	pmol
13	Derivate Peak	9.524	224300.04	3.31	147907.82		
14	L-Cystine	9.688	42899.31	0.63	36923.33	50.00	pmol
15	L-Lysine	9.760	79902.44	1.18	72029.34	100.00	pmol
16	L-Tyrosine	10.018	52091.77	0.77	39239.54	100.00	pmol
17	L-Methionine	10.170	52010.35	0.77	37089.96	100.00	pmol
18	L-Valine	10.272	52708.35	0.78	39812.93	100.00	pmol
19	L-Isoleucine	11.066	51623.51	0.76	34824.30	100.00	pmol
20	L-Leucine	11.177	50738.81	0.75	33055.50	100.00	pmol
21	L-Phenylalanine	11.369	51613.68	0.76	31366.11	100.00	pmol
Sum			6777070.44	100.00	1588380.45		

	USP Tailing
1	3.41e+000
2	1.01e+000
3	9.54e-001
4	1.08e+000
5	9.96e-001
6	1.05e+000
7	1.15e+000
8	1.09e+000
9	1.06e+000

	USP Tailing
10	1.05e+000
11	1.05e+000
12	1.06e+000
13	8.78e-001
14	1.00e+000
15	1.00e+000
16	1.05e+000
17	1.03e+000
18	1.03e+000

	USP Tailing
19	1.01e+000
20	1.01e+000
21	1.01e+000
Sum	

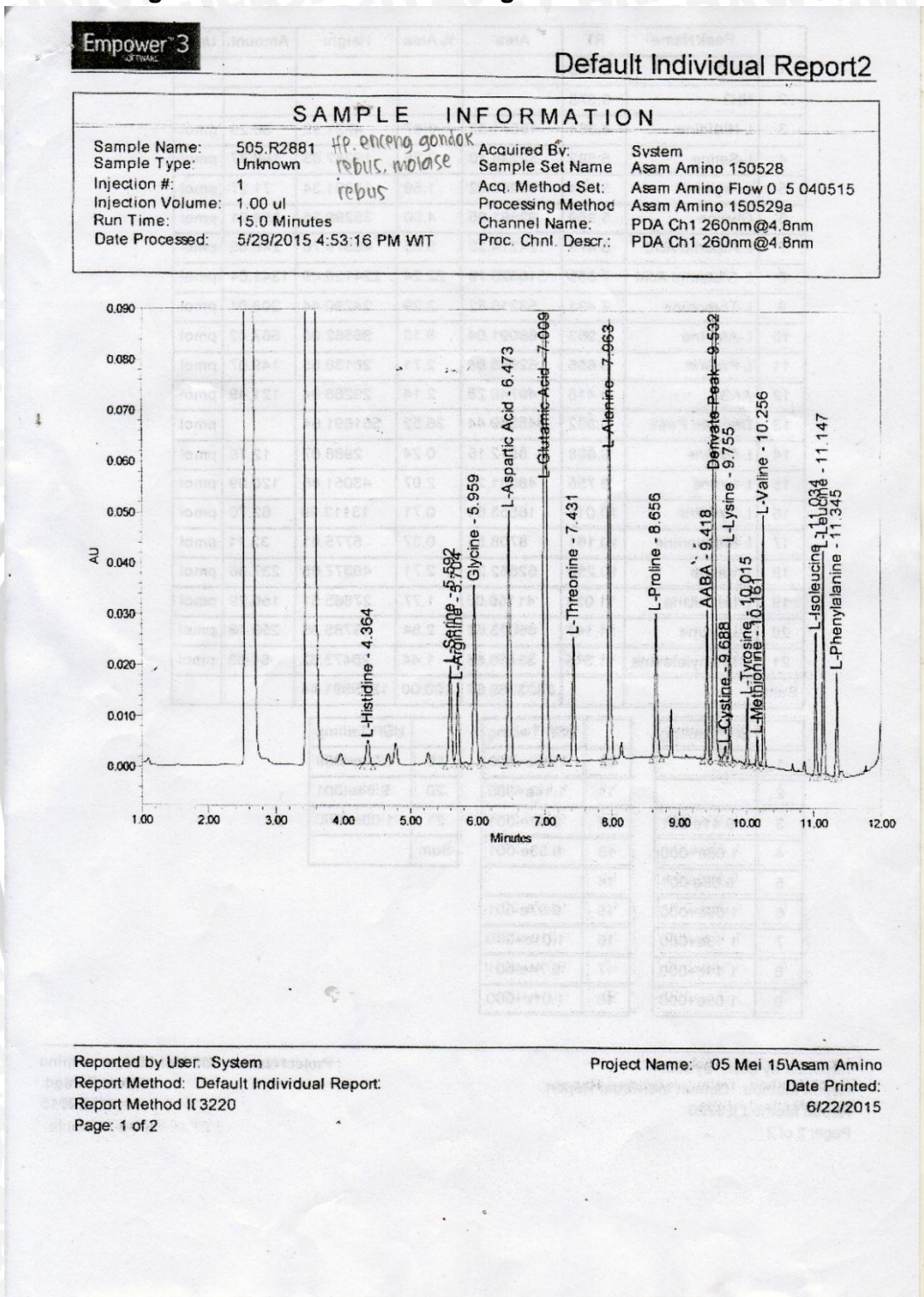
Reported by User: System  
 Report Method: Default Individual Report:  
 Report Method IIC3220  
 Page: 2 of 2

Project Name: 05 Mei 15\Asam Amino  
 Date Printed: 6/22/2015





• Kromatogram Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1	AMQ	2.648					
2	NH3	3.578					
3	L-Histidine	4.364	15571.33	0.67	4731.92	30.29	pmol
4	L-Serine	5.592	52234.10	2.25	19287.03	198.67	pmol
5	L-Arginine	5.704	36968.32	1.59	15991.34	71.27	pmol
6	Glycine	5.959	92881.05	4.00	35298.35	358.01	pmol
7	L-Aspartic Acid	6.473	124214.33	5.35	49578.76	246.69	pmol
8	L-Glutamic Acid	7.009	516620.79	22.24	224120.49	1341.04	pmol
9	L-Threonine	7.431	53316.82	2.29	24290.44	203.01	pmol
10	L-Alanine	7.963	188091.04	8.10	86562.08	667.42	pmol
11	L-Proline	8.656	62985.84	2.71	28138.65	149.67	pmol
12	AABA	9.418	49740.28	2.14	29268.64	121.49	pmol
13	Derivate Peak	9.532	848389.44	36.52	561891.64		pmol
14	L-Cystine	9.688	5512.15	0.24	2988.07	12.78	pmol
15	L-Lysine	9.755	48061.21	2.07	43051.86	120.09	pmol
16	L-Tyrosine	10.015	16553.64	0.71	13113.99	62.70	pmol
17	L-Methionine	10.161	8708.55	0.37	5775.81	33.11	pmol
18	L-Valine	10.256	62862.21	2.71	49377.65	237.38	pmol
19	L-Isoleucine	11.034	41156.02	1.77	27865.51	156.29	pmol
20	L-Leucine	11.147	66023.62	2.84	43785.38	259.48	pmol
21	L-Phenylalanine	11.345	33458.88	1.44	20473.82	64.83	pmol
Sum			2323369.62	100.00	1285591.44		

	USP Tailing
1	
2	
3	9.41e-001
4	1.08e+000
5	9.66e-001
6	1.06e+000
7	1.15e+000
8	1.14e+000
9	1.05e+000

	USP Tailing
10	1.06e+000
11	1.14e+000
12	9.92e-001
13	9.33e-001
14	
15	9.97e-001
16	1.01e+000
17	9.74e-001
18	1.01e+000

	USP Tailing
19	1.01e+000
20	9.84e-001
21	1.00e+000
Sum	

Reported by User: System  
 Report Method: Default Individual Report:  
 Report Method If 3220  
 Page: 2 of 2

Project Name: 05 Mei 15\Asam Amino  
 Date Printed: 6/22/2015



**Lampiran 36. Derajat Hidrolisis Protein Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Rebus Menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Rebus dengan Proses Fermentasi**

Lama Fermentasi	Volume Molase	Protein Kasar Hidrolisat			Rerata Protein	% N HP Eceng Gondok	Protein Bahan Baku	% N Bahan Baku	% Derajat Hidrolisis
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3					
kontrol	200 mL	10.49	10.37	11.05	10.64	1.70	10.52	1.68	1.01
	250 mL	11.83	11.80	11.69	11.77	1.88	10.52	1.68	1.12
	300 mL	13.29	13.80	13.21	13.43	2.15	10.52	1.68	1.28
3 hari	200 mL	11.16	12.45	11.88	11.83	1.89	10.52	1.68	1.12
	250 mL	13.07	13.98	13.93	13.66	2.19	10.52	1.68	1.30
	300 mL	14.50	14.49	15.26	14.75	2.36	10.52	1.68	1.40
6 hari	200 mL	12.54	14.61	13.13	13.43	2.15	10.52	1.68	1.28
	250 mL	14.47	16.64	16.05	15.72	2.52	10.52	1.68	1.49
	300 mL	15.35	18.77	17.48	17.2	2.75	10.52	1.68	1.63
9 hari	200 mL	14.67	14.56	14.62	14.62	2.34	10.52	1.68	1.39
	250 mL	17.36	17.46	16.77	17.2	2.75	10.52	1.68	1.63
	300 mL	19.41	19.34	19.56	19.44	3.11	10.52	1.68	1.85
12 hari	200 mL	16.73	15.34	16.02	16.03	2.56	10.52	1.68	1.52
	250 mL	17.46	18.15	17.96	17.86	2.86	10.52	1.68	1.70
	300 mL	20.07	21.56	21.45	21.03	3.36	10.52	1.68	2.00

