

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

SKRIPSI

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

Oleh :

RENY PERMATA SARI

NIM. 115080301111009



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**HIDROLISAT PROTEIN ECENG GONDOK (*Eichornia crassipes*) SEGAR
MENGUNAKAN STARTER KHAMIR LAUT DAN MOLASE SEGAR 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 :

RENY PERMATA SARI

NIM. 115080301111009



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

repository.ub.ac.id

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

Oleh:
RENY PERMATA SARI
115080301111009

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

Reny Permata Sari



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan segala kelebihan dan keterbatasannya. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayah, Ibu, kakak, dan *my twins* yang telah memberikan doa dan dukungan selama penyusunan laporan skripsi.
2. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph. D selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak memberikan bimbingan selama penyusunan skripsi ini dan memberikan bantuan bahan (molase dan khamir laut) yang sangat membantu dalam penelitian saya.
3. Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan pengetahuan dan membimbing saya dengan sabar hingga saya dapat memahami materi penelitian saya.
4. Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik saran pada laporan skripsi ini.
5. Stifanus Ferdy Pranata yang selalu memberikan doa dan semangat selama menyelesaikan skripsi.
6. Tim Eceng Gondok, Dian, Dilla, Yudha yang selalu mendampingi di kala susah dan senang bersama.
7. Sahabat saya Nissa, Urwah, Alifiany, Ade Rima, Lerin yang selalu mendampingi dan memberikan semangat.
8. Teman-teman THP 2011 yang telah membantu dan memberikan motivasi selama ini.

9. Pihak lain yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan, doa, dan semangat selama penulis menyelesaikan skripsi ini.

Malang, 10 Agustus 2015

Penulis



RINGKASAN

Reny Permata Sari. Skripsi tentang Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*) Segar menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Segar dengan Proses Fermentasi (dibawah bimbingan **Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D** dan **Dr. Ir. M. Firdaus, MP**).

Enceng gondok adalah tanaman air yang mengapung dan dianggap sebagai tanaman pengganggu atau gulma dengan kemampuan berkembang biak dengan cepat. Penanganan eceng gondok harus segera dilakukan karena akan memberikan dampak negatif bagi lingkungan perairan. Sampai saat ini, pemanfaatan eceng gondok masih kurang mengingat potensi eceng gondok yang cukup besar yakni mengandung protein sekitar 12,78%. Hal ini dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan hidrolisat protein. Pengolahan eceng gondok menjadi hidrolisat protein bertujuan untuk mendapatkan bahan pakan yang lebih mudah dicerna karena proteinnya telah terurai menjadi lebih sederhana. Pembuatan hidrolisat protein dapat dilakukan dengan cara fermentasi. Pada fermentasi tentunya terdapat mikroorganisme yang berperan didalamnya, mikroorganisme yang digunakan adalah khamir laut. Khamir laut membutuhkan nutrisi dalam menopang pertumbuhannya, misalnya sumber karbon. Sumber karbon yang digunakan adalah tetes tebu (molase). Oleh karena itu, penggunaan volume molase segar dan lama fermentasi yang tepat diharapkan dapat meningkatkan kemampuan khamir laut dalam menghidrolisis eceng gondok segar.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Penelitian ini terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan penentuan fase logaritmik khamir laut, penentuan volume molase dan lama fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat protein. Penelitian utama dilakukan dengan pembuatan hidrolisat protein eceng gondok dengan starter khamir laut yang selanjutnya dianalisis kimia berupa analisis proksimat, pH, emulsi, dan daya buih. Hasil yang terbaik digunakan untuk acuan dalam analisis profil asam amino. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok Sederhana yaitu volume molase segar yang terdiri dari 200 mL, 250 mL, dan 300 mL dan lama fermentasi yang digunakan yaitu 3, 6, 9, dan 12 hari serta dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Hasil penelitian diperoleh kesimpulan yaitu volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok adalah sebanyak 300 mL dengan kandungan nutrisi sebesar 17,24% kadar air, 2,45% kadar lemak, 18,70% kadar protein, 17,64% kadar abu, 45,19% kadar karbohidrat, 4,34 pH, 53,48% kapasitas emulsi, 0,27% daya buih. Sedangkan lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok adalah pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 13,16% kadar air, 1,99% kadar lemak, 21,08% kadar protein, 17,47% kadar abu, 46,24% kadar karbohidrat, 4,28 pH, 51,78% kapasitas emulsi, 0,33% daya buih.

Hasil analisis total asam amino hidrolisat protein kerang hijau terbaik diperoleh 16 macam asam amino. Asam amino yang terkandung ada dua jenis yaitu esensial dan non esensial. Asam amino esensial meliputi lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonin, methionin, valin, dan phenilalanin. Sedangkan asam amino non esensial meliputi glutamat, aspartat, alanin, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Kandungan asam amino tertinggi pada produk hidrolisat protein eceng gondok yaitu asam amino glutamat.

KATA PENGANTAR

Laporan skripsi dengan judul “Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*) Segar menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Segar dengan Proses Fermentasi” berisi beberapa pokok bahasan. Pokok bahasan pertama meliputi latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, dan kegunaan penelitian yang di sajikan pada Bab 1. Pokok bahasan kedua meliputi tinjauan pustaka eceng gondok, khamir laut, molase, protein dan asam amino, protease, fermentasi, dan hidrolisat protein yang disajikan pada Bab 2. Pokok bahasan ketiga meliputi materi penelitian, metode penelitian, prosedur penelitian, rancangan penelitian, dan pengamatan penelitian yang disajikan pada Bab 3. Pokok bahasan keempat meliputi hasil dan pembahasan dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama yang disajikan pada Bab 4. Pokok bahasan kelima meliputi kesimpulan dan penutup yang disajikan pada Bab 5.

Dalam penyusunan laporan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis. Untuk itu penulis sangat mengharapkan adanya saran dan kritik dalam penyusunan laporan yang selanjutnya. Akhirnya, semoga laporan skripsi ini dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang memerlukan.

Malang, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Kegunaan Penelitian.....	5
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Eceng Gondok (<i>Eichornia crassipes</i>).....	7
2.1.1 Deskripsi Eceng Gondok.....	7
2.1.2 Komposisi Kimia Eceng Gondok.....	9
2.1.3 Manfaat Eceng Gondok.....	11
2.2 Khamir Laut.....	12
2.2.1 Karakteristik Khamir Laut.....	12
2.2.2 Isolasi Khamir Laut.....	14
2.2.3 Komposisi Kimia Khamir Laut.....	15
2.2.4 Potensi Bioteknologi Khamir Laut.....	16
2.3 Molase.....	18
2.3.1 Karakteristik Molase.....	18
2.3.2 Manfaat Molase terhadap Pertumbuhan Khamir Laut.....	19
2.4 Protein dan Asam Amino.....	20
2.5 Protease.....	22
2.6 Fermentasi.....	23
2.6.1 Definisi Fermentasi.....	23
2.6.2 Faktor yang Berpengaruh pada Proses Fermentasi dengan	

Khamir Laut	24
2.6.3 Efektivitas Fermentasi dengan Biokatalisator Khamir Laut	25
2.7 Hidrolisat Protein	27
2.7.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein	27
2.7.2 Teknologi Hidrolisat Protein	28
2.7.3 Karakteristik Hidrolisat Protein	29
2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	30
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	32
3.1.1 Bahan Penelitian	32
3.1.2 Alat Penelitian	32
3.2 Metode Penelitian.....	33
3.2.1 Metode.....	33
3.2.2 Variabel	34
3.3 Prosedur Penelitian	35
3.3.1 Prosedur Penelitian Fase Log Khamir Laut	35
3.3.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar ..	37
3.3.3 Prosedur Pengujian pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar	40
3.4 Rancangan Penelitian dan Analisa Data	40
3.5 Pengamatan.....	41
3.5.1 Rendemen	41
3.5.2 Analisa Proksimat.....	42
3.5.2.1 Analisa Kadar Air	42
3.5.2.2 Analisa Kadar Lemak	43
3.5.2.3 Analisa Kadar Protein	44
3.5.2.4 Analisa Kadar Abu	45
3.5.2.5 Analisa Kadar Karbohidrat	45
3.5.3 Nilai pH	46
3.5.4 Kapasitas Emulsi	46
3.5.5 Daya Buih	47
3.5.6 Analisa Profil Asam Amino	47
3.5.7 Derajat Hidrolisis	49
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penelitian Pendahuluan.....	50
4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik.....	50
4.1.2 Penentuan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi	53
4.1.3 Volume Khamir Laut	57
4.1.4 Pengukuran Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok....	58
4.1.5 Pengukuran pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok	59
4.2 Penelitian Utama	61
4.2.1 Komposisi Kimia Eceng Gondok Segar	62
4.2.2 Analisa Proksimat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar ..	63
a. Kadar Air	63

b. Kadar Lemak	65
c. Kadar Protein	67
d. Kadar Abu	69
e. Kadar Karbohidrat	71
4.2.3 Analisa Derajat Keasaman (pH)	72
4.2.4 Analisa Emulsi	74
4.2.5 Analisa Daya Buih	76
4.2.6 Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok.....	79
4.2.7 Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar Terbaik.....	80
4.2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	82
4.2.9 Analisa Total Asam Amino	85
4.2.10 Analisa Derajat Hidrolisis	88
5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	90
5.2 Saran	90
DAFTAR PUSTAKA	92
LAMPIRAN	102



DAFTAR TABEL

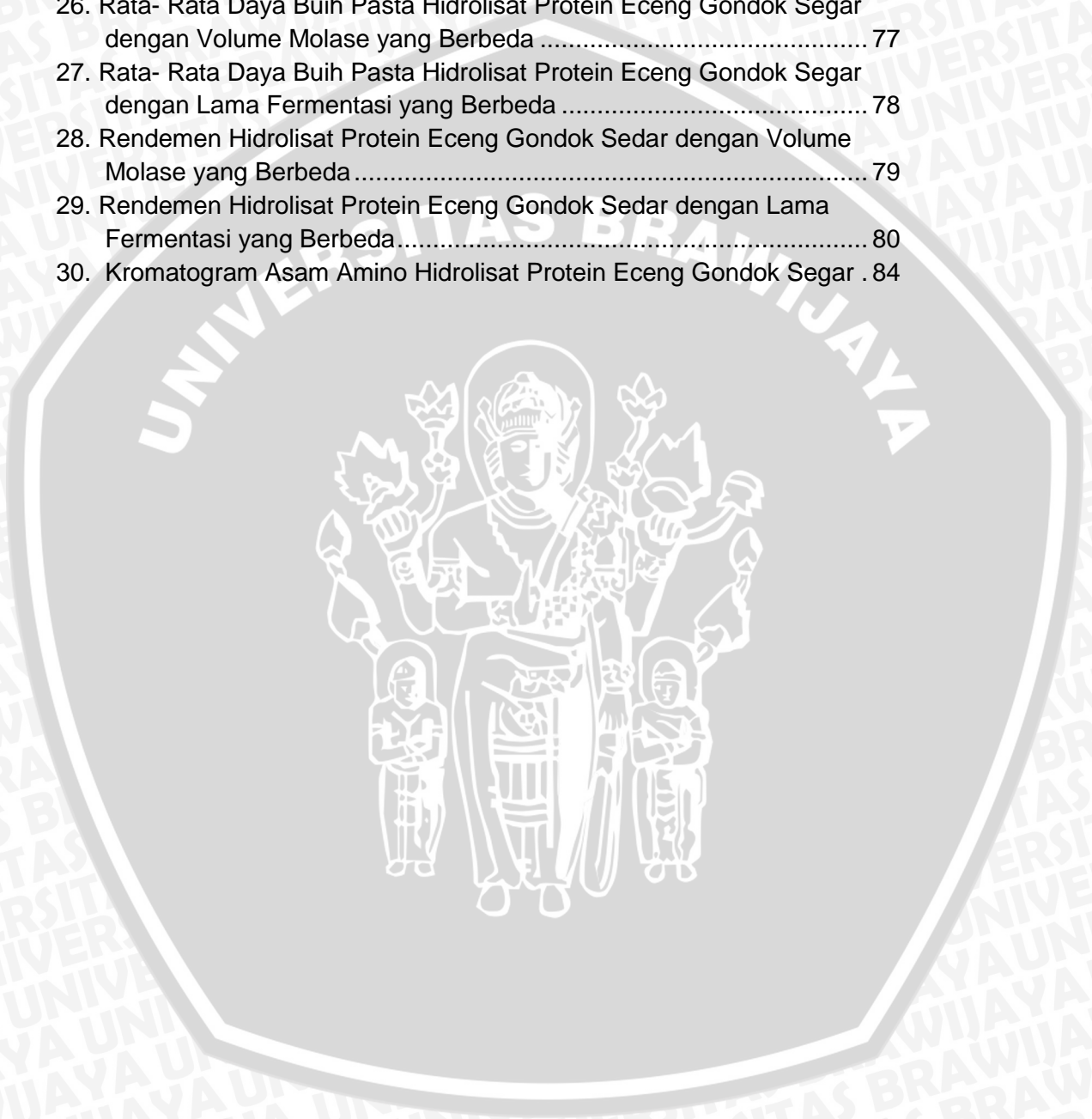
Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Eceng Gondok Segar (g/100 g Berat Kering)	10
2. Komposisi Mineral Pada Eceng Gondok Segar	10
3. Komposisi Asam Amino Daun	11
4. Komposisi Kimia Khamir Laut	16
5. Komposisi Kimia Molase	19
6. Perlakuan Penelitian dengan Berbagai Variabel	37
7. Model Rancangan Penelitian	41
8. Komposisi Kimia Eceng Gondok	62
9. Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar	81
10. Kandungan Asam Amino pada Hidrolisat Protein Eceng Gondok, Daun Eceng Gondok Segar, Telur Ayam Ras, Kacang Kedelai, dan Tepung Ikan	85



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Eceng Gondok	8
2. Pertunasan pada Khamir Laut	13
3. Pembelahan pada Khamir Laut	13
4. Pertunasan pada Khamir Laut	13
5. Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar	39
6. Kepadatan Sel Khamir Laut dengan Pengamatan Tiap 12 Jam Sekali Selama 4 Hari	50
7. 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)	52
8. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	58
9. pH Campuran Filtrat dan Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	59
10. pH Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	60
11. pH Filtrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	60
12. Rata- Rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	63
13. Rata- Rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	64
14. Rata- Rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	65
15. Rata- Rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	66
16. Rata- Rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	67
17. Rata- Rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	68
18. Rata- Rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	69
19. Rata- Rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	70
20. Rata- Rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda.....	71
21. Rata- Rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	72
22. Rata- Rata pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	73

23. Rata- Rata pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	73
24. Rata- Rata Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	75
25. Rata- Rata Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	76
26. Rata- Rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda	77
27. Rata- Rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	78
28. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Sedar dengan Volume Molase yang Berbeda	79
29. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Sedar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	80
30. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .	84



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan dalam Kultur Khamir Laut	102
2. Perhitungan Komposisi Media Pengenceran Kultur Khamir Laut	103
3. Diagram Alir Kultur Khamir Laut	104
4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut	105
5. Data Kepadatan Khamir	106
6. Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Saat Dilakukan Pengenceran .	107
7. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut	108
8. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan	110
9. Data Pengamatan Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan	114
10. Data Pengamatan pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan	115
11. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Hidrolisat Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	116
12. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	117
13. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	119
14. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	121
15. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	123
16. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	125
17. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	127
18. Data Pengamatan dan Analisis Data pH Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	129
19. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Kontrol dan	

Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	131
20. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	133
21. Data Pengamatan dan Analisis Data Derajat Hidrolisis Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	135
22. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut.....	136
23. Dokumentasi Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar ..	138
24. Dokumentasi Analisis Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	140
25. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	141
26. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	142
27. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	143
28. Dokumentasi Analisis Kadar pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	145
29. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	146
30. Dokumentasi Analisis Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....	148
31. Berita Acara Serah Terima Sertifikat Hasil Analisa.....	149
32. Hasil Uji Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dan Molase Segar.....	150
33. Kromatogram Asam Amino Standar.....	151
34. Waktu Retensi dan Luas Area dari Kromatogram Standar.....	152
35. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar Dan Molase Segar.....	153
36. Waktu Retensi dan Luas Area dari Kromatogram Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dan Molase Segar.....	154

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enceng gondok adalah tanaman air yang mengapung dan dianggap sebagai tanaman pengganggu atau gulma dengan kemampuan berkembang biak yang cepat. Setiap 10 tanaman mampu berkembang biak menjadi 600.000 tanaman dalam waktu 8 bulan (Yuliasari *et al.*, 2011). Penanganan eceng gondok harus segera dilakukan karena akan menimbulkan dampak negatif berupa gangguan terhadap pemanfaatan perairan secara optimal yaitu mempercepat pendangkalan, menyumbat saluran irigasi, mempersulit transportasi perairan, menurunkan hasil perikanan (Sittadewi, 2007). Sampai saat ini eceng gondok dimanfaatkan sebagai kompos, produksi biogas, pakan ternak/ pakan ikan, bahan pembuatan kertas minyak, dan *fiberboards* (Kunatsa dan Mufundirwa, 2013).

Pemanfaatan enceng gondok sebagai tanaman pakan belum banyak digunakan masyarakat. Pemanfaatan enceng gondok sebagai pakan memiliki beberapa kelemahan antara lain, kadar air terlalu tinggi, protein kasar, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) yang sukar dicerna. Kelemahan tersebut dapat mengganggu pencernaan sehingga dalam pemanfaatannya harus diolah terlebih dahulu dalam bentuk fermentasi (Dewanti *et al.*, 2013).

Eceng gondok (*Eichornia crassipes*) segar memiliki nilai nutrisi sebagai berikut, kandungan protein kasar 9,8-12,0%, abu 11,9-23,9%, lemak kasar 1,1-3,3%, serat kasar 16,8-24,6%. Kandungan protein yang ada masih cukup memadai untuk digunakan sebagai bahan pakan alternatif (Agustono *et al.*, 2010). Hasil fermentasi eceng gondok segar dengan *Aspergillus niger* mengandung serat kasar (SK) 15,73%, protein kasar (PK) 18,84% (Nugraha *et al.*, 2012). Eceng gondok segar mengandung protein yang cukup tinggi sehingga dapat berpotensi sebagai bahan baku dalam pembuatan hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan suatu proses pemutusan ikatan peptida pada struktur protein menjadi ikatan yang lebih sederhana melalui proses hidrolisis baik menggunakan enzim, asam, maupun basa. Reaksi hidrolisis ini akan menghasilkan hidrolisat protein yang berkualitas karena pH, kondisi suhu, dan waktu hidrolisis yang terkontrol. Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hidrolisis menggunakan enzim berlangsung secara spesifik yang dapat mempengaruhi pembentukan peptida dan asam-asam amino (Nurhayati *et al.*, 2014). Enzim mikroba menjadi alat yang paling menjanjikan untuk proses hidrolisis (Dufosse *et al.*, 1997). Pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan enzim mikroba dapat dilakukan dengan cara fermentasi.

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia yang disebabkan oleh aktivitas mikroba ataupun oleh aktivitas enzim yang dihasilkan mikroba (Sebayang, 2006). Mikroba yang berperan dalam proses fermentasi ini terutama dari golongan khamir (*yeast*), kapang (*fungi*) dan bakteri (Aditiwati dan Kusnadi, 2003). Fermentasi oleh mikroba mampu mengubah makromolekul kompleks menjadi molekul sederhana yang mudah dicerna oleh ternak dan tidak menghasilkan senyawa kimia beracun (Dewanti *et al.*, 2013). Pada proses fermentasi, jumlah mikroba diperbanyak dan digiatkan metabolismenya dalam substrat pada batas tertentu. Proses fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan asalnya (Mangisah *et al.*, 2003).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah lama fermentasi, mikroba dan nutrisi. Fermentasi dengan lama waktu yang tepat dapat menghasilkan hidrolisat protein yang optimal karena komponen kompleks dipecah menjadi komponen sederhana. Hasil penelitian Mangisah *et al.*, (2003) menyatakan fermentasi eceng gondok dengan starter *Aspergillus niger* dengan lama fermentasi terbaik 3 minggu mengandung protein kasar 13,55%. Sedangkan

Mangisah *et al.*, (2006) menyatakan lama fermentasi eceng gondok terbaik adalah 6 minggu dengan kadar protein kasar 18,84% dengan starter *Aspergillus niger*.

Pembuatan hidrolisat protein pada penelitian ini telah dimodifikasi dengan bahan baku eceng gondok segar dan dilakukan fermentasi dengan starter khamir laut. Khamir merupakan salah satu jenis mikroorganisme dari golongan jamur penghasil protease ekstraseluler. Sukoso (2012) menjelaskan bahwa enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase dan fosfatase sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein. Khamir laut telah terbukti dapat digunakan sebagai sumber enzim protease dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Budy, 2014), hidrolisat protein kerang hijau (*Perna viridis*) (Husen, 2015), dan hidrolisat protein kepala ikan lele (*Clarias sp.*) (Yunika, 2015).

Khamir laut membutuhkan nutrisi untuk kehidupannya seperti sumber karbon dan sumber nitrogen. Ahmad (2005) menjelaskan bahwa khamir dapat hidup dalam gula sederhana seperti glukosa, atau gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Khamir mempunyai reaksi positif pada gula raffinosa, trehalosa, dekstrosa, maltosa, galaktosa, sukrosa, dan negatif pada gula laktosa. Sumber karbon yang biasa digunakan sebagai media pertumbuhan khamir adalah gula pasir. Belum banyak penelitian yang menggunakan molase segar pada media pertumbuhan khamir laut. Penggunaan molase segar dengan konsentrasi yang tepat dapat mengoptimalkan pertumbuhan khamir laut. Nurul *et al.*, (2013) menjelaskan bahwa molase segar mengandung gula yang terdiri dari sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12%. Molase mengandung asam amino, biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor, dan sulfur.

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai khamir laut sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok segar dan penambahan sumber

karbon berupa molase segar. Dengan demikian perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut. Dari paparan yang telah dijelaskan maka diperlukan kajian yang membahas tentang pemanfaatan khamir laut sebagai biokatalisator dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok.

1.2 Rumusan Masalah

Eceng gondok memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, namun pemanfaatan eceng gondok sebagai hidrolisat protein belum banyak dilakukan. Adanya pengolahan eceng gondok menjadi hidrolisat protein dengan menggunakan fermentasi berpeluang dalam penyediaan pakan yang dapat menambah nutrisi eceng gondok sebelum difermentasi. Pembuatan hidrolisat protein eceng gondok menggunakan enzim khamir laut (enzim protease) berpotensi untuk meningkatkan kandungan protein dalam produk hidrolisat eceng gondok. Penggunaan volume molase segar dan lama fermentasi yang tepat sangat menentukan kualitas hidrolisat protein eceng gondok yang akan didapatkan. Dari uraian ini didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

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

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian tentang pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok (*Eichornia crassipes*) segar selama masa fermentasi dengan starter khamir laut adalah:

- Untuk mendapatkan volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok.
- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok.
- Untuk mengetahui profil asam amino pada perlakuan terbaik hidrolisat protein eceng gondok segar.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasar penelitian ini adalah:

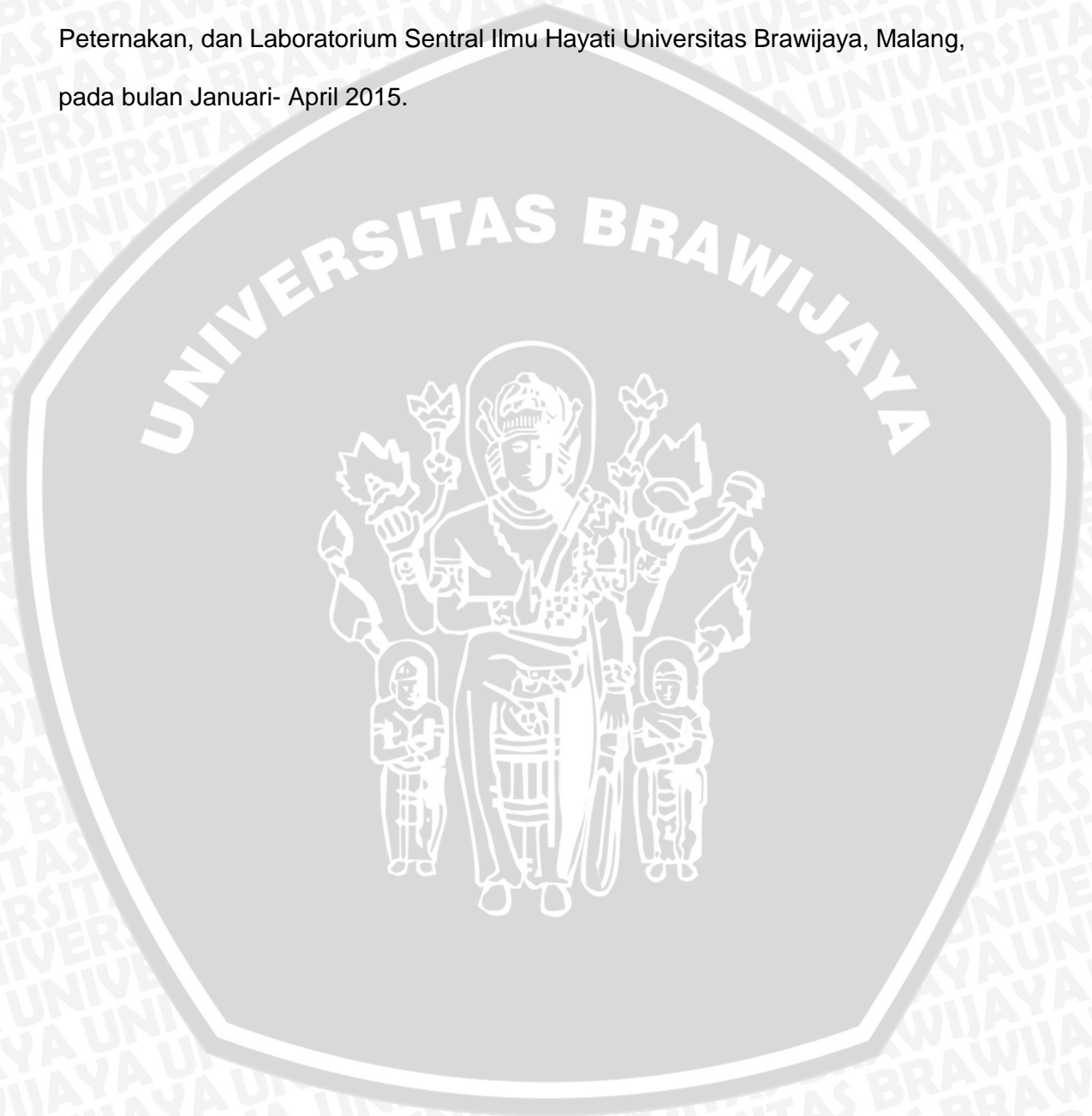
- Diduga volume molase segar berpengaruh terhadap kualitas fermentasi eceng gondok.
- Diduga lama fermentasi berpengaruh terhadap kualitas fermentasi eceng gondok.
- Diduga perlakuan terbaik menghasilkan profil asam amino yang optimal.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam pemanfaatan eceng gondok sebagai bahan pembuatan hidrolisat protein dan pengaruh lama fermentasi dan volume molase segar yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap mutu hidrolisat protein eceng gondok (*Eichornia crassipes*).

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Perencanaan Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Januari- April 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*)

2.1.1 Deskripsi Eceng Gondok

Eceng gondok merupakan tanaman air yang mengapung (*floating plants*).

Eceng gondok merupakan famili *Pontederiaceae*. Pada umumnya famili ini mempunyai ciri-ciri hidup di rawa, perenial, akarnya mengapung, daun dengan helaian yang lebar, ibu jari daun melengkung dan rapat, serta membentuk roset.

Tanaman ini mampu tumbuh pada kondisi nutrisi, pH, temperatur, dan bahan beracun (Pujawati, 2006). Klasifikasi eceng gondok menurut Coniwanti *et al.*, (2009) adalah sebagai berikut:

Divisio : Embryophytasi phonogama

Sub Divisio : Spermathopyta

Kelas : Monocotyledoneae

Ordo : Ferinosae

Famili : Pontederiaceae

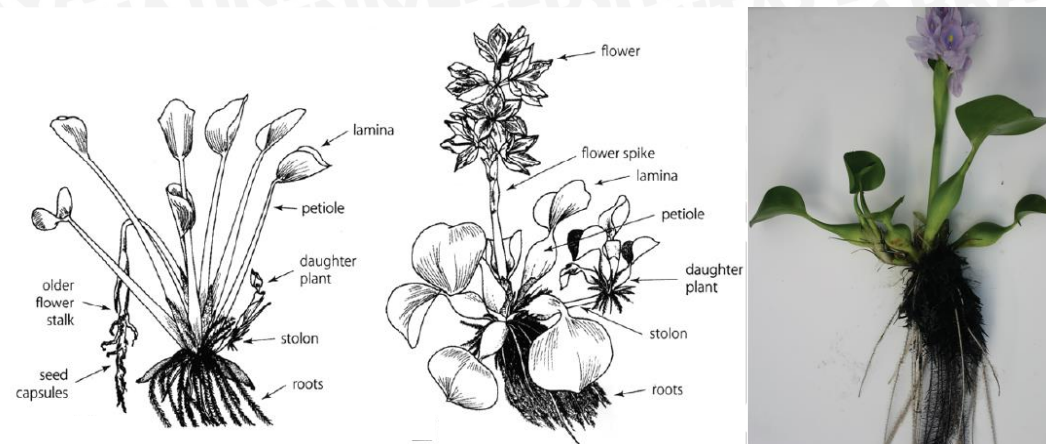
Genus : *Eichornia*

Spesies : *Eichornia crassipes*

Eceng gondok tumbuh di air tawar yang tidak mengalir atau lambat mengalir di daerah beriklim tropis dan subtropis. Pertumbuhan optimal terjadi pada suhu antara 28 °C dan 30 °C dan membutuhkan nitrogen, fosfor dan kalium. Meskipun tanaman ini akan mentolerir berbagai kondisi pertumbuhan dan kondisi iklim yang ekstrim, namun eceng gondok tidak dapat hidup di laut dan tidak akan tumbuh di air payau. Jika air telah surut, eceng gondok dapat bertahan hidup di tanah basah selama beberapa bulan (Ensbeij, 2009).

Eceng gondok dewasa terdiri dari akar, rimpang, stolon, daun, bunga dan buah (Tham, 2012). Eceng gondok dapat menunjukkan variasi

dalam bentuk tergantung pada kondisi pertumbuhan. Morfologi eceng gondok dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Morfologi Eceng Gondok (Ensbey, 2009)

- **Batang**
Terdapat dua jenis batang yaitu petiole dan stolon. Petiole merupakan batang tegak yang memiliki panjang hingga 60 cm. Petiole seperti pembengkakan, baik bulat atau memanjang yang terdiri dari udara yang memungkinkan tanaman untuk mengapung di atas air. Stolon memiliki panjang sekitar 10 cm yang menghasilkan tanaman putri baru (*daughter plant*) (Ensbey, 2009).
- **Daun**
Daun eceng gondok halus, berbulu dan mengkilap. Umumnya berwarna hijau terang dan dapat berwarna kuning pada ujung-ujungnya. Terdapat dua jenis daun pada eceng gondok yaitu daun dengan petiole non bulat dan daun dengan petiole bulat. Daun dengan petiole non bulat memiliki panjang daun hingga 60 cm (termasuk tangkai daun), sempit dan tegak. Daun dengan petiole bulat memiliki daun tebal, melingkar dan memiliki panjang hingga 30 cm. Batang memiliki panjang 50 cm dan mengandung udara yang memungkinkan tanaman untuk mengapung (Ensbey, 2009).

- Bunga

Bunga eceng gondok berwarna ungu muda dengan enam kelopak. Kelopak teratas memiliki titik kuning di tengah dikelilingi dengan warna ungu gelap. Eceng gondok dapat berbunga ketika berusia 3 atau 4 minggu. Pada kondisi yang baik eceng gondok dapat berbunga berulang-ulang sepanjang tahun meskipun intensitas pembungaan dapat bervariasi dengan variasi musiman (Tham, 2012).

- Buah- Buahan dan Biji- Biji

Buah terdiri dari 3 kapsul sempit yang memiliki panjang sekitar 1 sampai 1,5 cm dan mengandung biji hingga 300 biji. Biji memiliki panjang sekitar 1 sampai 1,5 mm dengan banyak rusuk memanjang. Benih dapat berkecambah dalam beberapa hari. Dalam suhu dingin, benih tetap aktif selama 15 sampai 20 tahun di lumpur kering dan dapat berkecambah saat dibasahi. Sebuah suhu 20 °C - 35 °C biasanya meningkatkan perkecambahan (Tham, 2012).

- Akar

Akar eceng gondok berserat dan memiliki satu akar tunggal utama dengan banyak akar lateral (cabang samping). Karena setiap akar lateral memiliki ujung, eceng gondok dapat memanfaatkan nutrisi dalam air. Akar lateral umumnya lebih panjang dan lebih padat pada tingkat fosfor rendah dari pada kadar fosfor tinggi. Di perairan dangkal, akar akan melekat ke tanah selama beberapa minggu. Rasio akar dan tunas berbanding terbalik dengan tingkat gizi, khususnya yang berkaitan dengan nitrogen. Akar ungu adalah karakteristik dari tanaman yang memiliki gizi yang rendah di dalam air (Tham, 2012).

2.1.2 Komposisi Kimia Eceng Gondok

Komposisi kimia eceng gondok dipengaruhi oleh unsur hara tempatnya tumbuh, dan sifat daya serap tanaman. Eceng gondok mengandung protein lebih

dari 11,5% dan mengandung selulosa yang lebih besar dari non selulosanya seperti lignin, abu, lemak, dan zat-zat lain. Enceng gondok dalam keadaan segar diperoleh bahwa kadar N total 0,28 %, bahan organik 36,59 %, C organik 21,23 %, P total 0,0011 % dan K total 0,016 % (Tangio, 2013). Komposisi kimia eceng gondok segar (g/100 g berat kering) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Eceng Gondok Segar (g/100 g Berat Kering)

Parameter	Hasil
Berat Kering	9,84
Protein kasar	10,01
Serat Kasar	22,75
Ekstrak lain	11,89
Abu	14,98
Ekstrak bebas nitrogen	40,44

Sumber: Akinwande *et al.*, (2013)

Eceng gondok mengandung mineral makro dan mikro. Mineral makro dan mikro merupakan indikasi bahwa eceng gondok akan memasok kebutuhan mineral untuk hewan. Komposisi mineral pada eceng gondok segar dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Mineral Pada Eceng Gondok Segar

Parameter	Hasil
Makro mineral	(g/100 g berat kering)
Kalsium	3,08
Fosfor	0,28
Magnesium	0,65
Potasium	4,13
Sodium	0,13
Mikro mineral	mg/kg
Mangan	1738,69
Besi	2387,98
Tembaga	10,97
Seng	69,18
Cobalt	3,03
Timbal	5,83

Sumber: Akinwande *et al.*, (2013)

Eceng gondok mengandung bahan berserat atau dinding sel yang sangat tinggi, terutama selulosa tetapi eceng gondok sangat kaya asam amino (Sotolu, 2010).

Komposisi asam amino daun eceng gondok dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Asam Amino Daun

Asam Amino	Daun (%)
Alanine	3,40
Arginine	3,56
Asparagine	5,05
Cysteine	0,42
Cystine	0,84
Glutamine	5,90
Glycine	3,02
Histidine	1,10
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

Manfaat eceng gondok adalah sebagai agen fitoremediasi, sebagai kompos, produksi biogas dan untuk pakan ternak/ pakan ikan (Kunatsa dan Mufundirwa, 2013). Penggunaan eceng gondok untuk pakan ikan memiliki efek positif terhadap pertumbuhan ikan (Sotolu, 2010). Hasil penelitian Mohapatra dan Patra (2013) menyatakan bahwa penambahan 15 % eceng gondok pada pakan *Cyprinus carpio* akan memaksimalkan pertumbuhan *Cyprinus carpio*. Tangio (2013) menyatakan bahwa eceng gondok juga dapat digunakan untuk menghilangkan polutan, karena fungsinya sebagai sistem filtrasi biologis, menghilangkan nutrisi mineral, untuk menghilangkan logam berat seperti cuprum, aurum, cobalt, strontium, timbal, timah, kadmium dan nikel.

Jafari (2010) mengungkapkan bahwa eceng gondok dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan kerajinan. Di Filipina eceng gondok dikeringkan dan digunakan untuk membuat keranjang dan tikar untuk keperluan rumah tangga.

Di India, eceng gondok juga digunakan untuk memproduksi barang yang sama untuk industri pariwisata. Terlepas dari nilai hias, eceng gondok dapat digunakan sebagai sumber pakan ternak, sebagai sumber pupuk dalam pertanian, sumber energi biomassa, sumber bahan baku untuk bangunan, untuk pembuatan kertas dan papan. Proyek pembuatan kertas telah berhasil dalam sejumlah negara, termasuk Filipina, Indonesia, dan India. Serat dari batang eceng gondok dapat digunakan untuk membuat tali. Tangkai dari tanaman ini diparut memanjang untuk membuka serat dan dibiarkan kering selama beberapa hari. Tali dari hasil proses pembuatan ini mirip dengan tali goni. Setelah selesai, tali tersebut ditambahkan natrium metabisulfit untuk mencegah pembusukan. Eceng gondok dapat dimanfaatkan untuk pakan ikan.

2.2 Khamir Laut

2.2.1 Karakteristik Khamir Laut

Khamir adalah mikroorganisme yang mewakili bagian mikrobiota dalam semua ekosistem alam, seperti tanah, air tawar dan perairan laut dari permukaan laut ke laut dalam. Khamir laut dibagi menjadi kelompok obligat dan fakultatif. Obligat khamir laut adalah khamir yang tidak pernah diisolasi dari mana saja selain lingkungan laut. Burgaud *et al.*, (2010) menjelaskan bahwa khamir laut fakultatif adalah juga dikenal dari habitat darat.

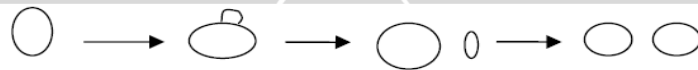
Khamir adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan ukuran antara 5 dan 20 mikron. Ukuran khamir biasanya 5 sampai 10 kali lebih besar dari bakteri. Seperti bakteri, sel-sel khamir mempunyai lapisan dinding luar yang terdiri dari polisakarida kompleks dan dibawahnya terletak membran sel. Sitoplasma mengandung suatu inti yang bebas (*discrete nucleus*) dan bagian yang berisi sejumlah besar cairan yang disebut vakuola. Vakuola dapat terlihat di bawah mikroskop dengan sinar normal (Buckle *et al.*, 1985).

Suprihatin (2010) memaparkan bahwa khamir adalah sel eukariotik yang berbeda dengan kapang dalam beberapa hal yaitu :

- Khamir tidak membentuk spora aseksual seperti pada kapang.
- Selama siklus pertumbuhan vegetatif, khamir umumnya terdapat dalam bentuk sel tunggal.

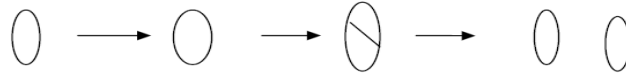
Khamir dapat tumbuh dengan cara membentuk tunas (*budding*) atau membelah (*fission*), atau campuran dari pertunasan dan pembelahan (*bud-fission*). Anak sel yang terbentuk kadang-kadang tidak melepaskan diri dari induknya sehingga membentuk pseudomiselium.

- Pertunasan



Gambar 2. Pertunasan pada Khamir Laut (Suprihatin, 2010)

- Pembelahan



Gambar 3. Pembelahan pada Khamir Laut (Suprihatin, 2010)

- Pertunasan dan Pembelahan



Gambar 4. Pertunasan dan Pembelahan pada Khamir Laut (Suprihatin, 2010)

Khamir adalah organisme seluler dari golongan jamur, bersifat kemoorganotrof. Kultur khamir merupakan produk uniseluler yang dikeringkan beserta dengan substratnya dapat digunakan sebagai bahan pakan. Setelah sampai pada alat pencernaan, khamir dapat hidup dan aktif kembali apabila

kondisi sesuai dengan kehidupannya. Dalam saluran pencernaan khamir mampu memproduksi berbagai enzim protease, amilase, lipase yang akan membantu pencernaan zat makanan dalam tubuh hewan. Khamir laut dapat melekat pada mukosa usus, sehingga berpotensi sebagai suplemen probiotik bagi kesehatan manusia dan hewan. Toleransi khamir laut untuk hidup sangat luas, yaitu pada pH 2-11 dan suhu 20-45°C. Selama pertumbuhannya, sel khamir menghasilkan senyawa seperti nukleotida, asam amino, faktor tumbuh yang belum teridentifikasi (*unidentified growth factor*), yang menstimulir pertumbuhan dan enzim. Khamir mengandung vitamin B kompleks (thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin) (Febriani, 2006).

2.2.2 Isolasi Khamir Laut

Khamir laut pertama ditemukan pada tahun 1894 oleh Fisher. Ketika Fisher memisahkan khamir merah dan putih dari Samudra Atlantik dan mengidentifikasi mereka sebagai *Torula* sp. dan *Mycoderma* sp (Anusha *et al.*, 2014). Pada tahun 1934, ZoBell dan Feltham mengisolasi khamir dari tanah maupun laut terbuka. Pada tahun 1954, Kriss dan Novozhilova mengumpulkan sampel air dari Laut Hitam dan menemukan bahwa khamir ditemukan di semua daerah di lapisan permukaan, di daerah perairan pantai, dan di semua kedalaman. Pada tahun 1955, Bhat dan Kachwalla mengisolasi khamir dari sampel air yang dikumpulkan dari 2-6 mil pantai Bombay. Spesies yang diperoleh yaitu *Saccharomyces italicus*, *S. cheualicri*, *S. rosei*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia quilliermondi*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Torulopsis candida*, *Rhodotorula* sp., *Cryptococcus* sp. dan sebagainya. Selanjutnya pada tahun 1960 Fell memperoleh 179 isolat khamir dari 45 stasiun pengambilan sampel di Biscayne Bay, Florida. Dari jumlah tersebut, *Candida tropicalis* dan *Rhodotorula rubra* merupakan spesies yang dominan (Sarlin, 2005).

Pada tahun 1999, sebelas strain diisolasi dari sedimen, kerang putih raksasa (*Calyptogena* sp.) dan kepiting tak dikenal dikumpulkan pada kedalaman 1000 - 2000 m di Suruga Bay atau Sagami Bay, Jepang, diidentifikasi sebagai spesies dari genus *Kluyveromyces*. Nama *Kluyveromyces nonfermentans* sp. nov. diusulkan untuk 11 strain non-fermentasi. *Kluyveromyces nonfermentans* sp. nov. merupakan spesies baru dari lingkungan laut dalam karena kurangnya asimilasi sukrosa, asam laktat dan asam suksinat sebagai senyawa karbon tunggal dan kurangnya fermentasi D-glukosa (Nagahama *et al.*, 1999).

Pada tahun 2010, Burgaud *et al.*, (2010) melakukan penelitian tentang keragaman khamir yang dikultur dari laut dalam hidrotermal dan kemungkinan interaksi dengan fauna endemik. Sampel dikumpulkan dari Mid-Atlantic Ridge, cekungan Pasifik Selatan dan permukaan Pasifik Timur. Kultur dilakukan dari 32 isolat dan sebagian besar berhubungan dengan hewan. Hasil analisis filogenetik mengungkapkan bahwa khamir tersebut merupakan filum Ascomycota dan Basidiomycota, dengan identifikasi beberapa genus: *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Candida*, *Debaryomyces* dan *Cryptococcus*. Genus tersebut biasanya diisolasi dari lingkungan laut dalam. Laporan penelitian Burgaud merupakan laporan pertama khamir terkait dengan hewan laut dalam hidrotermal.

2.2.3 Komposisi Kimia Khamir Laut

Khamir adalah mikroorganisme pertama yang digunakan sebagai suplemen pakan ternak dan diakui hampir satu abad yang lalu. Komposisi kimia khamir (% berat kering) yaitu protein 45-55%, lemak 2-6%, abu 5-10%, dan asam nukleat 6-12% (Nasseri *et al.*, 2011). Komposisi elemen khamir (% berat kering) yaitu karbon 45-50%, hidrogen 7%, nitrogen 7-11%, fosfor 0,8-2,6%, sulfur 0,01-0,24%, kalium 1,0-4,0%, natrium 0,01-0,1%, kalsium 0,1-0,3%, magnesium 0,1-0,5%, dan besi

0,01-0,5% (Rachman, 1989). Kutty dan Philip (2008) menambahkan bahwa khamir juga mengandung protein, lemak dan vitamin. Sukoso (2012) menjelaskan bahwa khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase, sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein. Kandungan nutrisi khamir laut yang telah diisolasi dari laut Jawa dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kimia Khamir Laut

Kandungan	Persentase (%)	mg/ 100 g	
Analisa proksimat:	BETN	4,33	-
	Serat kasar	0,95	-
	Bahan kering oven	71,85	-
	Lemak	0,34	-
	Abu	66,09	-
	Protein	28,29	-
Asam amino esensial:	Phenylalanin	0,274	-
	Valin	0,342	-
	Arginin	0,206	-
	Histidin	0,262	-
	Lisin	0,463	-
	Leucin	0,318	-
	Isoleucin	0,310	-
	Metionin + sistin	0,773	-
	Threonin	0,187	-
	Mineral	Mg	0,09
Zn		-	266,241
Mn		-	2,844
Ca		-	2,161
P		-	2,276
Cl		-	7452,459
Asam lemak		Linoleat	7,469
	Linolenat	0,875	-
	Oleat	14,447	-
	Stearat	28,726	-
	Palmitat	17,437	-
	Laurat	1,842	-

Sumber: Febriani (2010)

2.2.4 Potensi Bioteknologi Khamir Laut

Istilah bioteknologi merupakan gabungan perkataan *biology* dan *technology* diperkenalkan oleh Karl Ereky pada 1919 untuk menerangkan maksud interaksi

antara biologi dan teknologi. Biologi adalah ilmu sains yang berkaitan dengan struktur, fungsi, perkembangan, taburan, proses hidup benda hidup. Teknologi adalah kajian yang menggunakan pengetahuan sains untuk tujuan industri, pertanian, perobatan dan lain-lain bidang sains gunaan (Amin, 2011). Mursyidi (2000) mengungkapkan bahwa bioteknologi merupakan aktifitas terpadu yang melibatkan pengetahuan biologi, kimia, biokimia, mikrobiologi dan rekayasa menggunakan agen biologik (mikroba atau enzim) dalam rangka menghasilkan barang atau jasa.

Bioteknologi dapat dibagi menjadi dua yaitu bioteknologi konvensional atau tradisional dan bioteknologi modern. Bioteknologi tradisional tanpa rekayasa genetika dan fokus pada cara seleksi alam mikroba yang digunakan dalam modifikasi lingkungan untuk memperoleh produk optimal misal: pembuatan tape, tempe, roti, bir dan lain-lain. Bioteknologi modern dengan rekayasa genetika memanfaatkan keterampilan manusia dalam melakukan manipulasi makhluk hidup agar dapat digunakan untuk menghasilkan barang yang diinginkan dalam bidang produksi pangan misalkan tanaman transgenik. Baik bioteknologi konvensional maupun modern bisa digunakan untuk konservasi pangan. Penggunaan bioteknologi konvensional digunakan untuk meningkatkan nilai gizi dan cita rasa suatu bahan pangan, sedangkan bioteknologi modern berperan sebagai salah satu cara untuk memproduksi suatu bahan pangan dalam jumlah besar, memperbaiki nilai gizinya menggunakan rekayasa genetika (Wusqo, 2014).

Penerapan bioteknologi dengan menggunakan khamir dapat digunakan untuk keperluan berbagai industri. Bharathi *et al.*, (2011), mengungkapkan bahwa khamir laut menghasilkan zat bioaktif termasuk amilase, lipase, protease, phytase inulinase, vitamin C, amino asam, glutathione, glukon, pembunuh racun dengan potensi aplikasi dalam budidaya laut, makanan, farmasi, kosmetik, industri kimia dan perlindungan lingkungan. Ahmad (2005) mengungkapkan bahwa pada masa

kini, khamir paling banyak digunakan untuk keperluan berbagai industri dalam proses produksi minuman beralkohol, biomasa, ekstrak untuk keperluan industri kimia, senyawa beraroma dan produksi protein rekombinan untuk menunjang kegiatan bioteknologi khususnya bidang molekuler. Peranan khamir dalam bidang biologi molekuler adalah sebagai mikroba eukariot uniseluler yang mempunyai kemampuan untuk disisipkan dengan gen mikroba lain. Untuk mencapai produk yang diinginkan harus melalui proses teknologi tinggi dan modern, biayanya relatif mahal namun produk yang dihasilkan bermutu tinggi, sehingga jika diperhitungkan secara ekonomi lebih menguntungkan.

2.3 Molase

2.3.1 Karakteristik Molase

Molase adalah sejenis sirup berwarna hitam yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula. Molase tak dapat dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit mengkristal (Febrianti, 2011). Komposisi molase bervariasi tergantung pada bahan baku yang digunakan untuk produksi gula. Pada umumnya molase mengandung glukosa, fruktosa, dan sukrosa, trisakarida seperti rafinosa bisa juga terkandung di dalamnya sebesar 2% dari berat kering (Kusmiati *et al.*, 2008). Yuniasari (2009) memaparkan bahwa molase mengandung 48 – 56% gula dan unsur-unsur mikro (*trace element*) yang penting bagi kehidupan organisme, seperti cobalt, boron, iodium, tembaga, mangan, dan seng. Molase juga mengandung vitamin dan pigmen. Komposisi kimia molase dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Komposisi Kimia Molase

Komponen	Kisaran (%)	Rata-Rata (%)
Air	17 – 25	20
Sukrosa	30 – 40	35
Glukosa	4 – 9	7
Fruktosa	5 – 12	9
Gula Pereduksi	1 – 5	3
Karbohidrat lain	2 – 5	4
Abu	7 – 25	12
Komponen nitrogen	2 – 6	4,5
Asam bukan nitrogen	2 – 8	5
Wax, steroid, dan fosfolipid	0,1 – 1	0,4

Sumber: Yuniasari (2009)

2.3.2 Manfaat Molase terhadap Pertumbuhan Khamir Laut

Khamir dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Khamir membutuhkan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen untuk menunjang kebutuhan hidup. Pada uji fermentasi gula- gula mempunyai reaksi positif pada gula dekstrosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, raffinosa, trehalosa, dan negatif pada gula laktosa (Ahmad, 2005).

Sarlin dan Rosamma (2013) melakukan penelitian untuk memilih substrat yang cocok sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan khamir. Sumber karbon yang digunakan yaitu glukosa, sukrosa, air beras dan molase. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa molase adalah sumber karbon yang paling disukai oleh khamir laut dibandingkan dengan glukosa, sukrosa dan air beras. Molase (jumlah gula total 9 mg/ml) ditambah dengan pepton (0,75%), ekstrak ragi (0,5%) dan MgSO₄ (0,25%) ditemukan untuk mendukung pertumbuhan maksimum dari empat strain khamir yaitu *Debaryomyces hansenii*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida sake* dan *Candida tropicalis*.

Molase merupakan hasil samping dari pabrik gula tebu, berbentuk cairan berwarna coklat hitam dan merupakan sumber karbohidrat termurah, kaya akan gula, mengandung nitrogen, vitamin, dan elemen lainnya. Penggunaan molase sebagai sumber karbon dalam fermentasi karena adanya kandungan gula dan

berbagai nutrisi yang diperlukan bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Pertumbuhan sel dengan menggunakan sumber karbon molase cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan sumber karbon lainnya. Hal ini disebabkan kondisi fisiologi pertumbuhan sel lebih baik pada medium yang kaya, dalam hal ini molase mengandung senyawa bernitrogen, garam organik, vitamin dan elemen mikro yang mampu menstimulasi metabolisme sel (Kusmiati *et al.*, 2008).

2.4 Protein dan Asam Amino

Protein adalah gabungan asam-asam amino dengan cara ikatan peptida, yaitu suatu ikatan antara gugus amino (NH_2) dari suatu asam dengan gugus karboksil dari asam yang lain, dengan membebaskan satu molekul air (H_2O) (Widodo, 2010). Protein merupakan salah satu kelompok makronutrien yang berperan penting dalam pembentukan biomolekul sebagai sumber energi. Strukturnya yang mengandung N, di samping C, H, O, S dan kadang kadang P, Fe dan Cu (sebagai senyawa kompleks dengan protein). Protein dalam bahan makanan sangat penting dalam proses kehidupan organisme seperti hewan dan manusia. Pada organisme yang sedang tumbuh, protein sangat penting dalam pembentukan sel-sel baru (Maharani dan Yusrin, 2010).

Suatu protein yang dihidrolisis dengan asam, alkali, atau enzim akan menghasilkan campuran asam-asam amino. Sebuah asam amino terdiri dari sebuah gugus amino, sebuah gugus karboksil, sebuah atom hidrogen, dan gugus R yang terikat pada sebuah atom C (Winarno, 2004). Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein, dan dibagi dalam dua kelompok yaitu asam amino esensial dan non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi dalam tubuh sehingga sering harus ditambahkan dalam bentuk makanan, sedangkan asam amino non esensial dapat diproduksi dalam tubuh. Asam amino

umumnya berbentuk serbuk dan mudah larut dalam air, namun tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Sitompul, 2004).

Metabolisme asam amino umumnya dapat terjadi dalam tiga jalur, yaitu 2 jalur katabolisme dan 1 jalur anabolisme. Jalur katabolisme asam amino merupakan proses degradasi dan glukoneogenesis, sementara jalur anabolisme asam amino merupakan proses sintesis protein. Sintesis protein dikode oleh DNA (kode genetik) yang terdapat di inti mitokondria. Tersedianya asam amino harus mencerminkan distribusinya dalam protein. Asam-asam amino diperlukan dalam sintesis protein tubuh dan senyawa-senyawa lain yang secara fisiologis penting bagi metabolisme, misalnya hormon-hormon dan neurotransmitter (Hermiastuti, 2013).

Protein dalam pakan pertama kali dicerna didalam lambung. Asam klorida yang terdapat dalam lambung akan memberikan medium asam yang dapat mengaktivasi pepsin dan renin untuk membantu mencerna protein. Pepsin memecah protein menjadi gugus yang lebih sederhana yaitu protease dan pepton, dan akhirnya akan dipecah menjadi asam amino. Protein diserap oleh usus dalam bentuk asam amino (Hermiastuti, 2013).

Asam amino dibedakan pada rantai samping (gugus R) yang terikat pada gugus C. Gugus R yang berbeda-beda menentukan struktur, ukuran, muatan elektrik, dan sifat kelarutan di dalam air. Berdasarkan polaritas atau kecenderungan berinteraksi dengan air pada pH biologis (dekat pH 7) terdapat lima golongan asam amino yaitu:

- a. Asam amino dengan gugus R non polar, bersifat hidrofobik dan memiliki gugus R alifatik seperti glisin, alanin, valin, metionin, leusin, isoleusin, dan prolin
- b. Asam amino dengan gugus R polar, bersifat hidrofilik (mudah larut dalam air) tetapi tidak bermuatan seperti serin, threonin, sistein, asparagin, glutamin.

- c. Asam amino dengan gugus R aromatik, bersifat non polar, hidrofobik seperti fenilalanin, tirosin dan triptofan.
- d. Asam amino dengan gugus R bermuatan positif pada pH netral, bersifat polar mempunyai gugus yang bersifat basa pada rantai sampingnya seperti lisin, arginin, dan histidin.
- e. Asam amino dengan gugus R bermuatan negatif pada pH fisiologis mempunyai gugus karboksil pada rantai sampingnya seperti asam aspartat dan asam glutamat.

2.5 Protease

Protease merupakan salah satu kelompok enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri. Protease merupakan enzim yang berfungsi menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi oligopeptida dan asam amino (Fatoni *et al.*, 2008). Sumber enzim protease yang telah diketahui berasal dari hewan, mikroba, dan tanaman. Tanaman merupakan sumber enzim protease terbesar (43,85%) diikuti oleh bakteri (18,09%), jamur (15,08%), hewan (11,15%), alga (7,42%) dan virus (4,41%) (Noviyanti *et al.*, 2012).

Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease dibatasi oleh tersedianya tanah untuk penanaman dan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan. Disamping itu proses produksi protease dari tumbuhan sangat memakan waktu. Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromelain, dan keratinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pepsin dan rennin. Enzim-enzim ini dapat diperoleh dalam keadaan murni dengan jumlah besar (Susanti, 2003). Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim mempunyai beberapa kelebihan, di antaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan

biaya yang relatif rendah. Mikroorganisme penghasil protease dapat berupa bakteri, kapang, maupun khamir (Naiola dan Nunuk, 2007).

Penggunaan enzim protease dalam berbagai produk komersial semakin meluas. Industri pengguna protease diantaranya di bidang pangan yaitu sebagai pengempuk daging, penjernih bir, pembuatan keju dan pembuatan cracker. Pengguna protease dibidang non pangan yaitu untuk industri deterjen, industri kulit, industri tekstil, biomedis sampai industri pakan ternak (Wardani dan Lia, 2012).

2.6 Fermentasi

2.6.1 Definisi Fermentasi

Fermentasi berasal dari bahasa latin *fervere* yang berarti mendidihkan. Definisi fermentasi mulai meluas, menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses pengubahan glukosa menjadi alkohol yang berlangsung secara anaerob. Namun, istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme yang melibatkan enzim yang dihasilkannya. Dengan demikian, fermentasi adalah perubahan struktur kimia dari bahan-bahan organik dengan memanfaatkan agen-agen biologis terutama enzim sebagai biokatalis. Produk fermentasi dapat digolongkan menjadi 4 jenis yaitu produk biomassa, produk enzim, produk metabolit, dan produk transformasi (Herawati dan Andang, 2007).

Proses fermentasi dapat meningkatkan kandungan nutrisi suatu bahan. Peningkatan nutrisi dapat melalui biosintesis vitamin, asam amino esensial, dan protein, serta meningkatkan kualitas protein dan pencernaan serat yaitu dengan menurunkan kandungan serat kasar (Suprayudi *et al.*, 2012). Fermentasi juga

dapat meningkatkan keamanan makanan dengan menghapus komponen beracun alami mereka, atau dengan mencegah pertumbuhan mikroba penyebab penyakit (Adam dan Robert, 2001).

Sifat produk hasil fermentasi ditentukan oleh mutu dan sifat-sifat asal bahan pangan itu sendiri. Perubahan yang terjadi pada produk merupakan hasil fermentasi mikroorganisme dan interaksi yang terjadi di antara produk dari kegiatan-kegiatan tersebut dan zat-zat yang merupakan pembentuk bahan pangan tersebut. Fermentasi oleh organisme yang dikehendaki memberi flavor, bentuk yang bagus (*bouquet*) dan tekstur bahan pangan yang telah difermentasi (Buckle *et al.*, 1985).

2.6.2 Faktor yang Berpengaruh pada Proses Fermentasi dengan Khamir Laut

Faktor yang mempengaruhi fermentasi dengan khamir laut yaitu substrat, lama fermentasi, suhu, derajat keasaman (pH), dan oksigen.

a. Substrat

Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrien-nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi (Azizah *et al.*, 2012). Dalam proses fermentasi, substrat yang digunakan harus mengandung unsur karbon (C) dan nitrogen (N) yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan (Anggraeny dan Umiyasih, 2009).

b. Lama Fermentasi

Lama fermentasi memberikan pengaruh dalam kualitas produk. Produk fermentasi adalah produk yang dapat diterima baik secara kenampakan serta nutrisi yang dihasilkan. Selama fermentasi berlangsung akan terjadi pemecahan asam amino oleh khamir. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak pula protein yang dipecah menjadi asam-asam amino bebas yang mudah dicerna (Husen, 2015).

c. Suhu

Suhu fermentasi mempengaruhi lama fermentasi karena pertumbuhan mikroba dipengaruhi suhu lingkungan fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda-beda (Azizah *et al.*, 2012). Kisaran suhu untuk pertumbuhan kebanyakan khamir pada umumnya hampir sama dengan kapang yaitu dengan suhu optimum 25-30°C dan suhu maksimum 35-47°C (Fardiaz, 1989).

d. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan pada saat fermentasi karena dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba (Azizah *et al.*, 2012). Kebanyakan khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam yaitu pada pH 4-4,5 dan tidak dapat tumbuh dengan baik pada medium alkali (Fardiaz, 1989). Proses fermentasi dapat berjalan dengan cukup baik apabila substrat pertumbuhan khamir pada pH antara 3-6 (Oktavia *et al.*, 2012).

e. Oksigen

Khamir yang bersifat aerob membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Oksigen secara tidak langsung mempengaruhi lama fermentasi yang dilakukan karena khamir dapat tumbuh baik pada kondisi aerob (Fardiaz, 1989).

2.6.3 Efektivitas Fermentasi dengan Biokatalisator Khamir Laut

Fermentasi merupakan perubahan kimiawi dari senyawa-senyawa organik oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi yaitu dari golongan khamir (yeast), kapang (fungi) dan bakteri (Aditiwati dan Kusnadi, 2003). Mikrobia yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunannya menjadi alkohol, asam, dan karbondioksida. Proses fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan asalnya, karena selain terjadi perombakan bahan kompleks menjadi sederhana juga

disintesis beberapa vitamin seperti riboflavin, vitamin B12 dan pro vitamin A. Beberapa protein akan diubah menjadi asam amino kemudian menjadi NH_3 dan selanjutnya digunakan untuk membentuk protein tubuh mikroba (Mangisah *et al.*, 2003).

Khamir mempunyai peranan penting dalam industri makanan. Khamir dimanfaatkan dalam pembuatan bir, anggur, minuman keras, roti, dan produk makanan terfermentasi, dan potensial untuk fortifikasi makanan ternak. Khamir tidak ditemukan sebagai penyebab penyakit (Buckle *et al.*, 1985). Khamir laut mampu menghasilkan banyak zat bioaktif seperti asam amino, glucans, glutathione, enzim, phytase dan vitamin dengan aplikasi potensial dalam makanan, farmasi, kosmetik dan kimia industri serta untuk budidaya laut dan perlindungan lingkungan (Zaky *et al.*, 2014). Khamir laut dapat memproduksi enzim protease dan dapat diterapkan untuk industri budidaya perikanan (Chi *et al.*, 2007). Protease adalah enzim yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida kecil dan asam amino (Naiola dan Nunuk, 2007).

Secara umum, efek yang diinginkan dari aktivitas mikroorganisme dapat disebabkan oleh aktivitas biokimia. Enzim mikroorganisme memecah karbohidrat, lipid, protein, dan komponen lainnya sehingga dapat meningkatkan pencernaan makanan dalam saluran pencernaan dan dengan demikian meningkatkan serapan nutrisi. Beberapa mikroorganisme mengeluarkan vitamin B dalam makanan. Hasil dari pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme dapat ditemukan dalam makanan fermentasi termasuk asam organik, alkohol, aldehida, ester, dan banyak lainnya. Hal ini memberikan efek pada kualitas produk fermentasi (Adam dan Robert, 2001).

2.7 Hidrolisat Protein

2.7.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein merupakan sumber protein alami yang dihidrolisis secara parsial sehingga lebih mudah diasimilasi oleh makhluk hidup. Hidrolisis secara parsial mampu memecah molekul protein menjadi beberapa gugus asam amino maupun peptida melalui pemutusan ikatan rantai peptida (Purbasari, 2008). Hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida (Kurniawan *et al.*, 2012).

Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatik. Proses hidrolisis kimiawi yaitu dengan penambahan asam klorida. Kelebihannya yaitu dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan. Kekurangannya adalah *flavor* yang dihasilkan kurang baik dan keamanan bagi kesehatan kurang terjamin. Hidrolisis secara enzimatik merupakan pilihan metode paling aman dalam produksi *flavor*. Hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan dibanding secara kimiawi, karena dapat menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi. Hal ini akan lebih menguntungkan karena memungkinkan untuk memproduksi hidrolisat dengan *flavor* yang berbeda (Witono *et al.*, 2007). Hidrolisis protein menggunakan enzim juga dianggap paling aman. Hal ini disebabkan kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk (Kurniawan *et al.*, 2012).

Pada umumnya hidrolisat protein digunakan untuk memperbaiki karakteristik berbagai produk pangan. Manfaat hidrolisat protein yaitu sebagai penyedap rasa, sebagai lanjutan untuk isolasi asam amino, serta untuk pengobatan. Hidrolisat protein mempunyai peranan penting dalam fortifikasi makanan dan minuman untuk memperkaya protein dan nilai gizi makanan sehubungan dengan tingginya tingkat

kelarutan dan pencernaan (Purbasari, 2008). Hidrolisat protein dengan kualitas di bawah kualitas pangan dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein pada pakan, sumber nitrogen pada pupuk tanaman dan media tumbuh bakteri (Salamah *et al.*, 2012).

2.7.2 Teknologi Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein dapat berasal dari sumber protein nabati dan hewani. Pembuatan hidrolisat protein hewani dapat berasal dari kerang mas ngur (*Atactodea striata*) seperti penelitian yang dilakukan Purbasari (2008). Proses pembuatan hidrolisat protein kerang mas ngur yaitu diawali dengan perendaman 60 gram kerang mas ngur kering selama 4-6 jam. Setelah dicincang, daging kerang yang telah berbentuk kecil-kecil ditimbang dan diperoleh 100 g (bb). Kemudian dicampur dengan air dengan perbandingan 1:4 selama 2 menit. Campuran diaduk dan nilai pH campuran diatur hingga mencapai pH 7 pada suhu 55 °C. Kemudian dihidrolisis dengan penambahan enzim papain pada berbagai konsentrasi. Aktivitas enzim dihentikan dengan menaikkan suhu pengadukan menjadi 85 °C selama 20 menit. Sampel yang diambil disaring dengan kertas saring. Fase cair diambil dan diendapkan, kemudian dikeringkan dengan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 80-90 °C selama 45 menit sehingga diperoleh produk hidrolisat dalam bentuk serbuk.

Proses pembuatan hidrolisat protein ikan rucah menurut Koesoemawardani *et al.*, (2011) yaitu ikan rucah dibersihkan dengan air mengalir lalu ditiriskan. Selanjutnya, ikan rucah dicacah kasar dan ditimbang sebesar 50 g, lalu ditambahkan 50 ml aquadest (perbandingan ikan dengan air 1:1). Kemudian diaduk sampai rata dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan enzim pada berbagai konsentrasi dan dilakukan pengaturan pH= 5; 5.5; 6; 6.5; 7. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan NaOH 0,5 N. Setelah

itu, untuk mengoptimalkan kerja enzim dilakukan inkubasi pada suhu 60 °C selama empat jam. Langkah selanjutnya dilakukan penyaringan dengan sentrifuge kecepatan 300 rpm selama 15 menit sehingga didapatkan produk hidrolisat.

Pembuatan hidrolisat protein nabati dapat berasal dari kedelai seperti penelitian yang dilakukan oleh Witono *et al.*, (2007). Cara pembuatan hidrolisat protein kedelai yaitu kedelai direndam selama 24 jam, direbus selama 10 menit dengan tujuan untuk mendenaturasi protein kedelai sehingga mudah dihidrolisis. Kemudian campuran ini diblender dengan rasio bahan dan air = 1 : 2 (berat/berat). Suspensi kedelai yang dihasilkan ditambahkan enzim protease dari biduri. Kemudian pH diatur menjadi 7 dan dihidrolisis dalam penangas air suhu 55 °C dengan waktu sesuai perlakuan, serta dididihkan selama 10 menit untuk menginaktifkan enzim. Ditambahkan 0,4% CMC (carboxymethyl cellulose); 2% gula; dan 2% garam (% berat dari kedelai rebus kupas) sambil terus diaduk sampai mengental. Setelah mengental dihamparkan dalam loyang dan dikeringkan dalam oven vakum suhu 40 °C, tekanan 20 mmHg selama 18 jam. Setelah kering diblender dan diayak 80 mesh.

2.7.3 Karakteristik Hidrolisat Protein

Hidrolisis protein akan mengakibatkan terjadinya perubahan cita rasa yang disebabkan oleh terbentuknya peptida-peptida rantai pendek dan asam amino yang berperan dalam pembentukan cita rasa gurih pada hidrolisat protein yang dihasilkan. Namun, proses hidrolisis yang berlebihan akan menghasilkan cita rasa pahit. Rasa pahit ditimbulkan karena derajat hidrolisis mencapai kondisi di mana gugus hidrophobik peptida menjadi terekspos (Witono *et al.*, 2007). Warna hidrolisat protein ditentukan oleh pigmen/zat warna yang terdapat pada sampel yang digunakan sebagai bahan bakunya. Warna hidrolisat protein juga dipengaruhi oleh reaksi pencoklatan non-enzimatis (reaksi Maillard) selama

proses hidrolisis, yakni reaksi yang terjadi antara gugus hidroksil pada gula dengan gugus amino dari asam amino atau protein (Bernadeta *et al.*, 2012).

Warna, bau dan rasa yang khas dari hidrolisat tergantung dari komposisi asam amino bahan awalnya. Tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, kondisi serta bahan penghidrolisis yang digunakan. Bila hidrolisis berjalan sempurna maka akan dihasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 18-20 macam asam amino. Produk hidrolisat mempunyai kelarutan pada air yang tinggi, kapasitas emulsinya baik, kemampuan mengembang besar serta mudah diserap tubuh (Purbasari, 2008).

2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Analisis asam amino dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain yaitu Amino Acid Analyzer, Thin Layer Chromatography (TLC), Ion Exchange Chromatography, Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer (LC-MS), dan sebagainya. Akhir-akhir ini analisis asam amino lebih sering menggunakan kromatografi cair dengan kinerja tinggi atau yang lebih dikenal dengan istilah High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Hermiastuti, 2013). HPLC secara mendasar merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. HPLC adalah kromatografi yang dikembangkan menggunakan cairan sebagai fase gerak baik cairan polar maupun cairan non polar dan bekerja pada tekanan tinggi (Dewi, 2013).

Prinsip kerja HPLC adalah dengan bantuan pompa, fase gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor, cuplikan dimasukkan ke dalam fase gerak dengan penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan senyawa- senyawa berdasarkan kepolarannya dimana terdapat fase gerak dan fase diam. Fase gerak berupa zat cair yang disebut eluen atau pelarut, sedangkan fase diam berupa silika gel yang mengandung hidrokarbon (Syafiqoh, 2014). Prinsip pemisahan kromatografi yaitu

adanya distribusi komponen- komponen dalam fase diam dan fase gerak berdasarkan perbedaan sifat fisik komponen yang akan dipisahkan. Persyaratan utama kromatografi menurut Ardianingsih (2009) adalah:

- a. Ada fase diam dan fase gerak. Fase diam tidak boleh bereaksi dengan fase gerak.
- b. Komponen sampel harus larut dalam fase gerak dan berinteraksi dengan fase diam.
- c. Fase gerak harus bisa mengalir melewati fase diam, sedangkan fase diam harus terikat kuat di posisinya.

Metode analisis asam amino dengan HPLC memiliki keuntungan diantaranya yaitu waktu yang dibutuhkan lebih singkat dan HPLC mampu memisahkan senyawa yang sangat serupa dengan resolusi yang baik (Prabawati, 2005). Sari (2010) menambahkan bahwa HPLC memiliki beberapa keuntungan. Keuntungan tersebut yaitu dapat dilakukan pada suhu kamar, kolom dan pelarut pengembang dapat digunakan berkali- kali, detector HPLC dapat divariasikan dan banyak jenisnya, waktu analisis pada umumnya singkat, ketepatan dan ketelitiannya yang relatif tinggi dan mudah dioperasikan secara otomatis.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan- bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku, bahan untuk kultur khamir laut, bahan untuk pembuatan hidrolisat protein eceng gondok, dan bahan untuk analisis kimia. Bahan baku yang digunakan untuk penelitian ini yaitu eceng gondok yang didapatkan di Waduk Solerejo, Kecamatan Ngantang, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Bahan yang digunakan untuk kultur khamir laut yaitu air laut, *aquadest*, stok khamir laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), kapas, alkohol, dan tissue. Bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein eceng gondok yaitu eceng gondok, molase, *aquadest*, dan inokulan khamir laut.

Bahan yang digunakan untuk analisis kimia yaitu untuk analisa total asam amino meliputi standar AABA (Alfa Amino Butiric Acid), *aquabidest*, AccQ-fluor borate, reagent fluor A, dan HCl. Bahan untuk analisa proksimat yaitu kertas label, petroleum-ether, tablet kjeldahl, indikator metil orange, NaOH, H₃BO₃, H₂SO₄, tali kasur, dan kertas saring. Bahan untuk uji pH, *foaming* dan emulsi yaitu *aquadest* dan minyak jagung.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat- alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi peralatan untuk kultur khamir laut, peralatan untuk mengukur kepadatan sel khamir laut, peralatan untuk pembuatan hidrolisat protein eceng gondok, dan peralatan untuk analisis kimia. Peralatan yang digunakan untuk kultur khamir laut yaitu kompor gas, panci perebusan, botol kaca, gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 1000 mL, spatula, pipet volume 10 mL, bola hisap, timbangan digital, selang, aerator, gunting, corong,

crushable tank. Peralatan yang digunakan untuk mengukur kepadatan sel khamir laut yaitu tabung reaksi, rak tabung reaksi, *vortex mixer*, mikroskop, *Petroff-Hauser Chamber (Haemocytometer)*, mikropipet, *cover glass*, bola hisap, pipet volume 1 mL, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur, timbangan digital, spatula, *sprayer*, dan corong. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein eceng gondok segar yaitu gelas ukur 100 mL, gelas plastik, timbangan digital, piring, bola hisap, pipet volume 10 mL, botol plastik, selang, aerator, dan *blender*.

Peralatan yang digunakan untuk analisis kimia yaitu untuk pengujian proksimat meliputi oven, botol timbang, *goldfisch*, *sampel tube*, gelas piala, *muffle*, penjepit, desikator, cawan porselin, kompor listrik, destruksi, destilasi, statif, buret, *sentrifuge*. Peralatan yang digunakan untuk analisis emulsi dan foaming yaitu *cuvet*, *vortex mixer*, pipet volume, pH meter, *beaker glass*, dan spatula dibutuhkan dalam analisis pH. Peralatan yang digunakan untuk analisis total asam amino yaitu *waterbath*, *vortex mixer*, pipet volume, bola hisap, mikropipet, *beaker glass*, labu ukur, timbangan digital, oven, dan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti dengan cara memberikan treatment/ perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna membangkitkan sesuatu kejadian/ keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya (Jaedun, 2011). Metode eksperimen bertujuan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih variabel pada satu atau lebih kelompok eksperimen dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi (Setyanto, 2013).

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap. Tahap pertama yaitu melakukan penumbuhan atau mengkultur khamir laut. Tujuan tahap ini yaitu untuk mengetahui fase logaritmik khamir laut. Pada fase logaritmik diasumsikan pertumbuhan khamir laut sangat pesat. Selanjutnya pada fase logaritmik khamir laut dilakukan pemanenan khamir laut. Khamir laut ini nantinya akan digunakan sebagai starter khamir laut pada pembuatan hidrolisat protein eceng gondok. Tahap selanjutnya yaitu dilakukan penentuan volume molase terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok. Tujuan tahap ini yaitu untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok. Setelah itu dilakukan penelitian utama yaitu penelitian pada pembuatan hidrolisat protein eceng gondok dengan *starter* khamir laut. Pada pembuatan hidrolisat protein eceng gondok ini akan dilakukan analisis kimia berupa analisis proksimat, pH, emulsi, daya buih, dan derajat hidrolisis. Hasil yang terbaik digunakan untuk acuan dalam analisis profil asam amino.

3.2.2 Variabel

Variabel dapat didefinisikan sebagai ciri atau faktor yang dapat menunjukkan variasi (Hartanto, 2003). Penelitian ini menggunakan variabel bebas, variabel terikat dan variabel kontrol. Menurut Sugiyono (2002), variabel bebas adalah variabel yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat. Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas, sedangkan variabel kontrol yaitu variabel yang dikendalikan sehingga peneliti dapat melakukan penelitian yang bersifat membandingkan.

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini yaitu volume molase segar dan lama fermentasi. Volume molase yang digunakan yaitu 200 mL, 250 mL, dan 300 mL. Lama fermentasi yang digunakan yaitu 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan

12 hari. Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis proksimat (meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), pH, daya buih, kapasitas emulsi, profil asam amino, dan derajat hidrolisis. Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu pemberian inokulum khamir laut sebanyak 2,5 mL pada semua perlakuan.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penentuan Fase Log Khamir Laut

Pada penelitian pendahuluan prosedur penentuan fase log khamir laut dilakukan dengan pengamatan melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati khamir laut setiap 12 jam sekali untuk mengukur kepadatan sel khamir laut. Pengamatan ini dilakukan mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-96.

Tahap pertama dalam menentukan fase log khamir laut yaitu mengkultur khamir laut. Tahapan dalam mengkultur khamir laut menurut Sukoso (2012) yaitu air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih dan didinginkan pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan gula pasir 0,5% sebagai sumber nutrisi khamir laut dan pupuk daun 0,2% (v:b) sebagai sumber nitrogen khamir laut. Selanjutnya dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam botol gelas kaca sebagai media khamir laut. Media khamir laut yang telah siap ditambahkan starter khamir laut sebanyak 2 mL dan dihomogenkan. Botol gelas kaca yang berisi media khamir laut dan starter khamir laut kemudian ditutup dengan kapas serta dilapisi plastik wrap untuk menghindari adanya kontaminasi. Lalu diberi aerasi untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut. Perhitungan dan diagram alir kultur khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 1 dan Lampiran 3.

Tahap selanjutnya untuk menentukan fase log khamir laut yaitu membuat media pengenceran khamir laut dan pengamatan kepadatan sel khamir laut melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Tahap pembuatan media pengenceran khamir laut yaitu air laut sebanyak 100 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih dan didinginkan pada suhu kamar. Air laut steril diambil sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan gula pasir sebanyak 0,25% dan pupuk daun 0,1% (v:b). Kemudian dihomogenkan sehingga didapatkan media khamir laut. Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 2 dan diagram alir pembuatan media pengenceran khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 4. Lalu media khamir laut dimasukkan ke dalam empat tabung reaksi dengan masing-masing tabung reaksi 9 mL untuk diberi perlakuan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-4} . Pada tabung reaksi 10^{-1} yang telah berisi media khamir laut sebanyak 9 mL ditambahkan kultur khamir laut sebanyak 1 mL yang telah diaerasi dan dihomogenkan dengan *vortex mixer*. Dari tabung reaksi 10^{-1} yang telah dihomogenkan diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} serta dihomogenkan. Begitu seterusnya hingga tabung reaksi 10^{-4} . Dari hasil pengenceran 10^{-4} diuji kepadatan sel khamir laut menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop.

Pengamatan kepadatan khamir laut dilakukan setiap 12 jam selama 4 hari dengan menggunakan *haemocytometer* pada mikroskop yaitu dengan mengambil hasil pengenceran 10^{-4} dengan menggunakan mikropipet sebanyak 0,05 mL. Selanjutnya ditetaskan di *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass* selanjutnya diamati di bawah mikroskop. Data hasil pengamatan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 5. Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 6 dan perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.3.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar

Pada penelitian ini menggunakan lama fermentasi yang berbeda dan volume molase yang berbeda. Perlakuan penelitian dengan berbagai variabel dapat dilihat pada tabel 6.

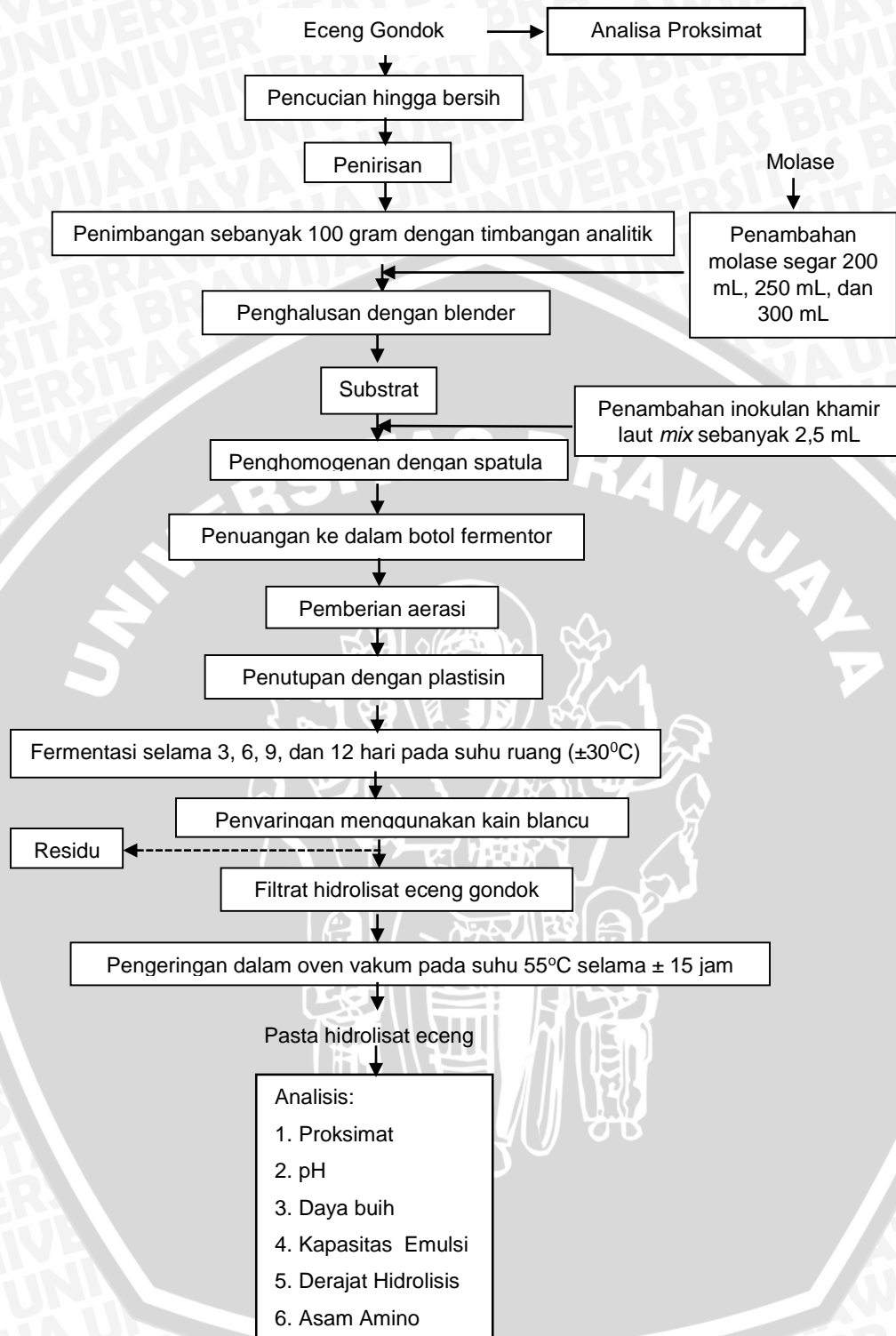
Tabel 6. Perlakuan Penelitian dengan Berbagai Variabel

	Pelakuan	Molase Segar		
		E	F	G
Lama Fermentasi	A	AE	AF	AG
	B	BE	BF	BG
	C	CE	CF	CG
	D	DE	DF	DG

Keterangan : A : lama fermentasi 3 hari
 B : lama fermentasi 6 hari
 C : lama fermentasi 9 hari
 D : lama fermentasi 12 hari
 E : molase segar 200 mL
 F : molase segar 250 mL
 G : molase segar 300 mL

Prosedur pertama dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok yaitu menyiapkan bahan baku eceng gondok segar. Eceng gondok yang telah disiapkan dicuci hingga bersih dan ditiriskan. Selanjutnya eceng gondok segar ditimbang sebanyak 100 gram dan dipotong kecil- kecil serta dimasukkan kedalam *beaker glass*. Tujuan dipotong kecil- kecil yaitu supaya bahan baku eceng gondok segar lebih mudah di haluskan menggunakan blender. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan molase segar dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 200 mL, 250 mL, dan 300 mL. Tujuan diberikan perlakuan yang berbeda terhadap molase segar yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas molase segar dalam proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok segar. Eceng gondok yang telah dipotong kecil- kecil dan ditambahkan molase segar dihaluskan dengan blender. Tujuan dihaluskan yaitu supaya bahan baku eceng gondok segar dan molase lebih mudah bercampur. Substrat yang telah siap ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 2,5 mL. Inokulan khamir laut yang digunakan yaitu inokulan khamir laut hasil dari penentuan fase logaritmik khamir laut karena pada fase logaritmik menunjukkan pertumbuhan khamir laut tertinggi. Setelah itu, substrat dan inokulan khamir laut

dihomogenkan serta dimasukkan ke dalam botol. Lalu botol ditutup dan diberi aerasi untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut. Selanjutnya difermentasi selama 3, 6, 9, dan 12 hari pada suhu ruang. Tujuan diberikan perlakuan lama fermentasi berbeda yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat eceng gondok segar. Selanjutnya dilakukan analisis terhadap hasil fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari. Namun sebelum dilakukan analisis, sampel disaring dengan kain putih dan didapatkan cairan hidrolisat protein eceng gondok. Lalu dikeringkan dengan oven vakum dengan suhu 55°C selama \pm 15 jam hingga menjadi pasta hidrolisat protein eceng gondok segar. Prinsip pengeringan dengan oven vakum menurut Legowo *et al.*, (2007) yaitu mengeringkan produk yang mudah terdekomposisi pada suhu 100°C didalam suatu tempat yang dapat dikurangi tekanan udaranya atau di vakum. Dengan demikian pengeringan dapat berlangsung pada suhu dan tekanan rendah. Tujuan dikeringkan dengan oven vakum dengan suhu 55°C yaitu supaya tidak merusak protein yang terdapat pada hidrolisat protein eceng gondok segar. Kemudian dilakukan analisis meliputi analisis proksimat, pH, emulsi, dan daya buih. Hasil yang terbaik dianalisis profil asam amino. Prosedur pembuatan hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada gambar 5.



Keterangan :

Mengadopsi dan memodifikasi dari penelitian :

- Budy, (2014)

Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar

3.3.3 Prosedur Pengujian pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar

Pada penelitian pendahuluan dilakukan pengujian pH pada hidrolisat eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda. Pengujian pH dilakukan pada campuran filtrat dan residu hidrolisat eceng gondok, residu hidrolisat eceng gondok dan filtrat hidrolisat eceng gondok. Pengujian pH bertujuan untuk mengetahui bahwa eceng gondok telah terhidrolisis oleh khamir laut. Prosedur pengujian pH yaitu elektroda dibilas dengan menggunakan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam larutan penyangga (buffer) pH 4 dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka 4. Elektroda dicuci lagi dengan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Lalu elektroda dicelupkan ke dalam larutan penyangga (buffer) pH 7 dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka 7. Selanjutnya elektroda dicelupkan ke dalam sampel yang akan diuji dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap. Lalu dicatat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan pH meter.

3.4 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat perlakuan dan empat kelompok. Dengan perlakuan A= molase rebus 200 mL, B=molase 250 mL, dan C=molase 300 mL serta dikelompokkan menjadi 4 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 7

Tabel 7. Model Rancangan Penelitian

Perlakuan Volume Molase (mL)	Kelompok				Total	Rerata
	3	6	9	12		
200						
250						
300						

Data yang diperoleh akan dilakukan analisa dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan uji F dengan membandingkan antara F hitung 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 $F_{tabel\ 5\%} < F_{hitung} < F_{tabel\ 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel\ 5\%}$) maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% menggunakan microsoft excel 2013 untuk menentukan yang terbaik.

3.5 Pengamatan

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

3.5.1 Rendemen (Purbasari, 2008)

Rendemen produk hidrolisat merupakan hasil akhir yang dihitung berdasarkan proses input dan output.

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

Keterangan : A = berat akhir hidrolisat yaitu setelah diperas atau dikeringkan (gram)

B = berat awal sampel setelah pencampuran (gram)

3.5.2 Analisa Proksimat

3.5.2.1 Analisa Kadar Air (Legowo *et al.*, 2007)

Metode pengujian kadar air yang digunakan yaitu metode pengeringan dengan oven (thermogravimetri). Prinsip metode pengeringan dengan oven yaitu mengeringkan sampel dengan suhu 100-105°C sampai bobot konstan dan perhitungan selisih bobot bahan (sampel) sebelum dan sesudah pengeringan merupakan air yang teruapkan dan dihitung sebagai kadar air bahan.

Prosedur dan perhitungan kadar air metode pengeringan oven (thermogravimetri) adalah sebagai berikut:

- Siapkan cawan yang telah diberi kode sesuai kode sampel.
- Panaskan cawan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama \pm 1 jam.
- Ambil cawan dan masukkan dalam desikator \pm 15 menit, kemudian cawan ditimbang sebagai berat A.
- Timbang sampel sebanyak \pm 5 gram dalam cawan yang telah diketahui beratnya dan dicatat sebagai berat B.
- Keringkan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama 4-6 jam. Kemudian dinginkan dalam desikator selama \pm 15 menit dan ditimbang. Panaskan lagi dalam oven dan ditimbang hingga konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg. Selanjutnya, masukkan dalam desikator selama \pm 15 menit dan dilanjutkan dengan penimbangan yang dicatat sebagai berat C.

- Kadar air dapat dihitung berdasarkan rumus bobot kering atau dry basis (DB) ataupun berdasarkan bobot basah atau wet basis (WB) sebagai berikut:

$$\%Wb = \frac{(A+B) - C}{B} \times 100\%$$

$$\%Db = \frac{A - (C - E)}{C - A} \times 100\%$$

3.5.2.2 Analisa Kadar Lemak (Sudarmadji et al., 1989)

Metode pengujian kadar lemak yang digunakan yaitu metode Goldfish. Prinsip analisis kadar lemak adalah ekstraksi, yaitu pemisahan lemak dari sampel dengan cara mensirkulasikan pelarut lemak ke dalam sampel, sehingga senyawa-senyawa lain tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Keuntungan dari metode Goldfish adalah pelarut yang sudah dipakai dapat dipakai kembali.

Prosedur dan perhitungan kadar lemak metode Goldfish adalah sebagai berikut:

- Timbang ± 5 gram sampel kering dan halus serta pindahkan ke dalam kertas saring yang dibungkus sedemikian rupa sehingga membungkus sampel.
- Pasanglah sampel pada sample tube, yaitu gelas penyangga yang bagian bawahnya terbuka, tepat di bawah kondensor alat destilasi Goldfish.
- Masukkan pelarut (petroleum-ether) secukupnya (paling banyak 75 mL) dalam gelas piala.
- Pasanglah gelas piala berisi pelarut pada kondensor sampai tepat, dan tak dapat diputar lagi.
- Alirkan air pendingin pada kondensor.
- Naikkan pemanas listrik sampai menyentuh bagian bawah gelas piala dan nyalakan pemanas listriknya.
- Lakukan ekstraksi selama 3 – 4 jam.

- Setelah selesai, matikan pemanas listriknya dan turunkan. Setelah tidak ada tetesan pelarut, ambillah thimble dan sisa bahan dalam gelas penyangga.
- Selanjutnya residu dioven dalam 100°C sampai berat konstan. Berat residu ini dinyatakan sebagai minyak atau lemak yang ada pada bahan pangan.
- Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kadar lemak} = \frac{(\text{berat awal} + \text{berat kertas saring} + \text{berat tali kasur}) - \text{berat akhir}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.5.2.3 Analisa Kadar Protein (Sudarmadji et al., 1989)

Metode pengujian kadar protein yang digunakan yaitu metode Kjeldahl. Prinsip metode Kjeldahl yaitu perhitungan jumlah protein secara empiris berdasarkan jumlah N didalam bahan. Prosedur analisis metode Kjeldahl dapat dibagi dalam 3 tahap yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi.

Prosedur dan perhitungan kadar protein dengan metode Kjeldahl adalah sebagai berikut:

- Mengambil bahan yang telah dihaluskan sebanyak 0,2 sampai dengan 0,5 gram dan memasukan kedalam labu kjeldahl.
- Menambah 15 mL H₂SO₄ pekat dan 0,5 sampai dengan 2 gram tablet Kjeldahl sebagai katalisator.
- Dipanaskan dalam ruang asam selama 2-3 jam pada suhu 370°C sampai jernih kehijauan.
- Setelah dingin ditambahkan aquades 30 mL dan 50 mL NaOH.
- Dilakukan destilasi dan menampung destilat dalam erlenmeyer yang telah diberi 50 mL H₃BO₃ dan 1 tetes indikator MO (*Metyl Orange*)
- Menghentikan destilasi dan dilakukan titrasi dengan larutan H₂SO₄ 0,4 N hingga warna merah muda tidak pudar.
- Kadar protein dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ protein} = \frac{(\text{ml titrasi H}_2\text{SO}_4 - \text{mL blanko}) \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 14,007 \times 6,25}{\text{Berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

3.5.2.4 Analisa Kadar Abu (Legowo *et al.*, 2007)

Metode pengujian kadar abu yang digunakan adalah metode gravimetri. Prinsipnya adalah pembakaran atau pengabuan bahan- bahan organik yang diuraikan menjadi air (H₂O) dan karbondioksida (CO₂) tetapi zat anorganik tidak terbakar. Zat anorganik ini disebut abu. Prosedur analisis kadar abu dengan metode gravimetri adalah sebagai berikut:

- Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang sebagai berat A.
- Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dalam cawan yang sudah dikeringkan sebagai berat B.
- Sampel dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap.
- Dilakukan pengabuan sampel di dalam tanur bersuhu 550-600°C sampai pengabuan sempurna. Waktu lamanya pengabuan tiap bahan berbeda- beda dan berkisar antara 2-8 jam.
- Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang sebagai berat C. Tahap pembakaran dalam tanur diulangi sampai didapat bobot yang konstan.
- Kadar abu dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

3.5.2.5 Analisa Kadar Karbohidrat (Legowo *et al.*, 2007)

Metode pengujian kadar karbohidrat menggunakan metode *by difference*, yaitu pengurangan 100 % dengan jumlah dari hasil analisis kadar air, kadar abu,

kadar protein, dan kadar lemak. Perhitungan kadar karbohidrat dengan metode *by difference* adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ kadar karbohidrat} = 100\% - \% \text{ kadar (air+lemak+protein+abu)}$$

3.5.3 Nilai pH (SNI 06-6989.11-2004)

Metode pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hidrogen secara potensiometri/ elektrometri dengan menggunakan pH meter. Prosedur analisis nilai pH adalah sebagai berikut:

- Keringkan dengan kertas tissue selanjutnya bilas elektroda dengan air suling.
- Bilas elektroda dengan contoh uji.
- Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap.
- Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter.

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

Emulsi adalah sistem dua fase yang terdiri dari suatu dispersi dua cairan atau senyawa yang tidak dapat bercampur. Prinsip dari kapasitas emulsi protein bergantung pada keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik (Budy, 2014).

Prosedur pengujian kapasitas emulsi adalah sebagai berikut:

- Timbang sampel sebanyak 5 gram.
- Tambahkan 20 mL air dan 20 mL minyak jagung
- Homogenkan selama 1 menit dan disentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit. -
- Kapasitas emulsi dihitung dengan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kapasitas Emulsi} = (\text{volume emulsi setelah disentrifus} / \text{volume awal}) \times 100$$

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

Buih merupakan sistem dua fase yang terdiri dari fase kontinu berupa cairan (protein) dan fase terdispersi berupa udara. Protein dapat membentuk buih karena bersifat amfifilik (mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik). Buih dibuat dengan cara melakukan proses bubbling, whipping dan shaking pada larutan protein (Chayati dan Andian, 2008). Prinsip dari daya buih yaitu kekuatan protein dalam memerangkap gas, dimana kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia protein (Budy, 2014).

Prosedur pengujian daya buih adalah sebagai berikut:

- Timbang sampel sebanyak 1 gram
- Tambahkan 10 mL air dan dihomogenisasi 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

Protein disusun oleh berbagai asam amino. Untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino penyusun protein maka protein diisolasi dari bahan kemudian dihidrolisa. Hidrolisa protein dapat menggunakan asam atau alkali. Hidrolisa protein biasanya sangat lama (20-24 jam) pada suhu 110°C. HPLC untuk penentuan asam amino ini termasuk pos kolom yaitu asam amino yang telah dipisahkan dari asam amino yang lain. Oleh kolom direaksikan dengan OPA dan selanjutnya dideteksi dengan detektor fluoresensi. Agar dapat diketahui jenis dan jumlah asam amino maka diinjeksikan pula standar asam amino yang telah diketahui jenis dan jumlahnya (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Analisis asam amino dilakukan dengan menggunakan HPLC. Prosedur analisis asam amino adalah sebagai berikut:

a. Larutan Standar/ Larutan Baku

- Dipipet 40 μ l Std mix asam amino
- Ditambahkan 40 μ l internal standar AABA
- Ditambahkan 920 μ l aquabidest
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Diambil 10 μ l standar
- Ditambahkan 70 μ l AccQ-Fluor Borate
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Ditambahkan 20 μ 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 μ m
- Dipipet 500 μ l filtrate, 40 μ m AABA dan \pm 460 μ l aquabidest
- Dipipet 10 μ l larutan
- Ditambahkan 70 μ l AccQ-Fluor Borate dan dihomogenkan dengan vortex mixer
- Ditambahkan 20 μ 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

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

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

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 Derajat Hidrolisis (Kurniawan *et al.*, 2012)

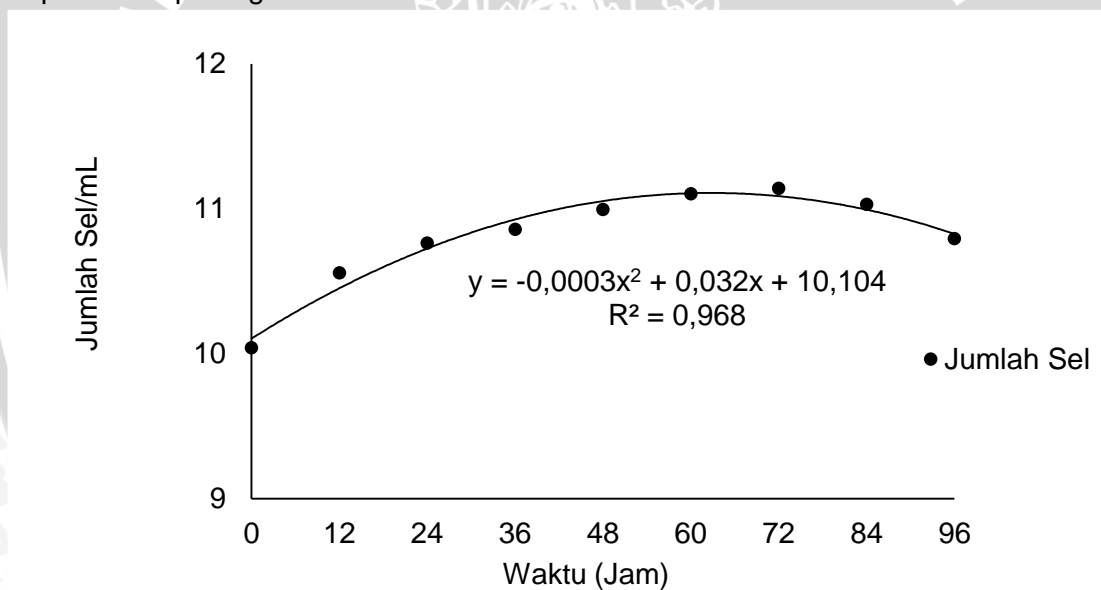
Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan total nitrogen pada produk hidrolisat dengan total nitrogen sampel. Derajat hidrolisis digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Fase logaritmik merupakan fase dimana sel-sel khamir laut mengalami pembelahan dengan cepat hingga mencapai populasi yang maksimal. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan khamir laut sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi. Penentuan fase logaritmik dilakukan dengan pengamatan tingkat kepadatan sel khamir laut melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Hasil pengamatan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada gambar 6.



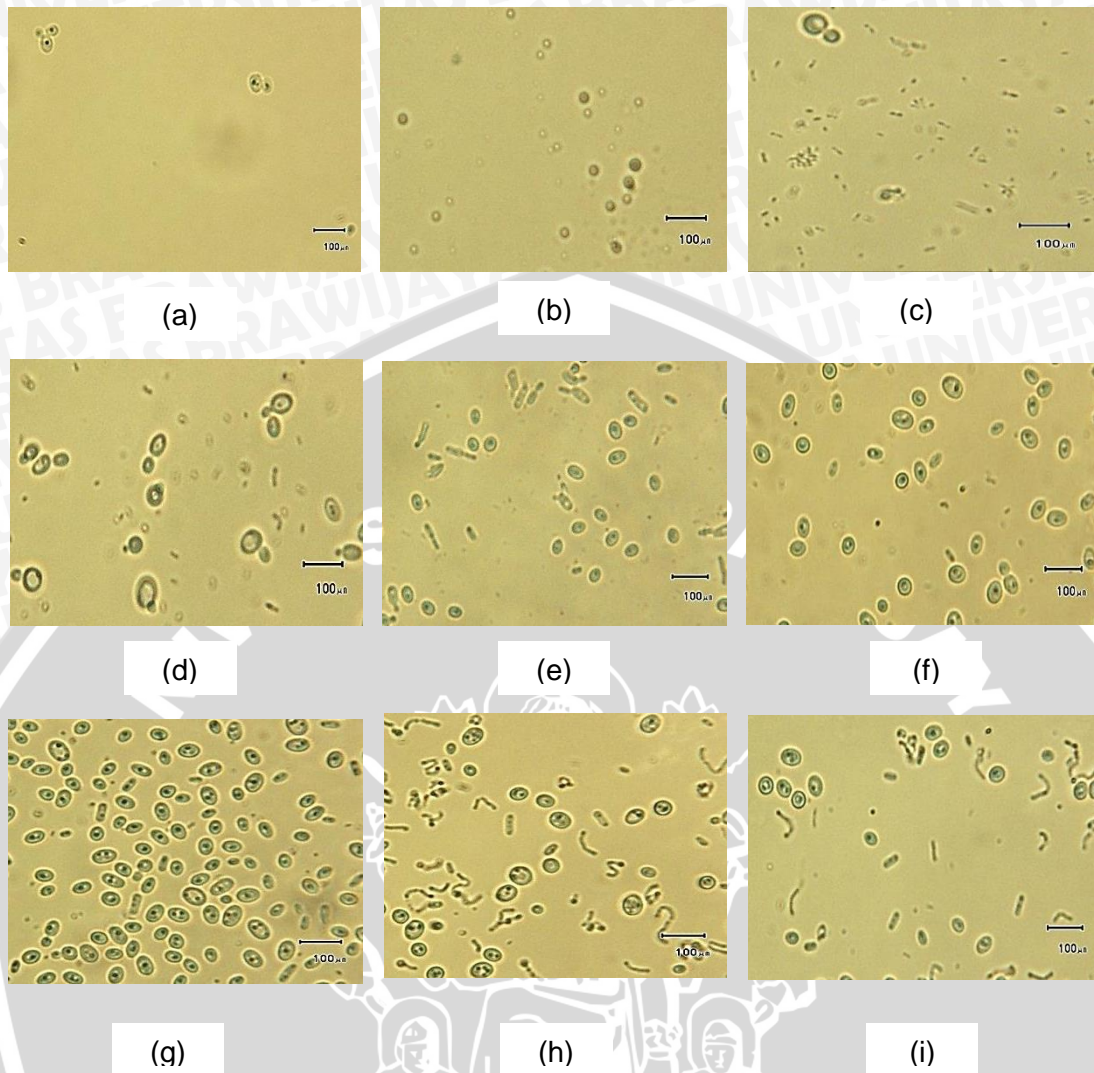
Gambar 6. Kepadatan Sel Khamir Laut dengan Pengamatan Tiap 12 Jam Sekali Selama 4 Hari

Pada gambar 6 menunjukkan pertumbuhan khamir laut mulai dari fase adaptasi hingga fase menuju kematian. Fase adaptasi atau fase lag pada khamir laut terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-12 yang ditandai dengan pertumbuhan yang meningkat dengan cepat. Pertumbuhan dengan cepat menunjukkan bahwa khamir laut dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan dan memanfaatkan nutrisi

yang terdapat pada medium yaitu pupuk sebagai sumber nitrogen dan gula pasir sebagai sumber karbon. Suprihatin (2010) menambahkan bahwa lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya medium dan lingkungan pertumbuhan dan jumlah inokulum. Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya maka tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim. Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi.

Pertumbuhan khamir laut terus mengalami peningkatan pada jam ke-12 hingga jam ke-72 yang ditandai dengan banyaknya khamir laut yang tumbuh dan membelah diri sehingga jumlah khamir laut meningkat dengan cepat. Pertumbuhan khamir laut ditandai pula dengan adanya kekeruhan dan warna khas fermentasi pada kultur khamir laut. Pengambilan kultur khamir laut yang akan digunakan sebagai starter dalam fermentasi hidrolisat protein eceng gondok yaitu pada jam ke-72. Pada jam ke-72 khamir laut mengalami pembelahan secara cepat sehingga didapatkan populasi khamir laut tertinggi dan menyebabkan tingkat kekeruhan kultur meningkat. Dengan demikian, fase logaritmik terjadi pada jam ke-72.

Fase logaritmik yang terjadi pada jam ke-72 diperkuat dengan hasil pengamatan hemositometri pada mikroskop. Hasil pengamatan hemositometri berupa jumlah kepadatan sel khamir laut pada jam ke-0 hingga jam ke-96 dan foto kepadatan sel khamir laut dengan pembesaran 1000x. Perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 7 dan foto kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. 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)

Pada gambar 7 menunjukkan bahwa khamir laut berbentuk bulat atau oval.

Pada gambar 7 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 7 atau pada jam ke-72

terlihat bahwa konodia mulai 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)

menambahkan 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.

Pada gambar 7 (h) terlihat bahwa pertumbuhan khamir laut mulai menurun pada jam ke-84. 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. Armanda (2013) menambahkan bahwa faktor yang mempercepat kematian adalah berkurangnya jumlah nutrisi dan semakin banyaknya metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan sel secara alami.

4.1.2 Penentuan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi

Penentuan volume molase segar dan lama waktu fermentasi bertujuan untuk menentukan range optimal yang akan digunakan sebagai landasan dalam melakukan penelitian utama. Pada penentuan volume molase segar dan lama waktu fermentasi dilakukan beberapa percobaan. Percobaan pertama 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% dan tetes 5% dari berat daun eceng gondok. Pada percobaan pertama untuk menentukan volume molase dilakukan dalam beberapa kali percobaan. Percobaan pertama menggunakan volume molase 1,25 mL dan 2,5 mL. Percobaan kedua menggunakan volume molase 25 mL dan 50 mL. Percobaan ketiga menggunakan volume molase 75 mL, 100 mL, 125 mL, 150 mL. Percobaan keempat menggunakan volume molase 200 mL, 250 mL dan 300 mL.

Pada awal pelaksanaan penelitian substrat yang akan digunakan berupa molase segar dan eceng gondok segar diuji pH terlebih dahulu. pH substrat (eceng gondok dan molase segar setelah dihaluskan dan dihomogenkan) adalah 5,00 hingga 5,50. Proses fermentasi dapat berjalan dengan cukup baik apabila substrat pertumbuhan khamir pada pH antara 3-6 (Oktavia *et al.*, 2012). Pada percobaan pertama, bahan baku (eceng gondok segar) yang digunakan sebanyak 50 gram, volume molase segar yang digunakan yaitu 2,5 mL dan 5 mL. Hasil percobaan pertama (Lampiran 8) mengalami pembusukan setelah bertahan 2 hari dan warna produk yaitu hijau kecoklatan. Hal ini dimungkinkan karena molase segar yang berfungsi sebagai nutrisi atau sumber karbon bagi khamir tersedia dalam jumlah sangat sedikit sehingga fermentasi berlangsung secara singkat. Disamping itu, konsentrasi molase segar yang terlalu sedikit menyebabkan produk padat. Khamir laut yang mengandung protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat dan akan menyulitkan proses aerasi. Aerasi berfungsi sebagai penyuplai oksigen untuk sel khamir dalam bentuk gelembung gas. Chisti (1999) menambahkan bahwa ukuran partikel substrat mempengaruhi tingkat kolonisasi mikroba dan laju alir udara. Partikel substrat yang kecil lebih disukai karena mikroba lebih mudah dalam menguraikan substrat. Namun, partikel yang terlalu kecil dan bentuk yang terlalu rapat serta kering tidak diinginkan karena dapat mengurangi rongga antar partikel yang penting untuk aerasi.

Pada percobaan kedua, volume molase yang digunakan ditingkatkan 10 kali lipat dari percobaan pertama menjadi 25 mL dan 50 mL dengan bahan baku (eceng gondok segar) yang digunakan sebanyak 50 gram. Hasil percobaan kedua (Lampiran 8) warna produk pada volume molase 25 mL yaitu hijau kecoklatan sedangkan warna produk pada volume molase 50 mL yaitu coklat muda. Pada percobaan kedua terdapat perbedaan dibandingkan percobaan pertama dari segi organoleptik. Semakin banyak volume molase segar yang ditambahkan maka warna hidrolisat semakin coklat. Pada percobaan kedua, hidrolisat dengan penambahan volume molase 25 mL mengalami pembusukan setelah bertahan selama 3 hari sedangkan volume molase 50 mL mengalami pembusukan setelah bertahan selama 4 hari. Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi molase yang digunakan masih terlalu sedikit sehingga nutrisi dalam substrat lama kelamaan akan habis dan fermentasi berlangsung secara singkat. Produk yang dihasilkan masih padat sehingga khamir laut yang mengandung protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat serta akan menyulitkan proses aerasi. Chisti (1999) menambahkan bahwa aerasi memainkan peran penting dalam menghilangkan CO₂ dan mengendalikan suhu dan kelembaban. Peningkatan konsentrasi CO₂ dapat menjadi penghambat, sedangkan peningkatan O₂ dapat meningkatkan produktivitas.

Pada percobaan ketiga, volume molase yang digunakan yaitu 75 mL, 100 mL, 125 mL, dan 150 mL dengan bahan baku (eceng gondok segar) yang digunakan sebanyak 50 gram. Hasil percobaan ketiga (Lampiran 8), pada hidrolisat dengan volume molase segar 75 ml yaitu mengalami pembusukan setelah bertahan 4 hari dan warna produk coklat tua. Hal ini dimungkinkan karena volume cairan yang berisi nutrisi untuk pertumbuhan khamir lama kelamaan habis sehingga sel khamir tidak memperoleh nutrisi dan akhirnya fermentasi berjalan dengan singkat. Chisti (1999) menambahkan bahwa media fermentasi

mempengaruhi hasil, tingkat dan profil produk. Media harus memenuhi nutrisi yang diperlukan seperti sumber karbon, nitrogen, *trace elemen*, dan mikronutrien. Konsentrasi nutrisi harus diperhatikan untuk mencapai hasil yang diinginkan. Pada volume molase 100 mL, 125 mL, dan 150 mL menunjukkan bahwa hasil hidrolisat protein eceng gondok mengalami pembusukan setelah bertahan 6 hari, warna produk coklat tua, volume cairan habis dan tumbuh jamur. Hal ini dimungkinkan karena volume cairan yang berisi nutrisi untuk pertumbuhan khamir lama kelamaan habis sehingga sel khamir tidak memperoleh nutrisi dan akhirnya fermentasi berjalan dengan singkat. Kondisi lingkungan pada substrat lembab sehingga tumbuh jamur pada permukaan. Hatmiko *et al.*, (2014) melaporkan 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.

Pada percobaan keempat, volume molase yang digunakan ditingkatkan 2 kali lipat dari percobaan ketiga menjadi 200 mL, 250 mL, dan 300 mL dengan bahan baku (eceng gondok segar) ditingkatkan 2 kali lipat menjadi 100 gram. Hal ini disebabkan karena pada percobaan ketiga diasumsikan khamir kekurangan nutrisi sehingga substrat dinaikkan 2 kali lipat. Hasil percobaan keempat (Lampiran 8) yaitu hasil hidrolisat protein eceng gondok dapat bertahan selama 12 hari dan warna produk coklat kehitaman. Volume cairan mulai mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan karena selama proses fermentasi dihasilkan asam- asam dan CO₂ yang bersifat mudah menguap sehingga dapat keluar melalui selang pembuangan dan cairan yang terdapat pada sampel akan berkurang. Rahmadi (2003) menambahkan bahwa hasil dari produk fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam butirat, etanol, CO₂, air dan panas.

Pada percobaan keempat dengan volume molase 200 mL, 250 mL, dan 300 mL, dan bahan baku eceng gondok yang digunakan adalah 100 gram dapat

dijadikan landasan pada penelitian utama. Lama fermentasi yang digunakan dalam penelitian utama menggunakan acuan 12 hari. Penentuan lama fermentasi 12 hari karena fermentasi dapat bertahan selama 12 hari.

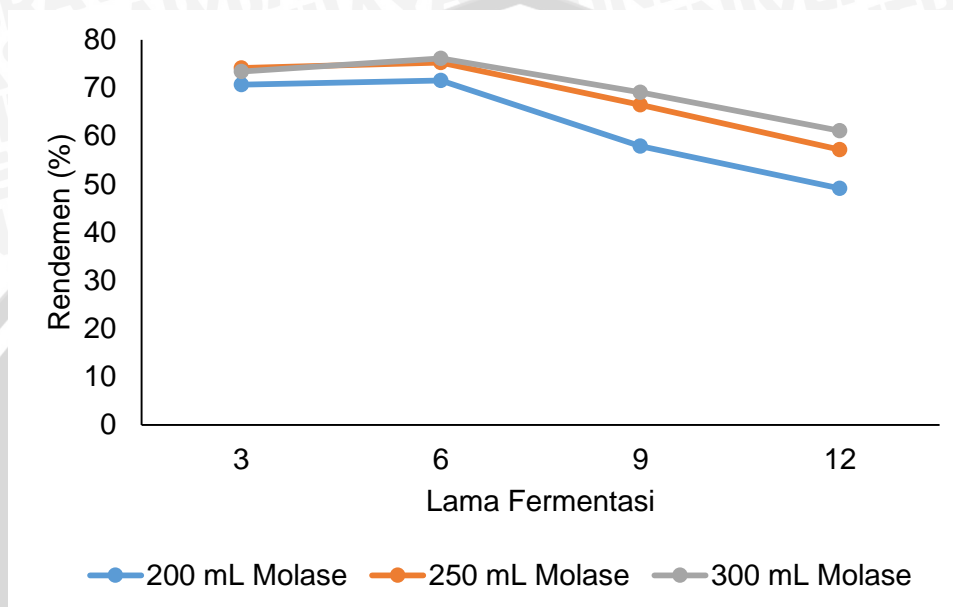
4.1.3 Volume Khamir Laut

Penentuan volume khamir laut digunakan sebagai landasan untuk melakukan penelitian utama dalam menambahkan khamir laut untuk menghidrolisis eceng gondok segar. Volume khamir laut yang ditambahkan merupakan hasil kultur pada fase log. Pada penentuan volume khamir laut digunakan volume khamir laut sebanyak 1,25 mL dan 2,5 mL.

Hasil dari percobaan volume khamir laut 1,25 mL dan 2,5 mL dapat bertahan hingga fermentasi 9 hari. Namun, volume khamir 2,5 mL lebih cepat mengalami penurunan cairan pada sampel. Hal ini dimungkinkan karena volume khamir yang lebih tinggi menyebabkan sel lebih cepat tumbuh sehingga sumber karbon yang terdapat pada molase rebus akan lebih cepat berkurang dibandingkan volume khamir laut 1,25 mL. Volume khamir yang lebih banyak akan lebih cepat menghidrolisis substrat serta meningkatkan senyawa nitrogen yang bersifat larut. Jannah (2012) menambahkan bahwa penambahan volume khamir laut memiliki batas maksimum dan apabila melebihi dapat menyebabkan khamir laut jenuh terhadap substrat sehingga tidak dapat menghidrolisis dengan baik. Purbasari (2008) menyatakan bahwa kecepatan katalisis enzim meningkat pada konsentrasi enzim yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim berlebih, maka proses tersebut tidak efisien. Peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan volume hidrolisat protein ikan yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Dengan demikian, volume khamir laut yang digunakan untuk penelitian utama yaitu volume khamir 2,5 mL.

4.1.4 Pengukuran Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok

Rendemen yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan menggunakan 2,5 mL khamir dapat dilihat pada gambar 8.



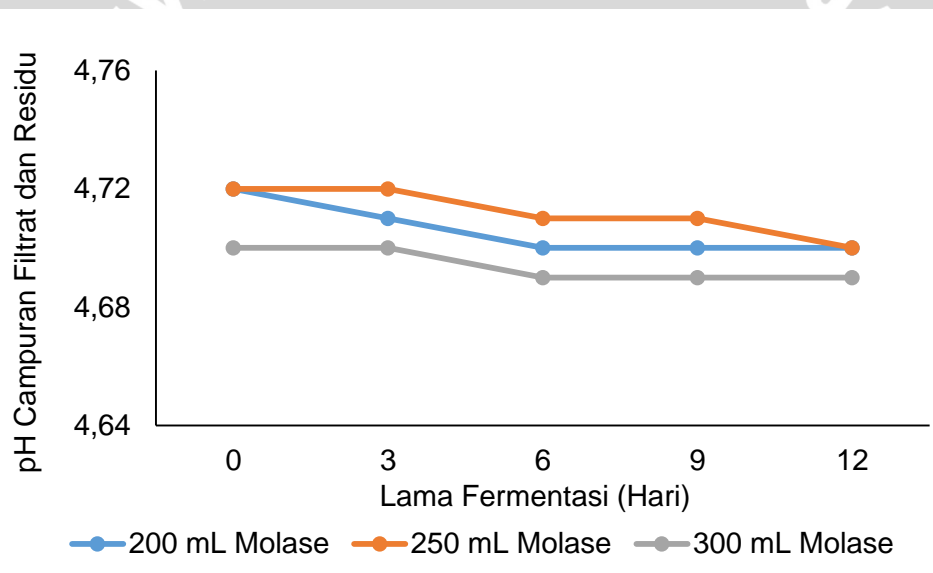
Gambar 8. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 8 memperlihatkan bahwa rendemen hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda meningkat hingga lama fermentasi 6 hari selanjutnya mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Data rendemen hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada Lampiran 9. Semakin menurunnya rendemen cairan dimungkinkan karena semakin lama metabolisme khamir laut dalam fermentasi maka semakin banyak enzim protease yang dihasilkan oleh khamir laut. Sehingga menjadikan enzim menjadi jenuh terhadap substrat dan pada akhirnya tidak dapat menghidrolisis dengan baik. Purbasari (2008) menyatakan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan nilai pH. Liawati (1992) menambahkan 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).

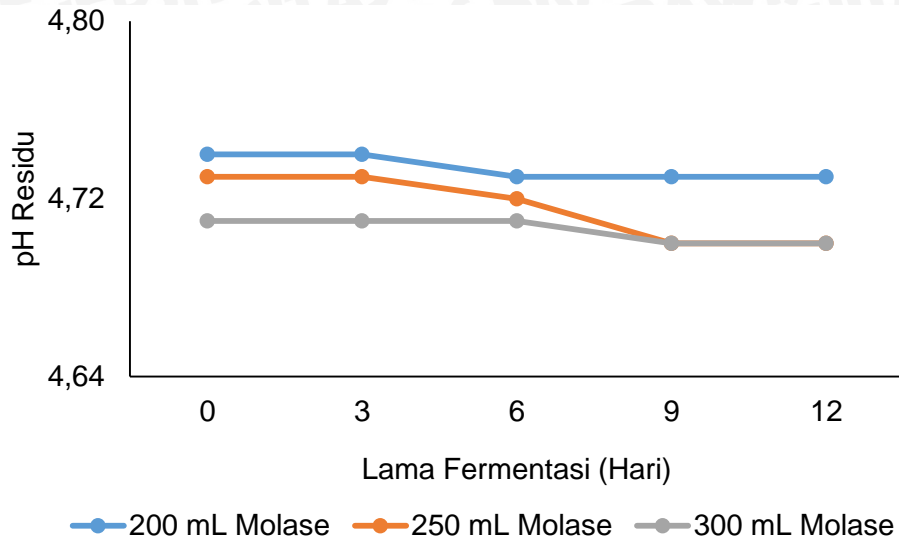
4.1.5 Pengukuran pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok

pH yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan menggunakan 2,5 mL khamir laut dapat dilihat pada gambar 9, 10, dan 11. Data pH hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada Lampiran 10.



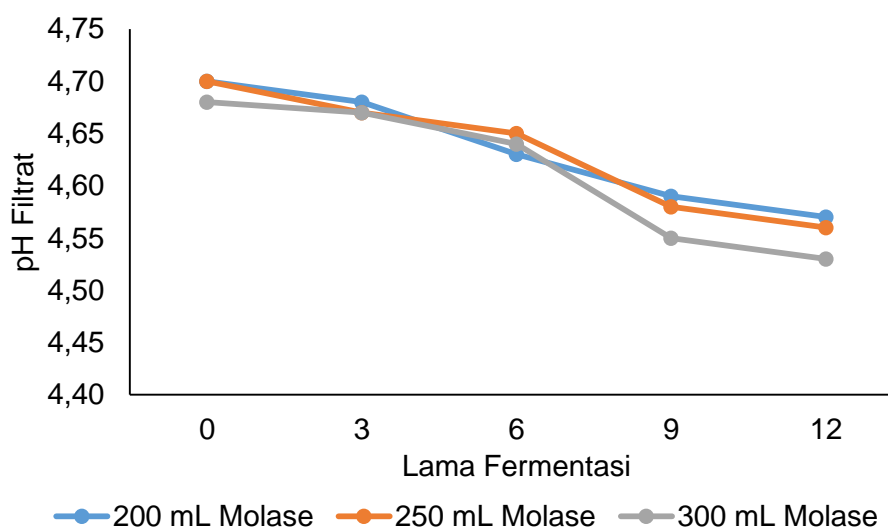
Gambar 9. pH Campuran Filtrat dan Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 9 menunjukkan bahwa pH campuran filtrat dan residu dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun namun penurunan tidak terlalu banyak. pH campuran filtrat dan residu untuk volume molase 200 mL dan 250 mL berkisar antara 4,72 – 4,70. pH campuran filtrat dan residu untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,70 – 4,69. pH yang didapatkan menunjukkan bahwa fermentasi dapat berjalan dengan baik. Oktavia *et al.*, (2012) menyatakan bahwa pertumbuhan khamir yang baik adalah pada pH 3-6.



Gambar 10. pH Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 10 menunjukkan bahwa pH residu dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun namun penurunan tidak terlalu banyak. pH residu untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,74 – 4,73. pH residu untuk volume molase 250 mL berkisar antara 4,73 – 4,70. pH residu untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,71 – 4,70. Hal ini dimungkinkan karena khamir menghasilkan produk sampingan metabolisme dan dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi sehingga residu tidak menghasilkan perubahan pH yang terlalu banyak.



Gambar 11. pH Filtrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 11 menunjukkan bahwa pH filtrat dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH filtrat untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,70 – 4,57. pH filtrat untuk volume molase 250 mL berkisar antara 4,70 – 4,56. pH filtrat untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,68 – 4,53. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi maka khamir akan berkembang semakin banyak sehingga menghasilkan produk sampingan metabolisme yang dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi. Rahmadi (2003) melaporkan bahwa hasil dari produk fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam butirat, etanol, CO₂, air dan panas. Kunaepah (2008) melaporkan bahwa lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena semakin lama fermentasi semakin banyak mikroorganisme yang aktif, sehingga menghasilkan asam yang lebih banyak. Asam yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan diekskresikan keluar sel sehingga terakumulasi dalam cairan fermentasi.

4.2 Penelitian Utama

Berdasarkan penelitian pendahuluan didapatkan hasil bahwa proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok dilakukan dengan penambahan volume molase segar sebanyak 200 mL, 250 mL, dan 300 mL dan lama fermentasi yang digunakan yaitu 3, 6, 9, dan 12 hari. Penambahan inokulan khamir laut fase logaritmik sebanyak 5 mL dengan kepadatan $13,8 \times 10^{10}$ sel. Produk hidrolisat protein eceng gondok pada penelitian ini dalam bentuk pasta. Widadi (2011) menyatakan bahwa hidrolisat protein dapat berbentuk cair, pasta atau tepung yang bersifat higroskopis. Untuk melihat kemungkinan pemakaian hidrolisat protein eceng gondok sebagai suplemen pakan maka hasil penelitian pendahuluan tersebut digunakan untuk penelitian utama dan dilakukan analisis yang meliputi rendemen, analisa proksimat, pH, kapasitas emulsi dan daya buih.

4.2.1 Komposisi Kimia Eceng Gondok Segar

Bahan baku dalam penelitian ini adalah eceng gondok segar. Bahan baku di dapatkan berasal dari Waduk Solerejo, Kecamatan Ngantang, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Marlina (1999) menjelaskan bahwa pada analisis bahan baku dari pakan hijauan segar maka untuk dapat dianalisis sampel harus melalui proses pengeringan terlebih dahulu. Pengeringan dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu pengeringan dengan sinar matahari, pengeringan dengan oven pada suhu 60°C, dan pengeringan dengan menggunakan alat *freeze dryer* (untuk sampel yang berbentuk cairan). Proses pengeringan tersebut dilakukan untuk menghindari terjadinya perubahan kimiawi pada sampel, seperti degradasi protein atau hilangnya kandungan yang akan dianalisis. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi eceng gondok segar. Hasil analisis kimia eceng gondok segar dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Komposisi Kimia Eceng Gondok

Parameter	Hasil (%)	
	Eceng Gondok Segar	Eceng Gondok Segar*
Bahan Kering	5,72	7,00
Kadar Abu*	22,90	12,60
Kadar Protein Kasar*	12,78	11,20
Kadar Serat Kasar*	22,40	18,30
Kadar Lemak Kasar*	1,05	0,90

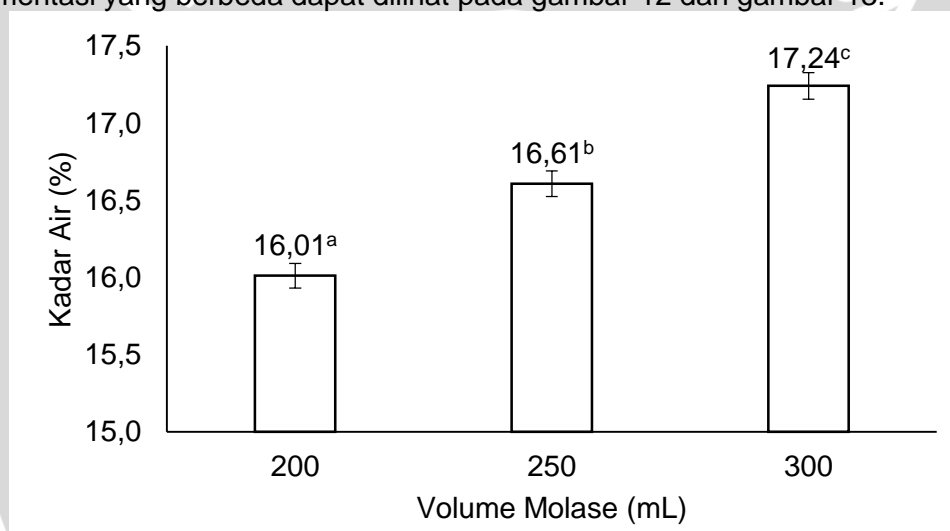
* Berdasarkan 100% bahan kering
Sumber : * Mangisah *et al.*, (2006)

Tabel 8 memperlihatkan komposisi kimia eceng gondok segar. Secara keseluruhan, komposisi kimia eceng gondok segar yang digunakan dalam sampel penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Mangisah *et al.*, (2006) yang membahas tentang karakteristik kimia eceng gondok segar. Keragaman komposisi kimia eceng gondok dipengaruhi oleh unsur hara tempat eceng gondok tumbuh dan sifat daya serap tanaman (Tangio, 2013).

4.2.2 Analisa Proksimat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar

a. Kadar Air

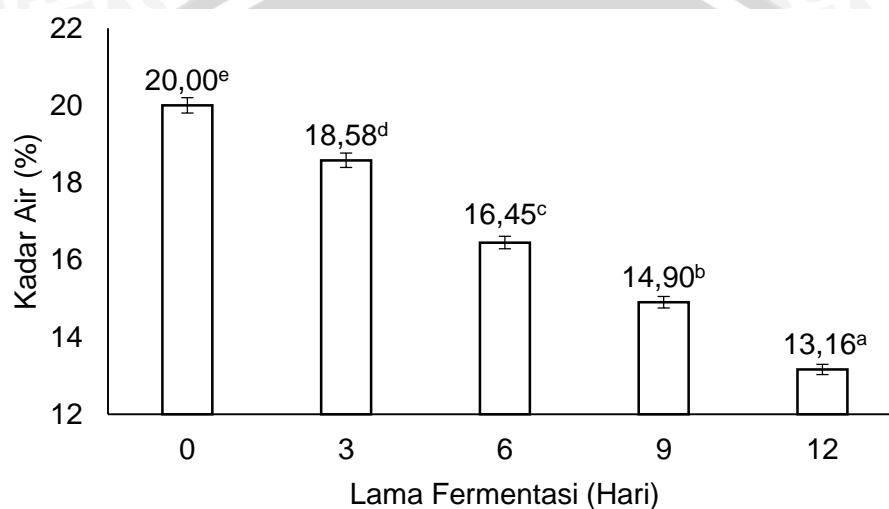
Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata-rata kadar air kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 12 dan gambar 13.



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

Gambar 12 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena tingginya kadar air pada molase segar itu sendiri yaitu 17-25% (Yuniasari, 2009) dan adanya proses metabolisme khamir laut yang menghasilkan air. Budy (2014) melaporkan bahwa peningkatan jumlah molase dapat meningkatkan kadar air. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka semakin banyak cairan hidrolisat protein eceng gondok yang dihasilkan. Pada saat khamir laut menghidrolisis substrat

maka khamir laut akan menghasilkan air dari proses metabolisme. Khamir laut memanfaatkan substrat berupa karbohidrat yang mudah terfermentasi sebagai sumber energi untuk tumbuh dan berkembang. Hasil perombakan karbohidrat yang mudah terfermentasi adalah gula- gula sederhana yang kemudian diubah menjadi energi dengan hasil sampingan berupa metabolit, alkohol, asam, CO₂ dan air (Rahmadi, 2003).



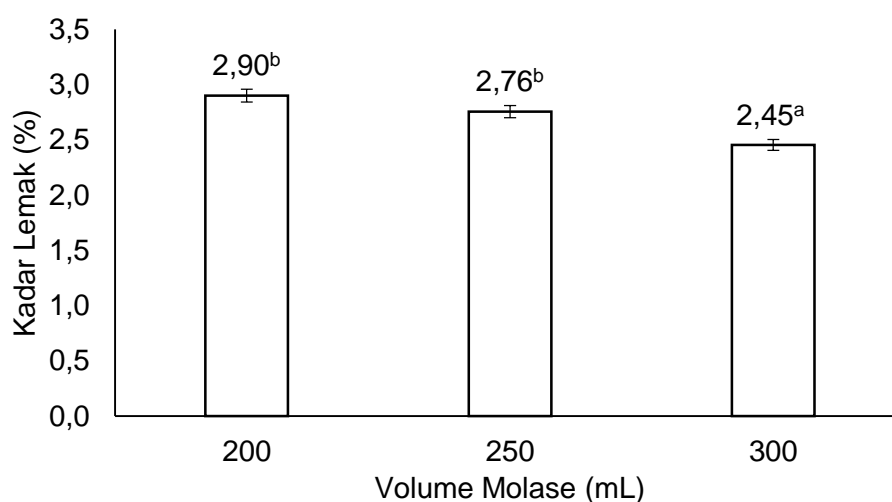
Gambar 13. Rata- Rata Kadar Air pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 13 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena selama hidrolisis akan menyebabkan semakin banyak molekul-molekul air yang dibebaskan. Fathony (2014) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi yang digunakan maka semakin rendah kadar airnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada saat fermentasi akan terjadi hidrolisis eceng gondok oleh khamir laut menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga kemampuan untuk mengikat air berkurang. Selama proses hidrolisis menyebabkan menurunnya kemampuan bahan mempertahankan air karena kehilangan gugus hidroksil. Gugus hidroksil mempunyai kemampuan yang besar untuk mempertahankan air karena struktur gugus hidroksil yang mudah dimasuki air. Kehilangan gugus hidroksil menyebabkan semakin banyak jumlah air terikat yang

terbebaskan sehingga tekstur bahan menjadi lunak dan berair. Semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan akan menyebabkan air pada hidrolisat protein eceng gondok akan mudah menguap selama pengeringan (Pusparani dan Sudarminto, 2014).

b. Kadar Lemak

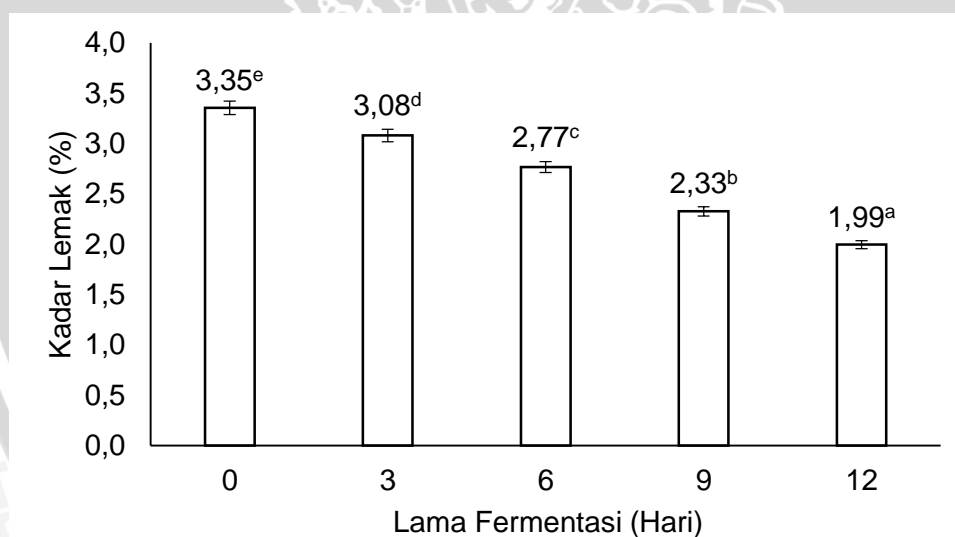
Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata-rata kadar lemak kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 14 dan gambar 15.



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

Gambar 14 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan

biomassa khamir yang mengakibatkan produksi enzim lipase semakin banyak untuk merombak lemak. Budy (2014) melaporkan bahwa peningkatan jumlah molase dapat menurunkan kadar lemak. Hal ini menunjukkan bahwa khamir laut menghasilkan zat bioaktif termasuk lipase. Enzim lipase akan memecah lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Bharathi *et al.*, 2011). Lemak yang sudah terdegradasi akan menjadi asam lemak rantai pendek yang mudah menguap (Susi, 2012) sehingga menyebabkan kandungan lemak menurun. Selain itu, juga dimungkinkan karena kandungan proksimat berkaitan dengan kesetimbangan massa, dimana kadar air berbanding terbalik dengan kandungan lainnya (Winarso, 2003). Penambahan volume molase meningkatkan kadar air hidrolisat protein eceng gondok sehingga dapat menurunkan kadar lemak hidrolisat protein eceng gondok.



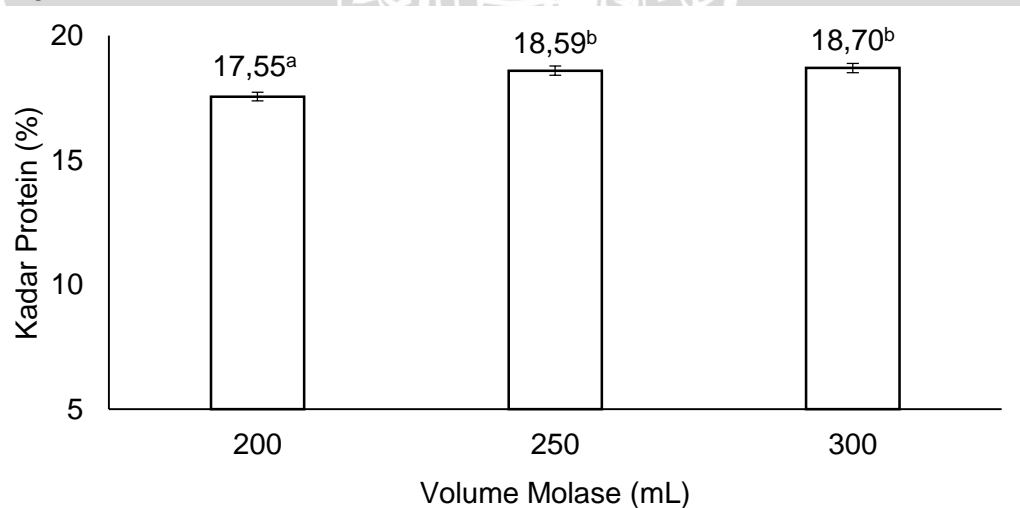
Gambar 15. Rata- Rata Kadar Lemak pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 15 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena meningkatkan aktivitas enzim lipase yang dihasilkan oleh khamir untuk merombak kandungan lemak substrat sebagai sumber energi bagi pertumbuhannya. Dwinaningsih (2010) dan Supriyati *et al.*, (1998) melaporkan

bahwa semakin lama waktu fermentasi maka kadar lemak semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa kegiatan enzim lipolitik meningkat selama fermentasi yang menghidrolisis komponen lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Proses lipolitik akan menyebabkan terurainya lemak menjadi asam lemak rantai pendek, karbonil dan senyawa volatil sebagai asam lemak bebas (Noviana *et al.*, 2012) sehingga berkurangnya kadar lemak yang dihasilkan.

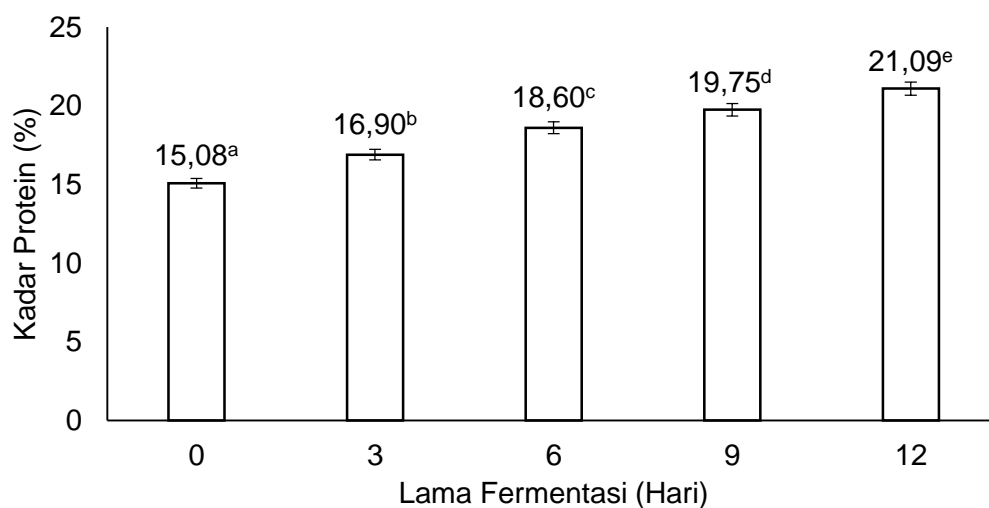
c. Kadar Protein

Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata-rata kadar protein kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 16 dan gambar 17.



Gambar 16. Rata- Rata Kadar Protein pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 16 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan biomassa khamir, dimana khamir laut merupakan penghasil protein sel tunggal. Selain itu, dimungkinkan karena adanya pemanfaatan molase sebagai substrat pertumbuhan khamir sehingga memicu mengeluarkan metabolit berupa enzim untuk menghidrolisis protein eceng gondok segar. Semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktivitas dari khamir laut semakin meningkat dan memicu mengeluarkan enzim yang lebih banyak. Febriani (2010) melaporkan bahwa khamir laut mengandung protein sebesar 28,29%. Sukoso (2012) menyatakan bahwa khamir laut menghasilkan enzim antara lain proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase dan fosfatase. Savitri (2011) melaporkan bahwa proses hidrolisis dapat meningkatkan kadar protein karena terjadi pemecahan protein menjadi asam amino dan ikut terdeteksinya enzim karena enzim adalah protein.



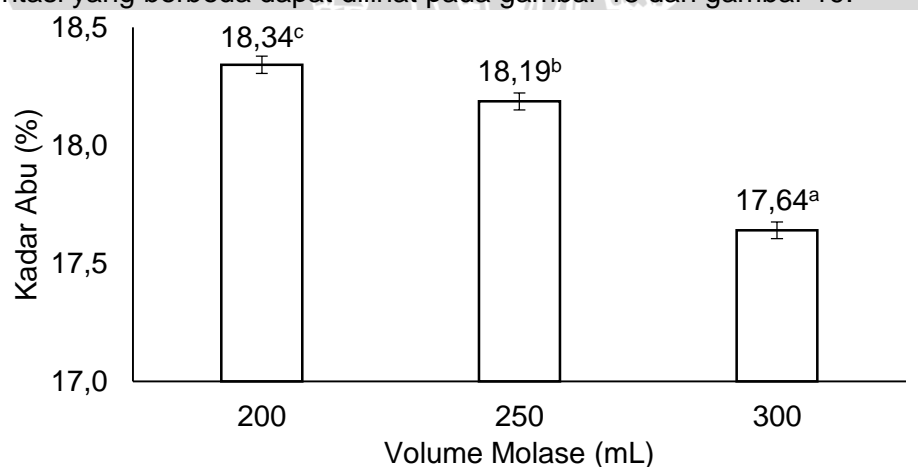
Gambar 17. Rata- Rata Kadar Protein pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 17 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat meningkatkan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena adanya hidrolisis protein pada eceng gondok oleh enzim

hasil metabolit khamir laut. Mangisah *et al.*, (2003) melaporkan bahwa kadar protein hasil fermentasi eceng gondok dengan *Aspergillus niger* semakin meningkat seiring dengan lama fermentasi. Dalam penelitiannya dijelaskan bahwa kandungan protein dari fermentasi eceng gondok yaitu 13,55%. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar protein disebabkan karena adanya peningkatan biomassa khamir laut seiring dengan lama fermentasi. Selama proses fermentasi, mikroba akan mengeluarkan enzim-enzim yang tersusun dari protein dan mikroba sendiri dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (Mangisah *et al.*, 2003).

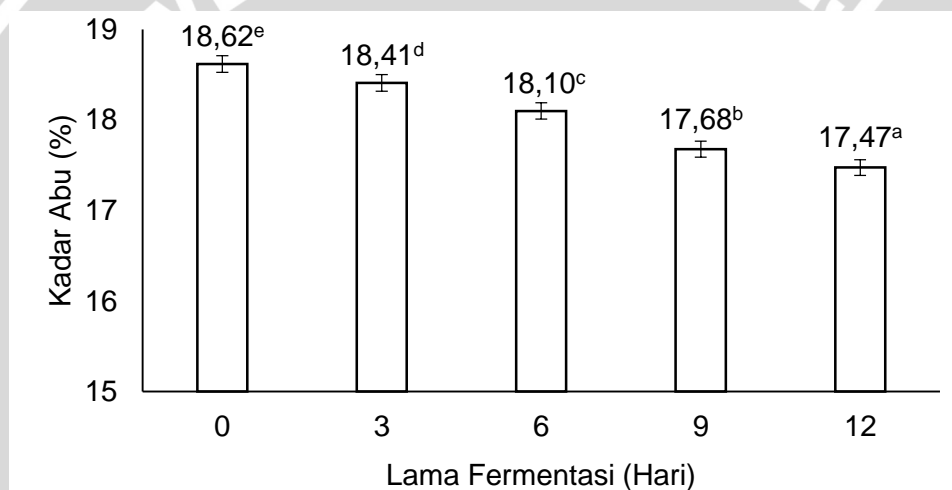
d. Kadar Abu

Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata-rata kadar abu kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 18 dan gambar 19.



Gambar 18. Rata- Rata Kadar Abu pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 18 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena adanya pemanfaatan mineral pada substrat untuk pertumbuhan dan perkembangan khamir laut. Husen (2015) melaporkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar abu. Hal ini menunjukkan bahwa zat makanan utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan komponen mineral (Budiman dan Sigit, 2009). Mineral merupakan salah satu pelengkap nutrisi bagi proses metabolisme mikroorganisme agar proses fermentasi berlangsung dengan baik (Gunawan *et al.*, 2013).



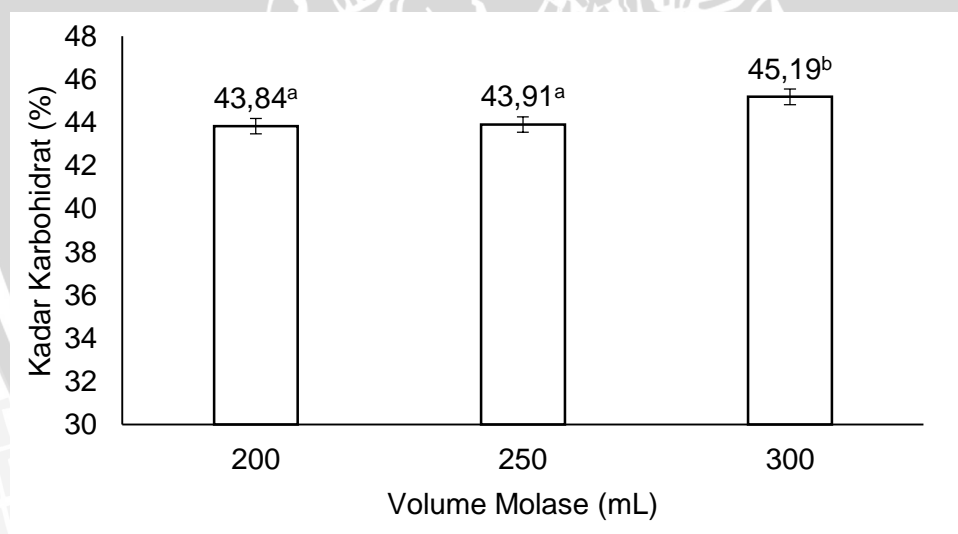
Gambar 19. Rata- Rata Kadar Abu pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 19 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena kandungan bahan organik semakin bertambah. Kurniati *et al.*, (2012) melaporkan bahwa semakin lama fermentasi maka kadar abu akan mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa pada proses fermentasi akan terjadi peningkatan bahan organik karena adanya proses degradasi bahan (substrat) oleh mikroba. Semakin sedikit bahan organik yang terdegradasi, maka relatif semakin sedikit juga terjadinya penurunan kadar abu secara proporsional, sebaliknya semakin banyak bahan organik yang terdegradasi maka relatif semakin

banyak juga terjadinya peningkatan kadar abu secara proporsional (Styawati *et al.*, 2014).

e. Kadar Karbohidrat

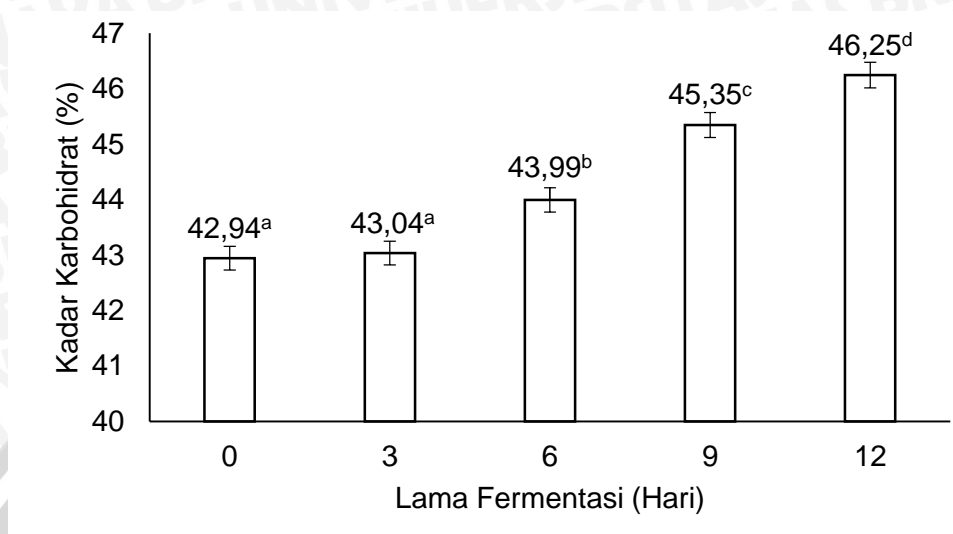
Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata-rata kadar karbohidrat kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 20 dan gambar 21.



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

Gambar 20 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan pasta kadar karbohidrat hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena kandungan karbohidrat pada molase itu sendiri. Yuniasari

(2009) memaparkan bahwa molase mengandung 42 - 71% karbohidrat. Sehingga peningkatan volume molase akan diimbangi dengan peningkatan karbohidrat.



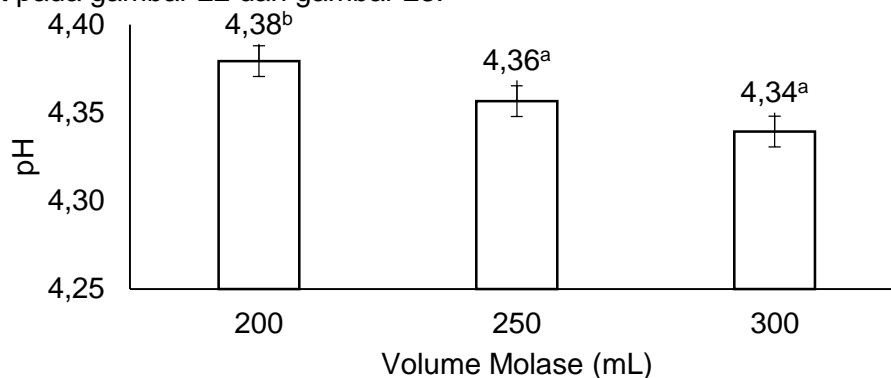
Gambar 21. Rata- Rata Kadar Karbohidrat pada Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 21 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat meningkatkan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena perhitungan karbohidrat berdasarkan metode *by difference* dimana perhitungan tersebut tidak menghitung jumlah karbohidrat secara utuh. Selain itu, selama proses hidrolisis karbohidrat terfraksinasi menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga seluruh gula- gula sederhana ikut terdeteksi. Nurhayati *et al.*, (2014) melaporkan bahwa penurunan kadar abu, dan lemak akibat proses fermentasi dapat meningkatkan proporsi jumlah karbohidrat.

4.2.3 Analisa Derajat Keasaman (pH)

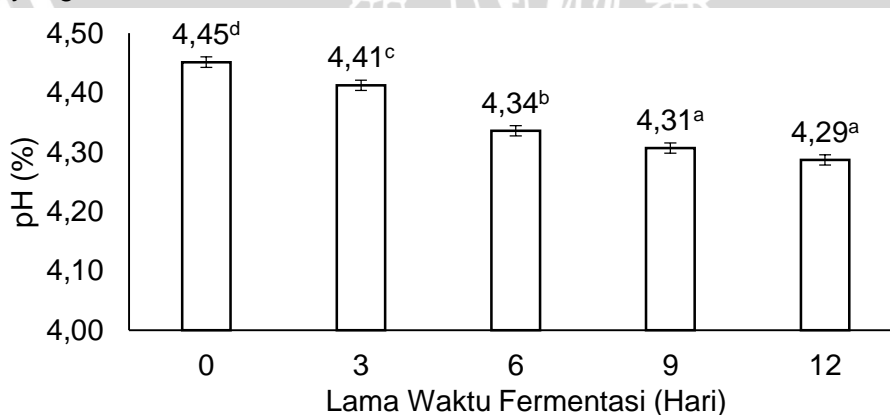
Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap pH pasta hidrolisat protein

eceng gondok. Rata- rata pH kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 22 dan gambar 23.



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

Gambar 22 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan pH pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktivitas dari khamir laut untuk memecah komponen karbohidrat dari molase semakin meningkat. Terpecahnya komponen karbohidrat dari molase akan membentuk asam-asam yang mudah menguap, diantaranya asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat (Nurul *et al.*, 2013). Hal ini sesuai dengan penelitian Yunika (2015) melaporkan bahwa semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka semakin rendah pH yang dihasilkan.

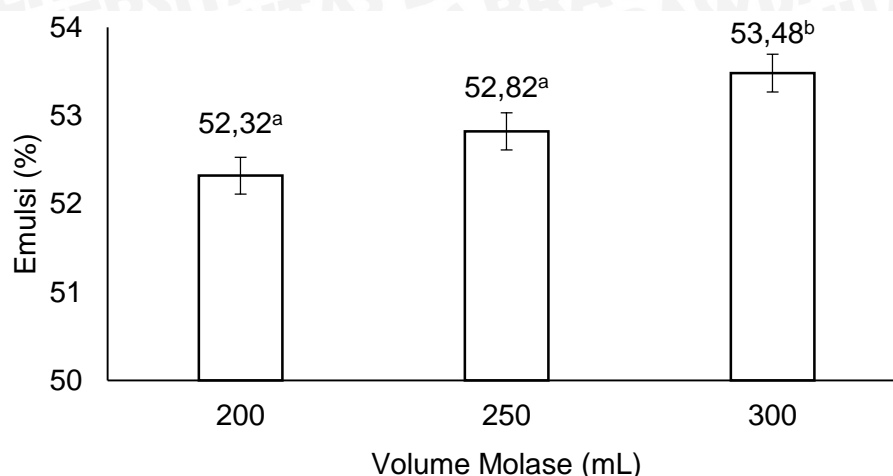


Gambar 23. Rata- Rata pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 23 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan pH pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena hasil dari produk fermentasi adalah asam. Yunika (2015) dan Savitri (2011) melaporkan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin rendah pH yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa selama fermentasi berlangsung terdapat produk sampingan metabolisme khamir yang dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi. pH yang didapatkan berkisar antara 4-5 menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan cukup baik karena pertumbuhan khamir yang baik adalah antara 3-6 (Oktavia *et al.*, 2012). Hasil dari produk fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam butirat, etanol, CO₂, air dan panas (Rahmadi, 2003). Selain itu, juga dimungkinkan karena aktivitas dari khamir laut semakin meningkat seiring lama fermentasi dan memicu mengeluarkan enzim yang lebih banyak. Enzim yang lebih banyak akan meningkatkan proses hidrolisis protein pada substrat menjadi peptida dan asam- asam amino sehingga pH semakin menurun (Simanjong *et al.*, 2012).

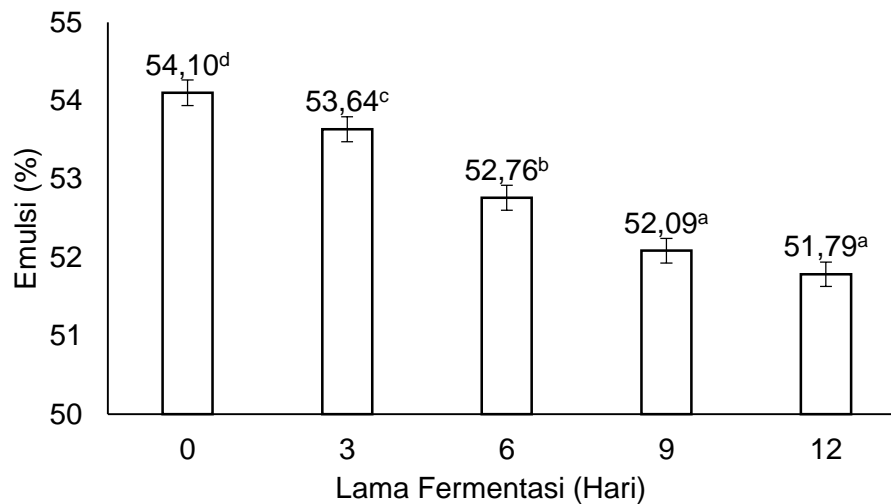
4.2.4 Analisa Emulsi

Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 19. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata- rata emulsi kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 24 dan gambar 25.



Gambar 24. Rata- Rata Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 24 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini sesuai dengan penelitian Budy (2014) dan Husen (2015) yang melaporkan bahwa semakin banyak volume molase yang digunakan maka terjadi peningkatan kapasitas emulsi. Semakin banyak volume molase yang ditambahkan akan menyediakan nutrisi yang semakin banyak untuk pertumbuhan khamir laut sehingga proses hidrolisis berjalan dengan optimal menghasilkan asam amino. Asam amino memiliki gugus polar (hidrofilik) dan gugus non polar (hidrofobik). Oleh karena itu, 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) menyatakan bahwa asam amino hasil hidrolisis sebagian akan diserap oleh minyak yang memicu terbentuklah emulsi pada hidrolisat protein.



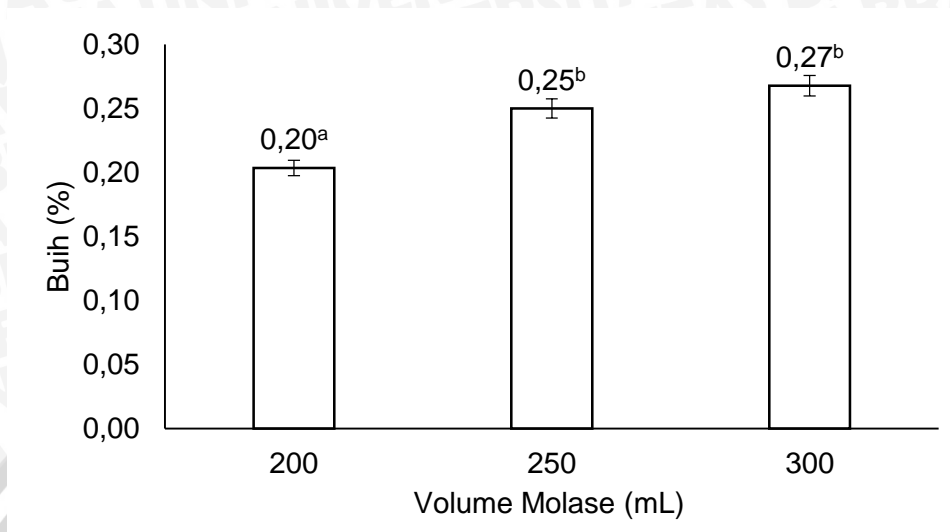
Gambar 25. Rata- Rata Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 25 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini sesuai dengan penelitian Fathony (2014) yang melaporkan bahwa semakin lama fermentasi maka kapasitas emulsi semakin menurun. McCarthy *et al.*, (2013) menyatakan bahwa kapasitas emulsi disebabkan karena kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak yang berkaitan dengan keseimbangan asam amino hidrofobik (yang dapat berinteraksi dengan minyak) dan asam amino hidrofilik (yang dapat berinteraksi dengan air).

4.2.5 Analisa Daya Buih

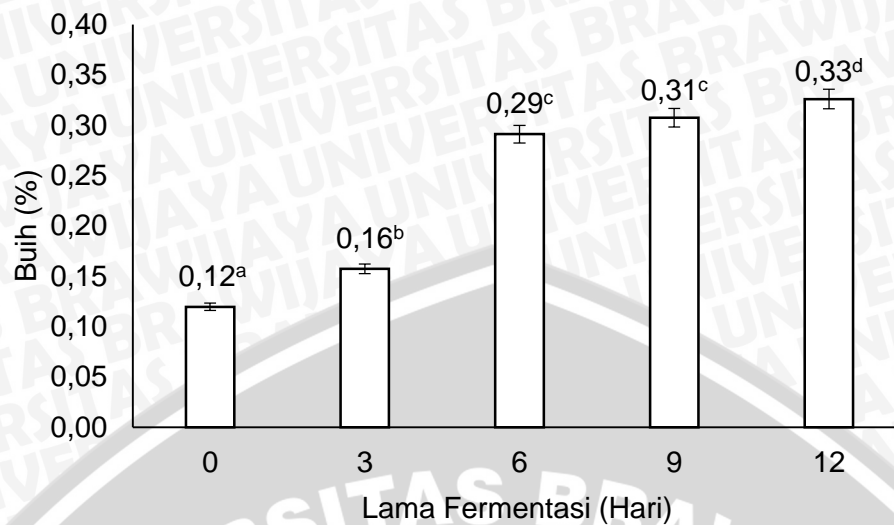
Data pengamatan dan analisis data daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 20. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok. Rata- rata daya buih kontrol dan pasta

hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 26 dan gambar 27.



Gambar 26. Rata- Rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 26 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini sesuai dengan penelitian Husen (2015) yang melaporkan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena molase membantu menyediakan energi bagi khamir laut dalam menghidrolisis protein. Protein yang terhidrolisis semakin banyak menyebabkan banyaknya asam amino hidrofobik yang terbentuk dan berpengaruh pada semakin banyaknya daya buih. Asam amino hidrofobik akan mengabsorpsi fase udara dan air sehingga terbentuk buih yang banyak (Budy, 2014). Chotimah (2009) menambahkan bahwa terbentuknya buih diawali dengan terbukanya ikatan- ikatan dalam molekul protein sehingga rantai protein akan semakin panjang dan udara akan masuk diantara molekul- molekul yang terbuka dan bertahan disana sehingga volume buih meningkat.

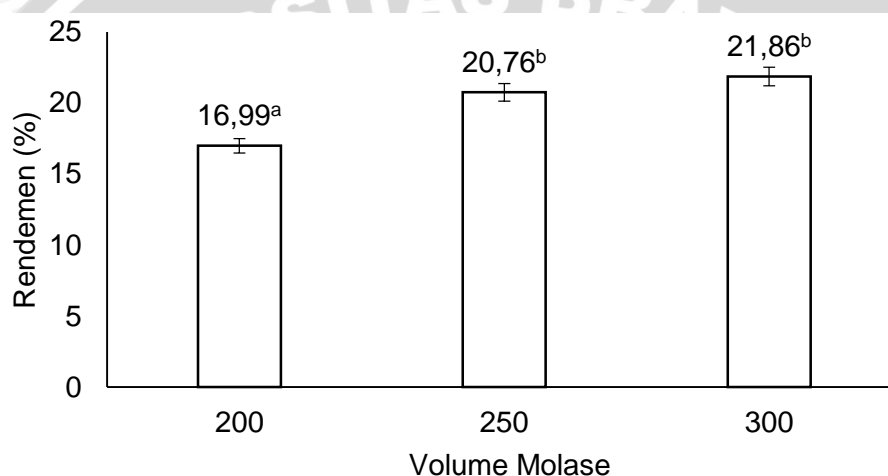


Gambar 27. Rata- Rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 27 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat meningkatkan daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena jumlah protein yang terhidrolisis semakin banyak dan terbentuk asam amino hidrofobik yang akan mengabsorpsi fase udara dan air sehingga terbentuk buih yang banyak. Penguraian protein yang semakin banyak memungkinkan lebih banyak udara yang akan dimasukkan diantara molekul-molekul protein (Amiza *et al.*, 2012). Yuniyanto *et al.*, (2014) menambahkan bahwa pembentukan buih terdiri dari 3 tahap yaitu tahap pertama protein globular berdifusi ke dalam permukaan udara - air dan menurunkan tegangan permukaan, tahap kedua terbentuknya lipatan protein pada permukaan, dan tahap ketiga interaksi polipeptida untuk membentuk film dengan denaturasi dan koagulasi parsial. Protein teradsorpsi pada permukaan dan membentuk film yang stabil mengelilingi buih dan membentuk buih. Protein dengan jenis hidrofobik rendah akan menunjukkan daya buih rendah, sedangkan protein dengan kelarutan rendah akan menunjukkan daya buih yang lebih baik.

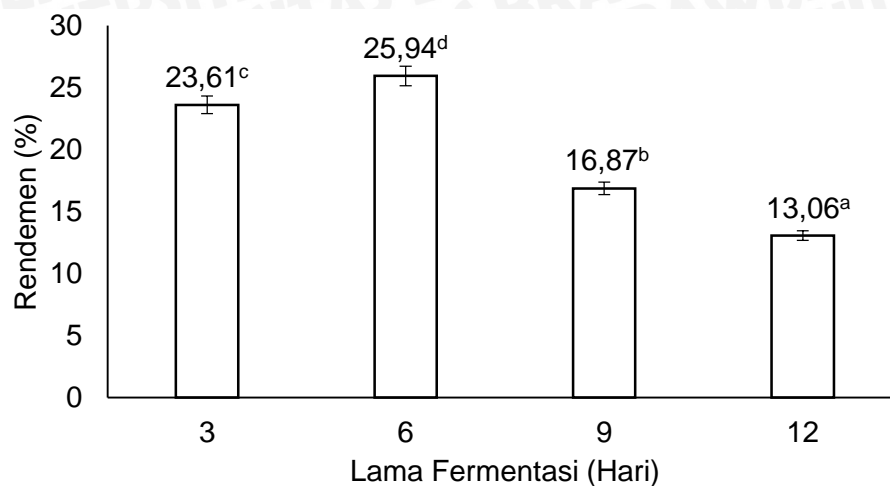
4.2.6 Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok

Data pengamatan dan analisis data rendemen hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap rendemen hidrolisat protein eceng gondok. Rata-rata rendemen hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 28 dan gambar 29.



Gambar 28. Rata-Rata Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 28 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan rendemen hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena semakin banyak substrat yang dihidrolisis maka rendemen yang dihasilkan juga semakin meningkat. Husen (2015) melaporkan bahwa penambahan volume molase pada pembuatan hidrolisat protein dapat meningkatkan rendemen. Shahidi *et al.*, (1994) menyatakan bahwa selama proses hidrolisis akan menyebabkan terlarutnya komponen gizi seperti protein, lemak, dan mineral yang dapat mempengaruhi besarnya rendemen produk hidrolisat yang dihasilkan.



Gambar 29. Rata- Rata Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 29 memperlihatkan bahwa rendemen hidrolisat protein eceng gondok meningkat hingga hari ke-6. Hal ini dimungkinkan karena semakin banyak substrat yang dihidrolisis maka rendemen yang dihasilkan semakin meningkat. Selanjutnya rendemen mengalami penurunan hingga hari ke-12. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi menyebabkan semakin banyak senyawa volatil yang terbentuk. 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). Semakin lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil sehingga nilai rendemen cairan akan mengalami penurunan.

4.2.7 Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar Terbaik

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein eceng gondok diperoleh hasil tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase 300 mL. Hal ini ditinjau dari kandungan protein tertinggi yang diperoleh dari pasta hidrolisat protein eceng gondok antar perlakuan. Purbasari (2008) melaporkan hidrolisat terbaik dapat dilihat dari hasil kadar protein

yang tertinggi. Amalia (2007) melaporkan bahwa protein merupakan salah satu unsur yang paling penting dalam produk hidrolisat karena tujuan memproduksi produk hidrolisat adalah untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Tingkat mutu dari produk hidrolisat sangat ditentukan dari kadar protein yang dikandung pada produk. Pemilihan hidrolisat protein terbaik dapat ditinjau dari parameter hidrolisat seperti pH, emulsi, dan daya buih. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan dari penelitiannya bahwa kualitas produk hidrolisat protein tertinggi ditandai dengan daya buih dan emulsi yang tinggi. Komposisi kimia dari hidrolisat protein eceng gondok segar dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar

Parameter	Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Tertinggi	Fermentasi Eceng Gondok*	Eceng Gondok Segar**	Eceng Gondok Segar
Kadar Protein (%)	21,49	13,55	11,2	12,78
Kadar Air (%)	13,25	-	-	-
Kadar Lemak (%)	1,78	-	0,9	1,05
Kadar Abu (%)	17,11	-	12,6	22,90
Kadar Karbohidrat (%)	46,37	-	-	-
pH (%)	4,27	-	-	-
Emulsi (%)	52,15	-	-	-
Daya Buih (%)	0,35	-	-	-

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

** Mangisah *et al.*, (2006)

Tabel 9 menunjukkan bahwa kandungan protein pasta hidrolisat protein eceng gondok segar lebih tinggi bila dibandingkan dengan bahan baku awal. Hal ini menunjukkan terjadinya hidrolisis protein eceng gondok oleh enzim protease khamir laut. Haslaniza *et al.* (2010) menyatakan bahwa konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam produk hidrolisat protein. Tandrianto *et al.*, (2014) menambahkan bahwa adanya kenaikan kadar protein diperoleh dari aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh mikroba yang ada dalam proses fermentasi. Lamanya waktu fermentasi membuat populasi

mikroba semakin meningkat, sehingga membuat kadar protein terlarut juga meningkat.

4.2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

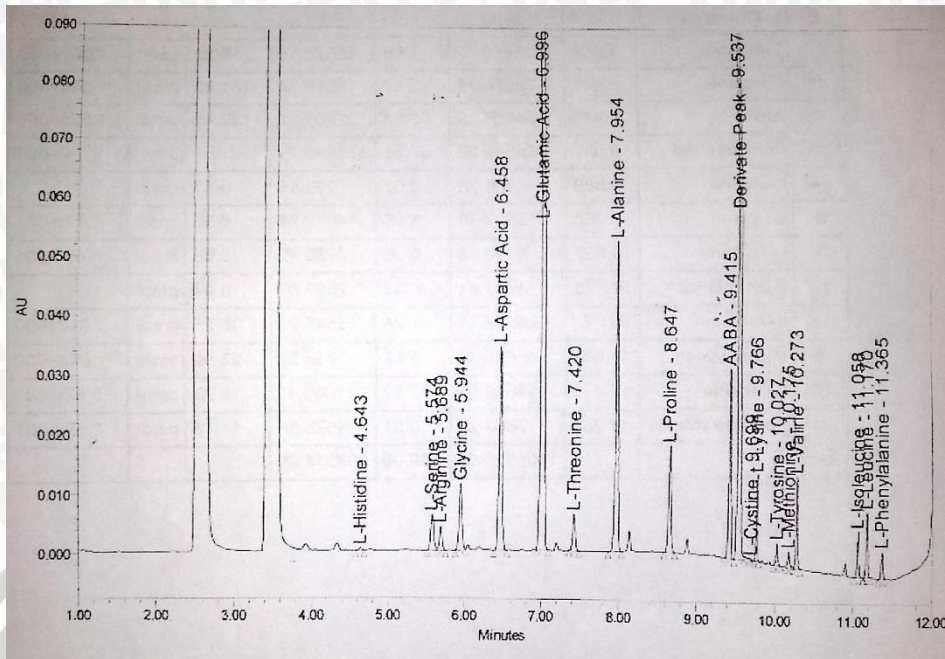
Prinsip HPLC yaitu menggunakan tekanan yang tinggi untuk mengirim fase gerak masuk melalui kolom ke detektor. Dengan memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan dengan besar. Metode pemisahan umum HPLC tergantung sifat polaritas senyawa dalam eluat yaitu fase diam dan fase 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 18. Fase gerak pada penelitian ini menggunakan acetonitril 60%.

Analisis asam amino diawali dengan 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 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 vortex dan didiamkan selama 1 menit serta diinkubasi pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit. Selanjutnya disuntikkan pada HPLC. Asam amino adalah senyawa yang umum tidak memiliki gugus kromofor kecuali asam amino fenilalanin, tirosin dan triptofan. Oleh karena itu dalam penelitian ini perlu 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 cartesian, dimana titik nol dinyatakan sebagai saat dimulainya injeksi sampel. Kromatogram sampel yang keluar dapat dibandingkan dengan kromatogram standar asam amino yang telah diketahui jenis dan kadarnya. Untuk mengetahui jenis asam amino dapat dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar. Untuk mengetahui banyaknya asam amino dapat dibandingkan antara luasan puncak sampel dengan standar (Sudarmadji *et al.*, 1989). Hasil kromatogram standar, waktu retensi dan luas area dari kromatogram standar dapat dilihat pada Lampiran 33 dan Lampiran 34. Hasil kromatogram asam amino hidrolisat eceng gondok segar dapat dilihat pada Lampiran 35 dan gambar 30. Hasil waktu retensi dan luas area dari kromatogram asam amino hidrolisat eceng gondok segar dapat dilihat pada Lampiran 36.



Gambar 30. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar

Pada gambar 30 menunjukkan bahwa asam amino produk hidrolisat protein eceng gondok tertinggi yaitu glutamat. Mekanisme deteksi asam amino didasarkan pada kepolarannya. Asam amino yang bersifat non polar akan tertahan lebih lama pada kolom yang bersifat non polar. Senyawa non polar akan bereaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals sehingga asam amino yang paling polar akan terelusi lebih dahulu. Lestari (2014) menyatakan bahwa didalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen cairan karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut- solut terhadap fase diam. Solut- solut yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih dahulu dan sebaliknya. Setiap komponen yang keluar dari kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah *peak* menyatakan jumlah komponen sedangkan luas *peak* menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran.

4.2.9 Analisis Total Asam Amino

Analisis asam amino ditujukan untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino yang terkandung dalam suatu produk. Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein eceng gondok diperoleh hasil tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume 300 mL. Hasil tertinggi hidrolisat protein eceng gondok dianalisis profil asam amino. Analisis profil asam amino hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada Lampiran 30. Kandungan asam amino hidrolisat protein eceng gondok dibandingkan dengan daun eceng gondok segar, telur, kacang kedelai, dan tepung ikan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Kandungan Asam Amino pada Hidrolisat Protein Eceng Gondok, Daun Eceng Gondok Segar, Telur Ayam Ras, Kacang Kedelai, dan Tepung Ikan

No	Jenis Asam Amino	Komponen Asam Amino				
		Hidrolisat Protein Eceng Gondok (%)	Daun Eceng Gondok Segar (%) ¹	Telur Ayam Ras (%) ²	Kacang Kedelai (%) ³	Tepung Ikan (%) ⁴
Esensial						
1	Lisin	0,17	2,69	0,42	2,1	2,82
2	Histidin	0,02	1,10	0,14	1,0	0,78
3	Arginin	0,15	3,56	0,47	3,2	3,75
4	Leusin	0,20	5,06	0,60	3,3	3,99
5	Isoleusin	0,14	2,31	0,26	2,1	2,37
6	Threonin	0,15	2,63	0,30	1,5	2,34
7	Methionin	0,06	1,27	0,12	0,6	0,99
8	Valin	0,20	2,79	0,27	1,6	3,27
9	Phenilalanin	0,11	3,39	0,40	2,0	2,37
Non Esensial						
10	Glutamat	6,88	5,90	1,05	7,6	7,05
11	Sistin	-	0,84	-	0,4	0,63
12	Aspartat	1,03	5,05	0,87	4,5	4,41
13	Alanin	0,91	3,40	0,47	1,7	3,12
14	Serin	0,15	2,56	0,48	2,2	3,75
15	Glisin	0,21	3,02	0,27	1,9	3,83
16	Prolin	0,42	2,72	0,28	1,9	3,93
17	Tirosin	0,09	2,16	0,23	1,5	1,59
	Total	10,88	50,87	6,63	39,1	50,99

Sumber : ¹ Virabalin *et al.*, (1993)

² Heny (2002) (dianalisa dengan *High Speed Amino Acid Analyzer*)

³ Sitompul (1997)

⁴ Sitompul (2004)

Keterangan : - : tidak teridentifikasi

Tabel 10 menunjukkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok memiliki 16 jenis asam amino yang terdiri dari 9 asam amino esensial dan 7 asam amino non esensial. Asam amino esensial yaitu lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonin, methionin, valin, dan phenilalanin. Asam amino non esensial yaitu glutamat, aspartat, alanin, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Hal tersebut menunjukkan bahwa asam amino pada hidrolisat protein eceng gondok diperoleh hampir semua jenis kecuali sistin. Asam amino yang tidak teridentifikasi (sistin) dimungkinkan karena kandungan asam amino tersebut sangat rendah sehingga tidak terdeteksi atau telah terjadi kerusakan pada saat hidrolisis dan pengeringan. Amalia (2007) menyatakan bahwa asam amino termasuk ke dalam senyawa volatil. Senyawa tersebut dapat berubah menjadi senyawa volatil apabila terjadi degradasi dan interaksi dengan panas. Widadi (2011) menambahkan bahwa pada prinsipnya suatu protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam suatu komposisi yang hampir menyamai kebutuhan manusia merupakan protein yang bermutu tinggi.

Tabel 10 menunjukkan bahwa kandungan asam amino yang dihasilkan lebih rendah jumlahnya dibandingkan dengan persen kadar protein yang dihasilkan. Hal tersebut dimungkinkan karena pada penelitian ini menggunakan metode kjeldahl dalam mendeteksi protein pada sampel dimana prinsip metode kjeldahl yaitu peneraan jumlah protein secara empiris berdasarkan jumlah N di dalam bahan. Metode kjeldahl tidak hanya mendeteksi nitrogen dalam protein tetapi senyawa non-protein yang mengandung nitrogen akan terdeteksi pula (Legowo et al., 2007).

Tabel 10 menunjukkan bahwa kadar asam amino pada hidrolisat protein eceng gondok lebih rendah dibandingkan dengan kadar asam amino pada daun eceng gondok segar, kacang kedelai, dan tepung ikan. Hal ini diduga karena bahan baku yang digunakan berbeda dan protein yang terlarut pada hidrolisat

protein eceng gondok sebagian masih dalam bentuk peptida-peptida. Amalia (2007) menjelaskan bahwa kemampuan enzim dalam menguraikan protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana mempengaruhi kandungan asam amino produk hidrolisat protein. Protein akan diuraikan menjadi peptida-peptida oleh enzim kemudian peptida diuraikan menjadi asam amino. Faktor-faktor seperti pH, suhu, konsentrasi enzim dapat mempengaruhi hidrolisis.

Tabel 10 menunjukkan bahwa kadar asam amino pada hidrolisat protein eceng gondok segar lebih tinggi dibandingkan dengan telur ayam ras. Hidayat (2005) menyatakan bahwa produk hidrolisat protein dapat digunakan dalam pengolahan bahan makanan tambahan dengan tujuan menambah sumber protein yang kaya dengan asam amino juga meningkatkan cita rasa produk. Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok dapat berpeluang sebagai bahan pangan karena memiliki jumlah asam amino yang tinggi, namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat keamanan dari hidrolisat protein eceng gondok.

Tabel 10 menunjukkan bahwa produk hidrolisat protein eceng gondok mengandung asam amino non esensial tertinggi yaitu glutamat. Hal ini dimungkinkan karena dengan hidrolisis asam, glutamin akan terhidrolisa sempurna menjadi asam glutamat. Purbasari (2008) menyatakan bahwa asam glutamat merupakan asam amino nonesensial, berperan dalam menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan. Asam glutamat juga bermanfaat untuk membantu dalam meningkatkan massa otot (memperbesar otot). Asupan asam glutamat yang berlebihan (lebih dari 120 mg per kg berat badan) dapat menyebabkan kerusakan sistem syaraf sehingga dapat menimbulkan penyakit *alzheimer* dan *amyotrophic lateral sclerosis*. Hidayat (2005) menambahkan bahwa produk hidrolisat dapat digunakan sebagai penyedap karena memiliki kandungan asam glutamat yang tinggi. Produk hidrolisat dapat

disertakan sebagai menu para penderita gangguan pencernaan dengan memanfaatkan asam amino esensial yang terdapat di dalamnya.

Tabel 10 menunjukkan bahwa produk hidrolisat protein eceng gondok mengandung asam amino esensial tertinggi yaitu valin dan leusin. Razi (2009) menyatakan bahwa fungsi dari valin yaitu membantu proses perbaikan jaringan. Fungsi leusin yaitu membantu meningkatkan produksi hormon pertumbuhan, mempercepat proses penyembuhan pada tulang, jaringan dan kulit. Amalia (2007) menambahkan bahwa sebagai bahan pangan, asam amino serin, glisin, alanin, serin, threonin, sistein dan prolin memiliki rasa yang manis. Arginin, valin, leusin, isoleusin, phenilalanin, triptofan dan tirosin memiliki rasa pahit. Sementara lisisin dan metionin memiliki rasa manis dan pahit. Rasa gurih disebabkan oleh asam glutamat.

4.2.10 Analisa Derajat Hidrolisis

Data pengamatan dan analisis data derajat hidrolisis kontrol (fermentasi 0 hari) dan derajat hidrolisis hidrolisat protein eceng gondok segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 21. Lampiran 21 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dan semakin lama fermentasi dapat meningkatkan derajat hidrolisis hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena peningkatan volume molase dan semakin lama fermentasi akan memacu pertumbuhan biomassa khamir, dimana khamir laut merupakan penghasil enzim protease. Nilai derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Karena derajat hidrolisis diukur dari perbandingan total nitrogen pada produk hidrolisat dan total nitrogen pada sampel maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek derajat hidrolisisnya menjadi semakin tinggi.

Kurniawan *et al.* (2012) menyatakan bahwa peningkatan derajat hidrolisis disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino akibat dari pemutusan ikatan peptida selama hidrolisis protein.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian tentang pengaruh volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok segar adalah:

- Volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik pasta hidrolisat protein eceng gondok adalah sebanyak 300 mL dengan kandungan nutrisi sebesar 17,24% kadar air, 2,45% kadar lemak, 18,70% kadar protein, 17,64% kadar abu, 45,19% kadar karbohidrat, 4,34 pH, 53,48% kapasitas emulsi, 0,27% daya buih.
- Lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik pasta hidrolisat protein eceng gondok adalah pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 13,16% kadar air, 1,99% kadar lemak, 21,08% kadar protein, 17,47% kadar abu, 46,24% kadar karbohidrat, 4,28 pH, 51,78% kapasitas emulsi, 0,33% daya buih.
- Total kandungan asam amino hidrolisat protein eceng gondok terbaik pada perlakuan lama fermentasi 12 hari dan penambahan volume molase 300 mL yaitu 10,88%.

5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu apabila ingin membuat hidrolisat protein eceng gondok segar dapat menggunakan penambahan volume molase segar 300 mL dan lama fermentasi 12 hari. Perlu dilakukan pengujian kadar protein setelah proses fermentasi (sebelum dipastakan) serta perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pembuatan hidrolisat protein eceng gondok

menggunakan enzim protease murni dengan harapan dapat meningkatkan kandungan asam amino dalam hidrolisat protein eceng gondok segar tersebut.



DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M. R. dan Robert, N. 2001. Fermentation and Food Safety. Aspen Publishers, Inc. Maryland.
- Aditiwati, P. dan Kusnadi. 2003. Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi "Tea-Cider". *Proceedings Intitut Teknologi Bandung Sains & Teknologi*. 35 A(2):147-162
- Agustono, Salim, H., dan Widya, P. 2010. Pengaruh Penggunaan Kombucha Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Pada Fermentasi Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2 (2): 179-183.
- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* Untuk Ternak. *Wartazoa*. 15(1): 49-55.
- Akinwande, Mako, dan Babayemii. 2013. Biomass Yield, Chemical Composition and The Feed Potential of Water Hyacinth (*Eichornia crassipes*, Mart.Solms-Laubach) in Nigeria. *International Journal of AgriScience*. 3(8): 659-666.
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Amin, L. 2011. Pendekatan Islam dalam Menangani Percanggahan Manfaat dan Risiko Bioteknologi Moden Tumbuhan. *Jurnal Hadhari*. 3(2): 1-22.
- Amiza, M. A., Kong, Y. L., dan Faazaz, A. L. 2012. Effect of Degree of Hydrolysis on Physicochemical Properties of Cobia (*Rachycentron canadum*) Frame Hydrolysate. *International Food Research Journal*. 19 (1): 199-206.
- Anggraeny dan Umiyasih. 2009. Pengaruh Fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Kandungan Nutrisi dan Kecernaan Ampas Pati Aren (*Arenga pinnata* Merr.). Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Bogor.
- Anusha, S. U., Sundar, S. K., dan Prakash, G. W. 2014. Studies on the Isolation and Characterisation of Marine Yeast, Glucan Production and Immunostimulatory Activity on *Carassius auratus*. *International Journal Current Microbiology Application Science*. 3(9): 230-240.
- Armanda, D.T. 2013. Pertumbuhan Kultur Mikroalga Diatom *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve Isolat Jepara pada Medium f/2 dan Medium Conway. *Bioma* Volume 2, Nomor 1: 49-63.
- Azizah, N., Al-Baarri, N., dan Mulyani, S. 2012. Pengeruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Volume 1, Nomor 2: 72-77.

- Bernadeta, Puji, A., dan Imelda, H. S. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein Dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1):26-30.
- Bharathi, S., Saravanan, D., Radhakrishnan, M., dan Balagurunathan, R. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Reference to Inulinase Production. *International Journal of ChemTech Research*. 3(3): 1514-1519.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., dan Wootton, M. 1985. Ilmu Pangan. UI Press. Jakarta.
- Budiman, A., dan Sigit, A. 2009. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi. Artikel Penelitian. Fakultas Teknik Kimia. Universitas Diponegoro. Semarang.
- 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. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Burgaud, G., Danielle, A., Lucile, D., Marie, Anne, C., Bonavita, dan Georges, B. 2010. Marine Culturable Yeasts in Deep-Sea Hydrothermal Vents: Species Richness and Association with Fauna. *FEMS Microbiology Ecology*. 73 (1): 121-133.
- Chayati dan Andian. 2008. Bahan Ajar Kimia Pangan. Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Chi, Z., Ma, C., Wang, P., dan Li, H. F. 2007. Optimization of Medium and Cultivation Conditions for Alkaline Protease Production by The Marine Yeast *Aureobasidium pullulans*. *Bioresource Technology*. 98: 534-538.
- Chisti, Y. 1999. Fermentation (Industrial). Academic Press (Department of Chemical Engineering University of Almeria). Spain.
- Chotimah, S.C. 2009. Pengaruh Jenis Dan Level *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Albumen Terhadap Kadar Glukosa Dan Sifat Fisik Tepung Putih Telur. *Jurnal Ilmu Peternakan*. Volume 2 Nomor 2: 67-73
- Coniwanti, P., Santi, N., dan Indah, K. P. 2009. Pengaruh Konsentrasi Larutan Etanol, Temperatur dan Waktu Pemasakan pada Pembuatan Pulp Eceng Gondok Melalui Proses Organosolv. *Jurnal Teknik Kimia*. Volume 16, Nomor 4: 34-41.
- Dewanti, R., Muhammad, I., dan Sudiyono. 2013. Pengaruh Penggunaan Enceng Gondok (*Eichornia Crassipes*) Terfermentasi Dalam Ransum Terhadap Persentase Karkas, Non-Karkas, dan Lemak Abdominal Itik Lokal Jantan Umur Delapan Minggu. *Buletin Peternakan*. 37(1): 19-25.

- Dewi, N. Y. 2013. Penetapan Kadar dan Analisis Profil Protein dan Asam Amino Ekstrak Ampas Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn.) dengan Metode SDS-Page dan KCKT. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Dufosse, L., Denis, D. L. B., dan Fabienne, G. 1997. Fish Protein Hydrolysates as Nitrogen Sources for Microbial Growth and Metabolite Production. Research Signpost. India.
- Dwinaningsih, E. A. 2010. Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/ Beras dan Penambahan Angkak Serta Variasi Lama Fermentasi. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Ensbey, R. 2009. Noxious and Environmental Weed Control Handbook, 4th Edition. Department of Primary Industries. New South Wales.
- Estiasih dan Rahmadi. 2012. Hubungan Antara Sifat- Sifat Emulsifikasi dengan Stabilitas Oksidasi Mikrokapsul yang Dihasilkan dengan Metode Pengeringan Semprot. *Jurnal Teknik Pertanian*. Volume 5 Nomor 1: 35-47.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fathony, A. 2011. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Fatoni, A., Zufahair, dan Puji, L. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*. 10(2):83-88.
- Febriani, M. 2006. Substitusi Protein Hewani Dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut Untuk Pakan Patin (*Pangasius* sp.) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan (Journal Fish Science)*. VIII (2): 169-176.
- _____. 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. Hlm 775-780.
- Febrianti, N. 2011. Biosintesis Selulosa Oleh *Acetobacter xylinum* Menggunakan Limbah Cair Tahu Sebagai Media Pertumbuhan dengan Penambahan Molase. Prosiding Seminar Nasional Biologi. 8(1):434-438.
- Gunawan, E. R., Dedi, S., dan Dhony, H. 2013. Optimalisasi Integrasi Sapi, Jagung, dan Rumput Laut (Pijar) Pada Teknologi Pengolahan Pakan Ternak Berbasis Limbah Pertanian Jagung – Rumput Laut Guna Mendukung Program Bumi Sejuta Sapi (BSS) di Nusa Tenggara Barat . *Buletin Peternakan*. 37(3): 157-164

- Hartanto, R. 2003. Modul Metodologi Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. 21 hlm.
- Haslaniza, H., Maskat, M.Y., Wan, A. W. M., dan Mamot, S. 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.
- Hatmiko, S. P., Nur, C., dan Bambang, S. 2014. Pengaruh Pakan Fermentasi Menggunakan Bakteri *azotobacter* Terhadap pH, Daya Mengikat Air, dan Susut Masak Daging Kelinci. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan. 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.
- Herawati, D. A., dan Andang, A. W. 2007. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Waktu Fermentasi Terhadap Hasil Pembuatan Soyghurt. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan*. 1(2): 48-58.
- Hermiastuti, M. 2013. Analisis Kadar Protein dan Identifikasi Asam Amino Pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Jember.
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Husen, R. A. H. 2015. Pengaruh Penambahan Volume Molase Segar yang Berbeda Terhadap Karakteristik Hidrolisat Protein Kerang Hijau (*Perna viridis*) Selama Masa Fermentasi Dengan Starter Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Pelatihan Penulisan Artikel Ilmiah. LPMP Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. 13 hlm.
- Jafari, N. 2010. Ecological and Socio-Economic Utilization of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart Solms). *Journal Application Science Environment*. 14(2): 43-49.
- 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.
- Koesoemawardani, D., Fibra, N., dan Sri, H. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*. 13(3):256-261.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.

- Kunatsa dan Mufundirwa. 2013. Biogas Production from Water Hyacinth Case of Lake Chivero - Zimbabwe a Review. *International Journal of Recent Technology and Engineering (IJRTE)*. 2(2): 138-142.
- Kurniati, L. I., Nur, A., Setiyi, G., dan Tri, W. 2012. Pembuatan Mocaf (Modified Cassava Flour) dengan Proses Fermentasi Menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknik POMITS*. Volume 1, Nomor 1:1-6.
- Kurniawan, Susi, L., dan Siti, H. R. J. 2012. Hidrolisis Protein Tinta Cumi- Cumi (*Loligo sp*) dengan Enzim Papain. *Jurnal Fish Technology*. 1(1): 41-54.
- Kusmiati, Ahmad, T., dan Sukma, N. 2008. Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi α -Glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *Jurnal Natur Indonesia*. 13(2): 138-145.
- Kutty, S. N., dan Rosamma, P. 2008. Marine Yeast-a Review. John Wiley & Sons, Ltd. New York.
- Legowo, A. M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. Analisis Pangan. Buku Ajar Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. 56 hlm.
- Lestari, S.W. 2014. Validasi Metode Penetapan Kadar Aliskiren dalam Plasma Darah secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri 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 Universitas Muhammadiyah Semarang. Hlm 30-35.
- Mangisah, I., Maulana, H. N., dan Sri, S. 2003. Evaluasi Nilai Nutrisi Eceng Gondok Terfermentasi *Aspergillus niger* Sebagai Alternatif Pakan. Laporan Penelitian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi. Universitas Diponegoro. Semarang
- Mangisah, I., Tristiarti, Murningsih, W., Nasoetion, M. H., Jayanti, E. S., dan Astuti, Y. 2006. Kecernaan Nutrien Eceng Gondok yang Difermentasi Dengan *Aspergillus niger* Pada Ayam Boiler. *Journal Indonesia Tropical Animal Agriculture*. 31(2): 124-128.
- Marlina, N. 1999. Konversi Data Hasil Analisis Proksimat Kedalam Bahan Segar. Lokakarya Fungsional Non Peneliti. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- McCarthy, A. L., Yvonne, C. O., dan Nora, M. O. 2013. Protein Hydrolysates from Agricultural Crops-Bioactivity and Potential for Functional Food Development. *Journal Agriculture*. Volume 3: 112-130.

- Mohapatra dan Patra. 2013. Utilization of Water Hyacinth (*Eichhornia crasipes*) Meal as Partial Replacement for Fish meal on the Growth Performance of *Cyprinus carpio* fry. *International Research Journal of Biological Sciences*. 2(12): 85-89.
- Mursyidi, A. 2000. Bioteknologi dan Masalah Makanan, Minuman, dan Obat. *Jurnal Aplikasi Ilmu- Ilmu Agama*. 1(1): 93-99.
- Nagahama, T., Makiko, H., Takashi, N., dan Koki, H. 1999. *Kluyveromyces nonfermentans* sp. nov., a New Yeast Species Isolated from The Deep Sea. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49: 1899-1905.
- Naiola, E dan Nunuk, W. 2007. Semi Purifikasi dan Karakteristik Enzim Protease *Bacillus* sp. *Berkala Penelitian Hayati*. 13: 51-56.
- Nasseri, A. T., Rasoul, A., Morowvat, M. H., dan Ghasemi. 2011. Single Cell Protein : Production and Process. *American Journal of Food Technology*. 6(2): 103-116
- Noviana, Y., Susi, L., dan Siti, H. R. J. 2012. Karakteristik Kimia dan Mikrobiologi Silase Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) dengan Penambahan Asam Format dan Bakteri Asam Laktat 3B104. *Jurnal Fish technology*. Volume 1, Nomor 1: 55-68.
- Noviyanti, T., Puji, A., dan Winda, R. 2012. Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). *Jurnal Keperawatan Komunis*. 1(1):31-34.
- Nugraha, D., Atmomarsono, U., dan Mahfudz, L.D. 2012. Pengaruh Penambahan Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Fermentasi Dalam Ransum Terhadap Produksi Telur Itik Tegal. *Animal Agricultural Journal*. 1(1):75-85.
- Nurhayati, Betty, S. L., Sri, W., dan Harsi, D. K. 2014. Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Jurnal Agritech*. Volume 34 Nomor 2.: 146-150.
- Nurhayati, T., Ella, S., Cholifah, dan Roni, N. 2014. Optimasi Proses Pembuatan Hidrolisat Jeroan Ikan Kakap Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*. Volume 17 Nomor 1: 42-52.
- Nurjanah, Agoes, M. J., Reza N.U., Shinta, P., dan Taufik, H. 2014. Komposisi Kimia Kupang Merah (*Musculista senhausia*) Segar dan Rebus. *Jurnal Ilmu- Ilmu Perairan, Pesisir, dan Perikanan*. 3(3):241-249.
- Nurul, A., Junus, M., dan Nasich, M. 2013. Pengaruh Penambahan Molase Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Padatan Lumpur Organik Unit Gas Bio. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- 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.

- Prabawati, S. Y. 2005. Intisari Analisis Asam Amino dalam Cumi- Cumi (*Todarodes pacificus*). *Kaunia*. Volume 1, Nomor 2: 169-179.
- Pujawati, E. D. 2006. Pertumbuhan Eceng Gondok (*Eichornia crassipes* Mart. Solm) Pada Air Bekas Penambangan Batubara. *Jurnal Hutan Tropis Borneo*. (18): 94-103.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Pertanian Bogor. Bogor.
- Pusparani, T dan Sudarminto, S. Y. 2014. Pengaruh Fermentasi Alami Pada Chips Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) Terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi jalar. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 2, Nomor 4: 137-147.
- Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Bahan Pengajaran. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganisme Campuran terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *Journal Indonesia Tropical Animal Agriculture*. 28 (2): 90-94.
- Razi, M. A. 2009. Pemanfaatan Hidrolisat Protein Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*), Karagenan, Kitosan, dan Ekstrak Pemphis acidula pada Pembuatan Skin Lotion. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rieuwpassa, F.J., J. Santoso, dan W. Trilaksana. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Kosentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*K. pelamis*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5 (2): 299-309.
- Salamah, E., Tati N., dan Indah, R. W. 2012. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Ezim Papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*. Volume 15 Nomor 1: 9-16.
- Sari, N. K. 2010. Analisa Instrumentasi. Penerbit Yayasan Humaniora. Klaten.
- Sarlin, P. J. 2005. Marine Yeasts as Source of Single Cellprotein and Immunostimulant for Application in Penaeid Prawn Culture Systems. Thesis. Division of Marine Biology, Microbiology and Biochemistry School of Marine Sciences. Cochin University Of Science And Technology. Cochin.
- Sarlin, P. J., dan Rosamma, P. 2013. A Molasses Based Fermentation Medium for Marine Yeast Biomass Production. *International Journal of Research in Marine Sciences*. 2(2): 39-44.
- Savitri, R. D. 2011. Aplikasi Proses Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi dalam Pengolahan *Condiment* Kupang Putih (*Corbula faba* H). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses*. 5(2): 68-74.

- Setyanto, A. E. 2013. Memperkenalkan Kembali Metode Eksperimen dalam Kajian Komunikasi. *Jurnal Ilmu Komunikasi*. Volume 3, Nomor 1: 37-48.
- Shahidi, F. B. J. R. 1994. *Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie Academic and Professional. Glasgow.
- Simanjourang, E., Nia, K., dan Zahidah, H. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Volume 3, Nomor 4: 209-220.
- Sitompul, S. 1997. Komposisi Asam- Asam Amino dari Biji- Biji dan Kacang-Kacangan. Lokakarya Fungsional Non Peneliti. Balai Penelitian Ternak Ciawi. Bogor.
- _____. 2004. Analisis Asam Amino dalam Tepung Ikan dan Bungkil Kedelai. *Buletin Teknik Pertanian*. Volume 9, Nomor 1: 33-37.
- Sittadewi, E.H. 2007. Pengolahan Bahan Organik Eceng Gondok Menjadi Media Tumbuh Untuk Mendukung Pertanian Organik. *Jurnal Teknik Lingkungan*. Volume 8 Nomor 3: 229-234.
- SNI 06-6989.11-2004. Air dan Air Limbah – Bagian 11: Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. Badan Standarisasi Nasional.
- Sotolu, A.O. 2010. Digestibility Value and Nutrient Utilization of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Meal as Plant Protein Supplement in the Diet of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Juveniles. *American-Eurasian Journal Agriculture & Environment Science*. 9(5): 539-544.
- Styawati, N. E., Muhtarudin, dan Liman. 2014. Pengaruh Lama Fermentasi *Trametes* sp. Terhadap Kadar Bahan Kering, Kadar Abu, dan Kadar Serat Kasar Daun Nenas Varietas Smooth cayene. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. Volume 2 Nomor 1: 19-24.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta Bekerjasama dengan Pusat Antar Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sugiyono. 2002. Metode Penelitian Administrasi. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB. Malang. 72 hlm.
- Suprayudi, M. A., Gebbie E., dan Julie, E. 2012. Evaluasi Kualitas Produk Fermentasi Berbagai Bahan Baku Hasil Samping Agroindustri Lokal: Pengaruhnya Terhadap Kecernaan Serta Kinerja Pertumbuhan Juvenil Ikan Mas. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 11(1): 1-10.
- Suprihatin. 2010. Teknologi Fermentasi. UNESA Press. Surabaya.
- Supriyati, Pasaribu, T., Hamid, H., dan Sinurat. 1998. Fermentasi Bungkil Inti Sawit Secara Substrat Padat dengan Menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. Volume 3, Nomor 3:165-170.

- Susanti, E. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15. *Biodiversitas*. Volume 4, Nomor 1: 12-17.
- Susi. 2012. Komposisi Kimia dan Asam Amino pada Tempe Kacang Nagara (*Vigna unguiculata* ssp. *cylindrica*). *Jurnal Agroscientiae*. Volume 19 Nomor 1: 28-36
- Syafiqoh, F. 2014. Analisis Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada Produk Cangkang Kapsul Keras Obat dan Vitamin Menggunakan FTIR dan KCKT. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Tangio, J. S. 2013. Adsorpsi Logam Timbal (Pb) dengan Menggunakan Biomassa Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*). *Jurnal Entropi*. 8(1): 500-506.
- Tham, H. T. 2012. Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*)– Biomass Production, Ensilability and Feeding Value to Growing Cattle. Doctoral Thesis. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Virabalin, R., Kositsup, B., dan Punnapayak, H. (1993). Leaf Protein Concentrate from Water Hyacinth. *Journal of Aquatic Plant Management*. 31:207-209.
- Wardani, A. K., dan Lia, O. N. 2012. Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Hasil Isolasi dari Whey Tahu. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Volume 13, Nomor 3: 149-156.
- Widodo, W. 2010. Pengantar Ilmu Nutrisi Ternak. Buku Ajar Universitas Muhammadiyah Malang. Malang. 134 hlm.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarso, D. 2003. Perubahan Karakteristik Fisik akibat Perbedaan Umur, Macam Otot, Waktu, dan Temperatur Perebusan pada Daging Ayam Kampung. *Jurnal Indonesia Tropical Animal Agriculture*. 28 (3): 119-132.
- Witono, Y., Aulanni'am, Achmas, S., dan Simon, B. W. 2007. Karakterisasi Hidrolisat Protein Kedelai Hasil Hidrolisis Menggunakan Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*). *Berkala Penelitian Hayati*. 13: 7–13.
- Wusqo, I. U. 2014. Upaya Mendorong Kemampuan Berfikir Kreatif Mahasiswa dalam Inovasi Konservasi Pangan. *Indonesian Journal of Conservation*. 3(1): 75-82.
- Yuliasari, N., Herlina, dan Willian, A. 2011. Pengaruh Asam Asetat terhadap Konsentrasi Fe, Cu dan Protein Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*). *Jurnal Penelitian Sains*. Volume 14 Nomor 2: 28-32.
- Yunianto, W. T., Lilik, E. R., Djalal, R., dan Khothibul, U. A. A. 2014. Efek Pengeringan dengan Sinar Matahari dan Oven Terhadap Emulsifikasi, Daya Serap Minyak dan Daya Buih pada Konsentrat

Protein Paru Sapi. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.

Yuniasari, D. 2009. Pengaruh Pemberian Bakteri Nitrifikasi dan Denitrifikasi serta Molase dengan C/N Rasio Berbeda terhadap Profil Kualitas Air, Kelangsungan Hidup, dan Pertumbuhan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

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.

Zaky, A. S., Gregory, A. T., Zakaria, Y. D., dan Chenyu, D. 2014. Marine Yeast Isolation and Industrial Application. *Yeast Research*. 14: 813-825.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan dalam Kultur Khamir Laut

Air laut = 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 dalam kultur khamir laut 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 dalam kultur khamir laut 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 dalam kultur khamir laut sebanyak 2 mL.

Lampiran 2. Perhitungan Komposisi Media Pengenceran Kultur Khamir Laut

Air Laut = 50 mL

Gula pasir 0,25%

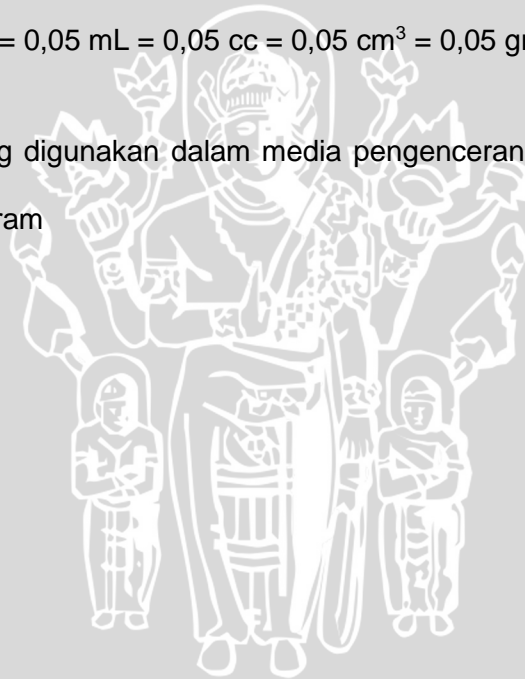
$$= \frac{0,25}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

Jadi, gula pasir yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut yaitu sebanyak 0,125 gram

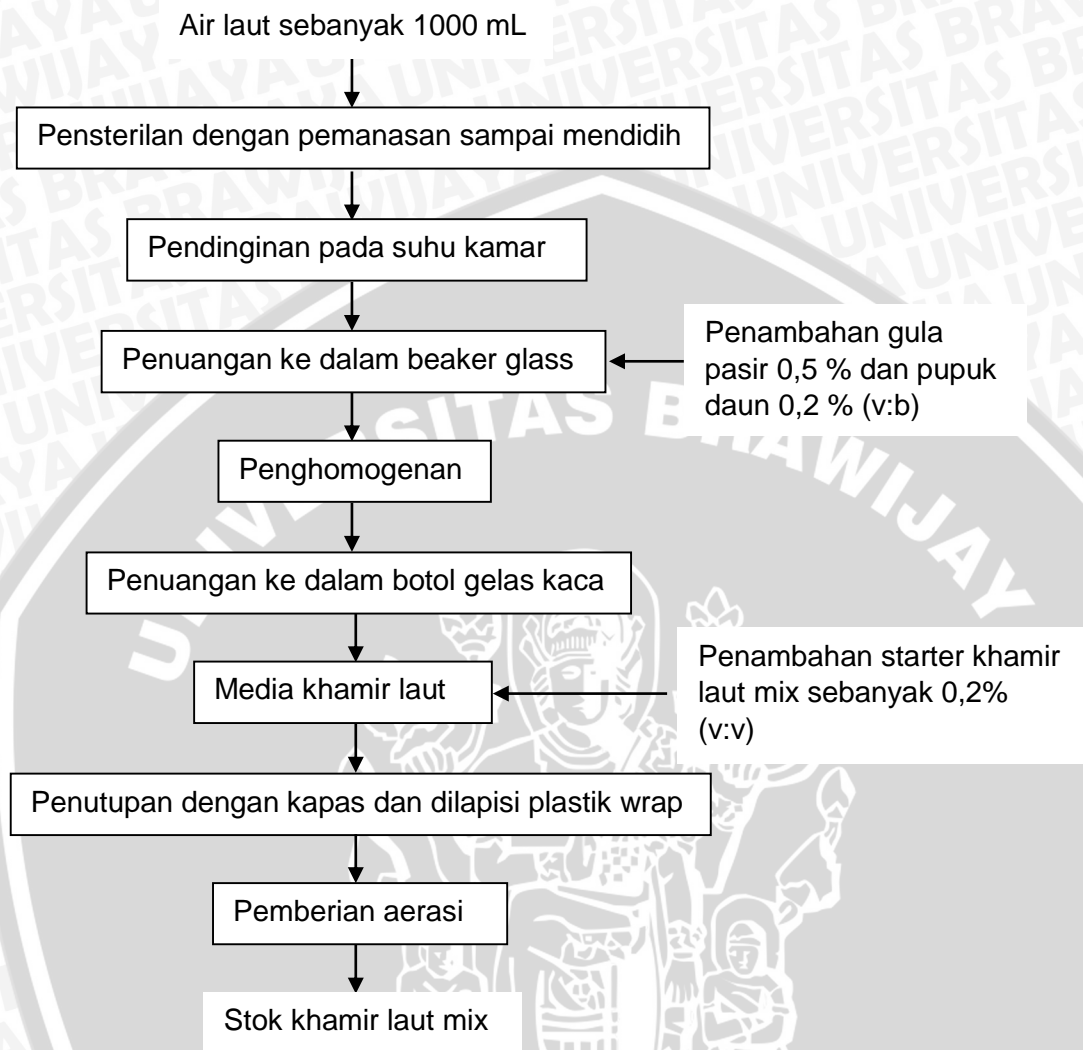
Pupuk daun 0,1%

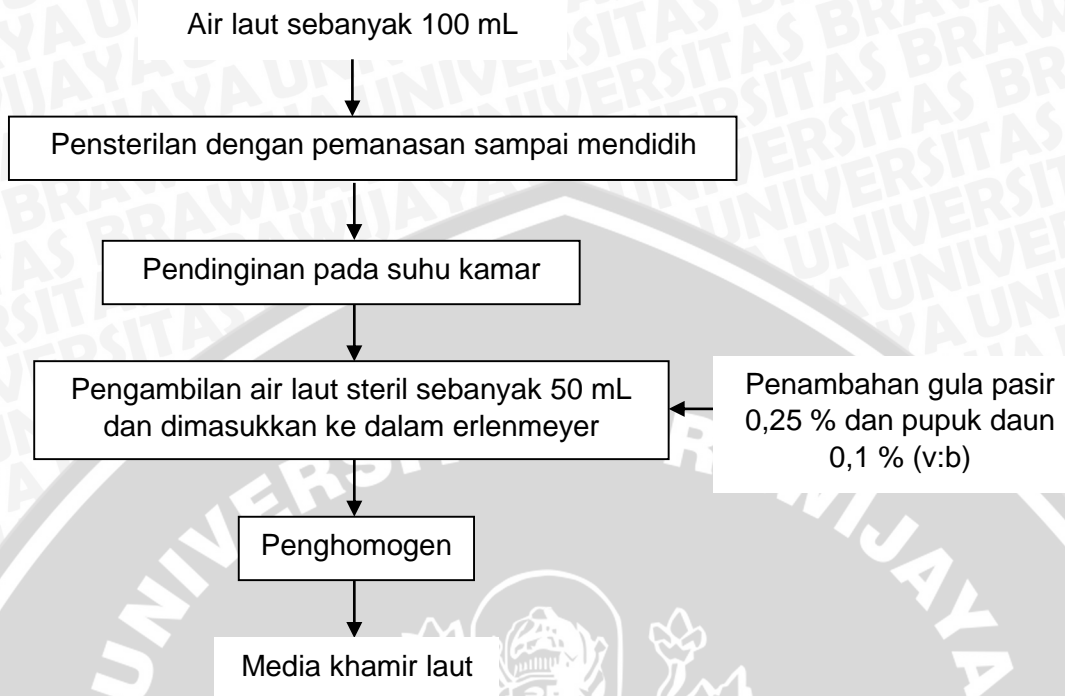
$$= \frac{0,1}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,05 \text{ mL} = 0,05 \text{ cc} = 0,05 \text{ cm}^3 = 0,05 \text{ gram}$$

Jadi, pupuk daun yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut yaitu sebanyak 0,05 gram



Lampiran 3. Diagram Alir Kultur Khamir Laut



Lampiran 4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut

Lampiran 5. 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 6. 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

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

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

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

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

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

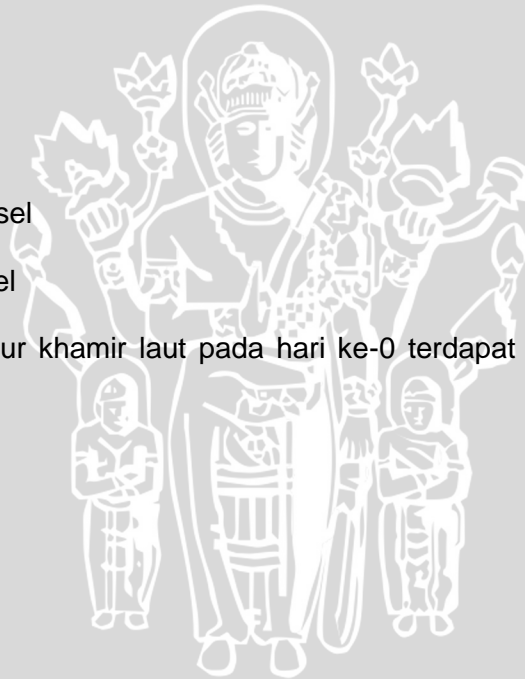
$$10^{-2} = 200828 \text{ sel}$$

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

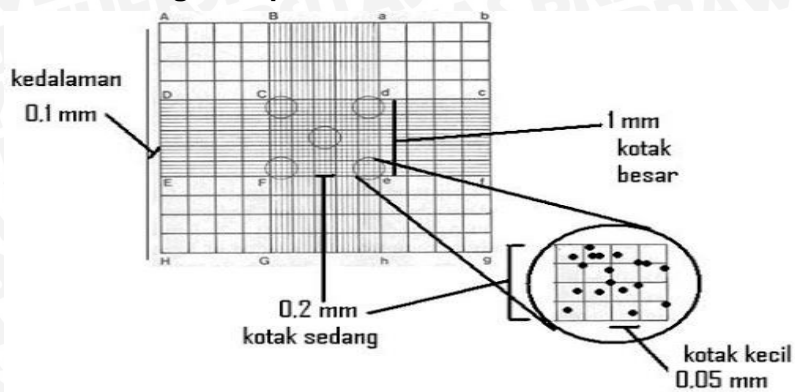
$$1 \text{ mL} = 2,00828 \times 10^6 \text{ sel}$$

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

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



Lampiran 7. 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

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

$$= 1,1 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-12

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

$$= 3,6 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke- 24

$$\text{Jumlah sel/mL} = 23,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$$

$$= 5,8 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-36

$$\text{Jumlah sel/mL} = 28,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$$

$$= 7,2 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-48

$$\text{Jumlah sel/mL} = 39,4 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$$

$$= 9,85 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-60

$$\text{Jumlah sel/mL} = 50,6 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$$

$$= 12,65 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-72

$$\text{Jumlah sel/mL} = 55,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$$

$$= 13,8 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-84

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

$$= 10,7 \times 10^{10} \text{ sel/mL}$$

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

Pengamatan jam ke-96





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

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


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

Lampiran 8. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan

- Penelitian Pendahuluan Pertama

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

- Penelitian Pendahuluan Kedua

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

Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 25 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 3 hari
- Berwarna hijau kecoklatan
- Berbau busuk



Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 50 mL dan 1,25 mL khamir laut

- Bertahan selama 4 hari
- Berwarna coklat muda
- Berbau busuk



Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 50 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 4 hari
- Berwarna coklat muda
- Berbau busuk



- Penelitian Pendahuluan Ketiga

Keterangan	Foto Penelitian
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 75 mL dan 1,25 mL khamir laut</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bertahan selama 4 hari • Berwarna coklat tua • Setelah 4 hari berbau busuk 	
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 75 mL dan 2,5 mL khamir laut</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bertahan selama 4 hari • Berwarna coklat tua • Setelah 4 hari berbau busuk 	
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 100 mL dan 1,25 mL khamir laut</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bertahan selama 6 hari • Berwarna coklat tua • Setelah 6 hari berbau busuk dan tumbuh jamur 	



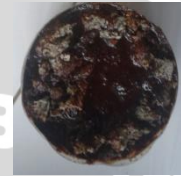
Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 100 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat tua
- Setelah 6 hari berbau busuk, volume cairan habis, dan tumbuh jamur



Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 125 mL dan 1,25 mL khamir laut

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat tua
- Setelah 6 hari berbau busuk, volume cairan habis, dan tumbuh jamur



Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 125 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat tua
- Setelah 6 hari berbau busuk, volume cairan habis, dan tumbuh jamur



Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 150 mL dan 1,25 mL khamir laut

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat tua
- Setelah 6 hari berbau busuk, volume cairan habis, dan tumbuh jamur









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

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat tua
- Setelah 6 hari berbau busuk, volume cairan habis, dan tumbuh jamur

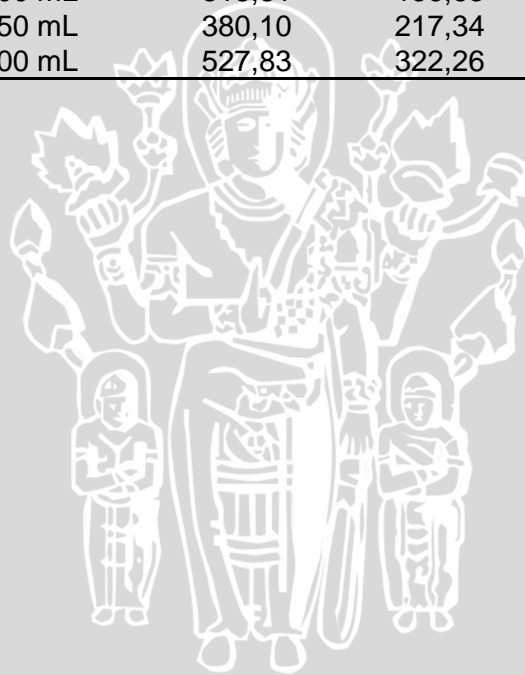


- Penelitian Pendahuluan Keempat

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

Lampiran 9. Data Pengamatan Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan

Perlakuan		Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Rendemen Cairan
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar			
3 Hari	200 mL	318,99	225,39	70,66
	250 mL	379,78	281,40	74,10
	300 mL	527,49	387,02	73,37
6 Hari	200 mL	318,56	227,95	71,56
	250 mL	380,39	286,16	75,23
	300 mL	527,84	401,67	76,10
9 Hari	200 mL	318,74	184,59	57,91
	250 mL	380,13	252,78	66,50
	300 mL	527,84	364,45	69,05
12 Hari	200 mL	318,81	156,63	49,13
	250 mL	380,10	217,34	57,18
	300 mL	527,83	322,26	61,05



Lampiran 10. Data Pengamatan pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan

Lama Fermentasi	Volume Molase	Hasil pH		
		Campuran (Filtrat dan Residu)	Residu	Filtrat
0	200 mL	4,72	4,74	4,70
	250 mL	4,72	4,73	4,70
	300 mL	4,70	4,71	4,68
3	200 mL	4,71	4,74	4,68
	250 mL	4,72	4,73	4,67
	300 mL	4,70	4,71	4,67
6	200 mL	4,70	4,73	4,63
	250 mL	4,71	4,72	4,65
	300 mL	4,69	4,71	4,64
9	200 mL	4,70	4,73	4,59
	250 mL	4,71	4,70	4,58
	300 mL	4,69	4,70	4,55
12	200 mL	4,70	4,73	4,57
	250 mL	4,70	4,70	4,56
	300 mL	4,69	4,70	4,53

Lampiran 11. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Hidrolisat Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan		Hasil Analisis								
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Rendemen	Kadar Air (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Karbohidrat (%)	pH	Kapasitas Emulsi (%)	Daya Buih (mL)
0 Hari (Kontrol)	200 mL	-	19,06	3,70	19,07	14,13	44,04	4,48	53,52	0,10
	250 mL	-	20,17	3,36	18,66	15,29	42,51	4,45	53,99	0,11
	300 mL	-	20,77	3,00	18,12	15,82	42,29	4,43	54,80	0,15
3 Hari	200 mL	21,57	17,78	3,31	18,75	15,95	44,21	4,45	52,91	0,11
	250 mL	25,53	18,44	3,12	18,49	17,16	42,79	4,40	53,68	0,17
	300 mL	23,71	19,52	2,81	17,99	17,57	42,11	4,39	54,32	0,20
6 Hari	200 mL	22,11	15,69	2,77	18,30	17,67	45,57	4,35	52,15	0,26
	250 mL	25,85	16,49	2,87	18,38	19,41	42,85	4,34	52,91	0,31
	300 mL	29,85	17,17	2,66	17,62	18,71	43,84	4,32	53,23	0,31
9 Hari	200 mL	13,71	14,48	2,54	17,85	19,46	45,67	4,32	51,52	0,26
	250 mL	17,90	14,74	2,41	17,82	19,88	45,15	4,31	51,84	0,33
	300 mL	19,01	15,49	2,02	17,36	19,90	45,22	4,29	52,91	0,33
12 Hari	200 mL	10,58	13,05	2,18	17,73	20,55	46,49	4,30	50,76	0,29
	250 mL	13,74	13,19	2,02	17,58	21,32	45,88	4,29	51,69	0,34
	300 mL	14,87	13,25	1,78	17,11	21,49	46,37	4,27	52,15	0,35

Lampiran 12. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
3 Hari	200 mL	21,78	21,59	21,35	64,72	21,57	0,21
	250 mL	25,25	25,91	25,42	76,58	25,53	0,34
	300 mL	23,68	23,91	23,55	71,14	23,71	0,18
6 Hari	200 mL	22,19	22,05	22,09	66,33	22,11	0,07
	250 mL	25,87	25,81	25,89	77,56	25,85	0,04
	300 mL	29,90	29,76	29,90	89,56	29,85	0,08
9 Hari	200 mL	13,68	13,85	13,60	41,13	13,71	0,13
	250 mL	17,85	17,90	17,94	53,69	17,90	0,04
	300 mL	19,07	18,74	19,22	57,04	19,01	0,25
12 Hari	200 mL	10,38	10,52	10,82	31,73	10,58	0,22
	250 mL	13,71	13,87	13,64	41,23	13,74	0,12
	300 mL	14,96	14,79	14,86	44,60	14,87	0,08
Total		238,33	238,71	238,29	715,33	238,44	1,77

Perlakuan	Kelompok				Total
	3	6	9	12	
200 mL	64,72	66,33	41,13	31,73	203,92
250 mL	76,58	77,56	53,69	41,23	249,06
300 mL	71,14	89,56	57,04	44,60	262,35
Total	212,45	233,46	151,86	117,56	715,33

FK	11370,93
JK Total	3988,58
JK Perlakuan	125,08
JK Kelompok	3797,83
JK Galat	65,67

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	3	3797,83	1265,94	578,34	2,92	4,51
Perlakuan	2	125,08	62,54	28,57	3,32	5,39
Galat	30	65,67	2,19			
Total	35	3988,58				

Perlakuan	Kelompok				Total	Rerata	Std.Dev
	3	6	9	12			
200 mL	21,57	22,11	13,71	10,58	67,97	16,99	5,75
250 mL	25,53	25,85	17,90	13,74	83,02	20,76	5,95
300 mL	23,71	29,85	19,01	14,87	87,45	21,86	6,44
Total	70,82	77,82	50,62	39,19	238,44		
Rerata	23,61	25,94	16,87	13,06			
Std.Dev	1,98	3,87	2,80	2,23			

Nilai t Tabel	1,70
BNT 5%	2,05

Perlakuan	Rataan	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		16,99	20,76	21,86	
200 mL	16,99	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	20,76	3,76	0,00	0,00	b
300 mL	21,86	4,87	1,10	0,00	b

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	3 hari	6 hari	Notasi
		13,06	16,87	23,61	25,94	
12 hari	13,06	0,00	0,00	0,00	0,00	a
9 hari	16,87	3,81	0,00	0,00	0,00	b
3 hari	23,61	10,54	6,73	0,00	0,00	c
6 hari	25,94	12,88	9,07	2,33	0,00	d

Lampiran 13. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	19,04	18,98	19,17	57,18	19,06	0,09
	250 mL	20,42	20,05	20,05	60,52	20,17	0,21
	300 mL	20,70	20,78	20,85	62,32	20,77	0,07
3 Hari	200 mL	17,77	17,88	17,71	53,35	17,78	0,09
	250 mL	18,28	18,30	18,73	55,31	18,44	0,25
	300 mL	19,39	19,42	19,75	58,56	19,52	0,20
6 Hari	200 mL	15,97	15,34	15,75	47,06	15,69	0,32
	250 mL	16,38	16,26	16,83	49,47	16,49	0,30
	300 mL	17,09	17,12	17,30	51,51	17,17	0,12
9 Hari	200 mL	14,45	14,40	14,58	43,43	14,48	0,09
	250 mL	14,66	14,71	14,86	44,23	14,74	0,11
	300 mL	15,40	15,38	15,70	46,47	15,49	0,18
12 Hari	200 mL	12,84	12,97	13,35	39,15	13,05	0,27
	250 mL	13,09	13,11	13,37	39,57	13,19	0,15
	300 mL	13,05	13,44	13,26	39,75	13,25	0,19
Total		248,53	248,12	251,24	747,89	249,30	2,64

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	57,18	53,35	47,06	43,43	39,15	240,18
250 mL	60,52	55,31	49,47	44,23	39,57	249,10
300 mL	62,32	58,56	51,51	46,47	39,75	258,61
Total	180,03	167,22	148,04	134,14	118,47	747,89

FK	12429,77
JK Total	287,17
JK Perlakuan	11,33
JK Kelompok	271,88
JK Galat	3,96

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	271,88	67,97	652,74	2,62	3,86
Perlakuan	2	11,33	5,67	54,41	3,24	5,21
Galat	38	3,96	0,10			
Total	44	287,17				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	19,06	17,78	15,69	14,48	13,05	80,06	16,01	2,43
250 mL	20,17	18,44	16,49	14,74	13,19	83,03	16,61	2,79
300 mL	20,77	19,52	17,17	15,49	13,25	86,20	17,24	3,03
Total	60,01	55,74	49,35	44,71	39,49	249,30		
Rerata	20,00	18,58	16,45	14,90	13,16			
Std.Dev	0,87	0,88	0,74	0,53	0,10			

Nilai t Tabel	1,69
BNT 5%	0,44

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		16,01	16,61	17,24	
200 mL	16,01	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	16,61	0,59	0,00	0,00	b
300 mL	17,24	1,23	0,63	0,00	c

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		13,16	14,90	16,45	18,58	20,00	
12 hari	13,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
9 hari	14,90	1,74	0,00	0,00	0,00	0,00	b
6 hari	16,45	3,29	1,54	0,00	0,00	0,00	c
3 hari	18,58	5,42	3,68	2,13	0,00	0,00	d
0 hari	20,00	6,84	5,10	3,55	1,42	0,00	e

Lampiran 14. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	3,63	3,60	3,87	11,10	3,70	0,15
	250 mL	3,38	3,49	3,22	10,09	3,36	0,13
	300 mL	2,95	3,01	3,02	8,99	3,00	0,04
3 Hari	200 mL	3,23	3,28	3,42	9,93	3,31	0,10
	250 mL	3,06	3,17	3,13	9,36	3,12	0,05
	300 mL	2,76	2,94	2,74	8,43	2,81	0,11
6 Hari	200 mL	2,72	2,76	2,84	8,31	2,77	0,06
	250 mL	2,97	2,72	2,91	8,61	2,87	0,13
	300 mL	2,67	2,66	2,64	7,97	2,66	0,02
9 Hari	200 mL	2,52	2,54	2,57	7,62	2,54	0,02
	250 mL	2,50	2,40	2,33	7,24	2,41	0,08
	300 mL	2,05	2,04	1,98	6,07	2,02	0,04
12 Hari	200 mL	2,25	2,09	2,19	6,54	2,18	0,08
	250 mL	1,96	2,11	2,00	6,07	2,02	0,08
	300 mL	1,78	1,78	1,79	5,35	1,78	0,00
Total		40,43	40,59	40,65	121,67	40,56	1,09

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	11,10	9,93	8,31	7,62	6,54	43,51
250 mL	10,09	9,36	8,61	7,24	6,07	41,36
300 mL	8,99	8,43	7,97	6,07	5,35	36,80
Total	30,18	27,72	24,89	20,93	17,95	121,67

FK	328,97
JK Total	13,00
JK Perlakuan	1,56
JK Kelompok	10,91
JK Galat	0,53

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	10,91	2,73	196,53	2,62	3,86
Perlakuan	2	1,56	0,78	56,26	3,24	5,21
Galat	38	0,53	0,01			
Total	44	13,00				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	3,70	3,31	2,77	2,54	2,18	14,50	2,90	0,61
250 mL	3,36	3,12	2,87	2,41	2,02	13,79	2,76	0,54
300 mL	3,00	2,81	2,66	2,02	1,78	12,27	2,45	0,52
Total	10,06	9,24	8,30	6,98	5,98	40,56		
Rerata	3,35	3,08	2,77	2,33	1,99			
Std.Dev	0,35	0,25	0,11	0,27	0,20			

Nilai t Tabel	1,69
BNT 5%	0,16

Perlakuan	Rerata	300 mL	250 mL	200 mL	Notasi
		2,45	2,76	2,90	
300 mL	2,45	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	2,76	0,30	0,00	0,00	b
200 mL	2,90	0,45	0,14	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		1,99	2,33	2,77	3,08	3,35	
12 hari	1,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
9 hari	2,33	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	b
6 hari	2,77	0,77	0,44	0,00	0,00	0,00	c
3 hari	3,08	1,08	0,75	0,31	0,00	0,00	d
0 hari	3,35	1,36	1,03	0,59	0,27	0,00	e

Lampiran 15. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	13,75	13,96	14,67	42,38	14,13	0,48
	250 mL	15,35	15,31	15,21	45,87	15,29	0,07
	300 mL	16,09	15,38	16,00	47,47	15,82	0,38
3 Hari	200 mL	15,83	15,94	16,09	47,85	15,95	0,13
	250 mL	17,49	16,80	17,19	51,49	17,16	0,35
	300 mL	17,88	17,37	17,47	52,72	17,57	0,27
6 Hari	200 mL	17,48	17,47	18,07	53,01	17,67	0,34
	250 mL	19,24	19,57	19,42	58,23	19,41	0,17
	300 mL	18,79	19,42	17,93	56,14	18,71	0,75
9 Hari	200 mL	19,41	19,44	19,54	58,39	19,46	0,07
	250 mL	20,02	19,47	20,16	59,65	19,88	0,36
	300 mL	19,51	20,06	20,13	59,69	19,90	0,34
12 Hari	200 mL	20,65	20,29	20,71	61,64	20,55	0,23
	250 mL	20,65	21,53	21,47	63,65	21,22	0,49
	300 mL	21,53	21,37	21,59	64,48	21,49	0,11
Total		273,67	273,38	275,64	822,68	274,23	4,55

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	42,38	47,85	53,01	58,39	61,64	263,28
250 mL	45,87	51,49	58,23	59,65	63,65	278,89
300 mL	47,47	52,72	56,14	59,69	64,48	280,51
Total	135,73	152,06	167,39	177,74	189,77	822,68

FK	15040,22
JK Total	219,46
JK Perlakuan	12,07
JK Kelompok	200,55
JK Galat	6,83

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	200,55	50,14	278,80	2,62	3,86
Perlakuan	2	12,07	6,04	33,56	3,24	5,21
Galat	38	6,83	0,18			
Total	44	219,46				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	14,13	15,95	17,67	19,46	20,55	87,76	17,55	2,59
250 mL	15,29	17,16	19,41	19,88	21,22	92,96	18,59	2,35
300 mL	15,82	17,57	18,71	19,90	21,49	93,50	18,70	2,17
Total	45,24	50,69	55,80	59,25	63,26	274,23		
Rerata	15,08	16,90	18,60	19,75	21,09			
Std.Dev	0,87	0,84	0,88	0,25	0,49			

Nilai t Tabel	1,69
BNT 5%	0,58

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		17,55	18,59	18,70	
200 mL	17,55	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	18,59	1,04	0,00	0,00	b
300 mL	18,70	1,15	0,11	0,00	b

Kelompok	Rerata	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		15,08	16,90	18,60	19,75	21,09	
0 hari	15,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
3 hari	16,90	1,81	0,00	0,00	0,00	0,00	b
6 hari	18,60	3,52	1,70	0,00	0,00	0,00	c
9 hari	19,75	4,67	2,85	1,15	0,00	0,00	d
12 hari	21,09	6,01	4,19	2,49	1,34	0,00	e

Lampiran 16. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	19,04	19,18	19,00	57,22	19,07	0,10
	250 mL	18,60	18,69	18,70	55,98	18,66	0,06
	300 mL	18,03	18,28	18,06	54,36	18,12	0,14
3 Hari	200 mL	18,72	18,80	18,73	56,24	18,75	0,04
	250 mL	18,48	18,49	18,51	55,47	18,49	0,01
	300 mL	17,98	18,01	17,97	53,97	17,99	0,02
6 Hari	200 mL	18,20	18,40	18,30	54,90	18,30	0,10
	250 mL	18,39	18,37	18,39	55,15	18,38	0,01
	300 mL	17,58	17,65	17,62	52,85	17,62	0,03
9 Hari	200 mL	17,86	17,89	17,80	53,55	17,85	0,05
	250 mL	17,84	17,81	17,80	53,45	17,82	0,02
	300 mL	17,37	17,37	17,36	52,09	17,36	0,00
12 Hari	200 mL	17,72	17,75	17,73	53,20	17,73	0,02
	250 mL	17,58	17,59	17,58	52,75	17,58	0,01
	300 mL	17,12	17,10	17,11	51,32	17,11	0,01
Total		270,49	271,37	270,65	812,51	270,84	0,62

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	57,22	56,24	54,90	53,55	53,20	275,12
250 mL	55,98	55,47	55,15	53,45	52,75	272,79
300 mL	54,36	53,97	52,85	52,09	51,32	264,60
Total	167,57	165,68	162,90	159,09	157,27	812,51

FK	14670,54
JK Total	12,82
JK Perlakuan	4,07
JK Kelompok	8,32
JK Galat	0,43

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	8,32	2,08	185,33	2,62	3,86
Perlakuan	2	4,07	2,04	181,30	3,24	5,21
Galat	38	0,43	0,01			
Total	44	12,82				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	19,07	18,75	18,30	17,85	17,73	91,71	18,34	0,57
250 mL	18,66	18,49	18,38	17,82	17,58	90,93	18,19	0,46
300 mL	18,12	17,99	17,62	17,36	17,11	88,20	17,64	0,42
Total	55,86	55,23	54,30	53,03	52,42	270,84		
Rerata	18,62	18,41	18,10	17,68	17,47			
Std.Dev	0,48	0,39	0,42	0,27	0,33			

Nilai t Tabel	1,69
BNT 5%	0,14

Perlakuan	Rerata	300 mL	250 mL	200 mL	Notasi
		17,64	18,19	18,34	
300 mL	17,64	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	18,19	0,55	0,00	0,00	b
200 mL	18,34	0,70	0,15	0,00	c

Kelompok	Rerata	Hari					Notasi
		12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	
		17,47	17,68	18,10	18,41	18,62	
12 hari	17,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
9 hari	17,68	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	b
6 hari	18,10	0,63	0,42	0,00	0,00	0,00	c
3 hari	18,41	0,93	0,73	0,31	0,00	0,00	d
0 hari	18,62	1,14	0,94	0,52	0,21	0,00	e

Lampiran 17. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermen	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	44,54	44,27	43,30	132,11	44,04	0,65
	250 mL	42,26	42,46	42,82	127,54	42,51	0,28
	300 mL	42,23	42,55	42,07	126,86	42,29	0,24
3 Hari	200 mL	44,46	44,11	44,07	132,63	44,21	0,21
	250 mL	42,69	43,24	42,45	128,37	42,79	0,40
	300 mL	41,99	42,26	42,08	126,33	42,11	0,14
6 Hari	200 mL	45,63	46,04	45,04	136,71	45,57	0,50
	250 mL	43,03	43,07	42,45	128,54	42,85	0,35
	300 mL	43,03	43,16	44,50	130,69	43,56	0,82
9 Hari	200 mL	45,75	45,74	45,51	137,00	45,67	0,13
	250 mL	44,99	45,60	44,85	135,44	45,15	0,40
	300 mL	45,68	45,16	44,83	135,67	45,22	0,42
12 Hari	200 mL	46,55	46,90	46,01	139,46	46,49	0,45
	250 mL	46,40	45,67	45,58	137,64	45,88	0,45
	300 mL	46,52	46,32	46,26	139,10	46,37	0,14
Total		665,73	666,55	661,81	1994,09	664,70	5,60

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	132,11	132,63	136,71	137,00	139,46	677,92
250 mL	127,54	128,37	128,54	135,44	137,64	657,53
300 mL	126,86	126,33	130,69	135,67	139,10	658,64
Total	386,50	387,33	395,94	408,11	416,21	1994,09

FK	88364,09
JK Total	106,26
JK Perlakuan	17,52
JK Kelompok	75,64
JK Galat	13,10

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	75,64	18,91	54,86	2,62	3,86
Perlakuan	2	17,52	8,76	25,41	3,24	5,21
Galat	38	13,10	0,34			
Total	44	106,26				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	44,04	44,21	45,57	45,67	46,49	225,97	45,19	1,04
250 mL	42,51	42,79	42,85	45,15	45,88	219,18	43,84	1,56
300 mL	42,29	42,11	43,56	45,22	46,37	219,55	43,91	1,85
Total	128,83	129,11	131,98	136,04	138,74	664,70		
Rerata	42,94	43,04	43,99	45,35	46,25			
Std.Dev	0,95	1,07	1,41	0,28	0,32			

Nilai t Tabel	1,69
BNT 5%	0,81

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		43,84	43,91	45,19	
200 mL	43,84	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	43,91	0,07	0,00	0,00	a
300 mL	45,19	1,36	1,29	0,00	b

Kelompok	Rerata	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		42,94	43,04	43,99	45,35	46,25	
0 hari	42,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
3 hari	43,04	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	a
6 hari	43,99	1,05	0,96	0,00	0,00	0,00	b
9 hari	45,35	2,40	2,31	1,35	0,00	0,00	c
12 hari	46,25	3,30	3,21	2,25	0,90	0,00	d

Lampiran 18. Data Pengamatan dan Analisis Data pH Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	4,48	4,47	4,48	13,43	4,48	0,01
	250 mL	4,46	4,46	4,43	13,35	4,45	0,02
	300 mL	4,42	4,41	4,45	13,28	4,43	0,02
3 Hari	200 mL	4,47	4,45	4,42	13,34	4,45	0,03
	250 mL	4,37	4,41	4,41	13,19	4,40	0,02
	300 mL	4,40	4,39	4,39	13,18	4,39	0,01
6 Hari	200 mL	4,36	4,35	4,33	13,04	4,35	0,02
	250 mL	4,33	4,37	4,32	13,02	4,34	0,03
	300 mL	4,32	4,34	4,30	12,96	4,32	0,02
9 Hari	200 mL	4,34	4,32	4,31	12,97	4,32	0,02
	250 mL	4,32	4,31	4,30	12,93	4,31	0,01
	300 mL	4,29	4,28	4,29	12,86	4,29	0,01
12 Hari	300 mL	4,31	4,30	4,30	12,91	4,30	0,01
	250 mL	4,30	4,28	4,28	12,86	4,29	0,01
	300 mL	4,28	4,26	4,27	12,81	4,27	0,01
Total		65,45	65,40	65,28	196,13	65,38	0,22

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	13,43	13,34	13,04	12,97	12,91	65,69
250 mL	13,35	13,19	13,02	12,93	12,86	65,35
300 mL	13,28	13,18	12,96	12,86	12,81	65,09
Total	40,06	39,71	39,02	38,76	38,58	196,13

FK	854,82
JK Total	0,20
JK Perlakuan	0,01
JK Kelompok	0,18
JK Galat	0,01

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	0,18	0,04	173,14	2,62	3,86
Perlakuan	2	0,01	0,01	23,41	3,24	5,21
Galat	38	0,01	0,00			
Total	44	0,20				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	4,48	4,45	4,35	4,32	4,30	21,90	4,38	0,08
250 mL	4,45	4,40	4,34	4,31	4,29	21,78	4,36	0,07
300 mL	4,43	4,39	4,32	4,29	4,27	21,70	4,34	0,07
Total	13,35	13,24	13,01	12,92	12,86	65,38		
Rerata	4,45	4,41	4,34	4,31	4,29			
Std.Dev	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02			

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

Perlakuan	Rerata	300 mL	250 mL	200 mL	Notasi
300 mL	4,34	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	4,36	0,02	0,00	0,00	a
200 mL	4,38	0,04	0,02	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
12 hari	4,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
9 hari	4,31	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	a
6 hari	4,34	0,05	0,03	0,00	0,00	0,00	b
3 hari	4,41	0,13	0,11	0,08	0,00	0,00	c
0 hari	4,45	0,16	0,14	0,12	0,04	0,00	d

Lampiran 19. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Kontrol dan Pasta Hidrolisat Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	53,21	54,13	53,21	160,55	53,52	0,53
	250 mL	53,70	54,63	53,64	161,97	53,99	0,56
	300 mL	54,63	55,14	54,63	164,40	54,80	0,29
3 Hari	200 mL	52,78	53,21	52,73	158,72	52,91	0,27
	250 mL	53,64	53,70	53,70	161,04	53,68	0,04
	300 mL	54,21	54,63	54,13	162,96	54,32	0,27
6 Hari	200 mL	51,85	52,29	52,29	156,44	52,15	0,26
	250 mL	52,29	53,21	53,21	158,72	52,91	0,53
	300 mL	52,73	53,70	53,27	159,70	53,23	0,49
9 Hari	200 mL	51,35	51,82	51,38	154,55	51,52	0,26
	250 mL	51,38	52,29	51,85	155,52	51,84	0,46
	300 mL	52,73	53,21	52,78	158,72	52,91	0,27
12 Hari	200 mL	52,73	51,38	50,45	154,55	51,52	1,15
	250 mL	51,85	51,85	51,38	155,08	51,69	0,27
	300 mL	51,38	52,78	52,29	156,45	52,15	0,71
Total		790,45	797,98	790,94	2379,36	793,12	6,35

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	160,55	158,72	156,44	154,55	154,55	784,81
250 mL	161,97	161,04	158,72	155,52	155,08	792,33
300 mL	164,40	162,96	159,70	158,72	156,45	802,23
Total	486,92	482,72	474,86	468,78	466,08	2379,36

FK	125808,33
JK Total	53,64
JK Perlakuan	10,18
JK Kelompok	35,13
JK Galat	8,33

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	35,13	8,78	40,04	2,62	3,86
Perlakuan	2	10,18	5,09	23,21	3,24	5,21
Galat	38	8,33	0,22			
Total	44	53,64				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	53,52	52,91	52,15	51,52	51,52	261,60	52,32	0,88
250 mL	53,99	53,68	52,91	51,84	51,69	264,11	52,82	1,04
300 mL	54,80	54,32	53,23	52,91	52,15	267,41	53,48	1,07
Total	162,31	160,91	158,29	156,26	155,36	793,12		
Rerata	54,10	53,64	52,76	52,09	51,79			
Std.Dev	0,65	0,71	0,56	0,73	0,33			

Nilai t Tabel	1,69
BNT 5%	0,64

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		52,32	52,82	53,48	
200 mL	52,32	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	52,82	0,50	0,00	0,00	a
300 mL	53,48	1,16	0,66	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		51,79	52,09	52,76	53,64	54,10	
12 hari	51,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
9 hari	52,09	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00	a
6 hari	52,76	0,98	0,67	0,00	0,00	0,00	b
3 hari	53,64	1,85	1,55	0,87	0,00	0,00	c
0 hari	54,10	2,32	2,02	1,34	0,47	0,00	d

Lampiran 20. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200 mL	0,09	0,10	0,09	0,29	0,10	0,01
	250 mL	0,12	0,10	0,11	0,33	0,11	0,01
	300 mL	0,16	0,14	0,16	0,46	0,15	0,01
3 Hari	200 mL	0,11	0,11	0,11	0,33	0,11	0,00
	250 mL	0,17	0,16	0,17	0,50	0,17	0,01
	300 mL	0,20	0,19	0,20	0,59	0,20	0,01
6 Hari	200 mL	0,26	0,25	0,26	0,77	0,26	0,00
	250 mL	0,31	0,31	0,29	0,92	0,31	0,01
	300 mL	0,32	0,31	0,31	0,94	0,31	0,01
9 Hari	200 mL	0,26	0,25	0,27	0,79	0,26	0,01
	250 mL	0,33	0,32	0,33	0,99	0,33	0,00
	300 mL	0,32	0,34	0,33	0,99	0,33	0,01
12 Hari	200 mL	0,30	0,28	0,30	0,88	0,29	0,01
	250 mL	0,35	0,33	0,34	1,02	0,34	0,01
	300 mL	0,35	0,33	0,35	1,04	0,35	0,01
Total		3,66	3,52	3,63	10,82	3,61	0,12

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	0,29	0,33	0,77	0,79	0,88	3,05
250 mL	0,33	0,50	0,92	0,99	1,02	3,75
300 mL	0,46	0,59	0,94	0,99	1,04	4,02
Total	1,08	1,42	2,62	2,77	2,94	10,82

FK	2,60
JK Total	0,36
JK Perlakuan	0,03
JK Kelompok	0,32
JK Galat	0,01

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Kelompok	4	0,32	0,08	542,26	2,62	3,86
Perlakuan	2	0,03	0,02	110,75	3,24	5,21
Galat	38	0,01	0,00			
Total	44	0,36				

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	0,10	0,11	0,26	0,26	0,29	1,02	0,20	0,09
250 mL	0,11	0,17	0,31	0,33	0,34	1,25	0,25	0,10
300 mL	0,15	0,20	0,31	0,33	0,35	1,34	0,27	0,09
Total	0,36	0,47	0,87	0,92	0,98	3,61		
Rerata	0,12	0,16	0,29	0,31	0,33			
Std.Dev	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03			

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

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		0,20	0,25	0,27	
200 mL	0,20	0,00	0,00	0,00	a
250 mL	0,25	0,05	0,00	0,00	b
300 mL	0,27	0,06	0,02	0,00	b

Kelompok	Rerata	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
	0,12	0,12	0,16	0,29	0,31	0,33	
0 hari	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a
3 hari	0,16	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	b
6 hari	0,29	0,17	0,13	0,00	0,00	0,00	c
9 hari	0,31	0,19	0,15	0,02	0,00	0,00	c
12 hari	0,33	0,21	0,17	0,03	0,02	0,00	d

Lampiran 21. Data Pengamatan dan Analisis Data Derajat Hidrolisis Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi	% N Eceng Gondok	% N Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok	% Derajat Hidrolisis
		I	II	III						
0 Hari (Kontrol)	200 mL	13,75	13,96	14,67	42,38	14,13	0,48	2,04	2,26	1,11
	250 mL	15,35	15,31	15,21	45,87	15,29	0,07	2,04	2,45	1,20
	300 mL	16,09	15,38	16,00	47,47	15,82	0,38	2,04	2,53	1,24
3 Hari	200 mL	15,83	15,94	16,09	47,85	15,95	0,13	2,04	2,55	1,25
	250 mL	17,49	16,80	17,19	51,49	17,16	0,35	2,04	2,75	1,34
	300 mL	17,88	17,37	17,47	52,72	17,57	0,27	2,04	2,81	1,38
6 Hari	200 mL	17,48	17,47	18,07	53,01	17,67	0,34	2,04	2,83	1,38
	250 mL	19,24	19,57	19,42	58,23	19,41	0,17	2,04	3,11	1,52
	300 mL	18,79	19,42	17,93	56,14	18,71	0,75	2,04	2,99	1,46
9 Hari	200 mL	19,41	19,44	19,54	58,39	19,46	0,07	2,04	3,11	1,52
	250 mL	20,02	19,47	20,16	59,65	19,88	0,36	2,04	3,18	1,56
	300 mL	19,51	20,06	20,13	59,69	19,90	0,34	2,04	3,18	1,56
12 Hari	200 mL	20,65	20,29	20,71	61,64	20,55	0,23	2,04	3,29	1,61
	250 mL	20,65	21,53	21,47	63,65	21,22	0,49	2,04	3,39	1,66
	300 mL	21,53	21,37	21,59	64,48	21,49	0,11	2,04	3,44	1,68

Lampiran 22. 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 5 gram



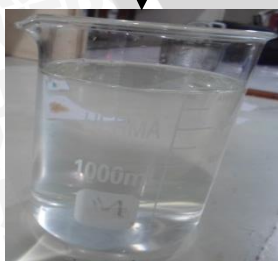
Sterilisasi peralatan pipet volume



Pendinginan pada suhu kamar



Sterilisasi botol kaca



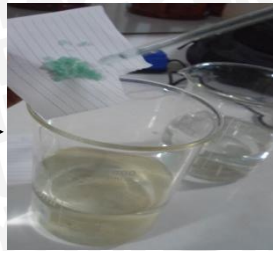
Penuangan pada beaker glass



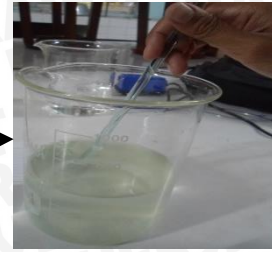
Sterilisasi selang



Penambahan gula pasir



Penambahan pupuk daun



Penghomogenan



Penutupan dengan kapas



Penambahan starter khamir laut sebanyak 2



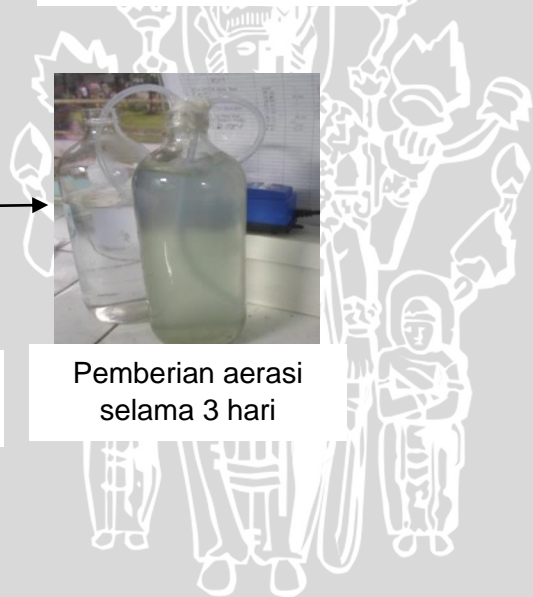
Penuangan ke dalam botol gelas



Penutupan dengan plastik wrap



Pemberian aerasi selama 3 hari



Lampiran 23. Dokumentasi Pembuatan Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



Eceng gondok



Pencucian hingga bersih



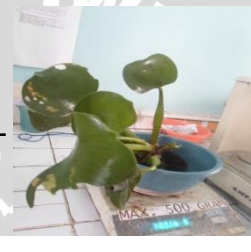
Penirisan



Penuangan dalam gelas plastik



Pemotongan



Penimbangan sebanyak 100 gram



Penambahan molase segar 200 mL, 250 mL, dan 300 mL



Penghalusan dengan blender



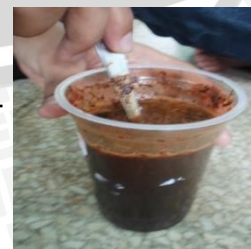
Penambahan inokulan khamir sebanyak 2,5 mL



Penimbangan berat awal



Penuangan ke dalam botol



Penghomogenan



Pemberian aerasi dan difermentasi selama 3, 6, 9, dan 12 hari



Penyaringan dengan kain blacu



Cairan hidrolisat protein



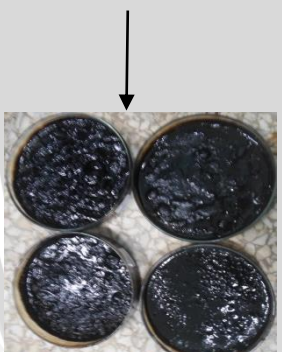
Pengeringan dalam oven vakum dengan suhu 55°C



Penuangan ke dalam cawan petri



Penimbangan berat akhir



Pasta hidrolisat protein eceng gondok



Lampiran 24. Dokumentasi Analisis Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



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 3 jam dengan tutup setengah terbuka



Penimbangan sampel sebanyak 15 gram



Penimbangan berat akhir

Lampiran 25. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



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 jam



Pengeringan sampel pada suhu 105°C selama 24 jam



Penimbangan berat akhir



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Lampiran 26. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



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



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat akhir

Lampiran 27. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



Penimbangan sampel sebanyak 0,5 gram



Penghalusan tablet kjeldahl



Penimbangan tablet kjeldahl sebanyak 2 gram



Penambahan akuades sebanyak 30 mL



Sampel hasil destruksi berwarna kehijauan



Penuangan sampel, tablet kjeldahl dan 15 mL H_2SO_4 ke dalam labu destruksi dan pemanasan pada suhu $370^{\circ}C$ selama 3 jam



Penambahan H_2O dan $NaOH$



Penambahan 1,5 gram H_3BO_3 , dan akuades 50 mL, dan *metyl orange* ke dalam erlenmeyer



Pendestilasi selama 3 menit dan destilat ditampung pada erlenmeyer





Hasil titrasi



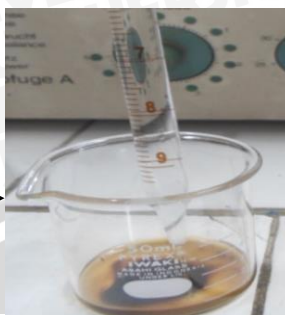
Penitrasi destilat dengan H_2SO_4 0,4 N hingga berubah warna merah muda



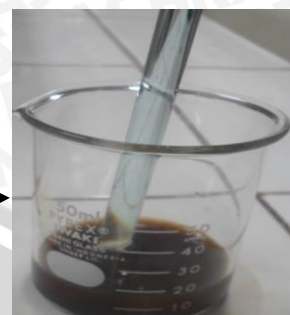
Lampiran 28. Dokumentasi Analisis pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



Penambahan aquades sebanyak 10 mL



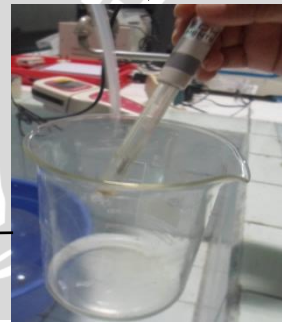
Penghomogenan



Pencelupan elektroda pada sampel



Hidupkan pH meter



Pembilasan elektroda pH meter menggunakan akuades



Pengukuran nilai pH hingga nilai stabil



Lampiran 29. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



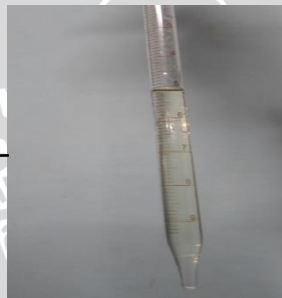
Penuangan dalam cuvet



Pengukuran akuades sebanyak 5 mL



Penambahan minyak jagung ke dalam cuvet



Pengukuran minyak jagung sebanyak 5 mL



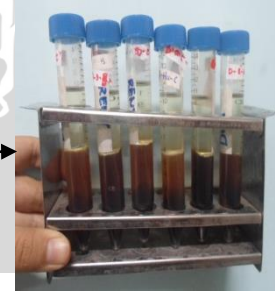
Penambahan akuades ke dalam cuvet



Peletakkan ke dalam sentrifuge



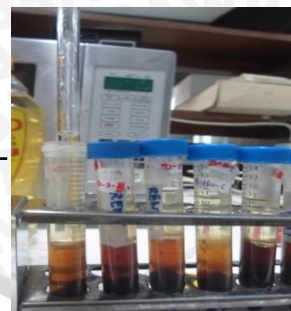
Penghomogenan dengan sentrifuge dengan kecepatan 7500 rpm sekama 5 menit



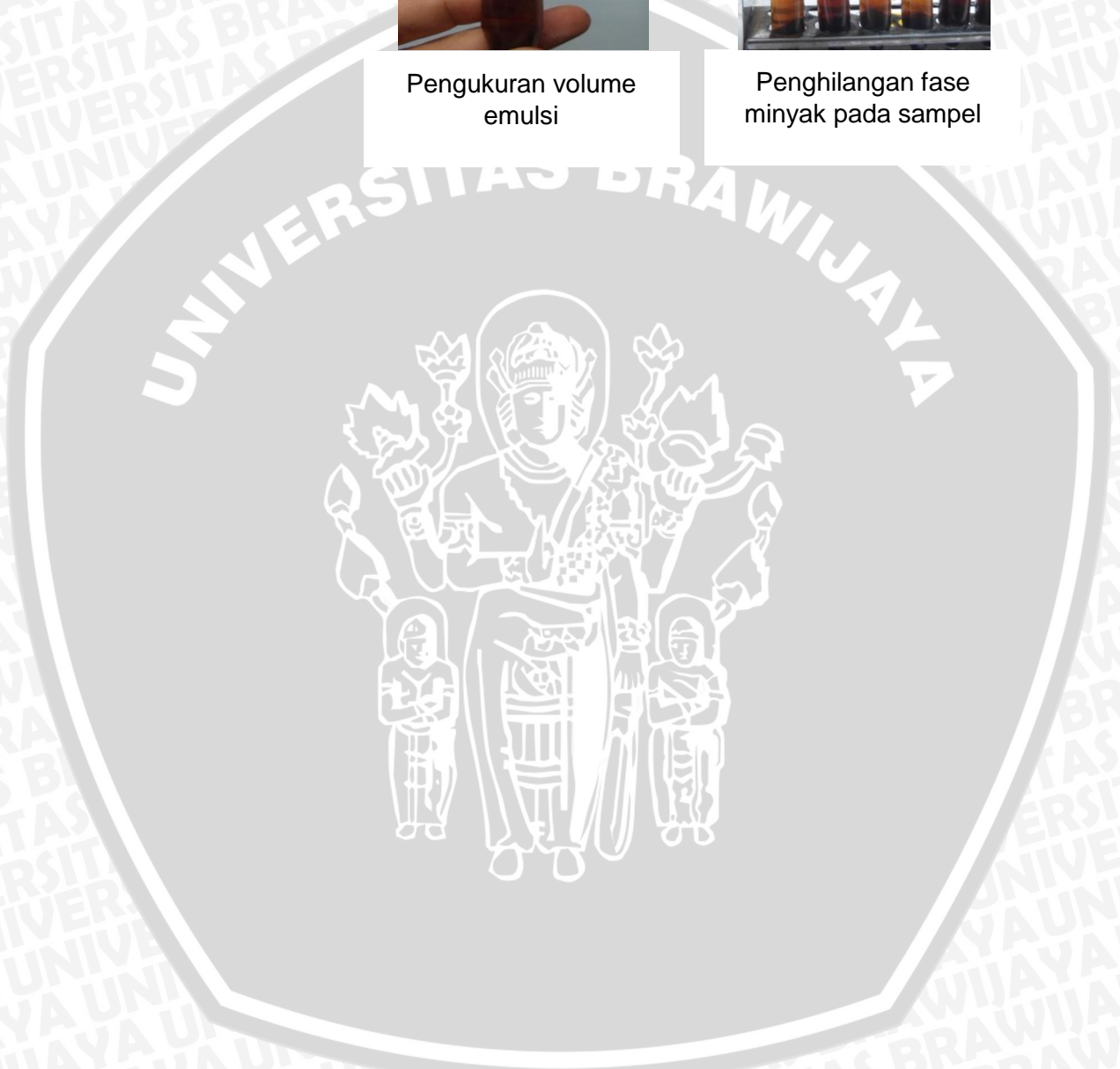
Hasil sentrifuge



Pengukuran volume emulsi



Penghilangan fase minyak pada sampel



Lampiran 30. Dokumentasi Analisis Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar



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 31. Berita Acara Serah Terima Sertifikat Hasil Analisa



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 ; labsentralub@gmail.com

**BERITA ACARA SERAH TERIMA
SERTIFIKAT HASIL ANALISA**

No. : 047/LSIH-UB/3-BA/V/2015

Malang, 19 JUN 2015

Telah terima dari Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB berupa 1 berkas Sertifikat Hasil Analisa asam amino untuk jenis sampel hidrolisat protein eceng gondok segar dan molase segar.

Mengetahui,
Manajer Teknis

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si.
NIP. 19540823 198103 2 001

Penerima,

Remy Permata Sari

Tembusan:
1. Kustomer
2. Arsip

DP/5.4.0.09/LSIH



Lampiran 32. Hasil Uji Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dan Molase Segar



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>

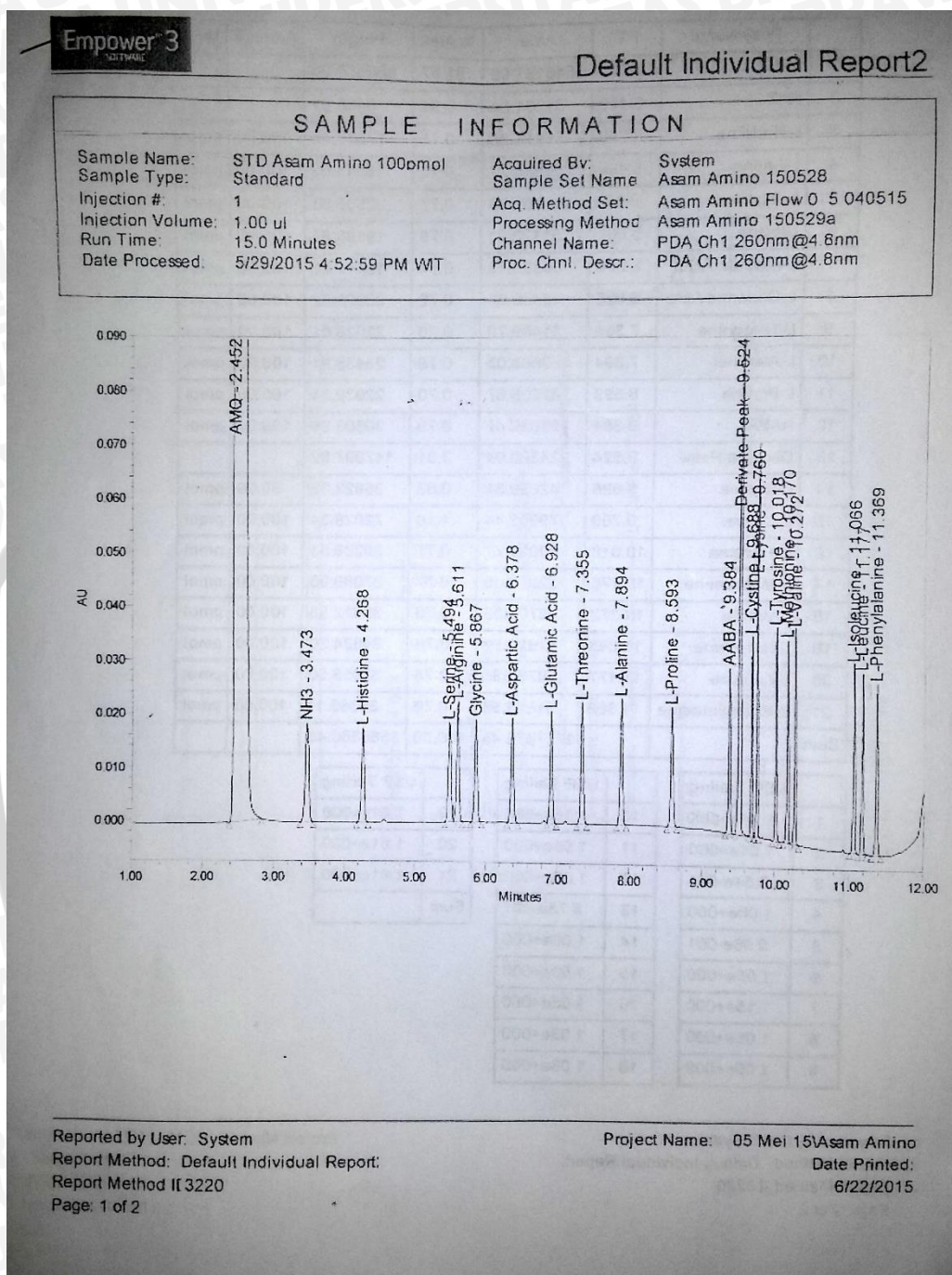
Lampiran No:047/LSIH-UB/3-LU/V/2015

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

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Valin	%	0.20
	Threonin	%	0.15
	Lisin (Lysine HCl)	%	0.17
	Serin	%	0.15
	Isoleusin	%	0.14
	Alanin	%	0.91
	Histidin	%	0.02
	Phenilalanin	%	0.11
	Glutamat	%	6.88
	Tirosin	%	0.09
	Prolin	%	0.42
	Arginin	%	0.15
	Glisin	%	0.21
	Leusin	%	0.20
	Aspartat	%	1.03
	Metionin	%	0.06
	Sistin	%	Not detected
Total	%	10.88	

Lampiran 33. Kromatogram Asam Amino Standar



Lampiran 34. Waktu Retensi dan Luas Area dari Kromatogram Standar

	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

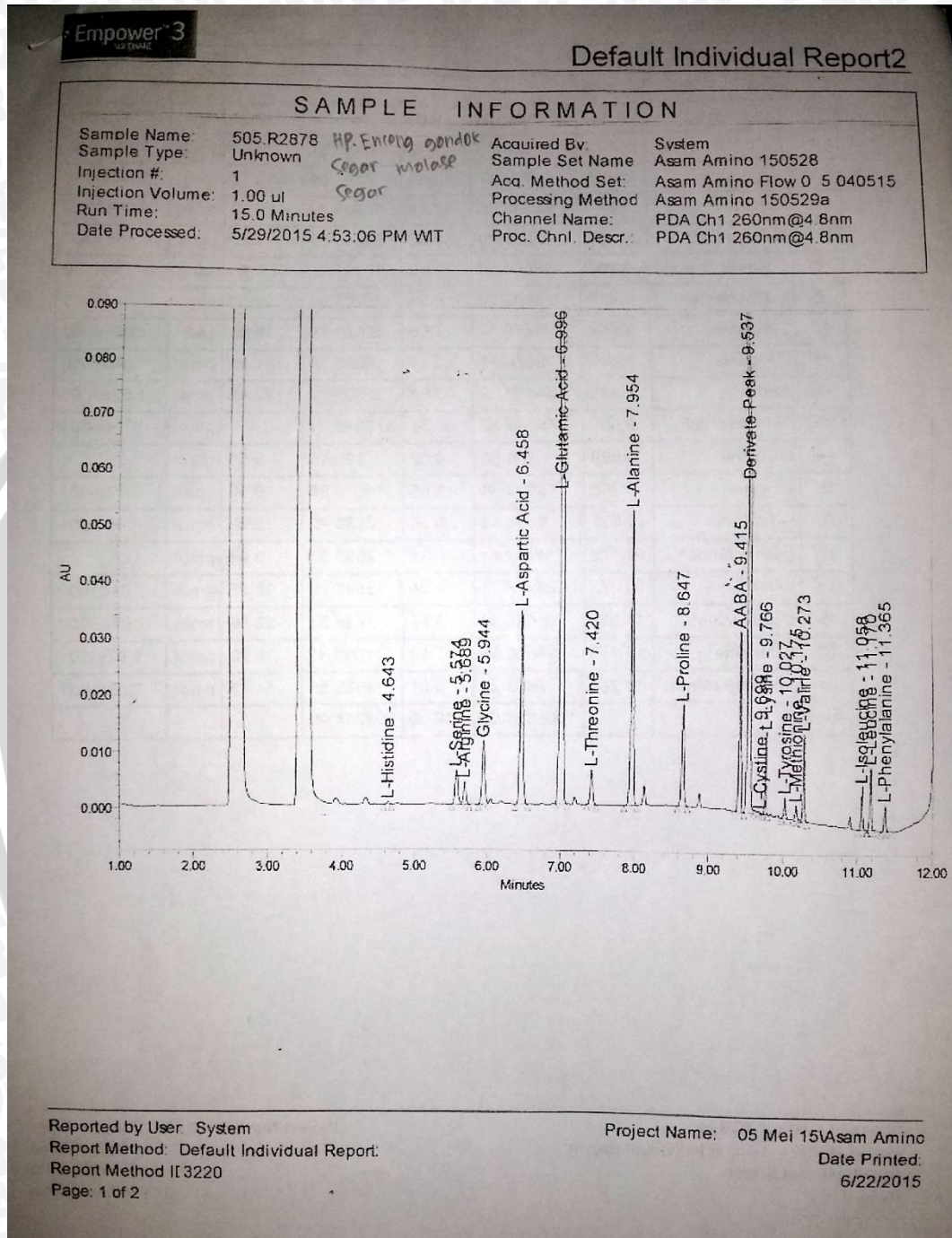
	USP Tailing
10	1.05e+000
11	1.05e+000
12	1.06e+000
13	8.78e-001
14	1.00e+000
15	1.00e+000
16	1.05e+000
17	1.03e+000
18	1.03e+000

	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 II 3220
 Page: 2 of 2

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

Lampiran 35. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dan Molase Segar



Lampiran 36. Waktu Retensi dan Luas Area dari Kromatogram Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dan Molase Segar

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Tailing
1	AMQ	2.648						
2	NH3	3.578						
3	L-Histidine	4.643	1284.76	0.09	450.16	2.50	pmol	8.41e-001
4	L-Serine	5.574	17024.52	1.13	6166.31	33.03	pmol	1.09e+000
5	L-Arginine	5.689	9732.37	0.65	4093.09	18.76	pmol	9.40e-001
6	Glycine	5.944	30861.36	2.05	11368.97	60.37	pmol	1.09e+000
7	L-Aspartic Acid	6.458	87295.60	5.80	34546.58	173.37	pmol	1.14e+000
8	L-Glutamic Acid	6.996	488095.54	32.42	209299.07	1266.99	pmol	1.13e+000
9	L-Threonine	7.420	13939.72	0.93	6297.90	27.11	pmol	1.04e+000
10	L-Alanine	7.954	115658.17	7.68	52676.15	219.85	pmol	1.05e+000
11	L-Proline	8.647	38670.76	2.57	18098.34	81.88	pmol	1.04e+000
12	AABA	9.415	54653.29	3.63	32001.22	133.49	pmol	1.02e+000
13	Derivate Peak	9.537	565547.22	37.56	372845.71		pmol	9.14e-001
14	L-Cystine	9.699	439.33	0.03	295.16	0.51	pmol	
15	L-Lysine	9.766	15923.44	1.06	14676.80	19.93	pmol	9.77e-001
16	L-Tyrosine	10.027	5396.63	0.36	3780.42	10.36	pmol	8.43e-001
17	L-Methionine	10.175	4703.44	0.31	2693.53	9.04	pmol	
18	L-Valine	10.273	20177.71	1.34	15547.70	38.28	pmol	1.01e+000
19	L-Isoleucine	11.058	11659.68	0.77	7738.33	22.59	pmol	1.06e+000
20	L-Leucine	11.170	16858.93	1.12	11090.12	33.23	pmol	9.87e-001
21	L-Phenylalanine	11.365	7603.20	0.51	4678.55	14.73	pmol	9.59e-001
Sum			1505525.66	100.00	808344.09			

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

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