

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

SKRIPSI

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

Oleh:

DILLA PASSRELELA

115080300111021



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**HIDROLISAT PROTEIN ECENG GONDOK (*Eichornia crassipes*) REBUS
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:

DILLA PASSRELELA

115080300111021



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

SKRIPSI

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

Oleh:
DILLA PASSRELELA
NIM. 115080300111021

telah dipertahankan didepan penguji
pada Tanggal 7 Agustus 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Menyetujui,

Dosen Penguji I	Dosen Pembimbing I
(<u>Dr. Ir. Kartini Zaelani, MS</u>)	(<u>Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D</u>)
NIP. 19640919 198903 1 002	NIP. 19640919 198903 1 002
Tanggal:	Tanggal:
Dosen Penguji II	Dosen Pembimbing II
(<u>Eko Waluyo S.Pi, M.Sc</u>)	(<u>Dr. Ir. M. Firdaus, MP</u>)
NIP. 198004242005001 1 001	NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal:	Tanggal:

Mengetahui,

Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: _____

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam 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, Juli 2015
Mahasiswa

Dilla Passrelela
115080300111021

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D selaku dosen pembimbing I, yang telah banyak memberikan bantuan bahan (molase & khamir laut) serta pengarahan-pengarahan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku dosen pembimbing II, yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan terkait tentang aturan penulisan dan penyusunan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Kartini Zaelani, MS dan Eko Waluyo S.Pi, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik saran pada laporan skripsi ini.
5. Kedua Orang Tuaku yang memberikan doa dan dukungan selama penyusunan laporan skripsi ini.
6. Tim Gubis I, yang setia menemani dalam suka maupun duka mulai dari awal penelitian hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
7. Teman-teman THP 2011 dan Hamdan Nur Cahyanto yang telah banyak membantu dan memberikan semangat selama penyusunan laporan skripsi ini.
8. Serta seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya Laporan skripsi ini, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, saya ucapkan terima kasih.

Malang, Juli 2015

Penulis

RINGKASAN

Dilla Passrelela. Skripsi tentang Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*) Rebus 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**).

Salah satu alternatif pengolahan hasil perikanan adalah dengan cara menghidrolisis eceng gondok menjadi hidrolisat protein. Pengolahan eceng gondok menjadi hidrolisat protein bertujuan untuk mendapatkan bahan pangan yang lebih mudah dicerna oleh tubuh karena proteinnya telah terurai menjadi lebih sederhana. Sumber protein tinggi yang dapat diolah menjadi hidrolisat protein salah satunya adalah eceng gondok. Eceng gondok rebus mengandung protein yang cukup tinggi yaitu sekitar 10,53%.

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 rebus.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok Sederhana yaitu volume molase segar yang terdiri dari 100 mL, 250 mL, dan 300 mL dan lama fermentasi pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12 serta dilakukan dengan 3 kali ulangan. 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 eceng gondok. Penelitian utama dilakukan dengan pembuatan hidrolisat protein eceng gondok dengan *starter* khamir laut yang dianalisis kimia (analisis proksimat, total asam amino, pH, emulsi, dan daya buih) terhadap kualitas hidrolisat protein eceng gondok.

Hasil penelitian diperoleh kesimpulan dari penelitian ini yaitu volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok adalah sebanyak 300 mL Volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok pada volume molase 300 mL dengan kandungan nutrisi sebesar 13,37% kadar air, 1,99% kadar lemak, 16,68% kadar protein, 16,81% kadar abu, 50,56% karbohidrat, 4,29 ph, 53,70% kapasitas emulsi, 0,29% daya buih Lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 11,88% kadar air, 1,31% kadar lemak, 20,18% kadar protein, 16,16% kadar abu, 50,46% karbohidrat, 4,26 pH, 51,41% kapasitas emulsi, 0,31% daya buih.

Hasil analisis total asam amino hidrolisat protein eceng gondok terbaik diperoleh 17 macam asam amino. Asam amino yang terkandung ada dua jenis yaitu esensial dan non esensial. Asam amino esensial meliputi lisin, arginin, histidin, leusin, valin, isoleusin, treonin, phenilalanin dan methionin. Sedangkan asam amino non esensial antara lain asam glutamat, sistin, asam aspartate, alanine, serin, glisin, prolin, dan tirosin.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-NYA penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang pengaruh volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas pasta hidrolisat protein eceng gondok (*eichornia crassipes*) rebus. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembuatan kualitas pasta hidrolisat protein eceng gondok (*eichornia crassipes*) rebus dan beberapa uji terkait dengan penentuan kualitas dari hidrolisat protein eceng gondok (*eichornia crassipes*) tersebut.

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

Malang, Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

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 Waktu dan Tempat	6

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eceng Gondok	7
2.1.1 Karakteristik Eceng Gondok	7
2.1.2 Komposisi Kimia eceng Gondok	8
2.2 Khamir Laut	10
2.2.1 Karakteristik Khamir Laut	10
2.2.2 Komposisi Kimia Khamir Laut	11
2.2.3 Manfaat Khamir Laut	14
2.3 Molase	15
2.3.1 Karakteristik Molase	15
2.3.2 Manfaat Molase terhadap Khamir Laut	16
2.4 Perebusan	17
2.5 Protein dan asam amino	17
2.6 Fermentasi	19
2.6.1 Definisi Fermentasi dan manfaat fermentasi	19
2.6.2 Faktor yang mempengaruhi fermentasi	20
2.6.3 Teknologi Fermentasi	21
2.6.4 Fermentasi dengan starter khamir laut	22
2.7 Hidrolisat Protein	23
2.7.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein	23
2.7.2 Teknologi Hidrolisat Protein	24
2.7.3 Hidrolisat protein dengan biokatalisator khamir laut	24
2.8 HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	25

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian	28
---------------------------------------	----



3.2	Materi Penelitian	28
3.2.1	Bahan Penelitian	28
3.2.2	Alat Penelitian	29
3.3	Metode Penelitian	30
3.4	Variabel penelitian	31
3.5	Rancangan Percobaan	31
3.6	Prosedur Penelitian	33
3.6.1	Prosedur kultur khamir laut	33
3.6.2	Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Eceng Gondok	34
3.7	Prosedur Analisa	35
3.7.1	Prosedur penentuan khamir laut	35
3.7.2	Prosedur Penentuan Fase Logaritmik	37
3.7.3	Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein	38
3.7.4	Prosedur Pengukuran pH	39
3.8	Parameter Uji	40
3.8.1	Analisis Proksimat	40
	Analisis Kadar Air metode Thermogravimetri	40
	Analisis Kadar Lemak metode <i>Goldfish</i>	41
	Analisis Kadar Karbohidrat metode <i>by Difference</i>	40
	Analisis Kadar Abu metode Gravimetri	42
	Analisis Kadar Protein metode <i>Kjeldahl</i>	43
	Nilai pH	43
	Daya Buih	44
	Kapasitas Emulsi	44
	Analisis Profil Asam Amino	44

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Penelitian Pendahuluan	47
4.1.1	Penentuan Fase Logaritmik	47
4.1.2	Bahan Baku Hidrolisat Protein Eceng Gondok	50
4.1.3	Penentuan jumlah khamir laut sebagai starter	51
4.1.4	Penentuan Volume molase segar	52
4.1.4	Penentuan Lama Fermentasi	54
4.2	Penelitian Utama	59
4.2.1	Komposisi Kimia Eceng Gondok	59
4.2.2	Rendemen	60
4.2.3	Kadar Air	62
4.2.4	Kadar Lemak	65
4.2.5	Kadar Protein	66
4.2.6	Kadar Abu	69
4.2.7	Kadar Karbohidrat	71
4.2.8	Analisis Derajat Keasaman (pH)	73
4.2.9	Analisis Kapasitas Emulsi	75
4.2.10	Analisis Daya Buih	76
4.3	Hidrolisat Protein Eceng Gondok Tertinggi	78
4.4	Analisis Profil Asam Amino	80
4.5	HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	82

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan	87
5.2 Saran.....	87

DAFTAR PUSTAKA.....	89
----------------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi zat-zat nutrisi eceng gondok dalam bahan kering (%)	9
2. Asam Amino Daun dan Petiol Eceng Gondok.....	10
3. Kandungan Asam Amino pada Khamir Laut	12
4. Kandungan nutrisi, asam lemak, asam amino esensial, dan mineral a. khamir laut.....	13
5. Pemanfaatan Khamir untuk beberapa jenis ternak	14
6. Komposisi kimia molase	16
7. Beberapa fungsi asam amino esensial dan non esensial.....	21
8. Model Rancangan Percobaan	32
9. Komposisi Kimia Eceng Gondok	60
10. Komposisi Kimia Eceng Gondok	58
11. Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Eceng Gondok Tertinggi dan Eceng Gondok Rebus	79
12. Kandungan Asam Amino pada hidrolisat Protein dari Eceng Gondok s Molase segar	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Eceng Gondok	5
2. Skema kerja kultur khamir laut	32
3. Diagram Alir pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	34
4. Pengenceran kultur khamir laut hingga pengenceran 10^{-4}	35
5. Kepadatan Khamir Laut dalam Lama Waktu	47
6. Foto Kepadatan Khamir Laut dengan Perbesaran 1000x	48
7. Rendemen Penelitian pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng gondok Dengan Penambahan Molase Segar Yang Berbeda.....	55
8. Nilai pH Campuran Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	57
9. Nilai pH Padatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	57
10. Nilai pH Cairan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	58
11. Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	61
12. Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	61
13. Rata-rata Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	63
14. Rata-rata Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	64
15. Rata-rata Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	65
16. Rata-rata Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	66
17. Rata-rata Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	67
18. Rata-rata Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	68
19. Rata-rata Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	69
20. Rata-rata Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda	70
21. Rata-rata Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	71
22. Rata-rata Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	72
23. Rata-rata Kadar pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	73
24. Rata-rata Kadar pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Femrentasi yang Berbeda	74
25. Rata-rata Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	75
26. Rata-rata Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	76
27. Rata-rata Daya buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda	77

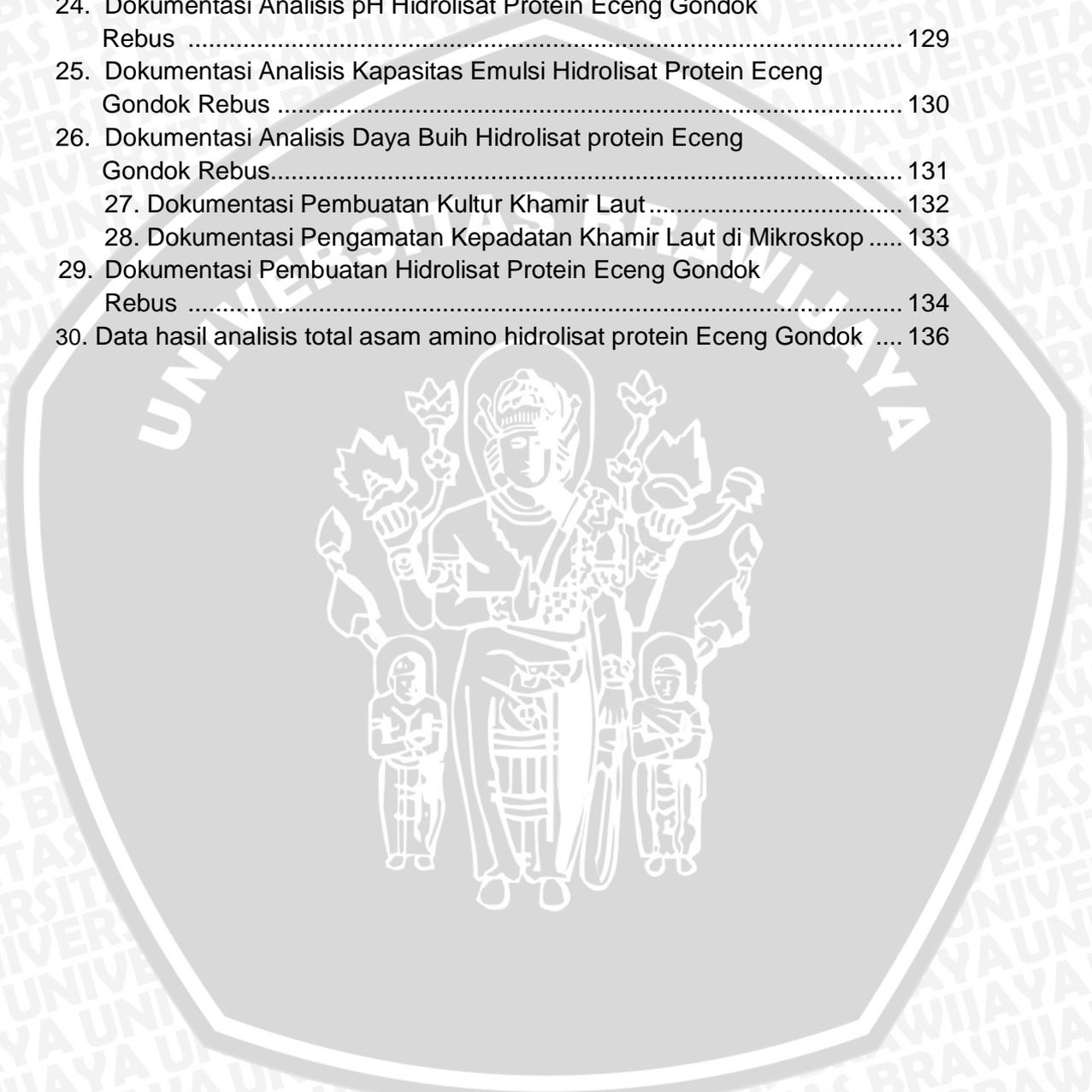
28. Rata-rata Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda 77
29. Kromatogram asam amino pada hidrolisat protein eceng gondok 83



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun.....	92
2. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun dalam pengenceran	93
3. Perhitungan kepadatan sel khamir laut	96
4. Diagram Alir Analisis Kadar Air	97
5. Diagram Alir Analisis Kadar Lemak.....	98
6. Diagram Alir Analisis Kadar Protein	99
7. Diagram Alir Analisis Kadar Abu	100
8. Data kepadatan khamir laut.....	101
9. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan.....	102
10. Perhitungan rendemen hidrolisat protein eceng gongok	106
11. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase dan Lama Fermentasi yang Berbeda	107
12. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase dan Lama Fermentasi yang Berbeda	109
13. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	111
14. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	113
15. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	115
16. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	117
17. Data Pengamatan dan Analisis Data Analisa pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	119
18. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	121
19. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda	123
20. Dokumentasi Analisis Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	125

21. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	126
22. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus.....	127
23. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Hidrolisat protein Eceng Gondok Rebus	128
24. Dokumentasi Analisis pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	129
25. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	130
26. Dokumentasi Analisis Daya Buih Hidrolisat protein Eceng Gondok Rebus.....	131
27. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut.....	132
28. Dokumentasi Pengamatan Kepadatan Khamir Laut di Mikroskop	133
29. Dokumentasi Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus	134
30. Data hasil analisis total asam amino hidrolisat protein Eceng Gondok	136



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eceng gondok merupakan tanaman air merupakan salah satu gulma perairan dengan kecepatan berkembang biak vegetatif sangat tinggi, yang banyak tumbuh di sungai, sawah, rawa, dan waduk. Pada umumnya eceng gondok memberikan pengaruh negatif terhadap lingkungan yaitu mendangkalan sistem perairan sehingga ekosistem daerah perairan terhambat yang akhirnya akan merugikan masyarakat. Berbagai upaya telah dilakukan baik oleh pemerintah maupun masyarakat mengenai permasalahan eceng gondok. Ketidakberhasilan dari upaya tersebut menuntut adanya pemanfaatan eceng gondok seperti sebagai bahan campuran pembuatan kompos, alat kerajinan bernilai seni dan eceng gondok dapat dimanfaatkan juga sebagai pakan atau Hidrolisat Protein.

Berdasarkan bahan kering dari eceng gondok memiliki nilai nutrisi kandungan protein kasar 9,8 – 12,0 %, abu 11,9 – 23,9 %, lemak kasar 1,1 – 3,3 %, serat kasar 16,8 – 24,6 %, pada kandungan nutrisi eceng gondok khususnya protein masih cukup untuk digunakan sebagai bahan pakan alternatif. Eceng gondok memiliki serat kasar yang tinggi (Agustono *et al.*, 2010), eceng gondok sebagai bahan pakan alternatif sangat mudah untuk didapatkan karena bahan ini tersedia banyak di alam dan masih belum dimanfaatkan dengan baik. Bahan ini termasuk bahan pakan yang murah. Salah satu upaya untuk meningkatkan kandungan nutrisi dari eceng gondok adalah dengan melakukan fermentasi.

Pemanfaatan eceng gondok selama ini hanya sebatas dilakukan proses pengeringan yang nantinya digiling hingga menjadi tepung. Saat ini eceng gondok digunakan sebagai bahan pembuatan alat kerajinan seni, sedangkan sebagian besar eceng gondok ini belum dimanfaatkan cukup baik di kalangan masyarakat karena memiliki nilai ekonomis yang rendah.

Dilihat dari pemanfaatan eceng gondok sebagai pakan belum banyak digunakan, akan tetapi pertumbuhan dan ketersediaan sangat memadai, sehingga diperlukan suatu upaya dalam meningkatkan nilai tambah dari eceng gondok tersebut, mengingat kandungan nutrisi yang terdapat dalam eceng gondok cukup besar. Eceng gondok kering mengandung protein yaitu sekitar 11,5% (Putera., 2012), melihat kandungan nilai gizi pada eceng gondok kemungkinan dapat berpotensi sebagai bahan baku dalam pembuatan bahan baku hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan salah satu produk perikanan yang biasanya terbuat dari ikan yang dapat ditambahkan dalam bahan makanan dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein baik protein nabati maupun protein hewani (Purbasari, 2008), termasuk eceng gondok dapat digunakan sebagai bahan untuk pembuatan hidrolisat protein.

Perlakuan perebusan pada bahan baku eceng gondok diharapkan dapat meningkatkan kadar protein pada hidrolisat, pada pengolahan perebusan diduga dapat mempengaruhi kandungan protein dan asam amino yang terdapat dalam suatu bahan pangan kusunya pada eceng gondok. Dengan demikian protein akan mengalami denaturasi sehingga membentuk struktur yang lebih sederhana sehingga lebih mudah untuk dicerna (Nurjanah *et al.*, 2008).

Proses pembuatan hidrolisat protein di dalam industri menggunakan proses enzimatik, yang dipandang lebih sesuai dan lebih murah. Proses pengolahannya lebih cepat dan memberikan hidrolisat protein tanpa kehilangan banyak asam amino esensial (Purbasari, 2008), pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan enzim mikroorganism yang dapat dilakukan dengan cara proses fermentasi.

Fermentasi merupakan salah satu upaya dalam peningkatan kualitas bahan pakan yang telah banyak dilakukan. Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan starter mikroorganisma (kapang atau bakteri) yang sesuai dengan substrat dan tujuan proses fermentasi (Tampoebolon, 2009), Proses fermentasi mempunyai kelebihan antara lain: tidak mempunyai efek samping yang negatif, mudah dilakukan, relatif tidak membutuhkan peralatan khusus dan biaya relatif murah, salah satu yang mempengaruhi proses terjadinya fermentasi adalah lama fermentasi.

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

Proses terjadinya fermentasi terdapat mikroorganisme yang berperan, pada saat pemilihan mikroorganisme harus disesuaikan dengan kebutuhan yang akan dihasilkan dalam pembuatan proses hidrolisat protein. Mikroorganisme yang akan digunakan dalam fermentasi adalah organisme yang non patogenik, tidak membutuhkan nutrisi secara spesifik, mudah untuk dikultur, dan dominan dalam pertumbuhannya, seperti khamir.

Khamir merupakan salah satu mikroorganisme yang biasanya dijumpai dalam proses fermentasi. Khamir juga dapat dijumpai pada hewan atau tumbuhan, khamir juga dapat dijumpai di perairan yang dikenal dengan khamir laut. Khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein, seperti protease (Alkili, 2012).

Khamir laut dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa maupun gula kompleks. Sumber karbon yang digunakan sebagai media pertumbuhan khamir laut selama ini diperoleh dengan penambahan gula pasir dan masih sedikit yang menggunakan alternatif lain sebagai pengganti gula pasir yakni molase. Selain itu untuk menunjang kebutuhan hidup diperlukan oksigen, karbohidrat dan nitrogen. (Ahmad, 2005), Molase atau disebut tetes tebu banyak mengandung gula sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi dan sumber karbon (Febriani, 2008).

Nasich *et al.*, (2009) menjelaskan bahwa molase samping yang berasal dari pembuatan gula tebu. Molases berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula. Molases tidak dapat lagi dibentuk menjadi sukrosa namun masih mengandung gula dengan kadar tinggi 50-60%, asam amino dan mineral. Molase kaya akan biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor, dan sulfur. Selain itu juga mengandung gula yang terdiri dari sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12%. Jadi molase tersebut sebagai nutrisi dalam proses perkembangbiakan khamir laut.

Sejauh ini belum ada penelitian mengenai khamir laut sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein dari eceng gondok rebus dengan fermentasi dan penambahan sumber karbon berupa molase segar, maka 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 eceng gondok rebus.

1.2 Rumusan Masalah

Eceng gondok memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, namun pemanfaatan eceng gondok selama ini masih kurang optimal sehingga diperlukan adanya diversifikasi dalam pengolahan eceng gondok, misalnya

hidrolisat protein eceng gondok rebus. Adanya pengolahan eceng gondok menjadi hidrolisat protein dengan menggunakan fermentasi berpotensi dalam penyediaan pangan yang memiliki nilai nutrisi yang tinggi. Pemanfaatan khamir laut yang mengandung berbagai enzim (seperti protease) dalam fermentasi berpotensi untuk meningkatkan kandungan protein dalam pembuatan hidrolisat eceng gondok. Penggunaan volume molase dan lama fermentasi yang tepat sangat menentukan kualitas hidrolisat protein eceng gondok rebus yang akan didapatkan. Dari uraian di atas dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana Pengaruh Penambahan Molase segar yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok rebus?
- Bagaimana hasil analisa profil asam amino dari perlakuan terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

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

- Untuk mendapatkan Molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok
- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok rebus
- Untuk mengetahui hasil analisa profil asam amino dari perlakuan terbaik

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari 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 bisa menjadi informasi yang berguna mengenai efektivitas lama fermentasi dan volume molase segar yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap nilai gizi hidrolisat protein eceng gondok rebus, dan penggunaan molase biayanya relatif murah dan bahan melimpah dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan khamir laut.

1.6 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan, dan Laboratorium Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Januari-april 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eceng Gondok

2.1.1 Karakteristik Eceng Gondok

Eceng gondok merupakan tanaman gulma air yang mempunyai pertumbuhan yang sangat cepat, berikut adalah klasifikasi dari eceng gondok secara umum (Putera, 2012).

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Suku	: Pontederiaceae
Marga	: Eichornia
Spesies	: <i>Eichornia crassipes</i>



Gambar 1. Eceng gondok

Eceng gondok berkembang biak dengan sangat cepat, baik secara vegetatif maupun generatif. Perkembangbiakan dengan cara vegetatif dengan menggunakan stolon dapat berlipat ganda dua kali dalam waktu 7 - 10 hari. Hasil penelitian Badan Pengendalian Dampak Lingkungan Hidup Sumatera Utara di Danau Toba (2003) melaporkan bahwa satu batang eceng gondok dalam waktu 52 hari mampu berkembang seluas 1 m², atau dalam waktu 1 tahun mampu menutup area seluas 7 m².

Tanaman Eceng gondok terdiri dari akar, bakal tunas, tunas atau stolon, daun, petiole, dan bunga. Daun-daun eceng gondok berwarna hijau terang berbentuk telur yang melebar atau hamper bulat dengan garis tengah sampai 15 sentimeter. Pada bagian tangkai daun terdapat masa yang menggelembung yang berisi serat seperti karet busa. Kelopak bunga berwarna ungu muda agak kebiruan. Setiap kepala putik dapat menghasilkan sekitar 500 bakal biji atau 5000

biji setiap tangkai bunga, sehingga eceng gondok dapat berkembang biak dengan dua cara yaitu dengan tunas dan biji (Sihite, 2014).

2.1.2 Komposisi Kimia Eceng Gondok

Eceng gondok mengandung 17,2% protein kasar, 15-18% serat dan 16-20% abu, yang terdiri dari beberapa komponen, seperti; hidrogen, kalium, kalsium, karbon, belerang, mangan dan lain-lain. Komponen kimia yang terkandung dalam tanaman eceng gondok tergantung pada kandungan unsur hara tempat tumbuh dan sifat daya serap tanaman tersebut. Eceng gondok dapat menyerap logam-logam berat dan senyawa sulfid. Selain itu, eceng gondok mengandung protein lebih dari 11,5% atas dasar berat kering dan mengandung selulosa yang lebih tinggi daripada non selulosanya, seperti; lignin, abu, lemak dan zat-zat lain (Safitri dan Tri, 2004).

Eceng gondok juga memiliki beberapa kekurangan dalam segi kualitas antara lain kadar air yang terlalu tinggi, tekstur yang terlalu halus, banyak mengandung hemiselulosa, protein sukar dirombak oleh bakteri rumen, dan dengan daya serap mineral yang cukup tinggi, eceng gondok yang berasal dari perairan tercemar dapat mengandung logam berat beracun bagi ternak (Rahmawati *et al.*, 2000). Komposisi zat-zat nutrisi eceng gondok dalam bahan kering dapat dilihat pada Tabel 1 dan profil asam amino dari eceng gondok dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi zat-zat nutrisi eceng gondok dalam bahan kering (%)

Zat-Zat Makanan	Kandungan (%)
Bahan Kering	87,27
Protein Kasar	13,25
Lemak	0,05
Serat kasar	24,99
BETN	34,77
NDF	72,63
ADF	39,40
Hemiselulosa	33,23
Selulosa	33,43
Lignin	4,70
Abu	13,69
Silika	2,26
Energi Bruto(Kkal/kg)	3534

Sumber : Sihite (2014)

Tabel 1. Menunjukkan bahwa komposisi kimia protein dari Eceng gondok cukup tinggi, selama ini eceng gondok belum dimanfaatkan dengan baik sehingga, dapat berpotensi untuk diolah lebih lanjut dalam pembuatan Hidrolisat Protein. Mangisah *et al.*, (2009) menambahkan kadar protein kasar daun eceng gondok fermentasi meningkat dari 11,39% menjadi 18,84%) dan kadar serat kasar dari 36,59% menjadi 15,73% dibanding dengan daun eceng gondok yang tidak difermentasi.

Tabel 2. Pofil asam amino dalam eceng gonok

	Profil Asam Amino	Satuan	Daun Eceng Gondok ¹
Esensial			
1.	Lisin	%	2,69
2.	Histidin	%	1,10
3.	Arginin	%	3,59
4.	Leusin	%	5,06
5.	Isoleusin	%	2,31
6.	Threonin	%	2,16
7.	Methionin	%	1,27
8.	Valin	%	2,79
9.	Phenilalanin	%	3,39
Non Esensial			
10.	Glutamat	%	5,90
11.	Sistin	%	0,84
12.	Aspartat	%	5,05
13.	Alanin	%	3,40
14.	Serin	%	2,56
15.	Glisin	%	3,02
16.	Prolin	%	2,72
17.	Tirosin	%	2,16
	Total	%	50,87

Sumber: ¹Virabalin *et al.*, (1993)

2.2 Khamir Laut

2.2.1 Kharateristik Khamir Laut

Khamir laut adalah khamir yang mampu hidup di lingkungan bersalinitas tinggi. Karakteristik khamir laut tidak jauh berbeda dengan khamir pada umumnya (kecuali habitat). Kebutuhan nutrisinya meliputi beberapa mineral, sumber nitrogen dan vitamin (Bamforth, 2005). Kisaran suhu optimum pertumbuhannya antara 25-30°C, dengan suhu maksimum 35-47 °C. khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam yaitu pH 4-4,5 dan tidak tumbuh pada medium alkali kecuali telah beradaptasi (Fardiaz, 1992).

Khamir merupakan mikroorganisme bersel tunggal berukuran antara 5 dan 20 mikron. Biasanya berukuran 5 sampai 10 kali lebih besar dari bakteri

(Buckle, 1987). Sel khamir memiliki ukuran yang bervariasi yaitu panjang 1-5 mm sampai 20-50 mm dan lebar 1-10 mm. Bentuk khamir beraneka ragam dari yang bulat, oval, silinder, ogival yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung, berbentuk botol, berbentuk apikulat atau lemon, membentuk pseudomiselium (Waluyo, 2005).

2.2.2 Komposisi Kimia Khamir Laut

Kandungan kimia dari Khamir laut antara lain protein mencapai 25,1% dengan asam amino, khamir laut kaya akan asam lemak tak jenuh serta vitamin dan mineral. Dinding sel pada khamir terdiri dari glukosa atau selulosa 30-35%, mannan 30%, lemak 8,5-13%, protein 6-8% dan kitin 1-2% dari berat kering sel (Fardiaz, 1992). Kandungan nutrisi yang terdapat pada khamir laut mengandung asam amino, sulfurnya rendah dan merupakan sumber yang baik akan vitamin B, sedikit mengandung vitamin E, dan provitamin D (Sukoso, 2012).

Komposisi kimia khamir laut terdiri dari: protein kasar sebesar 50-52%, karbohidrat 30-37%, Lemak 4-5%, dan mineral 7-8% (Reed dan Nagodawithana, 1991). Suriawiria (1990) melaporkan komposisi kandungan asam amino pada khamir (Tabel 3).

Tabel 3. Kandungan Asam Amino pada Khamir Laut

Asam Amino	Jumlah (%)
Fenilalanin	4,1-4,8
Isoleusin	4,6-5,3
Lisin	7,7-7,8
Leusin	7,0-7,8
Metionin	1,6-1,7
Sistin	0,9
Treonin	4,8-5,4
Triptofan	1,1-1,3
Valin	5,3-5,8

Sumber: Suriawiria (1990)

Kandungan kimia khamir laut yang menonjol yaitu kadar protein sebesar 50-52%. Selain itu, khamir juga mengandung vitamin B kompleks seperti thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin juga dimiliki pada khamir laut (Becker, 1994).

Khamir laut yang telah diisolasi dari laut Jawa diketahui memiliki kualitas nutrisi yang baik yaitu bahan kering oven 71,85%, protein 28,29%, serat kasar 0,950%, lemak kasar 0,340%, Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen 4,330% dan abu 66,09%. Kandungan protein khamir laut yang mencapai 28,29% antara lain mengandung valin, isoleusin, triptofan, lisin dan threonine (Jannah, 2012). Selain protein, kandungan nutrisi yang ada pada khamir laut berupa asam lemak, asam amino esensial, dan mineral khamir laut dapat dilihat pada tabel 4 berikut.

Tabel 4. Kandungan nutrisi, asam lemak, asam amino esensial, dan mineral khamir laut

	Kandungan	Persentase (%)	mg/100 g
Analisa proksimat:	Bahan kering oven	71,85	-
	Abu	66,09	-
	Protein	28,29	-
	BETN	4,33	-
	Serat kasar	0,95	-
	Lemak	0,34	-
Asam lemak:	Stearat	28,726	-
	Palmitat	17,437	-
	Oleat	14,447	-
	Linoleat	7,469	-
	Laurat	1,842	-
	Linolenat	0,875	-
Asam amino esensial	Metionin + sistin	0,773	-
	Lisin	0,463	-
	Valin	0,342	-
	Leucin	0,318	-
	Isoleucin	0,310	-
	Phenylalanin	0,274	-
	Histidin	0,262	-
	Arginin	0,206	-
Mineral:	Thereonin	0,187	-
	Ca	-	2,161
	P	-	2,276
	Cl	-	7.452,459
	Mn	-	2.844
	Zn	-	266.241
	Mg	0,09	-

Sumber: Febriani (2010)

Khamir laut mempunyai kandungan kimia antara lain protein mencapai 25,1% dengan asam amino seimbang, kaya akan asam lemak tak jenuh serta vitamin dan mineral. Dinding sel khamir terdiri dari glukosa atau selulosa 30-35%, mannan 30%, lemak 8,5-13%, protein 6-8% dan kitin 1-2% dari berat kering sel (Fardiaz, 1992). Kandungan nutrisi pada khamir laut diketahui mengandung asam amino, sulfurnya rendah tetapi merupakan sumber yang baik akan vitamin B, sedikit mengandung vitamin E, dan provitamin D (Sukoso, 2012).

2.2.3 Manfaat Khamir Laut

Khamir laut dapat dimanfaatkan sebagai probiotik, prebiotik dan imunostimulan Ahmad (2012), sehubungan dengan kegunaan tersebut maka dapat di jelaskan pada tabel 3. Ditambahkan pula Febriani (2006), Khamir laut juga dapat melekat pada mukosa usus sehingga dapat berpotensi sebagai suplemen probiotik bagi kesehatan manusia maupun hewan. Toleransi khamir laut untuk hidup sangat luas, yaitu pada suhu 20-45 derajat celcius dan pH 2-11. Selama pertumbuhannya, khamir laut juga menghasilkan senyawa seperti nukleotida dan asam amino.

Tabel 5. Pemanfaatan Khamir untuk beberapa jenis ternak

Jenis ternak	Pemanfaatan
Ruminansia:Sapi, Domba	Meningkatkan produksi susu dan meningkatkan bobot badan
Unggas:Ayam	Menurunkan kuman E.coli
Hewan air:Udang, ikan	Meningkatkan bobot badan Meningkatkan sistem kekebalan tubuh
Aneka ternak:Kelinci	Meningkatkan bakteri yang menguntungkan

Sumber:Ahmad(2012)

Khamir laut juga dapat menghasilkan senyawa bioaktif antara lain protein sel tunggal, asam amino, vitamin C, glutation, β -carotenoid, glukon, amylase, phytase, pembunuh toksin, dan protease (Zhenming *et al.*, 2006). Khamir laut yang mempunyai alkaline protease tertinggi yaitu khamir laut strain 10 yang diisolasi dari sedimen laut dekat Qingdao Cina (Ping *et al.*, 2006). Dalam protease murni dari khamir laut jenis strain N13d dapat digunakan sebagai

hidrolisat protein spirulina yang didapatkan aktivitas antioksidan tertinggi dan protease dari khamir laut strain NH2-3 (Ni et al., 2008).

2.3 Molase

2.3.1 Karakteristik Molase

Molases merupakan produk hasil samping yang berasal dari pembuatan gula tebu. Molases kaya akan biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor, dan sulfur. Selain itu juga mengandung gula antara lain sukrosa 30-40%, glukosa 4-9% dan fruktosa 5-12%. Tetes tebu telah digunakan secara luas sebagai sumber karbon untuk denitrifikasi, fermentasi anaerobik, pengolahan limbah aerobik, dan diaplikasikan pada budidaya perairan. Karbohidrat yang terkandung dalam tetes tebu telah siap digunakan untuk fermentasi tanpa perlakuan pendahuluan karena sudah berbentuk gula (Hidayat dan Suhartini. 2006).

Molase merupakan hasil akhir dalam proses pengolahan gula setelah mengalami kristalisasi secara berulang, molase berwarna coklat kehitaman dan berbentuk cairan kental. Molase mengandung 48 – 56% gula dan sedikit unsur-unsur mikro (*trace element*) yang penting bagi kehidupan organisme, seperti cobalt, boron, iodium, tembaga, mangan, dan seng. Komposisi kimia molase dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Komposisi Kimia Molase

Komposisi	Presentase (%)
Protein Kasar	2,0-4,60
Sukrosa	30-40
Ca	0,5-4,7
N	0,40-1,50
P ₂ O ₅	0,60-2,00
CaO	0,10-1,10
MgO	0,03-0,10
K ₂ O	2,60-5,00
Total abu	7,00-11,0

Kusumawardhani (2011)

Kandungan gula yang cukup tinggi menyebabkan molase termasuk dalam kelompok bahan pangan yang awet. Molase masih banyak mengandung gula dan asam-asam organik yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi dalam proses fermentasi. Tamad dan Maryanto (2010) mengungkapkan bahwa molase yang merupakan sumber karbon mengandung sukrosa 30 – 40 %, K, Ca, Mg, Fe, na dan P.

2.3.2 Manfaat Molase terhadap Pertumbuhan Khamir Laut

Khamir laut dapat mengubah senyawa gula menjadi alkohol dan juga memproduksi metabolit lain seperti gliserol, asam suksinat, alkohol rantai panjang, 2.3 butanadiol, sedikit asetaldehid, asam asetat, dan asam laktat (Fardiaz, 1992). Febriani (2008) mengungkapkan bahwa aktivitas ini didukung oleh keberadaan sumber energi yang tersedia dari molase yang banyak mengandung gula, sebagai sumber karbon dan energi bagi khamir laut untuk pertumbuhannya.

Molase merupakan sumber karbon paling disukai oleh khamir laut dibandingkan glukosa, sukrosa, dan air beras. Molase (jumlah total gula 9 mg/mL) yang ditambah dengan pepton (0,75%), ekstrak yeast (0,5%), dan MgSO₄ (0,25%), mendukung pertumbuhan maksimum dari strain jenis

Debaryomyces hansenii (S8), *Debaryomyces hansenii* (S100), *Candida sake* (S165), dan *Candida tropicalis* (S186), Sarlin dan Philip (2013) .

2.4 Perebusan

Budy (2014), mengungkapkan bahwa Pengolahan panas adalah salah satu cara untuk memperpanjang daya simpan yang dapat menghasilkan produk pangan dengan sifat aman, bergizi, dan dapat diterima dengan baik secara sensori sehingga dapat lebih diterima oleh konsumen. Salah satu pengolahan panas yaitu dengan cara perebusan bertujuan untuk mendapatkan bahan pangan yang aman untuk dikonsumsi karena mikroorganisme akan rusak pada suhu mendidih sehingga nilai gizi yang terdapat dalam bahan pangan dapat dimanfaatkan secara maksimal. Selain itu dengan adanya perlakuan perebusan dapat menghentikan aktivitas enzim sehingga dapat mempertahankan mutu dari bahan pangan tersebut.

Proses perebusan dapat memberikan pengaruh terhadap komponen dari bahan, yang akan menyebabkan perubahan fisik dan komposisi kimia. Winarno (2004) mengungkapkan bahwa, pada bahan makanan terdapat molekul-molekul berbagai senyawa yang terikat satu sama lain melalui ikatan hidrogen. Proses perebusan atau pemanasan dengan media air dapat mengurangi daya tarik-menarik antara molekul-molekul air dan memberikan cukup energi kepada molekul-molekul air tersebut sehingga dapat mengatasi daya tarik menarik antar molekul bahan pangan tersebut. Karena itu daya kelarutan pada bahan pangan yang melibatkan ikatan hidrogen akan meningkat dengan meningkatnya suhu.

2.5 Protein dan Asam Amino

Protein sebagai salah satu komponen penyusun bahan pangan mempunyai peranan yang sangat besar dalam menentukan mutu produk

pangan. Protein mampu berinteraksi dengan senyawa-senyawa lain, baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga berpengaruh pada aplikasi proses, mutu dan penerimaan produk. Sifat-sifat inilah yang disebut dengan sifat fungsional protein, seperti water binding, kelarutan, pembentukan gel, flavor binding dan aktivitas permukaan (Haslina *et.al.*, 2006).

Asam amino merupakan senyawa penyusun protein, yang membentuk sel tubuh manusia dan hewan. Asam amino dibagi dalam dua kelompok utama, yaitu asam amino esensial dan nonesensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi oleh tubuh sehingga harus disuplai lewat makanan, sedangkan asam amino nonesensial dapat diproduksi dalam tubuh. Berbagai jenis asam amino menyatu dalam ikatan peptida menghasilkan protein. Asam-asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh manusia ialah histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, arginin, phenilalanin, treonin, triptofan, dan valin, sedangkan asam-asam amino non esensial ialah alanin, aspargin, sistein, asam glutamat, glutamin, asam aspartat, glisin, hidrokisprolin, dan tirosin (Amalia,2007).

Protein sebagai salah satu nutrien bahan pangan dapat berfungsi sebagai komponen energi pengganti tubuh yang rusak maupun sumber energi. Tingginya nilai protein dalam makanan dapat ditentukan dengan melihat asam amino dan daya cerna protein. Daya cerna protein dapat menentukan ketersediaan asam-asam amino secara biologis. Asam amino terbagi menjadi dua kelompok yaitu asam amino esensial dan non esensial (Riyanto, 2006). Beberapa fungsi asam amino esensial dan non esensial dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Beberapa fungsi asam amino esensial dan non esensial

Asam Amino	Fungsi
Esensial	
Histidin	Prekursor histamin, penting untuk pertumbuhan fisik dan mental sempurna dan menanggulangi penyakit rematik.
Isoleusin	Pertumbuhan bayi dan keseimbangan nitrogen bagi orang dewasa.
Leusin	Merangsang pembentukan insulin yang berlebihan oleh pankreas.
Lisin	Untuk <i>crosslinking</i> protein dalam biosintesis karnitin, menyembuhkan penyakit herpes kelamin.
Metionin	Produksi sulfur, menjaga kenormalan metabolisme, sebagai antioksidan dan merangsang serotonin sehingga dapat menghilangkan kantuk.
Arginin	Terlibat dalam sintesis urea di hati dan memperlancar peredaran darah.
Phenilalanin	Untuk prekursor tirosin, katekolamin dan melanin.
Treonin	Menyumbangkan nitrogen.
Triptofan	Prekursor nikotinamin dan produksi serotonin pada otak.
Valin	Pada penyakit anemia, menggantikan posisi asam glutamat dalam hemoglobin.
Non esensial	
Alanin	Prekursor glukogenik, pembawa N dari jaringan ke permukaan untuk ekskresi N.
Aspartat	Biosintesis urea, prekursor glukogenik, dan prekursor pirimidin.
Sistein	Sebagai prekursor taurin (misalnya proses konjugasi asam empedu).
Glutamat	Produksi antara-dalam reaksi interkonversi asam amino, prekursor prolin, ornitin, arginin, poliamin, neurotransmitter α -amino butirat (GABA), sumber NH ₃ .
Glisin	Prekursor dalam proses biosintesis purin dan neurotransmitter.
Serin	Komponen fosfolipid, prekursor sfingolipid, prekursor etanolamin dan kholin.
Tirosin	Prekursor katekolamin dan melanin.
Prolin	Pembentukan kolagen dan penyerapan zat-zat gizi bagi tubuh.
Glutamin	Donor kelompok amino untuk berbagai reaksi non asam amino pembawa N.

2.6 Fermentasi

2.6.1 Definisi dan Manfaat Fermentasi

Fermentasi yaitu salah satu upaya dalam meningkatkan kualitas bahan pakan, ddalam proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan starter mikroorganisma jenis (kapang atau bakteri) yang sesuai dengan substrat. Dalam Proses fermentasi mempunyai kelebihan antara lain: tidak mempunyai efek samping yang negatif, mudah dilakukan, relatif tidak membutuhkan peralatan

khusus dan biaya relatif murah. Tampoebolon (2009) menyatakan bahwa, pada proses fermentasi biasanya menggunakan kapang *Aspergillus niger* sebagai starter, hal ini dirasa cocok dan sesuai dengan tujuan fermentasi, yaitu untuk menurunkan kadar serat dan sekaligus dapat meningkatkan kadar protein kasarnya.

Banyak penelitian saat ini yang menggunakan kapang *Aspergillus niger*, sejauh ini masih belum banyak fermentasi menggunakan khamir laut, Indah dan susanto (2009) menyatakan bahwa pada proses Fermentasi yang menggunakan khamir karena mampu memecah gula menjadi alkohol, dan asam-asam organik.

2.6.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi Fermentasi

Proses fermentasi merupakan proses biokimia dimana terjadi perubahan-perubahan atau reaksi-reaksi kimia dengan pertolongan jasad renik penyebab fermentasi tersebut bersentuhan dengan zat makanan yang sesuai dengan pertumbuhannya. Akibat terjadinya fermentasi sebagian atau seluruhnya akan berubah menjadi alkohol setelah beberapa waktu lamanya Widianingrum (2009), Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi fermentasi sebagai berikut:

a) Suhu

Suhu yang baik saat fermentasi adalah dibawah 30°C

b) Kadar Oksigen

Reaksi pembentukan alkohol dalam suasana anaerob, akan tetapi oksigen tetap diperlukan pada awal fermentasi untuk pembentukan sel lebih cepat setelah sel yang terbentuk cukup. Suasana anaerob akan terbentuk dengan sendirinya, sebab oksigen terlarut telah habis dikonsumsi dan timbul gas CO_2 yang terakumulasi mendukung suasana anaerob.

c) Substrat

d) pH

pH optimal untuk fermentasi alkohol adalah 4,0-4,5

e) Lama Fermentasi

Biasanya waktu fermentasi berlangsung 24-72 jam, lama fermentasi diperkirakan mempengaruhi sifat fisik dan fungsional yang dihasilkan sehingga perlu dilakukan penelitian terhadap lama fermentasi yang berbeda untuk memaksimalkan sifat fisik dan fungsional hidrolisat protein

f) Khamir (inokulasi)

Jumlah Khamir yang digunakan harus diperhatikan. Khamir yang ada harus mampu menghasilkan alkohol dalam jumlah yang optimal.

2.6.3 Teknologi Fermentasi

Pada penelitian Astuti *et al.*, (2009) telah diuraikan bahwa teknologi Fermentasi bergantung terhadap jenis mikroba, dosis dan lama fermentasi, serta media yang digunakan. Ditambahkan penjelasan Candra (2006) menyatakan bahwa selama proses fermentasi berlangsung terjadi adanya aktivitas mikroba pada substrat organik yang sesuai. Peranan substrat yang terpenting adalah sebagai sumber energi bagi metabolisme sel, sebagai bahan pembentuk sel dan produk metabolisme.

Proses yang menggunakan fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi suatu bahan pangan atau pakan, lebih mudah dicerna, lebih aman dan relatif lebih efisien karena dapat menghasilkan makanan yang lebih tahan lama. Winarno (2007) mengemukakan bahwa kualitas fermentasi juga dipengaruhi suhu dan pH. Akan tetapi hasil akhir dari suatu produk fermentasi itu beraneka ragam. Semua itu tergantung pada substrat dan mikroba yang digunakan serta tujuan dari fermentasi itu sendiri ingin menghasilkan produk yang bagaimana.

2.6.4 Fermentasi dengan Starter Khamir Laut

Proses pembuatan hidrolisat protein terdapat adanya penambahan molase atau gula pasir di dalam proses fermentasinya. Menurut penelitian Indah dan Susanto (2013) penambahan molase atau gula pasir dilakukan karena gula pasir merupakan sumber karbon yang dibutuhkan mikroorganisme untuk melangsungkan kehidupan dan diharapkan dengan adanya penambahan gula pasir aktivitas mikroorganisme akan meningkat.

Fermentasi merupakan upaya dalam peningkatan kualitas bahan pakan yang saat ini telah banyak dilakukan. Dalam proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan starter mikroorganisma (kapang atau bakteri) yang sesuai dengan substrat dan tujuan proses fermentasi tersebut. Proses fermentasi mempunyai kelebihan antara lain: tidak mempunyai efek samping yang negatif, mudah dilakukan, relatif tidak membutuhkan peralatan khusus dan biaya relatif murah (Tampoebolon 2009).

Khamir telah sering dipergunakan dalam suatu proses industri pangan seperti produk fermentasi karena khamir merupakan salah satu mikroorganisme yang memiliki protein sel tunggal. Khamir laut memproduksi enzim protease yaitu untuk menghidrolisis substrat fermentasi. Menurut Winarno (2007), khamir mempunyai protein cukup tinggi yaitu ($N \times 6.25$) atau sebesar 40 – 48% protein kasar. Disamping itu khamir juga mampu menghasilkan enzim protease yang dapat digunakan untuk mendegradasi protein pada substrat saat proses fermentasi berlangsung.

Khamir dapat memanfaatkan heksosa monosakarida seperti glukosa, fruktosa, mannose dan galaktosa sebagai substrat pertumbuhan. Senyawa karbon dari jenis-jenis monosakarida seperti glukosa, galaktosa dan fruktosa dapat diasimilasi lebih cepat dibandingkan dengan disakarida yang lebih kompleks dari monosakarida. Akibat perbedaan susunan kimiawinya akan

berpengaruh terhadap kecepatan proses katabolisme senyawa karbon untuk segera bisa dimanfaatkan khamir (Sukoso,2012).

2.7 Hidrolisat Protein

2.7.1 Definisi dan Manfaat Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi senyawa-senyawa berantai pendek karena adanya proses hidrolisis baik oleh enzim, asam maupun basa (Bernadeta *et al.*, 2012). Hidrolisat protein didefinisikan sebagai protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam atau basa kuat hasil akhir berupa campuran asam-asam amino. Bila hidrolisis dilakukan dengan sempurna maka akan diperoleh hidrolisat yang terdiri dari campuran 18 sampai 20 macam asam amino. Produk akhir dapat berbentuk cair, pasta atau bubuk/tepung yang bersifat higroskopis. Fungsi hidrolisat protein dapat sebagai penyedap selain itu dapat juga sebagai pengobatan misalnya sebagai diet untuk penderita penyakit pencernaan. Hidrolisat protein dapat diperoleh dengan cara hidrolisis basa, hidrolisis asam atau secara enzimatis. Mutu produk akhir yang meliputi warna, bau, rasa dan flavor yang khas tergantung pada komposisi asam amino bahan awalnya, kondisi serta bahan penghidrolisis yang digunakan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi hidrolisat protein adalah suhu, lama fermentasi, pH, konsentrasi, dan perbandingan enzim dengan protein. Sedangkan warna, bau, rasa, dan tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, kondisi serta bahan penghidrolisis yang digunakan. Hidrolisis berjalan sempurna maka akan dihasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 17-20 macam asam amino. Hidayat (2011) menyatakan bahwa hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan 17-20 macam asam amino.

2.7.2 Teknologi Hidrolisat Protein

Perkembangan teknologi fermentasi dan bioteknologi pada pengolahan pangan telah mengarah pada penggunaan bahan yang lebih aman untuk menggantikan penggunaan bahan-bahan kimia, seperti asam atau basa. Proses pembuatan hidrolisat protein yang paling efisien adalah secara enzimatik karena dapat memecah protein menjadi senyawa yang lebih sederhana Budy (2014).

Hidrolisat diproduksi biasanya digunakan dalam berbagai kebutuhan seperti memperbaiki kualitas produk pangan maupun sebagai pakan serta meningkatkan cita rasa produk. Hidayat (2005) menyatakan dalam penelitiannya bahwa tujuan pembuatan hidrolisat protein ini yaitu sebagai penyedap, sebagai lanjutan untuk isolate asam amino, serta untuk media pengobatan. Hidrolisat sebagai pengobatan, biasanya disertakan pada penderita gangguan pencernaan.

2.7.3 Hidrolisat Protein dengan Biokatalisator Khamir Laut

Khamir laut yang diisolasi dari Laut Jawa pada tahun 2003 ini dapat dimanfaatkan sebagai starter pada pembuatan hidrolisat protein. Waluyo (2004) dan Fahrudin (2002) telah melakukan penelitian tentang aplikasi kultur khamir laut yang diisolasi dari pantai perairan laut Jawa untuk pembuatan hidrolisat protein ikan peperek. Konsentrasi khamir laut yang paling baik untuk ditambahkan dalam pembuatan hidrolisat protein yang berfungsi sebagai starter serta digunakan untuk melihat profil asam amino dari perlakuan terbaik menurut Fahrudin (2002), yaitu pada 30 mL untuk 100 g bahan ikan (giling) pada suhu inkubasi selama 30°C selama 6 hari dengan jumlah N-amino 0,63%, N-totel 2,686% serta non protein nitrogen 0,716%.

Waluyo (2004), menjelaskan bahwa perlakuan terbaik untuk mendapatkan profil asam amino terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein pada ikan peperek yaitu dengan konsentrasi kultur khamir laut 35 mL pada suhu inkubasi proses 25°C. Untuk analisa profil asam lemak pada perlakuan terbaik mendapatkan tujuh macam asam lemak ditambah EPA dan DHA. Penambahan kultur khamir laut mempengaruhi profil asam lemak yang didapatkan.

2.8 HPLC (*Hight Performance Liquid Chromatography*)

HPLC merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. Kromatografi cair kinerja tinggi dikembangkan menggunakan cairan fase gerak baik cairan polar maupun cairan non polar, dan bekerja pada tekanan tinggi, kromatografi cair kinerja tinggi yang merupakan suatu cara pemisahan komponen dari suatu campuran berdasarkan perbedaan distribusi, absorpsi, adsorpsi pada komponen diantara dua fase yang erbeda yaitu fase diam dan fase gerak (Dewi,2013). Akhir-akhir ini kromatografi cair dengan kinerja tinggi (*High Performance Liquid Chromatography*) banyak digunakan untuk analiisa Asam anino. Metode ini ditunjang oleh peralatan yang baik dan modern, menggunakan kolom yang sangat efisien dan di bawah tekanan yang besar, sehingga saat analisis asam amino dapat dilakukan dalam waktu yang singkat dan memberika hasil yang tepat dan teliti. Rediatning dan nanny(1989) menambahkan, untuk mendeteksi asam amino dapat digunakan detektor sinar tampak atau detektor fluoeresensi dalam hal ini asam amino harus diderivatisasi terlebih dahulu supaya dapat membentuk derivat yang dapat menyerap cahaya UV, tampak, atau berfluoresensi. Senyawa yang banyak digunakan untuk tujuan ini adalah o-ftalaldehida (Qptr)/etantiol (ETSH), dan OPA/2-merkapttoetanol (2-ME). Pereaksi ini dengan asam amino dapat membentuk derivat iso-indol yang berfluoresensi kuat, sehingga dapat terdeteksi oleh detektor fluoeresens. Ada 2

macam cara derivatisasi, yaitu derivatisasi pascakolom dan derivatisasi prakolom, Pada cara derivatisasi pascakolom, mekanisme pemisahan asam amino adalah terjadinya penukaran ion antara gugus amino yang terprotonasi dengan ion Na^+ dari resin penukar kation ($\text{R SO}_3\text{-Na}^+$) pada pH rendah.

Teknik kromatografi diartikan sebagai suatu metoda yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen atau fraksi sejenis menjadi unit yang terpisah satu dengan yang lain yang didasarkan pada perbedaan sifat masing-masing. Perbedaan yang dimaksud dapat berupa perbedaan kelarutannya di dalam pelarut, perbedaan kemampuannya menyerap atau terikat pada komponen lain, perbedaan muatan ionik, ukuran molekul, dan lain sebagainya (Prabawati, 2005). Terdapat beberapa istilah dalam kromatograf sebagai berikut:

1. Fase diam (*stationer phase*), yaitu bahan yang digunakan dalam kromatografi yang tidak bergerak dan membentuk pelat-pelat teoritis. Fase diam dapat berupa padatan, cairan, ataupun gas.
2. Fase bergerak (*moving phase, mobile phase*), yaitu bahan yang digunakan dalam kromatografi yang kedalamnya dilarutkan (terdapat) campuran komponen yang akan dipisahkan, yang bergerak sepanjang fase diam. Fase bergerak dapat berupa cairan maupun gas.
3. Penyangga atau matrik (*support*), yaitu bahan padat yang digunakan pada kromatografi untuk menahan fase diam yang berupa cairan atau gas supaya tidak bergerak.
4. Penyerap (*sorbent*), yaitu bahan padatan yang berfungsi sebagai penyangga sekaligus sebagai fase diam.
5. Solut (*solute*), adalah komponen-komponen yang terdapat dalam bentuk campuran dalam pelarut yang akan dipisahkan melalui sistem kromatografi.

6. Pengembang (*developer*) atau eluen (*eluent*), adalah pelarut/larutan yang digunakan untuk melulusi campuran komponen yang sudah ada di dalam sistem kromatografi supaya dapat bergerak sepanjang pelat-pelat teoritis (kolom).
7. Eluat, yaitu pengembang atau eluen yang keluar dari sistem kromatografi yang secara periodik mengandung komponen-komponen yang sudah terpisahkan.
8. Elusi ialah pekerjaan atau usaha untuk menjalankan komponen-komponen dalam pelarut untuk bergerak sepanjang kolom dalam sistem kromatografi dengan cara mengalirkan eluen.
9. Pemuatan (*loading*) sampel, yaitu pekerjaan menempatkan sejumlah larutan sampel yang mengandung komponen-komponen yang akan dipisahkan ke dalam ruang sampel yang ada pada peralatan kromatografi.
10. Volume retensi (*retention volume, void volume, hold-up volume*), ialah jumlah larutan pengelusi (fase bergerak) yang memenuhi rongga-rongga dan pori-pori dalam kolom (matrik).
11. Volume bed (*bed volume*) adalah jumlah larutan pengelusi ditambah dengan volume kolom.
12. Volume pengelusi (*elution volume*) ialah jumlah larutan pengelusi yang harus ditambahkan ke dalam sistem kromatografi untuk menghasilkan (mengeluarkan dari kolom) sebuah puncak kromatogram.
13. Kolom adalah sejumlah matrik yang dimasukkan ke dalam tabung untuk kromatografi.
14. Kromatogram adalah respon detektor dalam bentuk grafik di antara sumbu respon versus waktu retensi atau dalam bentuk noda-noda di atas bahan penyerap atau fase diam.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2015. Sampel eceng gondok diperoleh dari Waduk Selorejo Kecamatan Ngantang Kabupaten Malang, Jawa Timur. Proses kultur khamir laut dan analisa dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Sedangkan untuk Hidrolisat Protein eceng gondok dianalisa di Laboratorium Nutrisi dan Biokimia Ikani, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk kultur khamir laut terdiri dari air laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), stok khamir laut di dapatkan dari penelitian terdahulu oleh Sukoso (2012) dalam Fathony (2014), plastik *wrap*, dan plastik. Adapaun bahan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari stok khamir laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), kapas, alkohol, dan tissue. Bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein terdiri dari Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) yang di dapatkan dari Waduk Selorejo desa Ngantang Kabupaten Malang Jawa timur, dan bahan dasar pembuatan hidrolisat protein, bahan lain yang digunakan yaitu molase, akuades, dan inokulan khamir laut

Bahan yang digunakan dalam analisis kimia yaitu untuk analisa Total Asam Amino antara lain; kertas saring whatman, asam borat, akuabides, larutan

o-phthaldehyde (OPA), methanol dan merkaptotetanol. Bahan berikutnya yaitu bahan untuk analisa proksimat antara lain kertas label, silica gel, n-heksan, tablet kjedhal, metil orange, NaOH, H₂SO₄. Bahan untuk uji pH, *foaming* dan emulsi yaitu *aquadest* dan minyak jagung.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir laut terdiri dari botol kaca, kompor, panci perebusan, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, *aerator*, selang, corong, dan *beaker glass*. Peralatan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari mikroskop, *Petroff-Hauser Chamber (Haemocytometer)*, mikropipet, *cover glass*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, *vortex mixer*, bola hisap, pipet volume, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan digital, spatula, *sprayer*, dan corong. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname rebus terdiri dari kompor, panci, *waterbath*, *beaker glass*, timbangan digital, piring, bola hisap, pipet volume, botol, sentrifus, selang, *aerator*, kuvet, blender, dan *food processor*.

Peralatan yang digunakan dalam analisis kimia antara lain pengujian proksimat diantaranya oven, botol timbang, *goldfish*, *sampel tube*, gelas piala, *muffle*, penjepit, cawan porselin, kompor listrik, destruksi, destilasi, statif, buret, *sentrifuge*. Kemudian peralatan yang dibutuhkan pada analisis emulsi dan *foaming* yaitu *cuvet*, *vortex mixer*, pipet volume. pH meter, beaker glass, dan spatula dibutuhkan dalam analisis pH. Selanjutnya peralatan yang digunakan analisis total asam amino antara lain; *waterbath*, *stirrer*, pipet volume, bola hisap, mikro pipet, *blender*, *beaker glass*, timbangan digital, sendok, oven, sentrifuge suhu ruang, *falcon*, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), *vortex*.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode ini mengarahkan ke penelitian yang secara sengaja dilakukan oleh peneliti terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu adanya perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna diamati pengaruhnya. Pondasi yang dibangun pada penelitian ini merupakan riset-riset yang telah terdahulu, studi kasus, literatur yang disebutkan serta data sekunder yang lainnya (Williams 2007). Penelitian ini menjadikan topik baru lebih dikenal oleh masyarakat luas, memberikan gambaran dasar mengenai topik bahasan, mengembangkan teori yang bersifat tentatif, membuka kemungkinan akan diadakannya penelitian lanjutan terhadap topik yang dibahas, serta menentukan teknik dan arah yang akan digunakan dalam penelitian berikutnya (Ida 2004).

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu untuk mengetahui waktu pemanenan khamir laut yang dipanen pada saat pertumbuhan atau untuk mengetahui fase logaritmik khamir laut, diasumsikan pada fase logaritmik pertumbuhan khamir laut sangat pesat. Penelitian juga dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui volume khamir laut yang optimal sebagai biokatalisator pada hidrolisat protein eceng gondok sehingga dari volume khamir laut yang terbaik digunakan untuk acuan pada penelitian utama dan juga untuk mengetahui pengaruh penambahan molase pada pembuatan hidrolisat protein yang di fermentasi dan di beri starter khamir laut. Setelah itu dilakukan Penelitian utama yaitu penelitian pada pembuatan hidrolisat protein eceng gondok akan dilakukan analisis kimia Analisa proksimat, buih, emulsi, pH dan volume sustrat yang optimal untuk membuat hidrolisat protei eceng gondok dengan biokatalisator khamir laut serta untuk mengetahui profil asam amino dari hidrolisat protein yang dihasilkan.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah objek penelitian, atau apa yang menjadi titik perhatian suatu penelitian (Arikunto, 2006). Sesuatu dinamai variabel dikarenakan secara kuantitatif atau secara kualitatif ia dapat bervariasi. Apabila sesuatu tidak dapat bervariasi maka ia bukan variabel melainkan konstanta. Menurut Savilla *et al.*, (2006), variabel dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Variabel bebas dari penelitian ini adalah pengaruh perbedaan konsentrasi molase yang ditambahkan dalam proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok dengan konsentrasi molase masing-masing (, 200 ml, 250 ml, dan 300 ml). Selanjutnya lama fermentasi yang berbeda, yaitu dilakukan pengamatan terhadap fermentasi hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12. Berikutnya variabel terkontrol pada penelitian ini yaitu pemberian inokulum khamir laut sebanyak 5 mL pada semua perlakuan.

Variabel terikat meliputi sifat kimia dari hidrolisat protein eceng gondok yaitu kadar air, kadar lemak, kadar protein, kadar karbohidrat, kadar abu, buih, emulsi pH dan total asam amino.

3.5 Rancangan Percobaan

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat perlakuan dan tiga kali ulangan. Dengan perlakuan A= molase segar 200 mL, B=molase segar 250 mL, dan C=molase segar 300 mL dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu kelompok hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12. Model rancangan percobaan penelitian ini dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 8. Model Rancangan Percobaan

Perlakuan	Ulangan	Total	Rata-rata
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus		
	200 mL		
	250 mL		
Hari ke-3	300 mL		
	200 mL		
	250 mL		
Hari ke-6	300 mL		
	200 mL		
	250 mL		
Hari ke-9	300 mL		
	200 mL		
	250 mL		
Hari ke-12	300 mL		
	200 mL		
	250 mL		

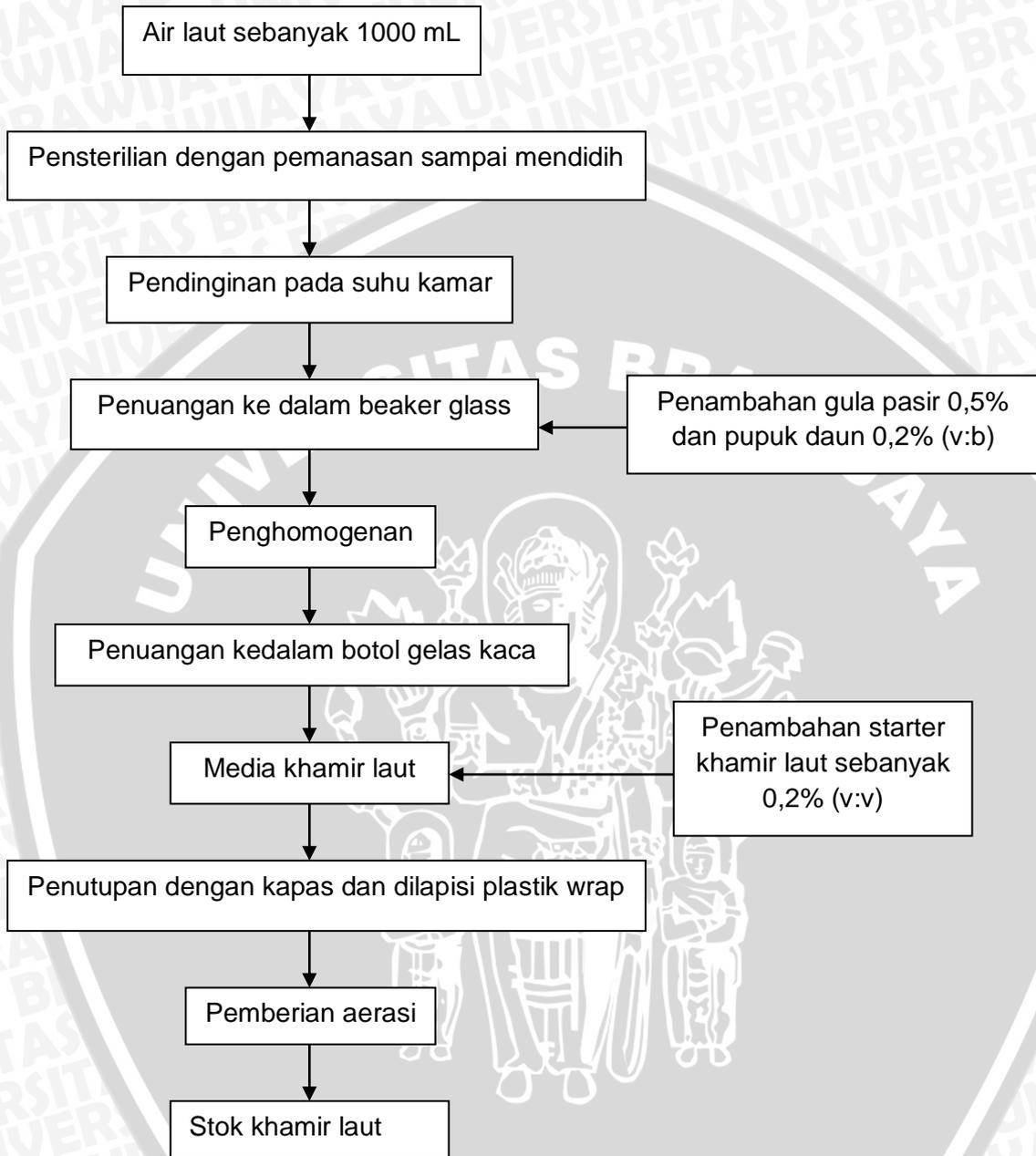
Data yang diperoleh akan dilakukan analisa dengan menggunakan ANOVA (Analysis of Variance) menggunakan uji F dengan membandingkan antara F hitung dengan F tabel

- 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 uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik.

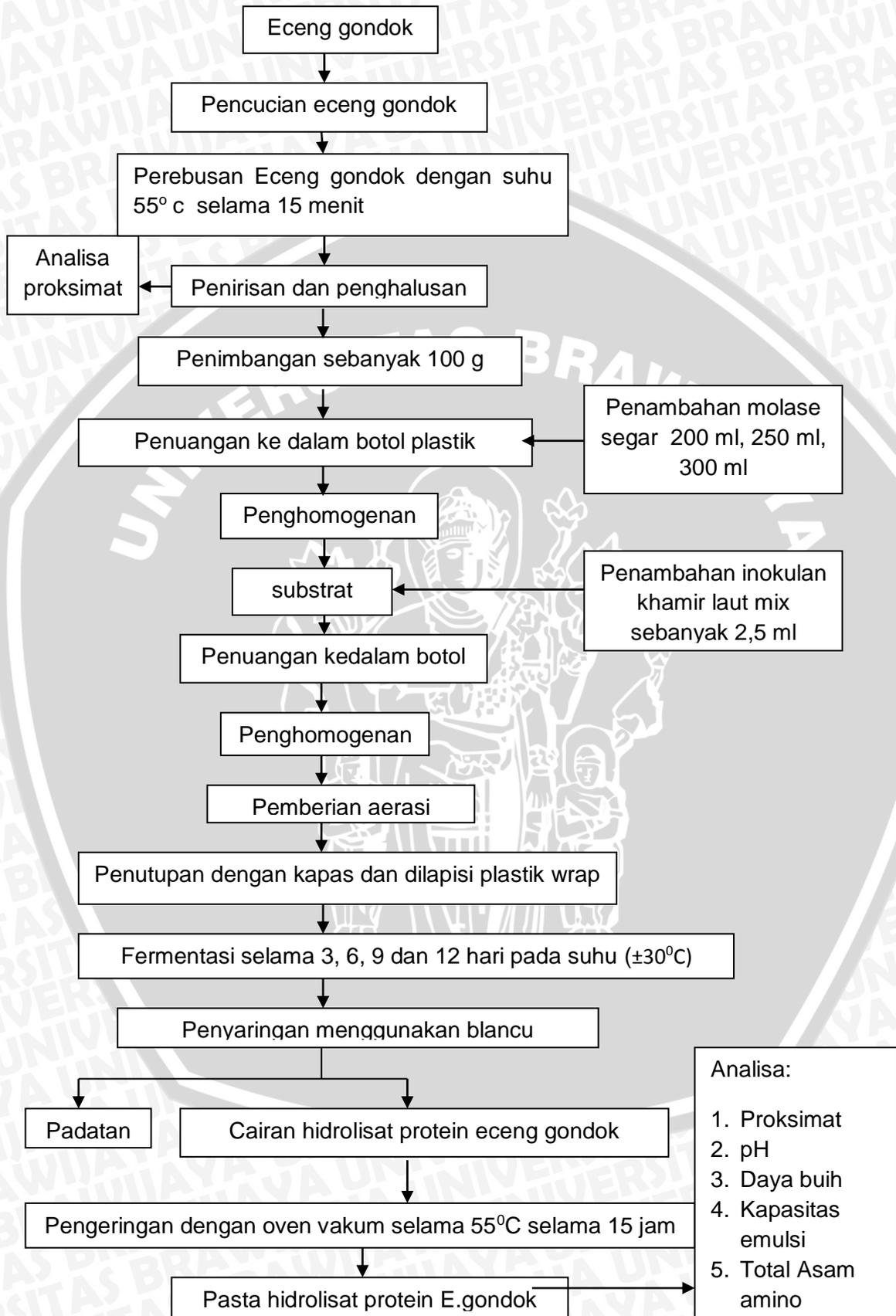
3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Prosedur Kultur Khamir Laut



Gambar 2. Skema kerja kultur khamir laut (Sukoso, 2012).

3.6.2 Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng gondok



Keterangan:

Mengadopsi dari penelitian:

- Budy (2014)

Gambar 3. Diagram alir pembuatan hidrolisat protein eceng gondok

3.7 Prosedur Analisa

Prosedur analisis pada kultur khamir laut meliputi perhitungan kepadatan khamir laut. Untuk penelitian Hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan molase tahap pertama dilakukan penelitian pendahuluan. Kemudian dilanjutkan tahap penelitian utama setelah didapatkan konsentrasi terbaik. Prosedur analisis pada hidrolisat protein eceng gondok rebus dan penambahan molase segar meliputi analisa buih, pH, emulsi, proksimat dan asam amino.

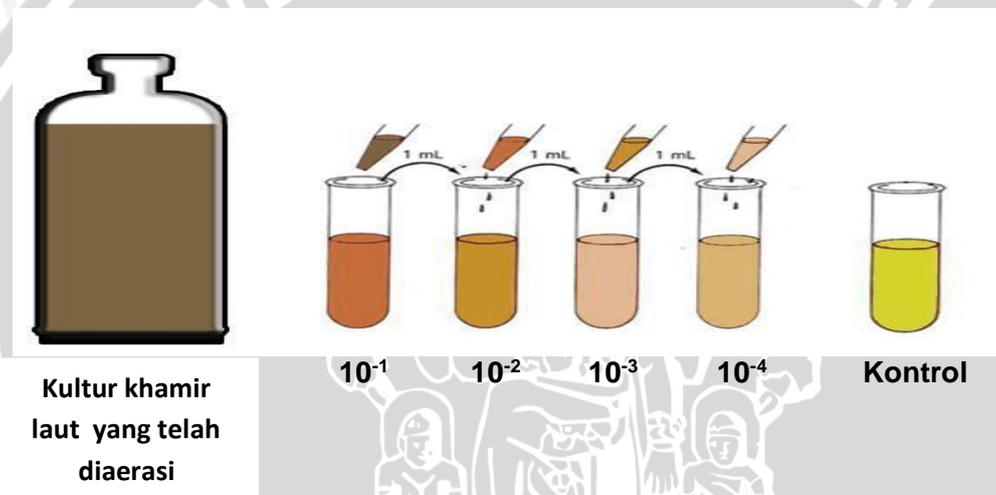
3.7.1 Prosedur Penentuan Khamir Laut

Prosedur dalam mengkultur khamir laut sebagai berikut:

- Bahan berupa air laut, gula pasir, pupuk, dan biakan khamir laut disiapkan.
- Air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih (± 1 jam) kemudian didinginkan pada suhu kamar.
- Air laut steril yang sudah dingin dimasukkan ke dalam botol gelas kemudian ditambahkan gula pasir 5 g sebagai sumber nutrisi dan pupuk daun 2 g sebagai sumber nitrogen lalu dihomogenkan sehingga diperoleh media khamir laut. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun dapat dilihat pada Lampiran 1.
- Media khamir laut ditambah starter khamir laut sebanyak 2 mL lalu dihomogenkan.
- Botol yang digunakan ditutup kapas dan plastik *warp* untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan selanjutnya kultur tersebut diberi aerasi.

- Aerasi dilakukan selama 3 hari untuk dilakukan pengamatan tingkat kepadatan sel khamir laut menggunakan hemositometer setiap 12 jam.

Prosedur pengamatan tingkat kepadatan sel pada kultur khamir laut pada hemositometer yaitu diamati kultur khamir pada jam ke-0 sampai jam ke-96. Langkah pertama yang dilakukan sebelum dilakukan perhitungan kepadatan pada mikroskop yaitu dilakukan pengenceran pada kultur khamir laut tersebut. Pengenceran dilakukan dari 10^{-1} sampai 10^{-4} . Prosedur analisis kadar air dapat dilihat pada Lampiran 2. Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan proses pengenceran dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengenceran kultur khamir laut hingga pengenceran 10^{-4}

Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Persiapan media untuk pengenceran kultur khamir laut. Komposisi media pengenceran yaitu 0,125 g gula pasir dan 0,05 g pupuk daun. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun dalam pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 2. Selanjutnya ditambahkan air laut yang sudah disterilisasi sebanyak 50 mL lalu dihomogenkan.
- Media khamir laut diambil sebanyak 9 mL dan dibuat pada masing-masing empat tabung reaksi untuk diberi perlakuan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-4} .

- Kemudian untuk tabung rekasi 10^{-1} yang telah berisi media diberi kultur khamir laut sebanyak 1 mL yang telah diareasi, selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan *vortex mixer*.
- Dari tabung reaksi 10^{-1} yang telah dihomogenkan diambil 1 mL untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} kemudian dari tabung rekasi tersebut dihomogenkan begitu seterusnya sampai 10^{-4} .
- Dari hasil pengenceran 10^{-4} diuji kepadatan sel khamirnya menggunakan hemositometer pada mikroskop. Perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 3.

Pengamatan kepadatan khamir laut dilakukan setiap 12 jam selama 3 hari dengan menggunakan hemositometer pada mikroskop yaitu dengan mengambil hasil pengenceran 10^{-4} dengan menggunakan mikropipet sebanyak 50 μ L atau 0,05 mL. lalu ditetaskan di papan hemosito dan ditutup dengan *cover glass* selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

3.7.2 Prosedur Penentuan Fase Logaritmik

Prinsip penentuan dari fase log yaitu dengan perhitungan jumlah sel khamir laut menggunakan hemositometer pada mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap 12 jam sekali kultur khamir laut dan diukur tingkat kepadatan atau jumlah sel khamir laut dengan menggunakan hemositometer yang dilihat melalui mikroskop. Kultur khamir laut diamati mulai dari hari jam ke-0 sampai jam ke-96.

Penentuan fase logaritmik yaitu mengkultur khamir laut. Febrani (2006), menyatakan khamir memiliki keunggulan, pada laju pertumbuhan tinggi, dapat tumbuh pada media sederhana tanpa membutuhkan bahan-bahan tambahan yang mahal, maupun tumbuh pada kepadatan sel yang tinggi, tetap tumbuh dalam kultur secara sinambung, daya cerna tinggi, kandungan nutrisi tinggi, tidak

bersifat racun, mudah diperoleh dan tidak berdampak negative. Ditambahkan Jannah (2012), prinsip kultur adalah perbanyak khamir laut yang dapat memproduksi protease, pada proses pertumbuhannya menggunakan media air laut dengan memanfaatkan gula sebagai sumber nutrisi, pupuk sebagai sumber nitrogen dan aerasi yang cukup sebagai suplai oksigen dalam pertumbuhannya. Khamir mampu mentransportasikan dan memanfaatkan senyawa nitrogen organik dan anorganik. Selama pertumbuhan khamir laut menghasilkan senyawa seperti nukleotida, asam amino, enzim dan faktor pertumbuhan yang belum diidentifikasi yang mampu menstimulasi pertumbuhan dan enzim.

3.7.3 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng gondok

Prosedur yang dilakukan dalam penelitian utama ini yaitu langkah pertama mempersiapkan bahan baku eceng gondok. Pada penelitian ini untuk bahan baku awal tanpa diberi perlakuan yaitu menggunakan bahan baku eceng gondok segar kemudian di rebus menggunakan *waterbath* dengan suhu 55°C selama 15 menit . Kemudian dihaluskan menggunakan *chopper*. Tujuan dihaluskan yaitu supaya bahan baku lebih mudah bercampur dengan komponen bahan yang lain. Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap bahan baku. Bahan baku ini dilakukan uji makro yaitu dengan cara analisa proksimat. Komposisi gizi bahan pangan terdiri dari empat komponen utama yaitu air, protein, karbohidrat dan lemak. Pada Jumlah dalam komponen tersebut berbeda-beda pada bahan pangan tergantung dari sifat alamiah bahan misalnya, kekerasan, citarasa dan warna (Winarno, 2007).

Selanjutnya yaitu dilakukan penambahan molase segar berbagai konsentrasi yang berbeda yaitu 200 mL, 250 mL dan 300 mL. Tujuan diberikan perlakuan yang berbeda pada molase segar yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas molase segar dalam proses pembuatan hidrolisat protein eceng

gondok. Selanjutnya ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 5 mL. Tahap ini digunakan inokulan khamir laut dari hasil penentuan fase logaritmik khamir laut karena pada fase tersebut pertumbuhan khamir laut menunjukkan pertumbuhan yang maksimal. Tujuan digunakan khamir laut yaitu sebagai *starter* dalam proses hidrolisis pada eceng gondok. Setelah itu dalam pembuatan hidrolisat protein dilakukan proses fermentasi, dimana dilakukan pengamatan pada hari ke-3, 6, 9 dan 12 hari. Tujuan dibuat lama fermentasi yang berbeda yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok. Berikutnya yaitu dilakukan analisis terhadap hasil fermentasi ke-3, 6, 9 dan 12 hari. Sebelum dilakukan analisis hal yang harus dilakukan yaitu pada hidrolisat protein eceng gondok diperas menggunakan kain blacu. Bertujuan untuk memisahkan antara cairan dan endapan pada sampel hidrolisat protein tersebut. Kemudian cairan hidrolisat protein dioven vakum selama ± 15 jam. Tujuan dioven vakum menggunakan suhu 55°C yaitu supaya tidak merusak pada kadar protein dalam hidrolisat protein. Selain itu, kadar air pada hidrolisat protein akan turun dan menjadi bentuk pasta. Hal tersebut dikarenakan adanya proses evaporasi, dimana pada prinsipnya yaitu menguapkan air yang ada pada bahan (larutan pekat) menggunakan vakum (tanpa adanya udara) dengan tekanan tinggi. Selanjutnya dilakukan analisis kimia diantaranya analisis prosimat. Selain itu juga dilakukan analisis pH, emulsi, dan daya buih. Analisis tersebut merupakan karakteristik fisik dari hidrolisat protein. Dari hasil hidrolisat protein terbaik tiap perlakuan fermentasi, selanjutnya dilakukan analisis total asam amino.

3.7.4 Prosedur pengukuran pH setelah fermentasi berupa filtrat dan residu, residu dan cairan

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 protein eceng gondok. Pengujian pH bertujuan untuk mengetahui bahwa eceng gondok telah terhidrolisis oleh khamir laut.

Prosedur dalam pengukuran pH antara lain:

- Kalibrasi pH memakai larutan buffer
- Elektroda dibilas dengan aquades, keringkan dengan kertas tisu dan selanjutnya celupkan elektroda dengan dengan buffer pH 4, sampai pH meter menunjukkan angka 4
- Bilas ujung elektroda dengan aquades dan dikeringkan menggunakan tissue, lalu elektroda di celupkan ke buffer pH 7 sampai pH meter menunjukkan angka 7
- Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap
- Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter

3.8 Parameter Uji

3.8.1 Analisa Proksimat

Analisa proksimat yang dilakukan pada hidrolisat protein eceng gondok rebus dan penambahan molase segar meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan kadar karbohidrat.

- **Kadar Air (Andarwulan *et al.*, 2011)**

Metode analisa kadar air adalah dengan menggunakan metode pengeringan atau pengovenan. Prinsipnya yaitu mengeringkan sampel dalam

oven pada suhu 100 °C – 105 °C hingga diperoleh berat konstan. Metode ini dilakukan dengan cara mengeluarkan air dari bahan akibat proses pemanasan. Prosedur analisa kadar air dapat di lihat pada lampiran 4.

- **Kadar Lemak (Sudarmadji et al., 2003)**

Metode yang digunakan dalam analisa kadar lemak adalah dengan menggunakan metode goldfish yaitu sampel yang sudah dihaluskan sebanyak 5 gram dimasukkan dalam thimble dan dipasang dalam tabung penyangga yang pada bagian bawahnya berlubang. Bahan pelarut yang digunakan ditempatkan pada beaker glass dibawah tabung penyangga. Prinsip kerja metode ini yaitu apabila dipanaskan, uap pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga uap akan mengembun dan menetes pada sampel, demikian terus menerus sehingga bahan atau sampel akan dibasahi oleh pelarut dan lipid akan terekstraksi seterusnya akan tertampung pada beaker glass kembali. Setelah dipanaskan 3 – 4 jam, pemanas dimatikan, lalu diulang hal yang sama tetapi pelarut diganti dengan yang baru. Selanjutnya residu dioven dalam 100 °C sampai berat konstan. Berat residu ini dinyatakan sebagai minyak atau lemak yang terkandung dalam bahan pangan. Dihitung kadar lemaknya menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ kadar lemak} = \frac{\{(a + b) - c\}}{a} \times 100 \%$$

keterangan: a = berat awal (gram)

b = berat kertas saring (gram)

c = berat akhir (gram)

Prosedur analisa kadar lemak dapat di lihat pada lampiran 5.

- **Analisis Kadar Karbohidrat Metode *by different* (Andarwulan,2011)**

Analisis kadar karbohidrat menggunakan metode *by different* . Prinsip metode *by different* ini adalah bahan (100%) diasumsikan terdiri dari air, lemak, protein dan karbohidrat. Kadar karbohidrat sebagai hasil pengurangan 100%-(kadar air+lemak+protein)%. Zat-zat yang lain baik vitamin maupun mineral tidak diperhitungkan karena sebagai *trace element* .

- **Kadar Abu (AOAC, 2005)**

Analisis kadar abu dilakukan dengan mengabukan sampel didalam tanur. Tahap pertama adalah preparasi cawan porselen dikeringkan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 105 °C lalu didinginkan dalam desikator selma 15 menit kemudian ditimbang. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan cawan pengabuan yang akan dibakar diatas kompor listrik hingga tidak keluar asap lagi. Setelah itu cawan dimasukkan kedalam tanur pengabuan dengan suhu 600 °C selama 6 jam. Timbang cawan hingga didapatkan berat konstan. Proses pengabuan dilakukan sampai abu berwarna putih. Setelah itu cawan didinginkan dalam desikator selama 30 menit, kemudian ditimbang bobotnya.

Perhitungan kadar abu:

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

Keterangan: A = Berat cawan kosong (gram)

B= Berat cawan yang diisi sampel (gram) sebelum ditanur

C= Berat cawan dengan sampel (gram) setelah ditanur

Prosedur analisa kadar abu dapat di lihat pada lampiran 6.

- **Kadar Protein (AOAC, 2005)**

Prinsip analisis protein yaitu untuk mengetahui kandungan protein kasar (*crude protein*) dari suatu bahan. Prosedur yang dilakukan dalam analisis protein terdiri dari tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Pengukuran kadar protein dilakukan dengan metode mikro Kjeldahl. Prosedur analisa kadar protein dapat di lihat pada lampiran 7.

- **Uji pH**

Nilai pH menunjukkan derajat keasaman suatu bahan, pH merupakan ion hidrogen yang terdapat di dalam larutan. Prinsip dari pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hidrogen secara potensiometri atau elektrometri dengan menggunakan pH meter. pH adalah faktor kimia yang sangat mempengaruhi keawetan makanan atau bahan makanan, dimana mikrobamikroba hanya dapat hidup dan berkembang biak dalam lingkungan dengan kondisi pH tertentu.

Prosedur dalam pengukuran pH antara lain:

- Kalibrasi pH memakai larutan buffer
- Elektroda dibilas dengan aquades, keringkan dengan kertas tisu dan selanjutnya celupkan elektroda dengan dengan buffer pH 4, sampai ph meter menunjukkan angka 4
- Bilas ujung elektroda dengan aquades dan dikeringkan menggunakan tissue, lalu elektroda di celupkan ke buffer pH 7 sampai ph meter menunjukkan angka 7
- Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap
- Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter

- **Uji Buih (Rieuwpassa *et al.*, 2013).**

Prosedur analisa daya buih yaitu sampel ditimbang sebanyak 1 gram lalu ditambahkan 10 mL air dan dihomogenisasi selama 1 menit. Diamati kapasitas busa yang terbentuk dan dihitung kapasitas busanya dibandingkan dengan kapasitas volume awal.

$$\text{Kapasitas busa} = \frac{\text{volume busa yang terbentuk}}{\text{volume awal}} \times 100\%$$

- **Uji Emulsi (Rieuwpassa *et al.*, 2013).**

Prosedur analisa emulsifikasi yaitu sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan kedalam cuvet kemudian ditambahkan 10 mL air dan 10 mL minyak jagung. Homogenisasi larutan selama 1 menit lalu disentrifus pada 7500 rpm selama 7,5 menit. Kapasitas emulsi dihitung menggunakan rumus.

$$\text{Kapasitas emulsi} = \frac{\text{volume emulsi setelah disentrifus}}{\text{volume awal}} \times 100\%$$

- **Uji Total Asam Amino**

Analisis asam amino ditentukan dengan menggunakan HPLC. Prinsip kerja HPLC ialah menggunakan kromatografi yaitu merupakan suatu metode pemisahan yang mengacu pada perbedaan migrasi komponen-komponen antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Sebelum digunakan perangkat HPLC harus dipreparasi dibilas dulu dengan eluen yang akan digunakan selama 2-3 jam. *Syringe* yang akan digunakan juga harus dibilas dengan akuades. Analisa asam amino dilakukan dengan menggunakan HPLC. Prosedur analisa asam amino adalah sebagai berikut:

- a) Larutan Standar/ Larutan baku

- Dipipet 40 μ l Std mix asam amino

- Ditambahkan 40 µl internal standar AABA
- Ditambahkan 920 µl aquabidest
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Diambil 10 µl standar
- Ditambahkan 70 µl AccQ-flut Borate
- Dihimogenkan dengan vorte mixer
- Ditambahkan 20 µl reagent fluor A
- Dihomogenkan dengan vortex mixer dan didiamkan selma 1 menit
- Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55^oc
- Disuntikan 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^oc
- Didinginkan dan pindahkan ke labu ukur 50 MI dan tambahkan aquabidest sampai tanpa batas
- Disaring dengan filter 0,45 µm
- Dipipet 500 µl filtrate, 40 µm AABA dan 460 µl aquabidest
- Dipipet 10 µl larutan
- Ditambahkan 70 µl AccQ-Fluor Borate dan dihomogenkan dengan vortex mixer
- Ditambahkan 20 µl reagent fluor A , dihomogenkan dengan vortex mixer dan didiamkann selama 1 menit
- Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55^oc
- Disuntikan pada HPLC

- Perhitungan

Kandungan asam amino dalam 100 gram bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$\mu\text{mol asam amino} = \frac{\text{luas daerah sampel} \times C \times fp}{\text{luas daerah standar}}$$

Keterangan: C = Konsentrasi standar asam amino (0,5 $\mu\text{mol/ml}$)
fp = faktor pengenceran (5 ml)

$$\% \text{ asam amino} = \frac{\frac{(\text{Area komponen}) \text{ sampel} \times \text{konsentrasi standar} \times \text{BM} \times fp}{\text{Area AABA}}}{\frac{(\text{Area komponen})}{\text{Area AABA}} \times \text{X Standar} \times 1.10^6 \times \text{Bobot sampel (g)} \times 1 \times 10^3}} \times 100 \text{ gr}$$

Kondisi alat HPLC saat berlangsungnya analisis asam amino sebagai berikut:

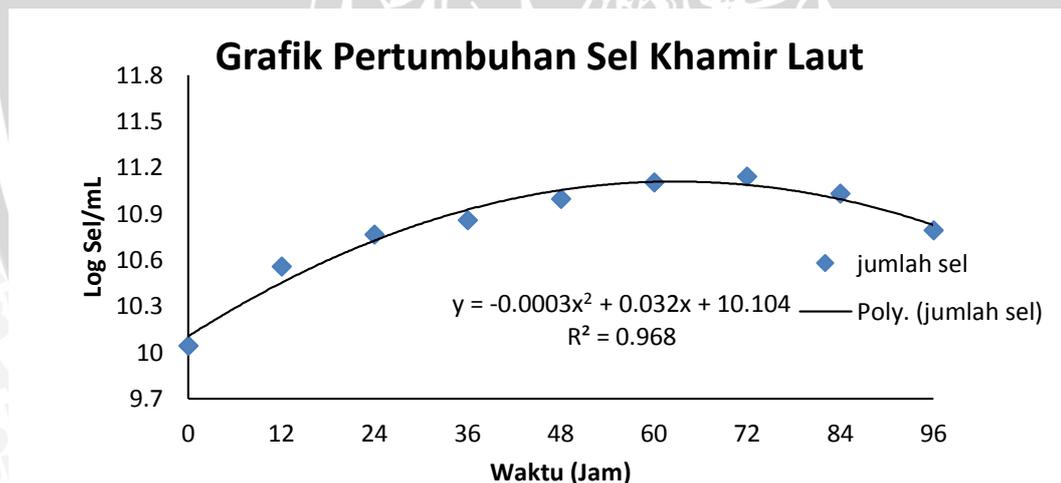
Temperatur	: 37 °C
Jenis kolom HPLC	: AccQtag column (4,9x150 mm)
Kecepatan alir eluen	: 1 ml/menit
Tekanan	: 3000 psi
Fase gerak	: Acetonitril 60%-AccqTag Eluent A ,sistem gradien komposisi
Detektor	: Fluoresensi , eksitasi=250 nm, emisi=395 nm
Panjang gelombang	: 254 nm

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Penentuan fase logaritmik merupakan Penelitian pendahuluan, yaitu penelitian tentang fase pertumbuhan khamir laut dan penentuan fase logaritmik. Fase logaritmik sel yaitu fase dimana sel khamir membelah dengan cepat dan konstan. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi. Pertumbuhan khamir laut ini ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pertumbuhan sel yang dilihat dari pengamatan melalui hemositometri pada mikroskop. Data pengamatan dan analisis data kepadatan khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 8 dan hasil pertumbuhan khamir laut dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.

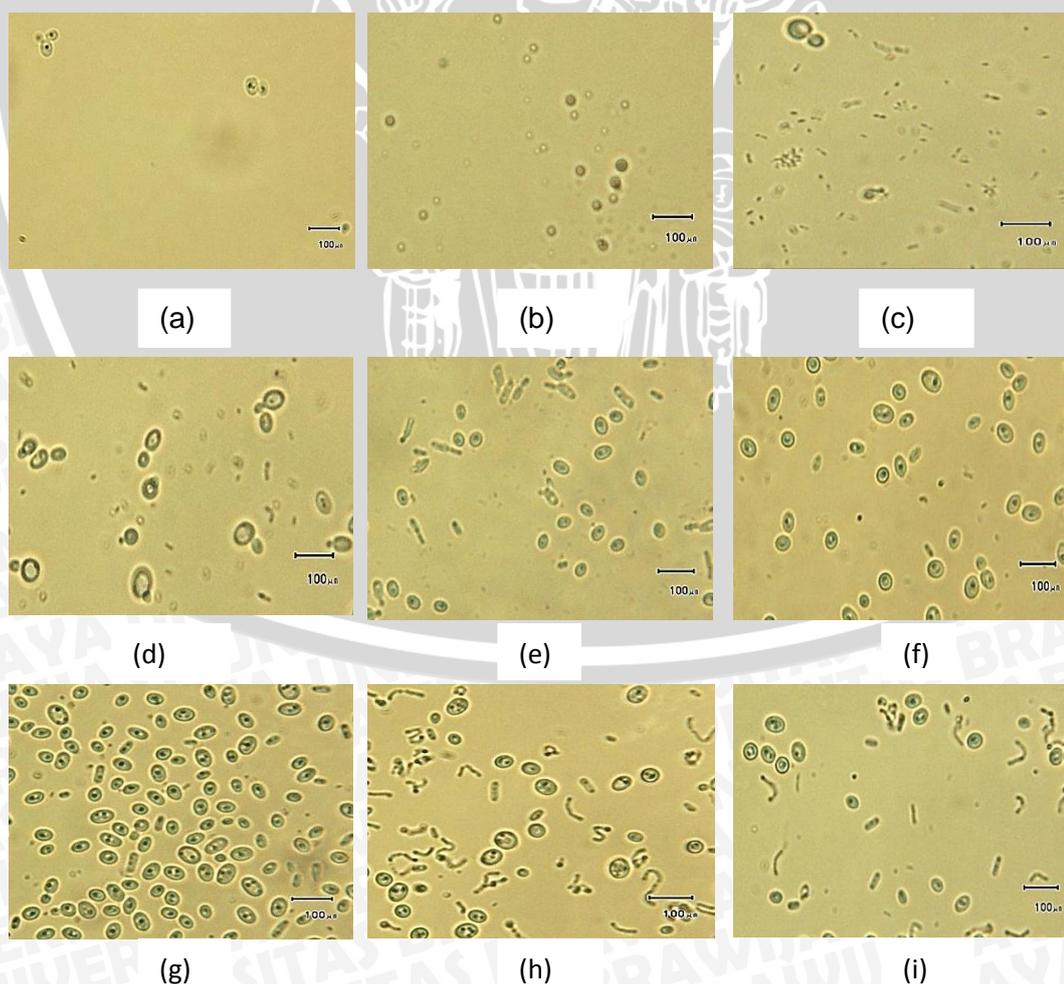


Gambar 5. Kepadatan Khamir Laut dalam Lama Waktu Tertentu

Gambar 5 menunjukkan bahwa titik optimasi pertumbuhan sel khamir laut yang diamati menggunakan *Haemosyrometer* menunjukkan pertumbuhan khamir laut tertinggi pada jam ke-72 dan selanjutnya mengalami penurunan pada jam ke-84. Jumlah sel khamir laut tertinggi atau pada jam ke-72 menunjukkan fase logaritmik khamir laut. Janah (2012) melaporkan bahwa khamir laut mengalami

pembelahan secara cepat pada hari ke 3 atau jam ke-72. Sedangkan penurunan jumlah sel khamir laut terjadi pada jam ke-84 dan selanjutnya yaitu merupakan fase kematian. Sukoso (2012) menambahkan bahwa pertumbuhan khamir laut disebabkan oleh beberapa hal diantaranya (1) khamir laut memiliki batas toleransi untuk memanfaatkan gula sebagai sumber karbon dan sumber energi bagi kelangsungan pertumbuhannya, (2) kepekatan konsentrasi media yang berkaitan dengan tekanan osmosis berpengaruh terhadap optimalisasi penyerapan nutrient oleh sel khamir laut, dan (3) semakin tinggi konsentrasi gula menyebabkan pH media semakin turun sehingga daya dukung media terhadap pertumbuhan khamir laut semakin menurun.

Fase log terjadi pada jam ke-72 diperkuat dengan hasil pengamatan mikroskop. Mikrograf yang dihasilkan dari kepadatan khamir laut terhadap lama waktu kultur dengan pembesaran 1000x dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mikrograf kepadatan khamir laut pada berbagai lama waktu tertentu dengan perbesaran 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) dan jam ke-96(i).

Gambar 6 Menunjukkan bahwa kepadatan sel khamir laut, dengan bentuk sel yang bulat serta terdapat bulatan kecil yang menempel pada sel tersebut yang disebut dengan konodia. Konodia tersebut menunjukkan sel khamir laut yang sedang mengalami pembelahan. Bentuk sel khamir bermacam-macam, seperti bulat, oval, silinder dan bulat panjang. Seperti halnya yang dijelaskan oleh Sukoso (2012) sel khamir laut berbeda dengan sel bakteri atau jenis mikroorganisme lain karena sel khamir laut berukuran lebih besar daripada bakteri (5-8 um atau lebih), berbentuk oval, memanjang, elips atau bulat. Disamping itu terlihat bahwa sel khamir laut terlihat mempunyai bulatan kecil yang menempel atau disebut konodia. Munculnya konodia pada sel khamir laut tersebut menunjukkan bahwa sel khamir laut tersebut akan terjadi pembelahan melalui pertunasan. Konodia mulai terlihat pada Gambar 6 (d) atau jam ke-36 dan pada Gambar 6 (g) atau jam ke-72 sel khamir mulai terlihat tumbuh banyak. Pada Fase pertumbuhan jam ke-72 yang nantinya digunakan pada penelitian utama sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok.

Gambar 6 (h) dan (i) menunjukkan gambar pengamatan pada jam ke-84 dan pada saat jam ke-96 mulai mengalami penurunan kepadatan sel khamir laut. Hal tersebut disebabkan oleh ketersediaan nutrisi bagi khamir laut untuk berkembang biak mulai berkurang karena sel khamir laut mengalami pembelahan terlalu banyak sehingga nutrisi kurang mencukupi dan faktor lain yang mengganggu biakan sehingga dapat menyebabkan kematian atau penurunan sel. Penurunan sel yang terjadi pada jam ke-84 dan jam ke-96 ini menunjukkan bahwa pada jam ke-72 merupakan fase log. Janah(2012),

mengatakan bahwa fase log khamir laut terjadi pada hari ke-3, hal ini ditunjukkan dengan tingkat kekeruhan yang sangat nyata terutama pada pengenceran 10^{-1} hal ini dikarenakan jumlah kultur khamir laut yang ditambahkan efektif dalam menguraikan nutrisi yang ada atau jumlah kultur khamir laut pada faktor pengenceran 10^{-1} tidak mengalami kejenuhan atau kekeruhan sel dan nutrisi. Fase log pada hari ke-3 diperkuat juga dengan pengamatan pada mikroskop dengan perbesaran 1000x mikrograf yang dihasilkan menunjukkan kepadatan khamir laut pada hari ke-3.

4.1.2 Bahan Baku Hidrolisat Protein Eceng Gondok

Sampel utama yang digunakan pada penelitian hidrolisat protein yaitu eceng gondok. Bahan baku untuk hidrolisat protein diambil dari Waduk Selorejo, Ngantang, Jawa Timur. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia eceng gondok rebus tersebut. Hasil analisis komposisi kimia kerang eceng gondok rebus dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Komposisi Kimia Eceng gondok

Parameter	Nilai rata-rata (%)	
	Eceng gondok (<i>Eichornia crassipes</i> *)	Eceng gondok Rebus (<i>Eichornia crassipes</i>)
Kadar air	-	-
Kadar abu	16-20	15,91
Kadar protein	11,50	10,53
Lemak	-	1,06
Karbohidrat	-	-

Sumber: *) Safitri dan Tri (2004)

Tabel 9 Menunjukkan kandungan gizi dari eceng gondok, secara umum kesetaraan komposisi kimia eceng gondok yang digunakan dalam sampel penelitian ini sebanding dengan penelitian Safitri dan Tri (2004) yang membahas tentang karakteristik kimia eceng gondok. Hal ini berarti komposisi kimia eceng gondok pada umumnya mempunyai nilai yang hampir sama. Apabila terdapat perbedaan yang terlihat mencolok terhadap komposisi kimia eceng gondok

tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal. Safitri dan Tri (2004) menjelaskan bahwa faktor yang mempengaruhi komposisi eceng gondok meliputi jenis eceng gondok, habitat, dan musim.

4.1.3 Penentuan Jumlah Khamir Laut yang Ditambahkan sebagai Starter

Penentuan volume khamir laut digunakan untuk landasan untuk melakukan penelitian utama dalam menambahkan khamir menghidrolisis eceng gondok rebus. Volume khamir yang ditambahkan merupakan hasil dari fase log. Pada penentuan volume khamir yang 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 segar akan lebih cepat berkurang dibandingkan volume khamir laut 1,25 ml. volume khamir yang lebih banyak akan cepat menghidrolisis substrat serta meningkatkan senyawa nitrogen yang bersifat larut. Ditambahkan Janah (2012), 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 katalis enzim meningkat pada konsentrasi yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim berlebih, Dengan demikian volume khamir laut yang digunakan untuk penelitian utama yaitu 2,5 ml.

4.1.4 Penentuan Volume Molase Segar

Penentuan volume molase dan lama waktu fermentasi dengan percobaan awal pada pembuatan hidrolisat protein eceng gondok bertujuan untuk menentukan volume molase dan lama waktu yang optimal dalam menentukan range volume molase dan lama waktu fermentasi yang akan digunakan sebagai landasan pada melakukan penelitian utama. Percobaan pertama didasari oleh percobaan mangisah et al., (2006) yang menyatakan dalam pembuatan fermentasi daun eceng gondok, daun eceng gondok ditimbang sebanyak 200 g untuk setiap perlakuan kemudian ditambahkan starter *Aspergillus niger* sebanyak 2,5% dan tetes 5% dari berat daun eceng gondok. Penentuan ini dilakukan dalam beberapa kali percobaan dengan jumlah bahan baku (eceng gondok sebanyak 50 gram) yaitu percobaan pertama (volume molase 2,5 mL dan 5 mL), percobaan kedua (volume molase 25 mL dan 50 mL) dan percobaan ketiga (volume molase 75 mL, 100mL, 125 mL, dan 150mL) dan percobaan ke empat (Volume molase 200 mL, 250 mL, dan 300 mL).

Hasil dari Percobaan pertama (Lampiran 9) dengan menggunakan volume molase segar 2,5 mL, 5 mL. Eceng gondok dicuci, dipotongi kecil-kecil kemudian direbus dengan suhu 55°C selama 15 menit kemudian ditimbang sebanyak 50 gram, didutupi kapas dan plastik wrap kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu ruang. Suhu fermentasi ini dilakukan dengan perlakuan yang pertama diaerasi. Penambahan volume molase segar yang diaerasi mengalami pembusukan setelah dua hari untuk volume molase 2,5 mL, dan 5 mL. Hal tersebut dimungkinkan karena kurangnya cairan pada sampel yang menyebabkan sampel terlalu padat dan kesulitan pada saat aerasi sehingga tidak berjalan dengan sempurna. Silalahi dan Ikhsan (2014), menyatakan bahwa kebanyakan proses fermentasi berlangsung secara aerobik, sehingga

membutuhkan sejumlah oksigen. Kebutuhan oksigen tersebut dipenuhi dengan cara aerasi. Selama fermentasi berlangsung, terjadi transfer oksigen melalui beberapa langkah, yaitu transfer oksigen dari udara ke larutannya transfer dari larutan fermentasi medium ke sel mikroba dan penyerapan oksigen dalam sel.

Hasil dari percobaan kedua (Lampiran 9) menunjukkan bahwa menunjukkan hasil hidrolisis protein eceng gondok dengan volume molase segar terdapat tidak ada perbedaan yang signifikan. Hidrolisat dengan penambahan volume 25 mL dan 50 mL menunjukkan hasil sedikit ada cairan, berwarna hijau kehitaman dan bau busuk setelah 3 hari.

Percobaan ketiga (Lampiran 9) selanjutnya dilakukan peningkatan volume molase segar dalam pembuatan hidrolisat protein. Volume molase yang digunakan dalam percobaan ketiga yaitu 75 mL, 100 mL, 125 mL dan 150 mL dengan sampel eceng gondok yang sudah diblender beserta molase dan sampel sebanyak 50 g. Hidrolisat dengan penambahan volume 75 mL, 100 mL, 125 mL, dan 150 mL menunjukkan hasil cair, berwarna coklat kehitaman dan bau tidak busuk atau bau khas fermentasi dan bertahan selama 6 hari.

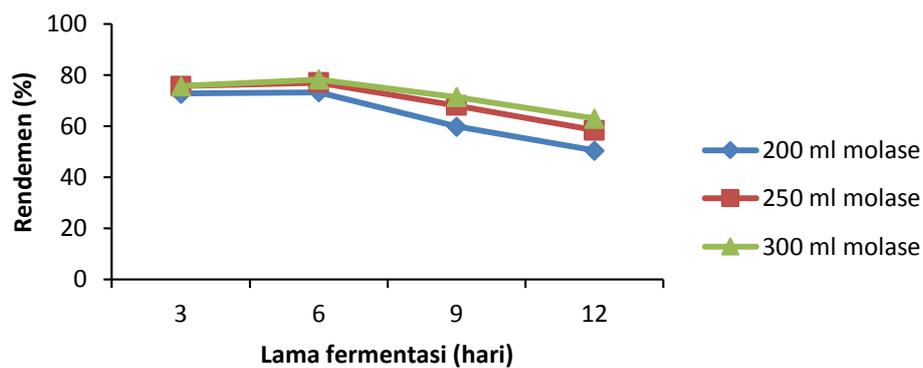
Percobaan keempat (Lampiran 9) selanjutnya dilakukan peningkatan volume molase segar dalam pembuatan hidrolisat protein. Volume molase yang digunakan dalam percobaan ke empat yaitu 200 mL, 250 mL dan 300 mL dengan sampel eceng gondok yang sudah diblender beserta molase dan sampel sebanyak 100 g. Hidrolisat dengan penambahan volume 200 mL, 250mL, dan 300 mL dengan volume khamir laut 2,5 mL menunjukkan hasil semakin cair, berwarna coklat kehitaman dan bau tidak busuk atau bau khas fermentasi dan bertahan selama 12 hari. Menurut Purbasari (2008) bahwa enzim mengkatalis proses enzimatik pada saat dicampurkan dengan substrat. Selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan

hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, pH dan suhu yang digunakan.

Dari percobaan ke empat telah diperoleh *range* bawah atau batas bawah yang akan digunakan dalam penelitian utama. Sehingga untuk menentukan batas atas, titik optimal lama fermentasi dan volume molase segar yang digunakan dalam penelitian utama. Penelitian ketiga ini menggunakan volume molase rebus 200 mL, 250 mL dan 300 mL dengan sampel eceng gondok rebus yang diblender beserta sampel sebanyak 100 g. Pada percobaan keempat ini, penambahan inokulan khamir fase logaritmik sama dengan percobaan kedua yaitu sebanyak 2,5mL.

4.1.5 Penentuan Lama Waktu Fermentasi

Hidrolisat protein dengan volume 200 mL, 250 mL dan 300 mL dapat bertahan hingga 12 hari. Dari percobaan tersebut telah diperoleh volume molase segar yang dapat dijadikan landasan pada penelitian utama. Disamping itu, untuk memperkuat landasan tersebut dilakukan perhitungan rendemen pada setiap pengamatan dengan tujuan mencari titik optimal pada range fermentasi hidrolisat protein eceng gondok yang ditetapkan peneliti utama. Grafik pengamatan rendemen dapat dilihat pada gambar 7



Gambar 7. Rendemen hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda

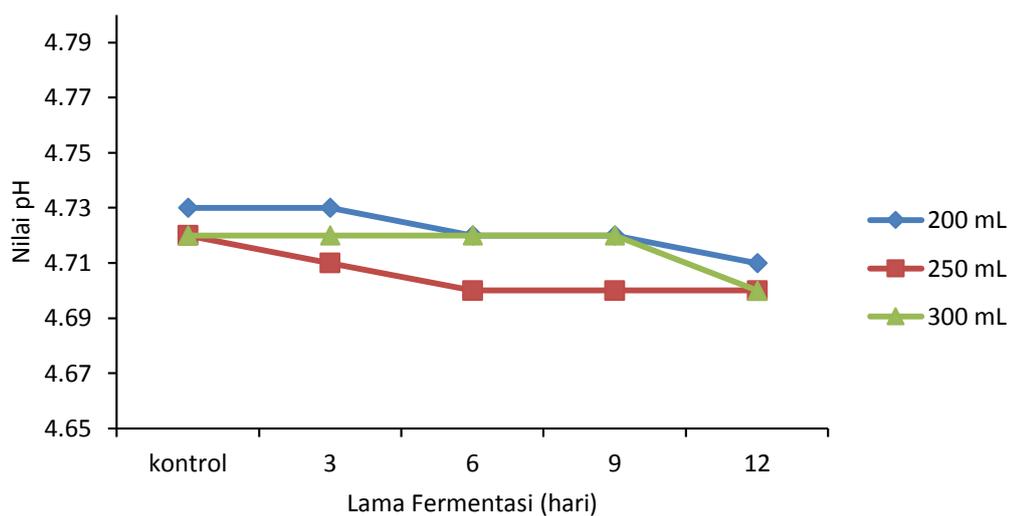
Gambar 7 memperlihatkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok dengan lama fermentasi

3, 6, 9, dan 12 hari telah menunjukkan titik optimal hidrolisis yaitu pada hari ke-6. Perhitungan rendemen hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada Lampiran 10. Rendemen hidrolisat protein eceng gondok pada fermentasi hari ke-9 mulai mengalami penurunan. Hal tersebut dikarenakan 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. Menurut Rosdianti (2008) bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat, sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien.

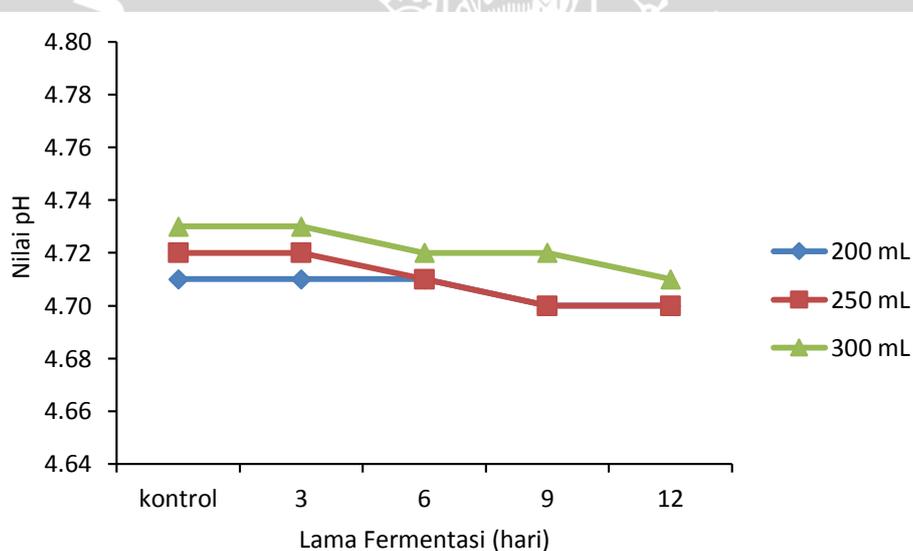
Gambar 7 juga menunjukkan bahwa volume molase segar yang paling optimal dalam menghasilkan rendemen tertinggi yaitu pada konsentrasi 300 mL. Berdasarkan Penelitian Purbasari (2008) yang membahas tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur, rendemen dalam penelitian

ini memiliki *trend* yang sama bila dibandingkan dengan penelitian Purbasari (2008) yaitu semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Hal tersebut dimungkinkan karena semakin banyak cairan yang ditambahkan pada substrat, maka enzim akan lebih mudah dalam menghidrolisis. Sehingga akan menghasilkan rendemen hidrolisat paling tinggi. Menurut Purbasari (2008) bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, pH dan suhu yang digunakan. Dari percobaan ketiga ini telah diperoleh batasan lama fermentasi hidrolisat protein eceng gondok yaitu 3, 6, 9, dan 12 hari dapat dijadikan landasan pada penelitian utama. Pengambilan batasan lama fermentasi tersebut didasarkan atas grafik rendemen karena pada range tersebut telah menunjukkan adanya titik optimal rendemen dalam fermentasi hidrolisis protein eceng gondok tersebut. Titik optimal yang menghasilkan rendemen tertinggi yaitu pada lama fermentasi 6 hari.

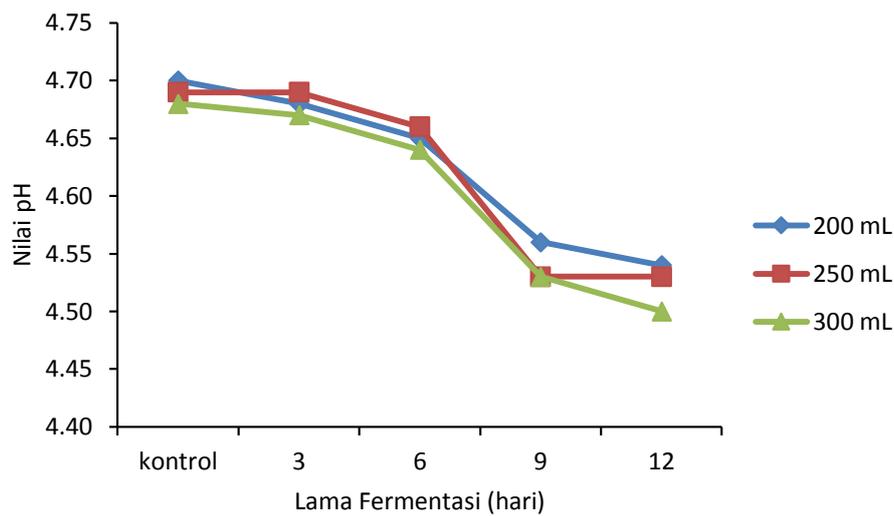
Selanjutnya hidrolisat protein eceng gondok dengan volume molase 200 mL, 250 mL dan 300 mL dilakukan pengukuran pH setelah fermentasi berupa filtrat dan residu, residu dan cairan hasil penyaringan dengan kain blacu. Hal ini dilakukan untuk mengetahui bahwa hasil yang akan diuji lebih lanjut.



Gambar 8. pH Campuran Filtrat dan Residu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.



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



Gambar 10. Nilai pH Cairan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Ketiga gambar diatas menunjukkan hasil yang berbeda antar pH campuran filtrat dan residu, pH cairan dan pH residu, pada pH residu dan pH campuran residu dan filtrat menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi dan semakin banyak volume molase yang di tambahkan pH yang akan dihasilkan konstan. Berbeda dengan pH cairan yang menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi dan semakin banyak volume molase yang di tambahkan maka pH semakin asam (pH turun). Penurunan pH disebabkan karena hasil dari produk fermentasi adalah asam Rahmadi (2003) melaporkan bahwa hasil dari produk fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam birufat, etanol, CO₂, air dan panas. Ditambahkan oleh Kunaepah (2008) yang menjelaskan bahwa lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena semakin lama fermentasi semakin banyak pula mikroorganisme yang aktif, sehingga menghasilkan asam yang lebih banyak. Asam yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan dieksresikan keluar sel sehingga terakumulasi dalam cairan fermentasi.

4.2 Penelitian Utama

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, diketahui bahwa proses pembuatan hidrolisat protein eceng gondok rebus dilakukan penambahan molase segar dengan volume 200 mL, 250 mL, dan 300 mL. Lama waktu fermentasi yang digunakan yaitu 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari. Sedangkan untuk penambahan inokulan khamir laut sebanyak 2,5 mL. Selanjutnya variabel yang diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan tersebut digunakan sebagai landasan dalam pembuatan hidrolisat protein eceng gondok pada penelitian utama. Produk hidrolisat protein eceng gondok pada penelitian ini dalam bentuk pasta. Untuk melihat kemungkinan pemakaian hidrolisat protein eceng gondok ini sebagai suplemen pangan ataupun pakan, maka akan dilakukan analisa terhadap produk hidrolisat yang meliputi analisa proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), uji total asam amino, uji pH, emulsi dan daya buih.

4.2.1 Komposisi Kimia Eceng gondok

Sampel utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Eceng gondok. Sampel dalam penelitian ini merupakan limbah tak termanfaatkan dari waduk selorejo Desa ngantang kecamatan malang. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi eceng gondok tersebut. Hasil analisis kandungan kimia eceng gondok dapat dilihat pada Tabel 11 berikut.

Tabel 10. Komposisi Kimia Eceng gondok

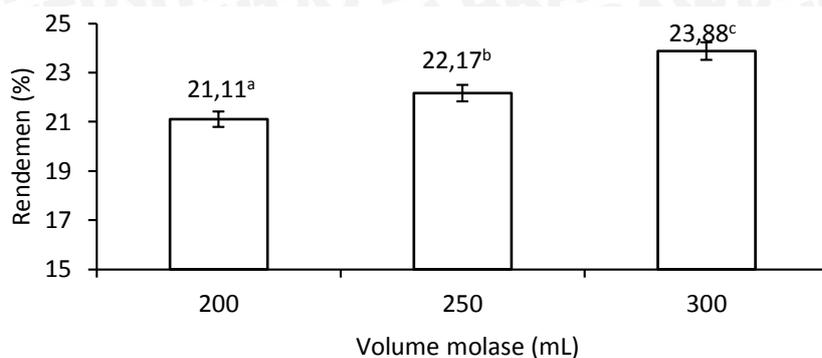
Parameter	Nilai rata-rata (%)	
	Eceng gondok (<i>Eichornia crassipes</i> *)	Eceng gondok Rebus (<i>Eichornia crassipes</i>)
Kadar air	-	-
Kadar abu	16-20	15,91
Kadar protein	11,50	10,53
Lemak	-	1,06
Karbohidrat	-	-

Sumber: *) Safitri dan Tri (2004)

Tabel 10 Menunjukkan kandungan gizi dari eceng gondok. Kesetaraan komposisi kimia eceng gondok yang digunakan dalam sampel penelitian ini sebanding dengan penelitian Safitri dan Tri (2004) yang membahas tentang karakteristik kimia eceng gondok. Hal ini berarti komposisi kimia eceng gondok pada umumnya mempunyai nilai yang hampir sama. Apabila terdapat perbedaan yang terlihat mencolok terhadap komposisi kimia eceng gondok tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal faktor yang mempengaruhi komposisi eceng gondok meliputi jenis eceng gondok, habitat, dan musim. Budy (2014) Menambahkan Eceng gondok rebus mempunyai kandungan protein lebih rendah dibandingkan eceng gondok segar karena protein merupakan bahan organik bersifat polar sehingga dengan adanya perebusan akan menyebabkan protein larut ke dalam air saat perebusan sehingga protein menjadi berkurang.

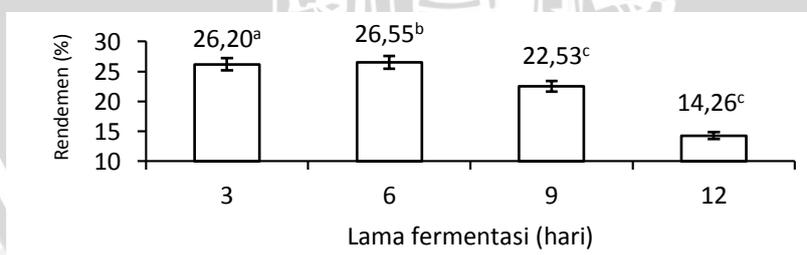
4.2.2 Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok

Data pengamatan dan analisis data rendemen hidrolisat protein eceng gondok kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh terhadap rendemen hidrolisat protein eceng gondok. Rendemen hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 11 dan gambar 12 berikut.



Gambar 11. Rata-rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 11 menunjukkan bahwa nilai rata-rata rendemen pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase yang berbeda mengalami peningkatan. Hal ini dimungkinkan semakin banyak substrat yang dapat dihidrolisis sehingga menyebabkan komponen gizi seperti protein, lemak dan karbohidrat ikut terakumulasi dalam cairan hidrolisat sehingga cairan yang didapatkan juga semakin meningkat sebab substrat yang tersedia juga banyak. Shaidi *et al.*, (1994) menyatakan bahwa selama proses hidrolisis akan menyebabkan terlarutnya komponen gizi yang dapat mempengaruhi rendemen pada produk yang dihasilkan.



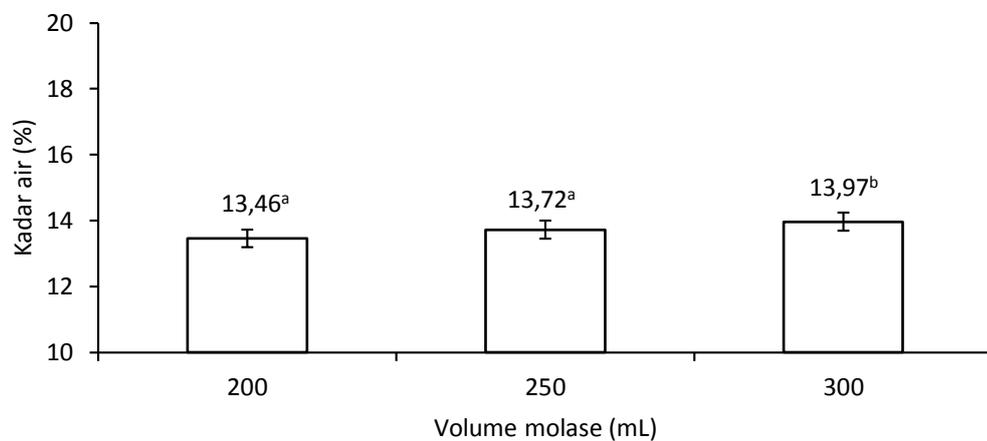
Gambar 12. Rata-rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 12 menunjukkan bahwa rendemen hidrolisat protein eceng gondok berbeda dari tiap lama waktu fermentasi mengalami perubahan yang berbeda. Hal ini dimungkinkan semakin lama fermentasi menyebabkan semakin banyak senyawa volatil yang terbentuk. Budy (2014) 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 akan mengalami penurunan. Said *et al.*, (2008) menambahkan bahwa penurunan rendemen dengan meningkatnya lama fermentasi disebabkan karena perombakan glukosa menjadi karbondioksida (CO_2) dan air (H_2O) serta mengalami penguapan sehingga persentase rendemen berkurang.

4.2.3 Kadar Air

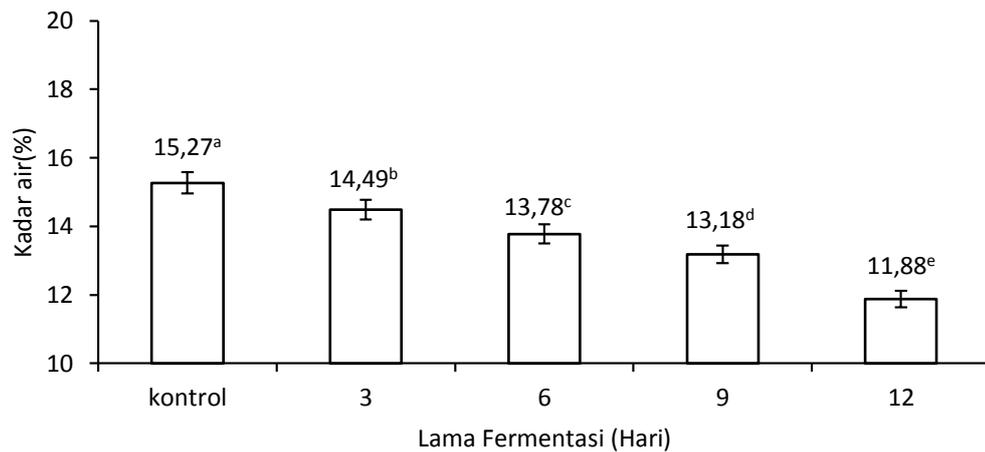
Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dan rata-rata kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 12. Pasta Hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 13 dan Gambar 14.



Gambar 13. Rata-rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng gondok Dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 13 menunjukkan bahwa rata-rata kadar air dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase yang berbeda semakin meningkat. Kenaikan kadar air dikarenakan katabolisme mikroba yang menghasilkan sejumlah uap air, perombakkan asam amino, serta dari difusi uap air udara dalam wadah tertutup yang disebabkan karena keseimbangan uap air dalam sistem. Selain itu penambahan presentase air selama fermentasi dapat berasal dari perubahan tipe air, yaitu dari air terikat menjadi air bebas, karena fermentasi memiliki pH yang rendah. pH rendah mempunyai kemampuan membebaskan air yang terikat dengan senyawa kompleks dan mempunyai gugus hidrofilik menjadi air bebas, misalnya ikatan pada protein. Hal lain yang menyebabkan meningkatnya kadar air karena bentuk fisik dari molase yang berupa cairan, sehingga semakin banyak konsentrasi molase yang diberikan maka kadar air akan semakin meningkat.

Simanjorang (2012) menjelaskan bahwa kenaikan air tersebut disebabkan oleh proses metabolisme (katabolisme) yang dilakukan oleh mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tersebut. Rahmadi (2009) menambahkan bahwa meningkatnya kadar air disebabkan mikroorganisme mulai memanfaatkan karbohidrat yang mudah terfermentasi dalam substrat 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. Selain proses metabolisme (katabolisme), meningkatnya air juga disebabkan adanya perombakkan protein.

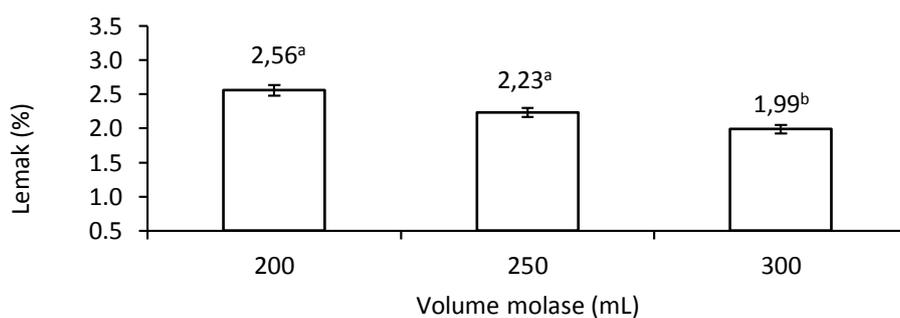


Gambar 14. Rata-rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 14 menunjukkan rata-rata kadar air kontrol lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar air hidrolisat protein eceng gondok setelah mengalami lama perlakuan fermentasi. Penurunan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok antar perlakuan, disebabkan adanya pelepasan ion (H^+) dan (OH^-) saat terjadi proses perombakan (hidrolisis) protein pada eceng gondok. Widyanti (2010) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi yang digunakan maka semakin rendah kadar airnya. Simanjourang (2012) menambahkan bahwa penurunan kadar air karena adanya proses metabolisme menghasilkan energi (panas) yang pada akhirnya menyebabkan air dapat berkurang (menguap) selama selang waktu fermentasi berlangsung. Novianti (2007), melaporkan bahwa lama waktu pengeringan menyebabkan rendahnya kadar air. Semakin lama pengeringan yang dilakukan maka semakin banyak air yang terbuang.

4.2.4 Kadar Lemak

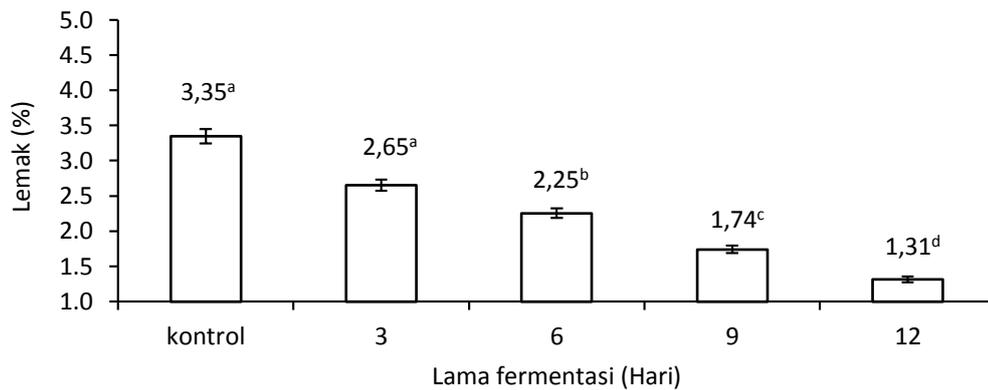
Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan rata-rata kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Kadar lemak kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 15 dan Gambar 16.



Gambar 15. Rata-rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 15 menunjukkan bahwa rata-rata kadar lemak dengan volume yang berbeda mengalami penurunan yang memberikan pengaruh nyata. Sudarmadji (2003), menyatakan bahwa hasil hidrolisis lemak berupa asam lemak dan gliserol. Reaksi hidrolisis mengakibatkan kerusakan lemak, hal ini terjadi karena terdapat sejumlah air dalam lemak tersebut. Noviati (2007) menambahkan bahwa turunnya kadar lemak disebabkan karena lemak terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini akan mudah mengalami kerusakan sehingga mengakibatkan kadar lemak menurun. Selain itu, disebabkan karena asam yang ditambahkan memecah komponen lemak yang kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana. Lemak akan

terpecah oleh enzim lipase menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga menyebabkan kandungan lemak menurun.



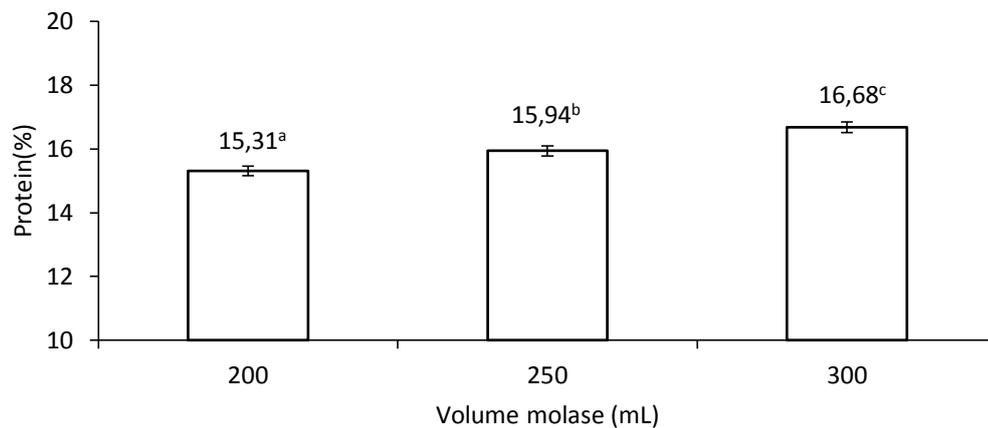
Gambar 16. Rata-rata Kadar Pasta Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 16 memperlihatkan adanya penurunan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus dengan perlakuan lama fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari yang mengalami penurunan. Menurut Gbogouri *et al.*, (2004) Hidrolisat mempunyai kemampuan mengikat senyawa yang berbeda yaitu antara air dan minyak karena mempunyai golongan peptida hidropobik dan hidropilik. kemampuan kapasitas penurunan lemak sangat bergantung pada peptida hidropobik dan muatan asam aminonya sehingga mengakibatkan kadar lemak pada hidrolisat mengalami penurunan. Sejalan dengan penelitian Muzaiifa *et al.*, (2011) bahwa dengan meningkatnya protein terlarut maka kapasitas pengikatan lemak menurun.

4.2.5 Kadar Protein

Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Kadar protein kontrol dan pasta hidrolisat protein

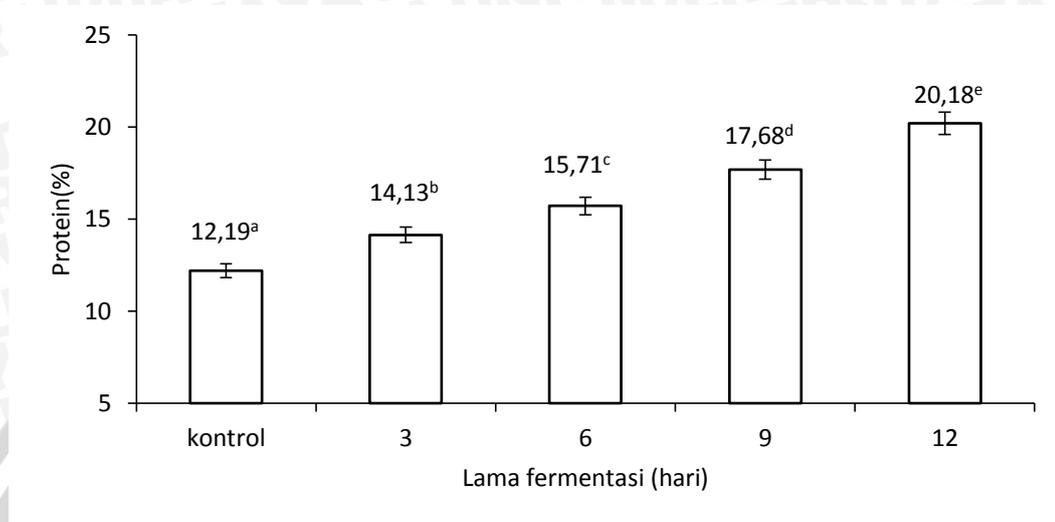
eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 17 dan Gambar 18.



Gambar 17. Rata-rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 17 menunjukkan bahwa rata-rata kadar protein dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan volume molase yang berbeda mengalami peningkatan kadar protein karena proses pemecahan protein itu sendiri. Novianti (2007) menyatakan protein dipecah lalu digunakan untuk sintesis ATP yang dapat langsung digunakan untuk aktivitas metabolisme khamir. Selain itu, protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk enzim. Peningkatan protein disebabkan adanya sekresi enzim-enzim oleh khamir. Beberapa jenis enzim yang disekresikan khamir di antaranya adalah enzim inertase dan enzim hidrolase seperti protease. Mangisah *et al.*, (2003) menambahkan bahwa peningkatan protein terjadi karena adanya pertumbuhan mikroba sehingga menyebabkan adanya penambahan miselium yang berarti terjadi peningkatan unsur nitrogen, selain itu protein bahan akan diubah menjadi asam amino, kemudian menjadi NH_3 dan selanjutnya digunakan untuk membentuk protein tubuh mikroba. Sukoso (2012) menyatakan kadar protein dalam tubuh khamir laut yaitu 28,29% dan enzim yang dihasilkan oleh kultur

khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid).



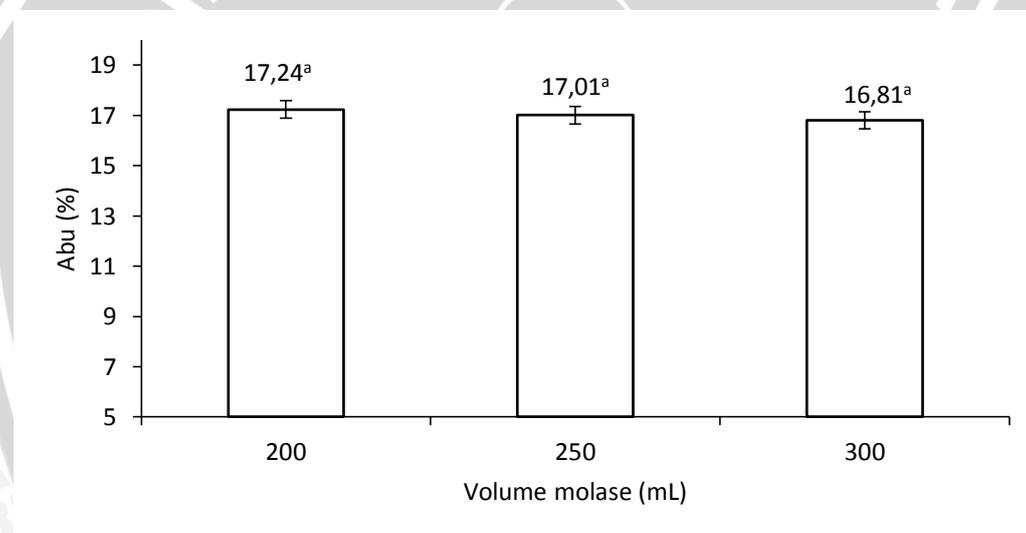
Gambar 18. Rata-rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok dengan Lama waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 18 menunjukkan bahwa rata-rata kadar protein kontrol dengan lama waktu fermentasi yang berbeda mengalami peningkatan. Peningkatan kadar protein dengan lama fermentasi yang berbeda menunjukkan adanya proses pemecahan dari protein itu sendiri. Swasono (2006), menjelaskan selama fermentasi akan terjadi pemecahan protein menjadi asam-asam amino bebas, antara lain adalah asam amino yang bersifat polar. Makin lama waktu fermentasi kadar asam-asam amino semakin meningkat. selain itu, selama proses fermentasi dengan adanya aktivitas proteolitik dari enzim protease yang dihasilkan akan terjadi pemecahan protein yang semula bersifat tidak larut menjadi bentuk yang lebih terlarut sehingga akan mudah dicerna. Oleh karena itu, makin lama fermentasi maka makin banyak pula protein yang dipecah menjadi asam-asam amino bebas yang mudah dicerna. Prasetyo (2012) menambahkan semakin lama waktu hidrolisis menyebabkan konsentrasi hasil hidrolisis meningkat, hal ini disebabkan lamanya waktu reaksi. Waktu hidrolisis

merupakan faktor yang berpengaruh terhadap banyaknya protein yang terhidrolisis.

4.2.6 Kadar Abu

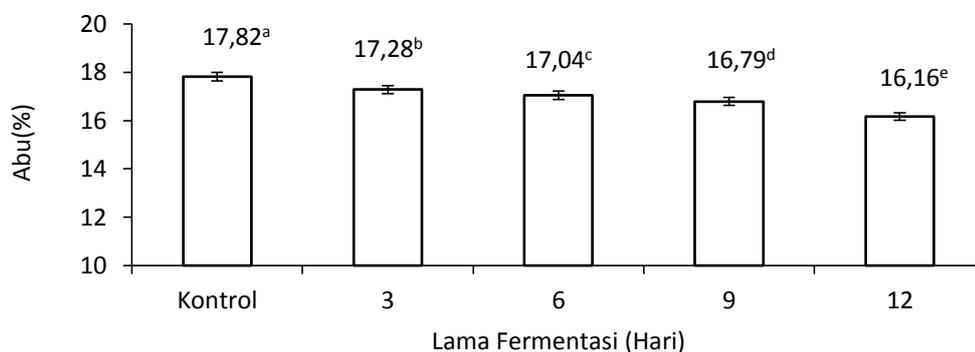
Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Kadar abu kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 19 dan Gambar 20.



Gambar 19. Rata-rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 19 menunjukkan bahwa kadar abu hidrolisat protein eceng gondok dengan perlakuan volume molase yang berbeda menunjukkan penurunan kadar abu. Rahmadi (2009) menyatakan penurunan ini dikarenakan perubahan utama selama fermentasi berpengaruh terhadap kandungan bahan ekstrak tanpa nitrogen yang merupakan karbohidrat yang mudah terfermentasi, sehingga menyebabkan kandungan BETN menurun. Selain itu, penurunan kadar abu disebabkan adanya peningkatan bahan organik yang terbentuk dari hasil

fermentasi BETN. Hasil fermentasi BETN diubah untuk membentuk komponen organik. Peningkatan bahan organik tersebut menurunkan persentase bahan anorganik (kadar abu).



Gambar 20. Rata-rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondoks Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

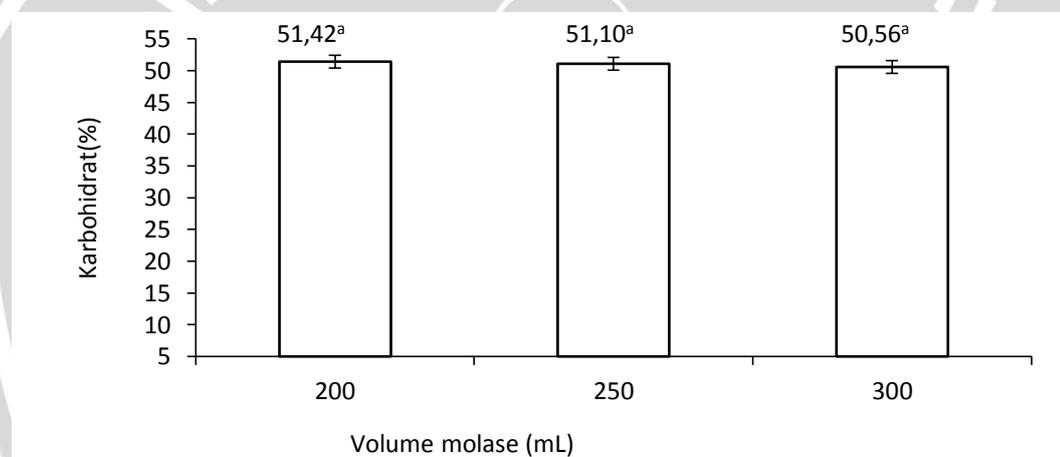
Gambar 20 menunjukkan bahwa rata-rata kadar abu kontrol pasta hidrolisat eceng gondok dengan lama fermentasi yang berbeda. Savitri (2011), menambahkan bahwa semakin lama fermentasi menyebabkan kadar abu mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya penggunaan komponen mineral dari hidrolisat protein eceng gondok oleh khamir laut sehingga kadar abu cenderung berkurang.

Gambar 19 dan Gambar 20 menunjukkan bahwa rata-rata volume molase dan lama waktu yang berbeda menyebabkan menurunnya kadar abu. Hal ini dimungkinkan karena garam-garam mineral yang ada pada molase digunakan untuk nutrisi pertumbuhan khamir laut. Komponen mineral dalam molase antara lain bentuk anion seperti magnesium, kalsium, aluminium, kalium, dan nitrogen, serta bentuk kation berupa silikat, fosfat, sulfat, dan klorida (Holihah, 2005). Purwaningsih (2012) menyatakan adanya perbedaan kadar abu diduga bahwa setiap organisme mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam

mengabsorpsi dan meregulasi logam. Sehingga dapat digunakan khamir laut untuk pertumbuhannya dan kadar abu semakin berkurang.

4.2.7 Kadar Karbohidrat

Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 16. Kadar karbohidrat kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada gambar 21 dan gambar 22

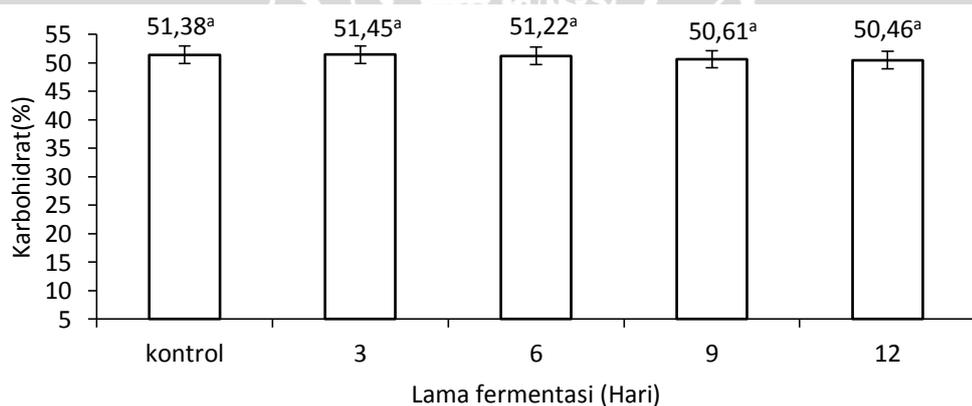


Gambar 21. Rata-rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondo Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 21 menunjukkan bahwa rata-rata kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami penurunan dengan semakin banyaknya volume molase yang ditambahkan. Hal ini dimungkinkan karena bahan organik seperti karbon atau nitrogen digunakan sebagai nutrisi untuk memenuhi kebutuhan energi dalam metabolisme khamir laut sehingga memicu penurunan kadar karbohidrat. Widiastuti *et al.*, (2014), menyatakan bahwa penurunan kadar karbohidrat selama proses fermentasi terjadi karena pemecahan senyawa karbohidrat kompleks menjadi senyawa karbohidrat yang

lebih sederhana yang mudah dicerna oleh mikroorganisme. Anggraini *et al.*, (2014) menambahkan bahwa penurunan kadar karbohidrat terjadi karena adanya peningkatan komposisi gizi yang lainnya seperti kadar protein.

Irma (2009) menjelaskan bahwa pada tahap awal fermentasi, mikroba menguraikan karbohidrat atau pati untuk menghasilkan glukosa, sehingga glukosa meningkat dan kadar karbohidrat atau pati menurun. Glukosa dimetabolisme oleh mikroba menghasilkan air dan energi untuk pertumbuhan, dan air pada proses pengeringan akan menguap sehingga karbohidrat yang dihidrolisis pada akhirnya akan menjadi air yang menguap atau glukosa yang larut, akibatnya karbohidrat menurun. Noviana (2012), menambahkan penurunan karbohidrat terjadi karena proses glikolisis yang disebabkan oleh mikroba. Proses glikolisis juga merupakan serangkaian reaksi yang mengubah glukosa menjadi asam laktat yang dilakukan oleh mikroba secara anaerob. Mikroba memanfaatkan karbohidrat untuk tumbuh.



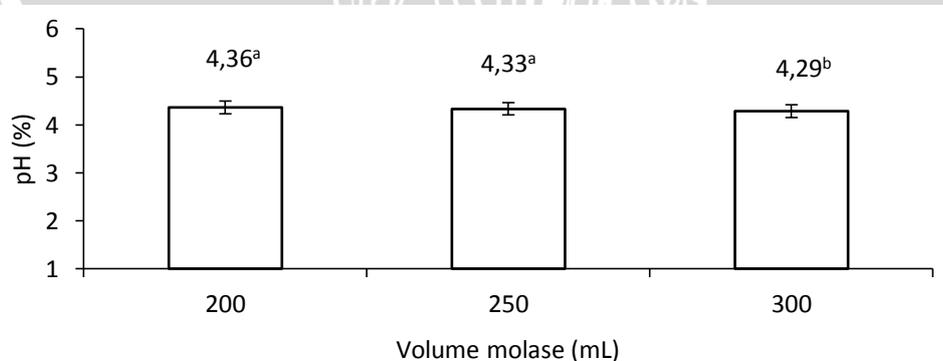
Gambar 22. Rata-rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 22 menunjukkan bahwa rata-rata kadar karbohidrat kontrol pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan lama waktu fermentasi yang berbeda mengalami kenaikan pada kontrol dan hari ke-3, kadar karbohidrat yang berbeda diduga disebabkan karena kenaikan komponen lain seperti kadar protein, air,

abu dan lemak. Noviana *et al.*, (2012) Menambahkan, pada penentuan nilai kadar karbohidrat pada silase keong mas ini menggunakan metode *by different*, sehingga semakin naiknya kadar protein, air, abu dan lemak silase yang dihasilkan maka kadar karbohidrat semakin meningkat, hal ini karena proses hidrolisis oleh molase dan khamir laut, dimungkinkan turunnya kadar karbohidrat sehingga akan meningkatkan bahan organik lain seperti protein. Savitri (2011) menjelaskan bahwa kadar karbohidrat kupang putih menurun seiring lama fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa selama fermentasi terjadi pemecahan molase oleh khamir laut sebagai sumber energi dalam menghidrolisis hidrolisat protein eceng gondok.

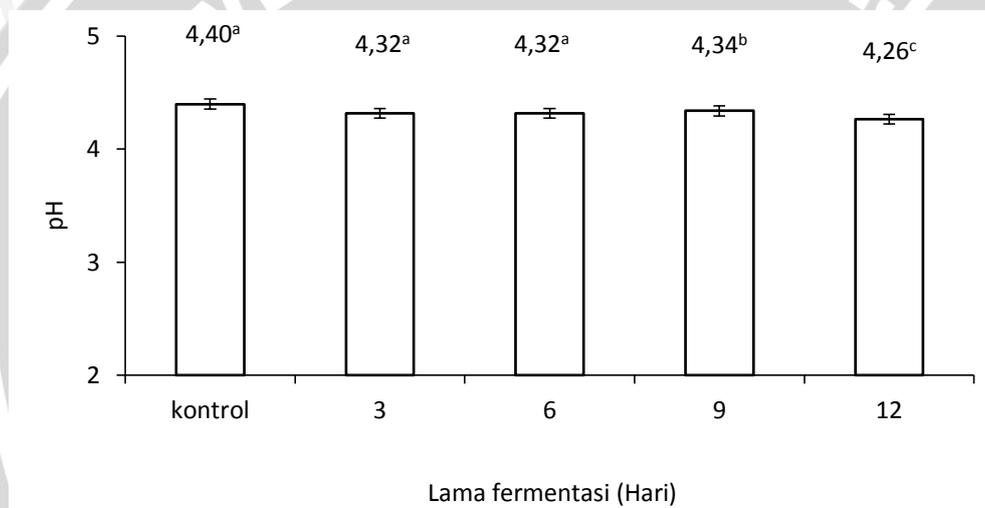
4.2.8 Analisis Derajat Keasaman (pH)

Data pengamatan dan analisis data rata-rata pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. pH kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 23 dan Gambar 24.



Gambar 23. Rata-rata Kadar pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 23 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan pH dari pasta hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini dimungkinkan karena 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 yang mudah menguap, diantaranya asam asetat, asam piruvat dan asam laktat (Nurul *et al.*, 2013). Hal ini sejalan dengan penelitian Yunika (2015) melaporkan bahwa semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka semakin rendah pH yang dihasilkan.



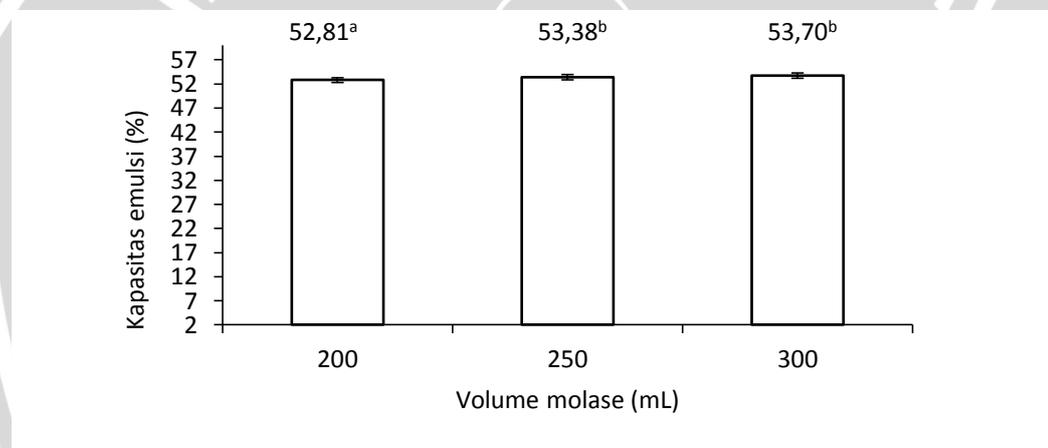
Gambar 24. Rata-rata Kadar pH Kontrol Dari Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 24 menunjukkan bahwa Rata-rata pH kontrol dari pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami penurunan. Penurunan pH disebabkan karena hasil dari produk fermentasi adalah asam. Rahmadi (2003) melaporkan bahwa hasil dari produk fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam birufat, etanol, CO₂, air dan panas. Ditambahkan oleh Kunaepah (2008) yang menjelaskan bahwa lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena semakin lama fermentasi semakin banyak pula mikroorganisme yang aktif, sehingga menghasilkan asam yang lebih banyak. Asam yang dihasilkan oleh

mikroorganisme akan dieksresikan keluar sel sehingga terakumulasi dalam cairan fermentasi.

4.2.9 Analisis Kapasitas Emulsi

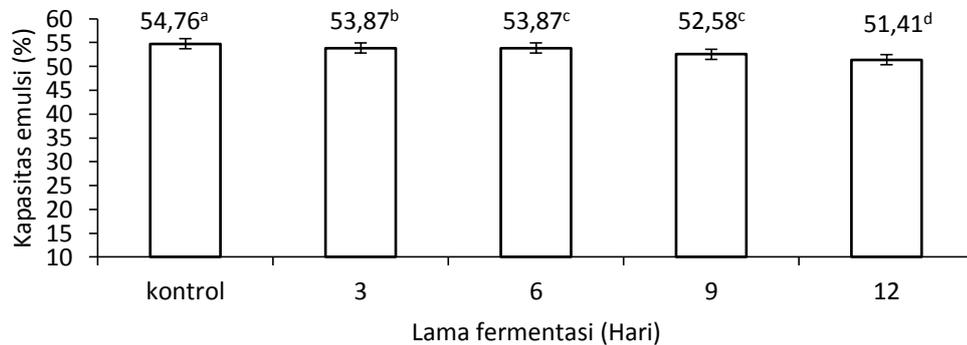
Data pengamatan dan analisis data Rata-rata kapasitas emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Kapasitas Emulsi kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 25 dan Gambar 26.



Gambar 25. Rata-rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 25 menunjukkan bahwa Rata-rata kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok rebus mengalami peningkatan yang konstan dengan semakin meningkatnya volume molase segar yang ditambahkan. Diduga pada penambahan volume molase yang berbeda menghasilkan sejumlah peptida panjang dalam jumlah yang sama, sehingga peptida panjang yang membentuk tetesan minyak sehingga mempengaruhi kapasitas emulsi pada hidrolisat protein eceng gondok. Hal ini sesuai dengan penelitian Gbogouri *et al.*, (2004) karena peptida panjang yang terbentuk terserap dalam lapisan minyak

dan memicu terbentuknya tetesan minyak yang kecil, akibatnya kestabilan emulsinya lebih tinggi.



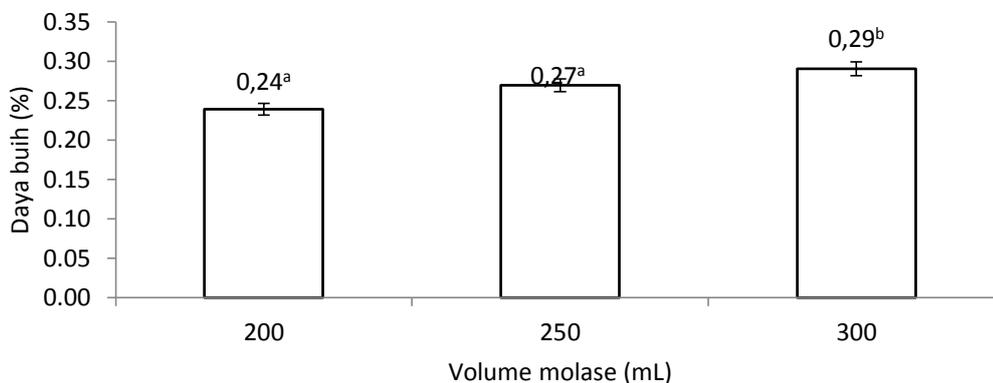
Gambar 26. Rata-rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 26 memperlihatkan bahwa Rata-rata kapasitas emulsi kontrol dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan lama waktu fermentasi yang berbeda mengalami perubahan yang berbeda. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa kapasitas emulsi hidrolisat terlihat relative stabil hal ini dimungkinkan karena adanya kemampuan hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan sejumlah peptida yang panjang sehingga memicu untuk menurunkan kadar emulsi pada hidrolisat protein tersebut dan pada Perbedaan stabilitas emulsi pada hidrolisat yang dihasilkan dipengaruhi oleh enzim yang digunakan bergantung pada sifat spesifik enzim dalam memecah protein dan gugus aktifnya.

4.2.10 Analisis Daya Buih

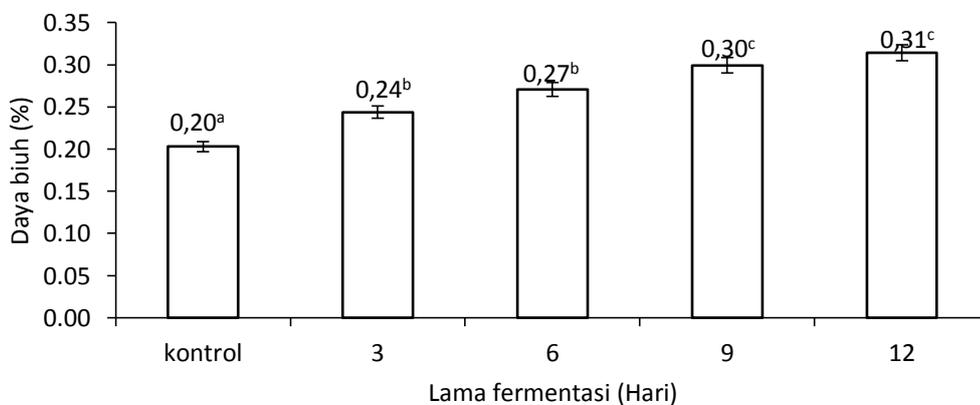
Data pengamatan dan analisis Rata-rata daya buih pada kontrol (fermentasi 0 hari) dibandingkan daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat

dilihat pada Lampiran 19. Daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 27 dan Gambar 28.



Gambar 27. Rata-rata Kadar Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Volume Molase Yang Berbeda

Gambar 27 menunjukkan bahwa Rata-rata daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase yang berbeda mengalami peningkatan yang konstan. Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi. Semakin kadar protein terlarutnya tinggi maka semakin tinggi daya buih yang dihasilkan.



Gambar 28. Rata-rata Kadar Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Dengan Lama Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Gambar 28 menunjukkan bahwa Rata-rata daya buih kontrol pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda mengalami peningkatan. Pada penelitian ini daya buih tertinggi terbentuk pada hidrolisat yang inkubasi selama 12 hari. Hal ini diduga selama inkubasi terbentuk peptida hidropobik yang dapat mengabsorpsi antara fase udara dan air, sehingga dapat membentuk buih yang banyak, jika waktu hidolisis bertambah peptida hidropobiknya berkurang dan diduga terjadi pengurangan berat molekulnya yang dapat meningkatkan kestabilan buih yang dihasilkan, Oleh karena itu, dari sifat hidrolisat dalam membentuk buih bisa digunakan sebagai *food agent* misalnya ditambahkan untuk minuman atau makanan yang membutuhkan buih sebagai penampakan (*performance*) yang menonjol. Daya buih juga dipengaruhi oleh jumlah protein yang terlarut (Koeswardhani *et al.*, 2011)

4.3 Hidrolisat Protein Eceng Gondok Tertinggi

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 dilihat dari hasil kadar protein yang tertinggi. Selain itu, pemilihan hidrolisat protein terbaik dapat ditinjau dari parameter atau properti dari hidrolisat tersebut 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 dan eceng gondok rebus dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Komposisi kimia Pasta hidrolisat protein eceng gondok tertinggi dan eceng gondok rebus

Parameter	Hidrolisat protein Eceng Gondok tertinggi*	Eceng Gondok Rebus
Kadar Protein(%)	16,68	10,53
Kadar Air(%)	13,97	-
Kadar lemak(%)	1,99	1,06
Kadar Abu(%)	16,81	15,91
Kadar Karbohidrat(%)	50,56	-
pH(%)	4,29	-
Emulsi(%)	53,70	-
Daya Buih(%)	0,29	-

Parameter	Hidrolisat protein Eceng Gondok tertinggi**	Eceng Gondok Rebus
Kadar Protein(%)	20,18	10,53
Kadar Air(%)	11,88	-
Kadar lemak(%)	1,31	1,06
Kadar Abu(%)	16,16	15,91
Kadar Karbohidrat(%)	50,46	-
pH(%)	4,26	-
Emulsi(%)	51,41	-
Daya Buih(%)	0,31	-

Keterangan * (berdasarkan rata-rata pasta hidrolisat protein dengan volume molase yang berbeda)

** (berdasarkan rata-rata pasta hidrolisat protein dengan lama fermentasi yang berbeda)

Tabel 11 tersebut menunjukkan adanya kesetimbangan massa antara kandungan gizi (proksimat) eceng gondok rebus dibandingkan dengan hidrolisat protein eceng gondok tertinggi antar perlakuan, hal tersebut dapat dilihat dari jumlah total antara keduanya terlihat sama yaitu 100%. Prinsip dari kesetimbangan massa ini yaitu total input bahan yang masuk kedalam suatu proses pengolahan akan sama dengan total outputnya. Terjadi perubahan hanya perubahan wujud dari bahan yang masuk dan bahan yang keluar. Hidrolisat protein eceng gondok menunjukkan kandungan protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis

protein dari bahan baku awal oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Selain itu dimungkinkan karena adanya penambahan kadar protein dari khamir laut itu sendiri dan aktivitasnya yang memanfaatkan karbon yang ada pada molase sehingga memicu tumbuh semakin pesat.

4.4 Analisis Total Asam Amino

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 ini dianalisis total asam amino. Analisis data total asam amino hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada Lampiran 30. Kandungan asam amino hidrolisat protein eceng gondok dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Kandungan Asam Amino Pada Hidrolisat Protein dari Eceng Gondok Rebus Molase segar

Jenis As.Amino (%)	Hidroisat protein Eceng Gondok	Telur Ayam Ras ¹	Daun Eceng Gondok ²	Kacang Kedelai ³	Tepung Ikan ⁴
Esensial					
1. Lisin	0,13	0,42	2,69	6,19	2,82
2. Histidin	0,06	0,14	1,10	2,60	0,78
3. Arginin	0,14	0,47	3,59	8,64	3,73
4. Leusin	0,17	0,60	5,06	7,90	3,99
5. Isoleusin	0,12	0,26	2,31	3,46	2,37
6. Threonin	0,15	0,30	2,16	3,90	2,34
7. Methionin	0,05	0,12	1,27	1,34	0,99
8. Valin	0,17	0,27	2,79	3,73	3,27
9. Phenilalanin	0,11	0,40	3,39	4,48	2,37
Non Esensial					
10. Glutamat	5,22	1,05	5,90	19,76	7,06
11. Sistin	-	-	0,84	0,76	0,63
12. Aspartat	0,80	0,87	5,05	12,61	4,41
13. Alanin	0,72	0,47	3,40	4,49	3,12
14. Serin	0,17	0,48	2,56	5,74	3,75
15. Glisin	0,20	0,27	3,02	4,46	3,83
16. Prolin	0,33	0,26	2,72	5,53	3,93
17. Tirosin	0,08	0,23	2,16	4,41	1,59
Total	8,60	6,61	50,87	91,62	48,64

Sumber : ¹Henny (2002) *High Speed Amino Acid Analyzer*

²Virabalin *et al.*, (1993)

³Wang and Cavins (1989)

⁴Sitompul (2004)

Asam amino merupakan unsur penyusun protein. Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui kandungan asam amino yang terdapat pada hidrolisat protein eceng gondok rebus molase segar. Profil asam amino hidrolisat protein eceng gondok, telur, daun eceng gondok, kacang kedelai dan tepung ikan dapat pada Tabel 13. Hidayat (2011) menyatakan bahwa hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan 18-20 macam asam amino. Namun total asam amino yang dihasilkan oleh hidrolisat protein pada penelitian ini juga menunjukkan lebih rendah jumlahnya bila dibandingkan dengan persen kadar protein yang dihasilkan. Hal tersebut dimungkinkan karena tidak sepenuhnya yang terkandung dalam protein, murni asam-asam amino.

Jika dilihat dari jumlah asam amino untuk setiap jenisnya, hidrolisat protein eceng gondok pada penelitian ini mengandung asam amino lebih rendah bila dibandingkan dengan daun eceng gondok, tepung ikan dan kacang kedelai. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan prosedur yang digunakan dalam pembuatan masing-masing hidrolisat protein tersebut. Perbedaan dari beberapa produk tersebut ditinjau dari enzim, lama fermentasi, dan bahan baku yang digunakan dalam pembuatan produk hidrolisat. Pada penelitian ini tidak menggunakan enzim protease murni, melainkan menggunakan khamir laut yang menghasilkan metabolit salah satunya berupa enzim protease. Sukoso (2012) melaporkan bahwa enzim yang dihasilkan oleh khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid).

Produk hidrolisat protein eceng gondok dan hidrolisat eceng gondok, jika diamati mengandung asam amino non esensial tertinggi yaitu glutamat. Hal ini dimungkinkan karena proses analisis menggunakan hidrolisis asam yang mempunyai derajat analisis yang lebih tinggi yang menyebabkan asam amino

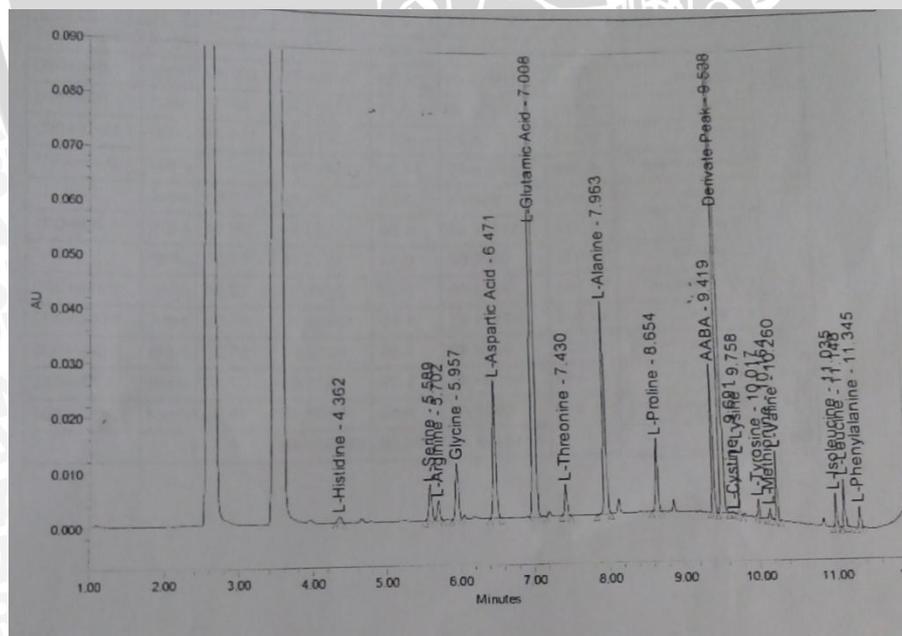
glutamin mengalami deaminasi membentuk asam glutamat di konversi menjadi asam keton dengan pengantian gugus amina menjadi keton, sehingga dengan adanya proses deaminasi membantuk senyawa keton menyebabkan rasa *biiter taste*. Hidayat (2011) melaporkan bahwa pada umumnya kandungan asam amino non esensial yang paling banyak ditemukan yaitu asam glutamat, asam aspartat, alanin, dan taurin. Selain itu asam glutamat merupakan komponen penting dalam pembentukan cita rasa pada makanan hasil laut sehingga makanan terasa lebih gurih. Hidayat (2005) menambahkan bahwa asam glutamat dapat disertakan dalam menupenderita gangguan pencernaan, mempercepat penyembuhan luka pada usus, meningkatkan kesehatan mental, dan meredam depresi.

Tabel 13 juga memperlihatkan bahwa hidrolisat protein eceng gondok rebus memiliki kandungan asam amino yang jauh lebih tinggi dibanding telur ayam ras. Haslina (2002) menyatakan bahwa produk hidrolisat protein dapat digunakan sebagai fortifikasi bahan pangan berprotein rendah. Hal ini menunjukkan hidrolisat protein eceng gondok rebus dapat berpeluang sebagai bahan pangan atau pakan karena memiliki jumlah asam amino yang tinggi dan dapat menyediakan asam amino esensial yang tinggi, namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat keamanan dari hidrolisat protein eceng gondok rebus yang dihasilkan.

4.5 HPLC (*Hight Performance Liquid Chromatograh*y)

HPLC merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. Kromatografi cair kinerja tinggi dikembangkan menggunakan cairan fase gerak baik cairan polar maupun cairan non polar, dan bekerja pada tekanan tinggi, kromatografi cair kinerja tinggi yang merupakan suatu cara pemisahan komponen dari suatu campuran berdasarkan perbedaan distribusi, absorpsi, adsorpsi pada komponen diantara dua fase yang erbeda yaitu fase diam dan

fase gerak (Dewi,2013). Menurut Lestari (2014) Prinsip dasar dari HPLC, dan semua metode kromatografi adalah memisahkan setiap komponen dalam sample untuk selanjutnya diidentifikasi (kualitatif) dan dihitung berapa konsentrasi dari masing-masing komponen tersebut (kuantitatif). Sebetulnya hanya ada dua hal utama yang menjadi krusial point dalam metode HPLC. Pertama adalah proses separasi atau pemisahan dan yang kedua adalah proses identifikasi. Dua hal ini mejadi faktor yang sangat penting dalam keberhasilan proses analisa. Asam amino adalah senyawa yang mempunyai rumus umum $+H_3NCH - (R) COO^-$, benifat ion dan hidrofil, Rediatning dan nanny (1987) menambahkan Asam amino saling berbeda dengan gugus R-nya ada sekitar 17-20 macam asam amino penting yang merupakan pembentuk protein dan disebut asam amino hidrolisat, seperti Alanin, Arginin, Sistein, Glutamin, Asam glutamat, Glisin, Histidin, Iso leusin, Lisin, Metionin, Fenilalanin, Prolin, Serin, Treonin, Triptofan, Tirosin, dan Valin,.Hasil kromatogram asam amio hidrolisat ceng gondok rebus dapat dilihat pada gambar 29.



Gambar 29. Kromatogram Asam amino Pada Hidrolisat Protein Eceng Gondok

Gambar 29. Menunjukkan Luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran dan jumlah peak menyatakan jumlah komponen. Analisis kualitatif dapat dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi (r_t) zat target analisa atau sampel dengan waktu retensi standar. Sedangkan analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan didasarkan pada luas peak atau tinggi peak. Terdapat beberapa senyawa yang sukar dideteksi oleh detektor, salah satu upaya yang dilakukan untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan melakukan derivatisasi yang bertujuan untuk mengubah analit menjadi bentuk yang dapat terdeteksi oleh sistem detektor yang digunakan. Menurut Prabawati (2005) Proses derivatisasi bertujuan untuk mempermudah suatu senyawa baru yang memantau gugus kromofor sehingga diharapkan dapat menaikkan sensitivitas deteksi dengan demikian senyawa baru dapat terdeteksi dengan detektor UV-VIS hal demikian dapat dilakukan sebelum sampel diinjeksikan atau sesudah pemisahan dari kolom. Didalam kolom terjadi pemisahan komponen cairan yang disebabkan oleh perbedaan kekuatan interaksi antara solut terhadap fase diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar dari kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram.

Analisis asam amino diawali dengan hidrolisis. Pada tahap ini hidrolisis rantai polipeptida yang sempurna dilakukan dengan HCL 6N 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 ditambahkan volumenya dengan aquaest. Setelah itu larutan disaring dan pada sampel asam amino ditambahkan dengan AABA (*Alfa amino butyric acid*) sebagai larutan standar, penambahan larutan standar internal digunakan untuk mengoreksi hilangnya residu asam amino selama proses hidrolisis karena aliran atau penghancuran.

Sampel mulai diderivatisasi dengan reagen AQC (*6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidil carbamate*) yang sering dilakukan secara prakolom di ikuti oleh pemisahan fase terbalik dengan menggunakan detektor fluoresensi. Penderivat dengan asam amino primer dan asam amino sekunder dan menghasilkan derivat fluoresen dengan eksitasi 250 nm dan emisi 395 nm. Kelebihan AQC salah satunya dapat bereaksi dengan air dan membentuk *6-aminoquinolin* (AMQ), N hidroksi succsinimidi (NHS) dan (CO₂). AMQ bereaksi sangat lambat dengan reagen AQC berlebih membentuk *bisaminoquinolin* urea. Produk samping tidak mengganggu identifikasi dan kuantifikasi dari salah satunya asam amino.

Dalam teknik derivatisasi prakolom, teknanisme pemisahan adalah partisi dengan sistem kromatografi fase balik (*reverse phase chromatography*). Asam amino primer akan bereaksi secara spesifik dan selektif dengan OPA/2-ME, terbentuk suatu derivat yang selain berfluoresensi kuat juga bersifat hidrofob yang memungkinkan terjadinya pemisahan secara kromatografi fase balik menggunakan kolom nonpolar dan fase gerak yang polar asam amino terderivatisasi yang mempunyai kepolaran tinggi akan terelusi lebih dahulu.

4.6 Derajat hidrolisis (Hasnaliza *et al.* 2010)

Derajat hidrolisis dihitung berdasarkan persentase rasio *trichloroacetic acid* (TCA). Sebanyak 20 ml hidrolisat protein ditambahkan TCA 20% (b/v) sebanyak 20 ml. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit agar terjadi pengendapan, lalu disentrifugasi (kecepatan 7800 x g, selama 15 menit). Supernatannya lalu dianalisis kadar nitrogennya menggunakan metode Kjeldahl (AOAC 2005). Derajat hidrolisis dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Derajat Hirdrolisis (%) = $\frac{\text{Nitrogen terlarut dalam TCA 10\% (b/v)}}{\text{Nitrogen total sampel}} \times 100 \%$

Nitrogen total sampel

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

- Volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok pada volume molase 300 mL dengan kandungan nutrisi sebesar kadar air 13,37%, kadar lemak 1,99%, kadar protein 16,68%, kadar abu 16,81%, karbohidrat 50,56%, pH 4,29, kapasitas emulsi 53,70%, daya buih 0,29%.
- Lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein eceng gondok pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar kadar air 11,88%, kadar lemak 1,31%, kadar protein 20,18%, kadar abu 16,16%, karbohidrat 50,46%, pH 4,26, kapasitas emulsi 51,41%, daya buih 0,31%.
- Profil asam amino terbaik pada perlakuan lama fermentasi 12 hari dan penambahan volume molase 300 mL sebesar 8,60%

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan untuk menganalisa menggunakan hasil akhir dari hidrolisat protein eceng gondok berupa ampasnya dan campuran ampascairan sebelum proses fermentasi dan sesudah proses fermentasi, serta pengaplikasian hidrolisat protein eceng gondok sebagai pakan atau pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustono, Salim Hidayat, dan Widya Paramita. 2010. Pengaruh Penggunaan Kombucha Terhadap Kandungan Protein Kasar Dan Serat Kasar Pada Fermentasi Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol. 2 No. 2, November 2010
- Ahmad, Riza Zainudin. 2012. Pemanfaatan Khamir *Sacharomyces Cerevisiae* untuk ternak. *Journal. Penelitian dan Pengembangan Peternakan*. 15 (1): 49 – 55
- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan khamir *Sccharomyces cerevisiae* untuk ternak. *Wartazoa*. Vol 15 No 1 Thn. 2005
- Akili, Y. R. R. 2012. Karakteristik Ekstrakseluler Khamir Laut yang dipanen pada Fase Log dan Aktivitas Hidrolisisnya terhadap Kualitas Protein Ikan Peperek (*Leiognathus* sp.). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 97 hlm.
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawari. 2011. *Analisi Pangan*. Dian Rakyat: Jakarta.
- Anggraeni, Y. P. dan S. S. Yuwono. 2014. Pengaruh Fermentasi Alami pada Chips Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Terfermentasi. *Journal. Pangan dan Agroindustri*. 2 (2): 59-70
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington, Virginia, SA: Association of Official Analytical Chemist, Inc
- Astuti, F. K., M. Junnus, and E. Setyowati. 2013 The Effect of Fermentation Time and Proportion Liquid Sludge for Crude Fiber in Sluge Organic Biogas. Skripsi. Faculty Farms. Brawijaya University
- Becker, E. W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge. Cambridge University Press. by a Strain of Marine Yeast. *Journal. Ocean University of China*. 5 (3):: 263-268
- Bernadeta, P. Ardiningsih, dan I. H. Silalahi. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. *Journal. Pengeluaran Kas*. 1 (1): 26 – 30
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, dan M. Wootton. 1978. *Ilmu Pangan*. UI Press : Jakarta

- Budy, Dewanti. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Bueno-Solano, C., J. Lopez-Cervantes, O. N. Campas-Baypoli, R. Lauterio-Garcia, N. P. Adan-Bante, and D. I. Sanchez-Machado. 2008. Chemical and Biological Characteristics of Protein Hydrolysates from Fermented Shrimp by-Products. *Food Chem.* (112): 671-675.
- Candra, J. I. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam Ikan Bandengan (*Chanos chanos*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Dewi.Y.N.2013. Penetapan kadar dan analisa profil protein dan asam amino ekstrak ampas biji jinten hitam dengan metode SDS-PAGE dan KCKT. Skripsi. Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan. Progam studi farmasi. Jakarta
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 308 hlm.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia: Jakarta
- Fatony, achmad.2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)
- Fauziah, S. Sirajuddin, dan U. Najamuddin. 2014. Analisis Kadar Asam Lemak Bebas dalam Gorengan Minyak Bekas Hasil Pengorenan Makanan Jajanan di *Workshop* Universitas Hasanuddin. *Workshop*. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Febriani, M. 2006. Substitusi Protein Hewani dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut untuk Pakan Patin (*Pangasius sp.*) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Journal. Fish. Sci.* **8** (2): 169-176.
- Febriani, M. 2010. Substitusi Protein Hewani dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut untuk Pakan Patin (*Pangasius sp.*) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Journal. Fish. Sci.* **8** (2): 169-176.
- Gbogouri, G. A., M. Linder, J. Fanni, dan M. Parmentier. 2004. Influence of Hydrolysis Degree on the Functional Properties of Salmon Byproducts Hydrolysates. *Journal. Food Sci.* **69** (8): 615-622.
- Haslina. 2004. Nilai Gizi, Daya Cerna Protein dan Daya Terima Patilo sebagai Makanan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang
- Haslina, S. F. Muis, dan Suyatno. 2006. Nilai Gizi, Daya Cerna Protein dan Daya Terima Patilo sebagai makanan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair. *Journal. Gizi Indo.* **1** (2): 34-40

- 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.
- Hidayat, N.M.C., dan Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Andi. Jakarta.
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Holilah. 2005. Pengaruh Penambahan Molase terhadap Keefektifan Ekstrak Kompos untuk Pengendalian *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butter dan Bisby Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ida, B. 2004. Filsafat Penelitian dan Metode Penelitian Sosial. Pustaka Belajar: Jakarta
- Indah, R. E dan W. H. Susanto. 2013. Pengaruh pemberian Guala Pasir dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Sirup Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Irma, K., D. Z. Arief, dan T. S. Ela. 1997. Pengaruh Konsentrasi Getah Pepaya (*Carica papaya, Linn*) dan Waktu Hidrolisis terhadap Hidrolisat Protein Kepala Udang Windu (*Panaeus monodon*). Prosiding Seminar Tek. Pangan. hlm. 271-282
- Jannah, A. K. 2012. Pengaruh Khamir Laut Jenis Campuran yang dipanen pada Fase Log dalam Menghidrolisis Protein Kerang Darah (*Anadara granosa*). Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang
- Koesoemawardani, D., F. Nuraini, dan Hidayati. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat protein ikan Rucah. *Journal*.13 (3): 256 – 261
- Kunaepah,uun.2008. Pengaruh Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total Dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah
- Mangisah, Tristiarti , W. Murningsih, M.H. Nasoetion, E.S. Jayanti, dan Y. Astuti. 2006. Kecernaan Nutrien Eceng Gondok Yang Difermentasi Dengan *Aspergillus Niger* Pada Ayam Broiler [*Digestibility Of Aspergillus Niger-Fermented Eichchornia crassipes In Broiler*]
- Muzaifa.M, Novi S,and Fahrizal .2011. Production of protein hydrolysates from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis. Department of Agricultural Product Technology, Agriculture Faculty, Syiah Kuala University, Banda Aceh, Indonesia.
- Ni, X., L. Yue, J. Li, Z. Chi, Z. Liu, and C. Mazdak. 2009. Properties of alkaline protease genetically engineered on cell surface of the yeast *Yarrowia Lipolytica*. *Journal.Biochem. Biophysic*. 46: 294-498

- Nurjanah, A. M. Jacob, dan N. W. Cakti. 2008. Perubahan Komposisi Protein dan Asam Amino Daging Udang Ronggeng (*Harpiesquilla raphidea*) Akibat Perebusan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. **12** (1): 1-20.
- Nurul, A. F., M. Junus, and M. Nasich. 2013. Pengaruh penambahan Molase Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Padatan Lumpur Organik Unit Gas Bio. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase Dalam Ekstrak Ubi Jalar Untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 Pada Fermentor *AIR-LIFT* 18 Liter. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Noviana, Yovitaro, Susi Lestari, dan Siti Hanggita RJ.2012. Karakteristik Kimia Dan Mikrobiologi Silase Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) Dengan Penambahan Asam Format Dan Bakteri Asam Laktat . *Journal. Res. Fishtech*. **1**(1)
- Ping, W., C. Zhenming, and M. A. Chunling. 2006. Alkaline Protease Production Marine Yeast Biomass Production. *Int. Journal. Res. Marine Sci*. **2** (2): 39-44.
- Putera, Rizky Dirga Harya. 2012 . Ekstraksi serat selulosa dari tanaman eceng gondok (*Eichornia crassipes*) dengan variasi pelarut.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*C. obtusa*). *Journal. Ilmu Kelautan*. **17** (1): 39-48
- Prabawati.Y.S. 2005. Intisari profil asam amino dalam cumi-cumi. *Journal*. Vol 1 (2)
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganism Campuran terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *Journal. Indon. Trop. Anim. Agric*. **28** (2): 90-94
- Reed, G. And T.W. Nagodawithana. 1991 . *Yeast Technology* . good edition Van Nostrad, Rein Hold. NewYork. USA.
- Rediatning W. Dan Nanny K. 1987. Analisis Asam Amino Dengan Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi Secara Derivatisasi Prakolom Dan Pascakolom. *Journal. ITB* 20, No. 112
- Riyanto I. 2006. Analisa Kadar, Daya Cerna dan Karakteristik protein Daging Ayam Kampung dan Hasil Olahan. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

- Rieuwpassa, F.J., J. Santoso, dan W. Trilaksani. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Kosentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*K. pelamis*). *Journal. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5 (2): 299-309
- Romantic E, Imam T, dan Lilik R. 2014. Effect on Fermentation Time to Water Content, Rendement, Foaming Capacity and Foaming Stability of Pan Drying Egg Powder. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Rosdianti, I. 2008. Pemanfaatan Enzim Papain dalam Produksi Hidrolisat Protein dari Limbah Industri Minyak Kelapa. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Prasetyo, D.A. 2009. Penentuan Kandungan Logam (Hg, Pb, dan Cd) dengan Penambahan Pengawet dan Waktu Perendaman yang Berbeda Pada Kerang Hijau (*Perna viridis L.*) di Perairan Muara Kamal, Teluk Jakarta. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Safitri dewi erina dan Tri sutrisno.2004. Adsorpsi khrom (VI) dari limbah cair industri pelapisan logam dengan arang eceng gondok (*Eichornia crassipes*). Teknik kimia. Universitas Diponegoro
- 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. 101 hlm
- Sarlin, P. J., and R. Philip. 2013. A Molasses Based Fermentation Medium for Marine Yeast Biomass Production. *Int. Journal. Res. Marine Sci.* 2 (2): 39-44.
- Silalahi F.Y Dan Ikhsan F. 2014. Fermentasi Fruitghurt dengan Variasi Kulit Buah Upaya dalam Pemanfaatan Limbah Cair Buah. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Sevilla, C. G., J. A. Ochave, T. G. Punsalan, B. P. Regala, dan G. G. Uriarte. 2006. Pengantar Metode Penelitian. UI Press. Jakarta. 315 hlm.
- Sihite, Lusiyana Wanti.2014. Pemanfaatan eceng gondok fermentasi terhadap karkas dan non karkas domba lokal jantan lepas sapih
- Sitompul, saulina.2004. Analisis Asam Amino dalam tepung ikan.*Journal.Teknik pertanian*. Vol 9 (1)
- Simanjorang, E., N. Kurniawati, dan Z. Hasan. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. *Journal. Perikanan dan Kelautan*. 3 (4): 209-220
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty: Yogyakarta.
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB: Malang

- Sulistyo; D. R. Arief; A. Nur.2007. Pembuatan Nata Dari Limbah Cair Tahu Dengan Menggunakan Molasses Sebagai Sumber Karbon *Acetobacter Xylinum*.Ekuilibrium. Vol 6 No. 1: 1 – 5
- Suriawiria, U. 1990. Pengantar Biologi Umum . PenerbitAngkasa. Bandung.
- Tampoebolon. 2009. Kajian Perbedaan Aras dan Lama Pemeraman Fermentasi Ampas Sagu dengan *Aspergillus niger* terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat kasar. Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan. hlm: 235 – 243
- Wang.H.L and J.F Cavins.1989. *Yield and Amino Acid Composition of Fractions Obtained During Tofu Production*.Journal. Vol. 66, No.4
- Waluyo, L. 2004. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang
- Widianingrum,C.2009. Pengaruh bahan penutup terhadap kadar alkohol pada proses fermentasi ubi kayu dan ubi jalar. Skripsi. Universitas Islam sunan kali jaga.Yogyakarta
- Widyanti, E.M. 2010. Produksi Asam Sitrat Dari Substrat Molase Pada Pengaruh Penambahan VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Produktivitas *Aspergillus niger* ITBCC L74 Terimobilisasi. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Diponegoro: Semarang
- Williams. 2007. Teori Pengembangan Konsep dan Aplikasi. Pustaka Belajar: Yogyakarta
- Winarno. 2007. Teknobiologi Pangan. M-Brio Press: Bogor
- Yunika, K. R.2015. Pengaruh Lama Fermentasi dan Perbedaan Konsentrasi Molase Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Ikan Lela Rebus. Skripsi.Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.Universitas Brawijaya. Malang
- Zhenming, C., L. Zhiqiang, G. Lingmei, G. Fang, M. A. Chunling, W. Xianghong, and LI. Haifeng. 2006. Marine Yeast and Their Applications in Marineculture. *Journal*. Ocean University of China. 5 (3): 251 – 256

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.

Eceng gondok = 100 gram

Starter khamir laut 5% dari berat eceng gondok

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

Jadi, starter khamir laut yang digunakan dalam kultur khamir laut sebanyak 5 mL.

Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut**Air Laut = 50 mL****Gula pasir 0,25%**

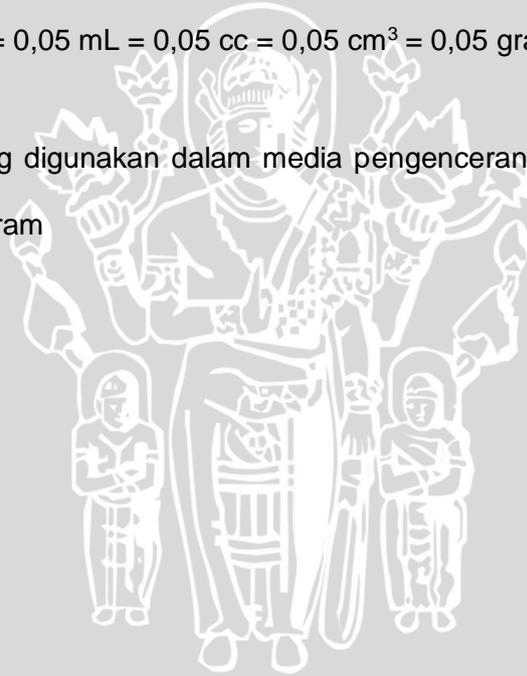
$$= \frac{0,25}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

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

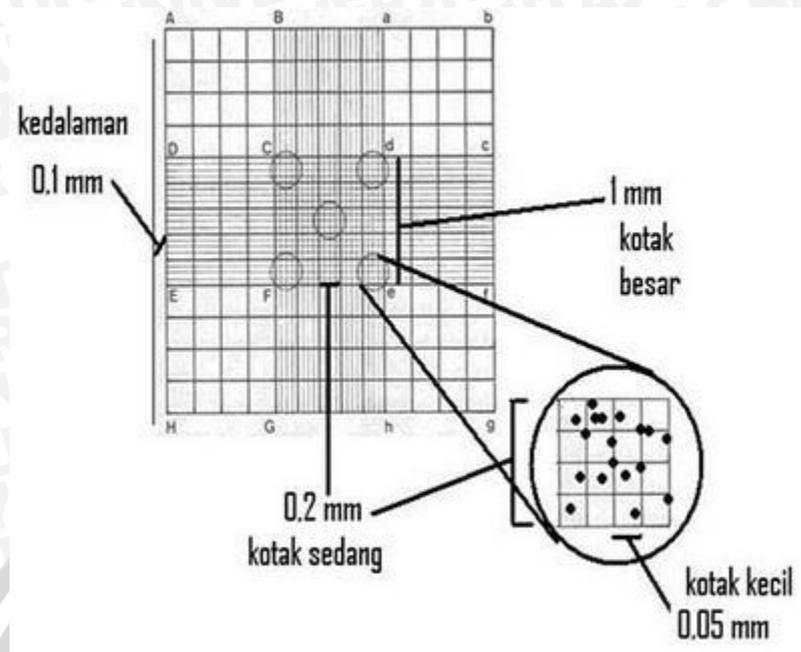
Pupuk daun 0,1%

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

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



Lampiran 3. Perhitungan kepadatan sel khamir laut



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

$$\begin{aligned}\text{Luas kotak sedang} &= p \times l \\ &= 0,2\text{mm} \times 0,2\text{mm} \\ &= 0,04 \text{ mm}^2\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume kotak sedang} &= 0,04 \text{ mm}^2 \times 0,1\text{mm} \\ &= 0,004 \text{ mm}^3\end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}\text{maka,} &= 0,04 \text{ mm}^3 \\ &= 0,000004 \text{ cm}^3 \\ &= 4 \times 10^{-6} \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi, formula dalam menentukan jumlah sel yaitu:

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

Atau,

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

Pengamatan jam ke-0
 Pojok kanan atas = 4
 Pojok kanan bawah = 5
 Pojok kiri atas = 4
 Pojok kiri bawah = 4
 Tengah = 5

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (4+5+4+4+5)/5 \\ &= 22/5 \\ &= 4,4 \end{aligned}$$

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

$$\log \text{ sel/mL} = 10,0413$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 23,2 \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 5,8 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ \log \text{ sel/mL} &= 10,7634 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-12
 Pojok kanan atas = 20
 Pojok kanan bawah = 16
 Pojok kiri atas = 12
 Pojok kiri bawah = 11
 Tengah = 13

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (20+16+12+11+13)/5 \\ &= 72/5 \\ &= 14,4 \end{aligned}$$

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

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

Pengamatan jam ke-36

Pojok kanan atas = 33
 Pojok kanan bawah = 34
 Pojok kiri atas = 21
 Pojok kiri bawah = 19

$$\begin{aligned} \text{Tengah} &= 37 \\ \text{Jumlah sel} &= (33+34+21+19+37)/5 \\ &= 144/5 \\ &= 28,8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 28,8 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 7,2 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ \log \text{ sel/mL} &= 10,8572 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-24

Pojok kanan atas = 21
 Pojok kanan bawah = 19
 Pojok kiri atas = 23
 Pojok kiri bawah = 29

$$\begin{aligned} \text{Tengah} &= 24 \\ \text{Jumlah sel} &= (21+19+23+29+24)/5 \\ &= 116/5 \\ &= 23,2 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-48

Pojok kanan atas = 39
 Pojok kanan bawah = 36
 Pojok kiri atas = 40
 Pojok kiri bawah = 48

$$\begin{aligned} \text{Tengah} &= 34 \\ \text{Jumlah sel} &= (39+36+40+48+34)/5 \\ &= 197/5 \\ &= 39,4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/mL} &= 39,4 \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 9,85 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ \log \text{ sel/mL} &= 10,9934 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-60

Pojok kanan atas = 52
 Pojok kanan bawah = 49
 Pojok kiri atas = 47



Pojok kiri bawah = 46

Tengah = 59

Jumlah sel= $(52+49+47+46+59)/5$

$$= 253/5$$

$$= 50,6$$

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

$$= 1,265 \times 10^{11} \text{ sel/mL}$$

log sel/mL = 11,1020

Pengamatan jam ke-72

Pojok kanan atas = 54

Pojok kanan bawah = 59

Pojok kiri atas = 57

Pojok kiri bawah = 54

Tengah = 52

Jumlah sel= $(54+59+57+54+52)/5$

$$= 276/5$$

$$= 55,2$$

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

$$= 1,38 \times 10^{11} \text{ sel/mL}$$

log sel/mL = 11,1398

Pengamatan jam ke-84

Pojok kanan atas = 39

Pojok kanan bawah = 41

Pojok kiri atas = 45

Pojok kiri bawah = 43

Tengah = 46

Jumlah sel = $(39+41+45+43+46)/5$

$$= 214/5$$

$$= 42,8$$

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

$$= 1,07 \times 10^{11} \text{ sel/mL}$$

log sel/mL = 11,0293

Pengamatan jam ke-96

Pojok kanan atas = 25

Pojok kanan bawah = 22

Pojok kiri atas = 26

Pojok kiri bawah = 24

Tengah = 27

Jumlah sel = $(25+22+26+24+27)/5$

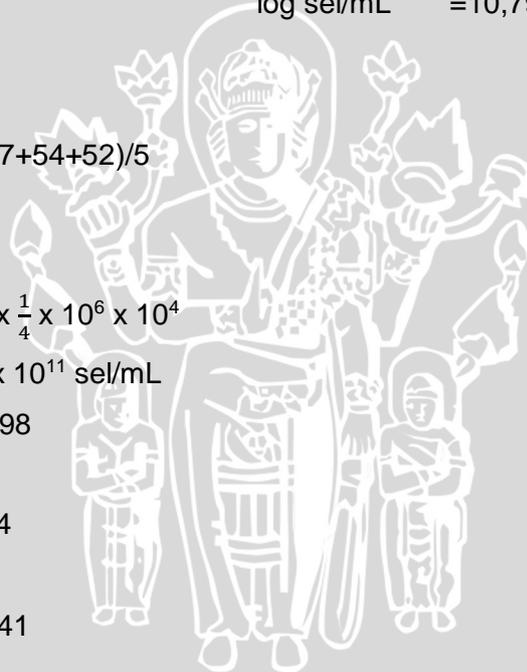
$$= 124/5$$

$$= 24,8$$

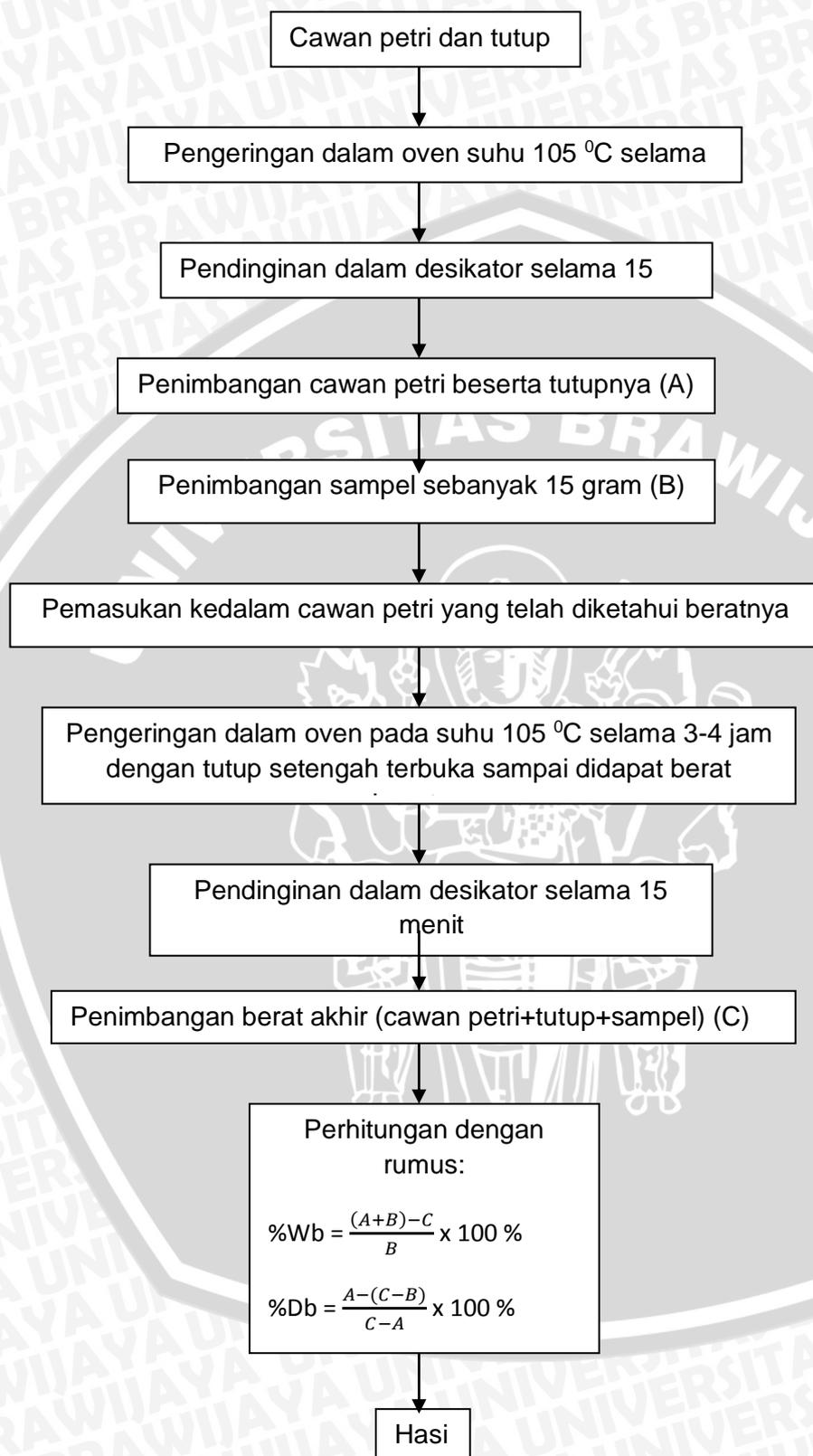
Jumlah sel/mL = $24,8 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

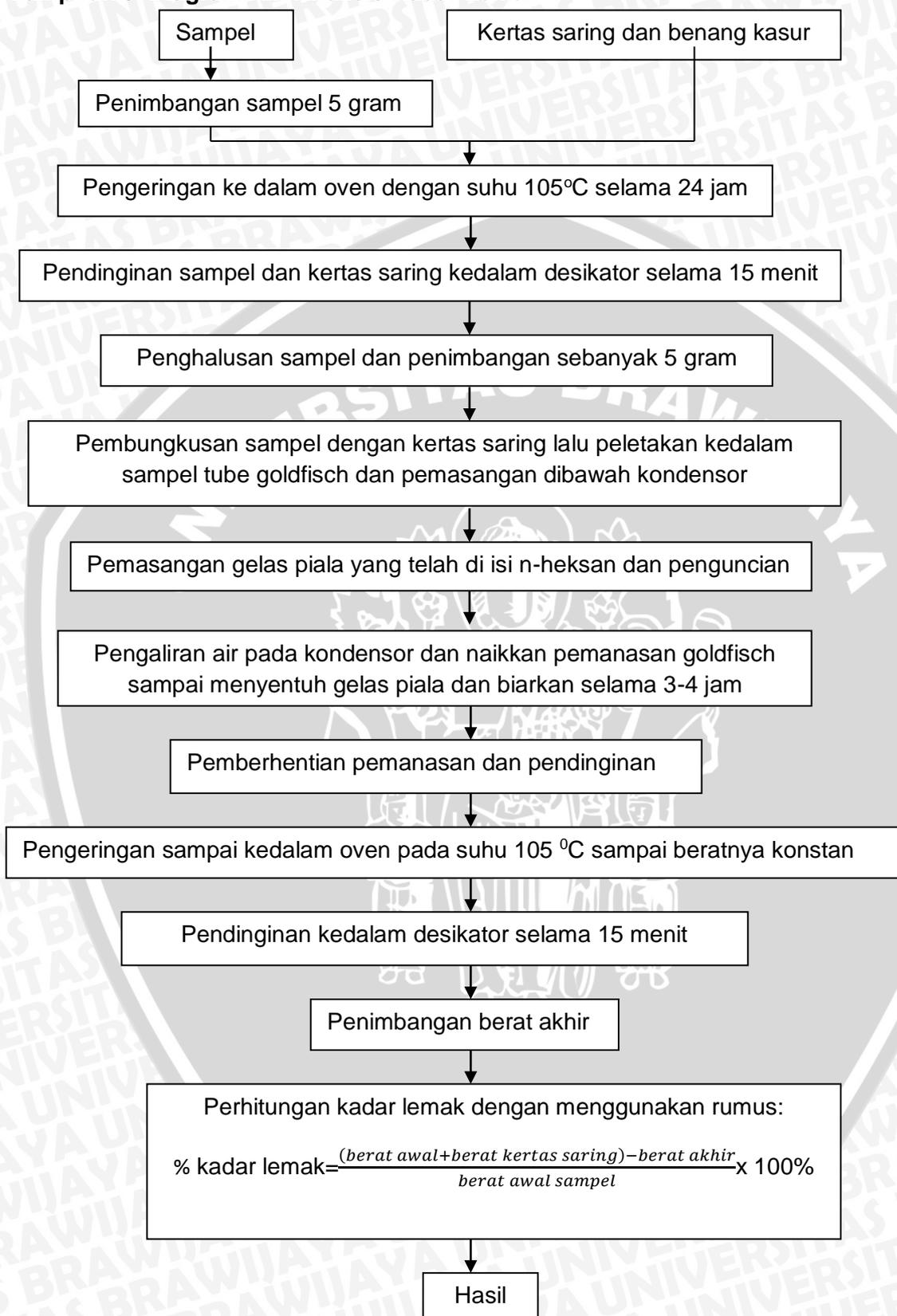
$$= 6,2 \times 10^{11} \text{ sel/mL}$$

log sel/mL = 10,79

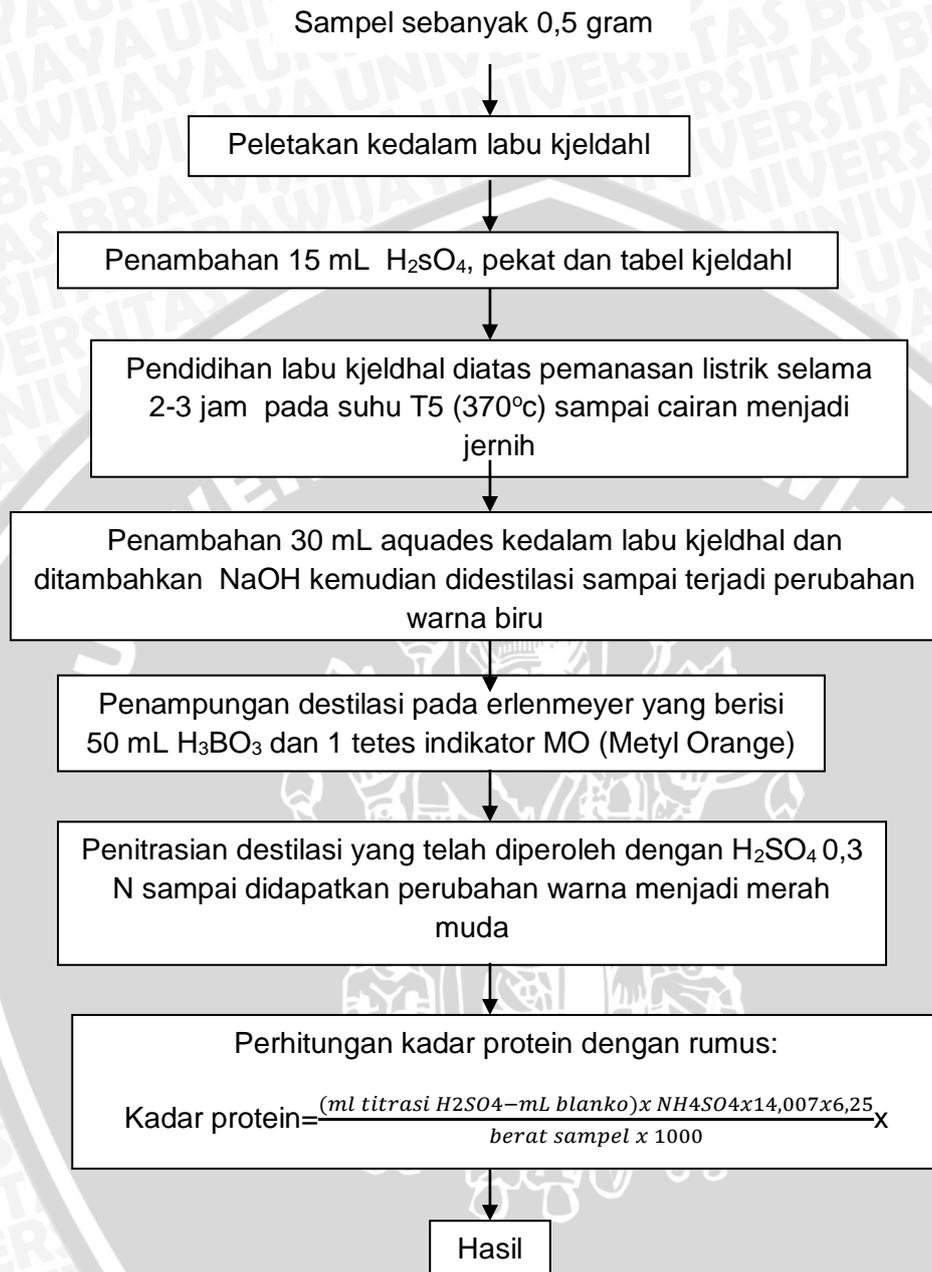


Lampiran 4. Diagram Alir Analisa Kadar Air

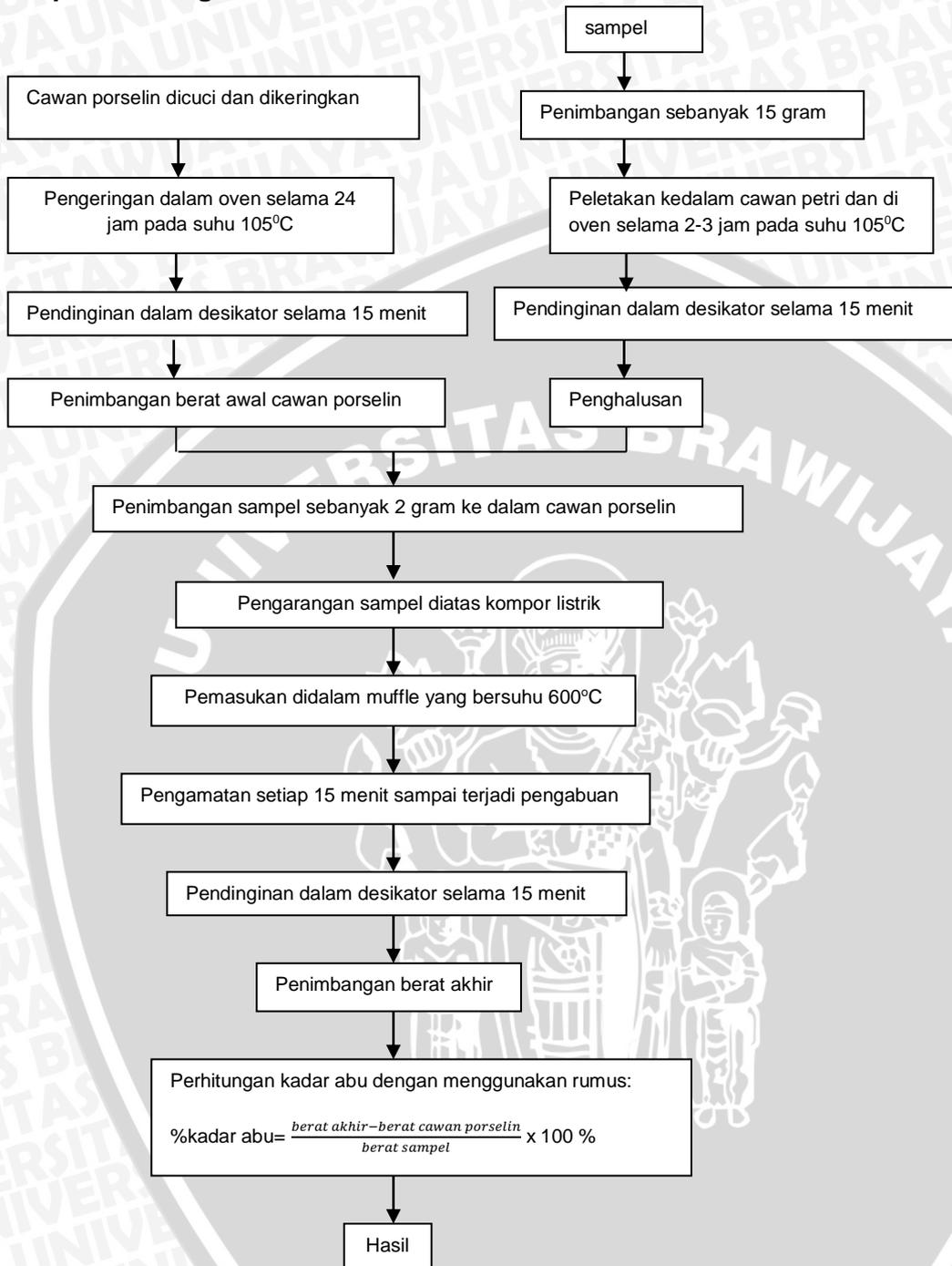


Lampiran 5. Diagram Alir Analisis Kadar Lemak

Lampiran 6. Diagram Alir Analisis Kadar Protein

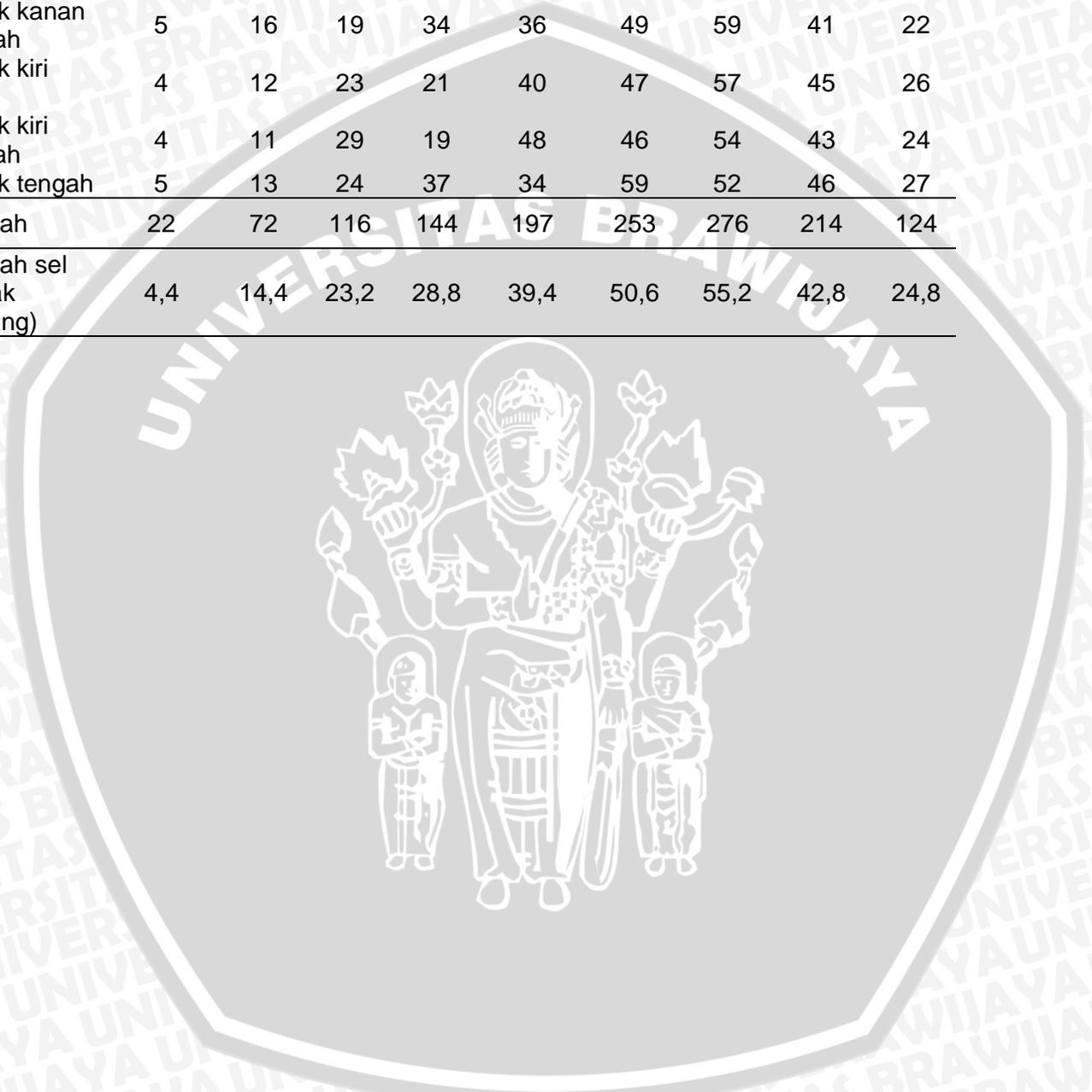


Lampiran 7. Diagram Alir Analisa Kadar Abu



Lampiran 8. 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 9. 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
Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 25 mL dan 1,25 mL khamir laut <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 <ul style="list-style-type: none">• Bertahan selama 3 hari• Berwarna hijau kecoklatan• Berbau busuk	
Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 50 mL dan 1,25 mL khamir laut <ul style="list-style-type: none">• Bertahan selama 3 hari• Berwarna coklat muda• Berbau busuk	
Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 50 mL dan 2,5 mL khamir laut <ul style="list-style-type: none">• Bertahan selama 3 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 6 hari • Berwarna coklat tua • Setelah 6 hari berbau pesing dan berjamur 	
<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 6 hari • Berwarna coklat tua • Setelah 6 hari berbau pesing dan berjamur 	
<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 pesing dan berjamur 	
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 100 mL dan 2,5 mL khamir laut</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bertahan selama 6 hari • Berwarna coklat kehitaman • Setelah 6 hari berbau pesing dan berjamur 	
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 125 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 pesing dan berjamur 	
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 125 mL dan 2,5 mL khamir laut</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bertahan selama 6 hari • Berwarna coklat tua • Setelah 6 hari berbau pesing dan berjamur 	
<p>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 150 mL dan 1,25 mL khamir laut</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bertahan selama 6 hari • Berwarna coklat kehitaman • Setelah 6 hari berbau pesing 	



dan berjamur

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

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat kehitaman
- Setelah 6 hari berbau pesing dan berjamur



Penelitian Pendahuluan Keempat

Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 200 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 12 hari
- Berwarna coklat kehitaman
- Berbau khas fermentasi atau molase segar



Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 250 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 12 hari
- Berwarna coklat kehitaman
- Berbau khas fermentasi atau molase segar



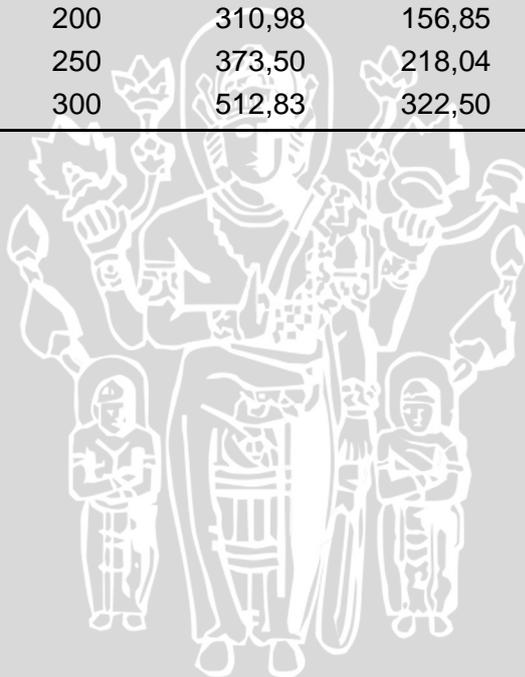
Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase segar 300 mL dan 2,5 mL khamir laut

- Bertahan selama 12 hari
- Berwarna coklat kehitaman
- Berbau khas fermentasi atau molase segar



Lampiran 10. Perhitungan rendemen penelitian pendahuluan hidrolisat protein eceng gondok

Lama fermentasi	Volume molase segar	berat awal (gram)	berat akhir (gram)	rendemen Cairan
3 hari	200	310,53	225,62	72,66
	250	373,29	282,25	75,61
	300	512,56	387,50	75,60
6 hari	200	310,74	227,60	73,24
	250	373,46	287,54	76,99
	300	512,46	401,05	78,26
9 hari	200	310,15	185,47	59,80
	250	373,02	253,89	68,06
	300	512,55	365,90	71,39
12 hari	200	310,98	156,85	50,44
	250	373,50	218,04	58,38
	300	512,83	322,50	62,89



Lampiran 11. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan		Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
Lama fermentasi	Volume molase segar	I	II	III			
3 hari	200	24,67	24,31	25,01	74,00	24,67	0,35
	250	25,25	25,63	25,80	76,68	25,56	0,28
	300	28,78	27,93	28,41	85,12	28,37	0,42
6 hari	200	25,62	25,31	25,89	76,82	25,61	0,29
	250	25,85	26,34	27,22	79,41	26,47	0,69
	300	26,55	28,51	27,63	82,70	27,57	0,98
9 hari	200	21,11	21,06	21,05	63,22	21,07	0,03
	250	21,69	22,97	21,31	65,96	21,99	0,87
	300	24,56	23,93	25,12	73,62	24,54	0,59
12 hari	200	13,14	12,98	13,15	39,27	13,09	0,09
	250	15,00	14,46	14,50	43,97	14,66	0,30
12 hari	300	15,31	14,93	14,84	45,08	15,03	0,25

Perlakuan	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	74,00	76,82	63,22	39,27	253,31
250 mL	76,68	79,41	65,96	43,97	266,02
300 mL	85,12	82,70	73,62	45,08	286,52
Total	235,80	238,92	202,81	128,32	805,85

FK	18038,76
JK Total	941,83
JK Ulangan	881,47
JK Perlakuan	46,81
JK Galat	13,55

UJI BNT	
T.tabel 5%	1,70
Tabel BNT 5%	0,93

Perlakuan	Kelompok				Total	Rerata	St.Dev
	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	24,67	25,61	21,07	13,09	84,44	21,11	5,69
250 mL	25,56	26,47	21,99	14,66	88,67	22,17	5,37
300 mL	28,37	27,57	24,54	15,03	95,51	23,88	6,13
Total	78,60	79,64	67,60	42,77	268,62	67,15	
Rerata	26,20	26,55	22,53	14,26			
St.Dev	1,94	0,98	1,80	1,03			

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	3 hari	6 hari	Notasi
		14,26	22,53	26,20	26,55	
12 hari	14,26	0,00				a
9 hari	22,53	8,28	0,00			b
3 hari	26,20	11,94	3,67	0,00		c
6 hari	26,55	12,29	4,01	0,35	0,00	c

Perlakuan	Rerata	200 ml	250 ml	300 ml	Notasi
		21,11	22,17	23,88	
200 ml	21,11	0,00			a
250 ml	22,17	1,06	0,00		b
300 ml	23,88	2,77	1,71	0,00	c

Lampiran 12. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std.Dev
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	200	15,50	14,76	15,01	45,27	15,09	0,38
	250	15,62	15,09	15,18	45,89	15,30	0,28
	300	15,80	15,23	15,25	46,28	15,43	0,32
3 Hari	200	13,98	14,15	14,48	42,61	14,20	0,26
	250	14,56	14,17	14,73	43,45	14,48	0,29
	300	14,98	14,39	14,93	44,31	14,77	0,33
6 Hari	200	13,28	13,65	13,84	40,77	13,59	0,29
	250	13,30	14,04	14,14	41,48	13,83	0,46
	300	13,39	14,07	14,28	41,73	13,91	0,46
9 Hari	200	12,92	13,01	13,13	39,05	13,02	0,11
	250	12,95	13,57	13,16	39,67	13,22	0,32
	300	12,97	13,60	13,33	39,90	13,30	0,32
12 Hari	200	11,56	11,57	11,13	34,26	11,42	0,25
	250	12,21	11,58	11,53	35,31	11,77	0,38
	300	12,50	12,27	12,53	37,30	12,43	0,14

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	45,27	42,61	40,77	39,05	34,26	201,97
250 mL	45,89	43,45	41,48	39,67	35,31	205,81
300 mL	46,28	44,31	41,73	39,90	37,30	209,53
Total	137,44	130,37	123,99	118,63	106,88	617,31

FK	8468,25
JK Total	65,78
JK Ulangan	60,19
JK Perlakuan	1,90
JK Galat	3,69

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan	4	60,19	15,05	155,14	2,62	3,86
JKPerlakuan	2	1,90	0,95	9,82	3,25	5,21
JK Galat	38	3,69	0,10			
JK Total	44					

Perlakuan	Kelompok						Total	Rerata	St.Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari				
200 mL	15,09	14,20	13,59	13,02	11,42	67,32	13,46	1,38	
250 mL	15,30	14,48	13,83	13,22	11,77	68,60	13,72	1,33	
300 mL	15,43	14,77	13,91	13,30	12,43	69,84	13,97	1,18	
Total	45,81	43,46	41,33	39,54	35,63				
Rerata	15,27	14,49	13,78	13,18	11,88				
St.Dev	0,17	0,28	0,17	0,15	0,51				

UJI BNT

T.tabel 5%	1,69
Tabel BNT 5%	0,43

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		13,46	13,72	13,97	
200 mL	13,46	0,00			a
250 mL	13,72	0,26	0,00		a
300 mL	13,97	0,50	0,25	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		11,88	13,18	13,78	14,49	15,27	
12 hari	11,88	0,00					a
9 hari	13,18	1,31	0,00				b
6 hari	13,78	1,90	0,60	0,00			c
3 hari	14,49	2,61	1,30	0,71	0,00		d
0 hari	15,27	3,40	2,09	0,71	0,78	0,00	e

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

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata- Rata	Std.Dev
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	200	4,18	2,93	4,19	11,30	3,77	0,73
	250	3,84	2,73	3,11	9,68	3,23	0,57
	300	3,73	2,64	2,80	9,16	3,05	0,59
3 Hari	200	3,48	2,94	2,80	9,22	3,07	0,36
	250	2,84	2,35	2,56	7,74	2,58	0,25
	300	2,43	2,28	2,17	6,88	2,29	0,13
6 Hari	200	2,78	2,23	2,89	7,90	2,63	0,36
	250	2,44	2,10	2,10	6,65	2,22	0,20
	300	2,41	1,23	2,09	5,73	1,91	0,61
9 Hari	200	2,11	1,72	1,74	5,57	1,86	0,22
	250	1,85	1,67	1,73	5,25	1,75	0,09
	300	1,72	1,44	1,68	4,84	1,61	0,15
12 Hari	200	1,69	1,04	1,68	4,42	1,47	0,37
	250	1,32	1,32	1,55	4,18	1,39	0,13
	300	1,14	1,02	1,06	3,22	1,07	0,06

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	11,30	9,22	7,90	5,57	4,42	38,40
250 mL	9,68	7,74	6,65	5,25	4,18	33,52
300 mL	9,16	6,88	5,73	4,84	3,22	29,83
Total	30,14	23,84	20,28	15,67	11,82	101,75

FK	230,06
JK Total	29,80
JK Ulangan	22,53
JK Perlakuan	2,47
JK Galat	4,80

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan	4	22,53	5,63	44,70	2,62	3,86
JKPerlakuan	2	2,47	1,23	9,79	3,25	5,21
JK Galat	38	4,79	0,13			
JK Total	44	29,80				

Perlakuan	Kelompok					total	Rerata	St.Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	3,77	3,07	2,63	1,86	1,47	12,80	2,56	0,92
250 mL	3,23	2,58	2,22	1,75	1,39	11,17	2,23	0,72
300 mL	3,05	2,29	1,91	1,61	1,07	9,94	1,99	0,74
Total	10,05	7,95	6,76	5,22	3,94	33,92		
Rerata	3,35	2,65	2,25	1,74	1,31			
St.Dev	0,37	0,40	0,36	0,12	0,21			

UJI BNT

T.tabel 5%	1,69
Tabel BNT 5%	0,49

Perlakuan	Rerata	300 ml	250 ml	200 ml	Notasi
		1,99	2,23	2,56	
300 ml	1,99	0,00			a
250 ml	2,23	0,25	0,00		a
200 ml	2,56	0,57	0,33	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		1,31	1,74	2,25	2,65	3,35	
12 hari	1,31	0,00					a
9 hari	1,74	0,43	0,00				a
6 hari	2,25	0,94	0,51	0,00			b
3 hari	2,65	1,34	0,91	0,40	0,00		b
0 hari	3,35	2,04	1,61	1,10	0,70	0,00	c

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

Lama fermentasi	Volume molase segar	Ulangan			Total	Rerata	Std.Dev
		I	II	III			
0 hari (kontrol)	200	11,19	11,21	11,86	34,25	11,42	0,38
	250	11,90	11,91	12,58	36,38	12,13	0,39
	300	13,23	12,61	13,21	39,05	13,02	0,35
3 hari	200	13,98	13,31	13,92	41,21	13,74	0,37
	250	14,67	14,01	13,94	42,62	14,21	0,40
	300	14,69	14,71	13,95	43,35	14,45	0,43
6 hari	200	15,39	15,41	14,66	45,45	15,15	0,43
	250	15,40	16,11	15,40	46,92	15,64	0,41
	300	16,10	16,81	16,08	48,99	16,33	0,42
9 hari	200	16,78	17,51	16,74	51,03	17,01	0,43
	250	17,48	18,21	17,37	53,05	17,68	0,46
	300	18,18	18,91	17,95	55,04	18,35	0,50
12 hari	200	19,58	19,61	18,58	57,76	19,25	0,59
	250	20,28	20,31	19,54	60,13	20,04	0,43
	300	21,67	21,01	21,08	63,76	21,25	0,36

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	34,25	41,21	45,45	51,03	57,76	229,71
250 mL	36,38	42,62	46,92	53,05	60,13	239,10
300 mL	39,05	43,35	48,99	55,04	63,76	250,18
Total	109,68	127,17	141,35	159,12	181,66	718,99

FK	11487,54
JK Total	367,03
JK Ulangan	346,04
JK Perlakuan	14,00
JK Galat	6,99

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan JK	4	346,04	86,51	470,11	2,62	3,86
Perlakuan	2	14,00	7,00	38,03	3,25	5,21
JK Galat	38	6,99	0,18			
JK Total	44					

Kelompok

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total	Rerata	St.Dev
200 mL	11,42	13,74	15,15	17,01	19,25	76,57	15,31	3,00
250 mL	12,13	14,21	15,64	17,68	20,04	79,70	15,94	3,06
300 mL	13,02	14,45	16,33	18,35	21,25	83,39	16,68	3,25
Total	36,56	42,39	47,12	53,04	60,55			
Rerata	12,19	14,13	15,71	17,68	20,18			
St.Dev	0,80	0,36	0,59	0,67	1,01			

UJI BNT

T.tabel 5% 1,69

Tabel BNT 5% 0,59

Perlakuan	Rerata	200 mL	250 mL	300 mL	Notasi
		15,31	15,94	16,68	
200 mL	15,31	0,00			a
250 mL	15,94	0,63	0,00		b
300 mL	16,68	1,36	0,74	0,00	c

Kelompok	Rerata	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		12,19	14,13	15,71	17,68	20,18	
0 hari	12,19	0,00					a
3 hari	14,13	1,94	0,00				b
6 hari	15,71	3,52	1,58	0,00			c
9 hari	17,68	5,49	3,55	1,97	0,00		d
12 hari	20,18	8,00	6,05	4,48	2,50	0,00	e

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

Perlakuan		Ulangan					
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	I	II	III	Total	Rerata	Std.Dev
0 Hari (Kontrol)	200	18,73	17,50	18,70	54,94	18,31	0,70
	250	17,20	17,26	18,56	53,03	17,68	0,77
	300	17,04	17,23	18,10	52,37	17,46	0,56
3 Hari	200	16,97	17,21	17,97	52,16	17,39	0,52
	250	16,91	17,01	17,82	51,74	17,25	0,50
	300	16,87	16,97	17,79	51,63	17,21	0,50
6 Hari	200	16,77	16,96	17,69	51,42	17,14	0,49
	250	16,71	16,86	17,55	51,13	17,04	0,45
	300	16,48	16,85	17,50	50,83	16,94	0,52
9 Hari	200	16,47	16,76	17,39	50,62	16,87	0,47
	250	16,43	16,73	17,35	50,50	16,83	0,47
	300	16,41	16,34	17,20	49,95	16,65	0,48
12 Hari	200	16,41	16,11	16,92	49,44	16,48	0,41
	250	16,41	16,11	16,19	48,71	16,24	0,15
	300	15,87	15,60	15,86	47,33	15,78	0,15

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	54,94	52,16	51,42	50,62	49,44	258,57
250 mL	53,03	51,74	51,13	50,50	48,71	255,11
300 mL	52,37	51,63	50,83	49,95	47,33	252,12
Total	160,34	155,52	153,38	151,08	145,48	765,81

FK	13032,40
JK Total	23,07
JK Ulangan	13,39
JK Perlakuan	1,39
JK Galat	8,29

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan JK	4	13,39	3,35	15,35	2,62	3,86
Perlakuan	2	1,39	0,69	3,18	3,25	5,21
JK Galat	38	8,29	0,22			
JK Total	44					

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	St.Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	18,31	17,39	17,14	16,87	16,48	86,19	17,24	0,69
250 mL	17,68	17,25	17,04	16,83	16,24	85,04	17,01	0,53
300 mL	17,46	17,21	16,94	16,65	15,78	84,04	16,81	0,65
Total	53,45	51,84	51,13	50,36	48,49			
Rerata	17,82	17,28	17,04	16,79	16,16			
St.Dev	0,44	0,09	0,10	0,12	0,36			

UJI BNT

T.tabel 5%

1,69

Tabel BNT 5%

0,64

Perlakuan	Rerata	300 ml	250 ml	200 ml	Notasi
		16,81	17,01	17,24	
300 ml	16,81	0,00			a
250 ml	17,01	0,20	0,00		a
200 ml	17,24	0,43	0,23	0,00	a

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		16,16	16,79	17,04	17,28	17,82	
12 hari	16,16	0,00					a
9 hari	16,79	0,62	0,00				a
6 hari	17,04	0,88	0,26	0,00			b
3 hari	17,28	1,12	0,49	0,24	0,00		b
0 hari	17,82	1,65	1,03	0,77	0,54	0,00	c

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

Lama fermentasi	Volume molase segar	Ulangan			Total	Rerata	Std.Dev
		I	II	III			
0 hari (kontrol)	200	50,40	53,61	50,24	154,24	51,41	1,90
	250	51,44	53,01	50,57	155,02	51,67	1,24
	300	50,20	52,29	50,64	153,14	51,05	1,10
3 hari	200	51,59	52,38	50,83	154,80	51,60	0,78
	250	51,03	52,47	50,95	154,45	51,48	0,86
	300	51,03	51,64	51,17	153,84	51,28	0,32
6 hari	200	51,79	51,75	50,92	154,46	51,49	0,49
	250	52,13	50,88	50,80	153,82	51,27	0,75
	300	51,63	51,04	50,05	152,72	50,91	0,80
9 hari	200	51,72	51,00	51,00	153,72	51,24	0,42
	250	51,29	49,83	50,39	151,52	50,51	0,74
	300	50,72	49,71	49,83	150,26	50,09	0,55
12 hari	200	50,76	51,67	51,69	154,12	51,37	0,53
	250	49,79	50,69	51,19	151,66	50,55	0,71
	300	48,83	50,09	49,47	148,38	49,46	0,63

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	154,24	154,80	154,46	153,72	154,12	771,34
250 mL	155,02	154,45	153,82	151,52	151,66	766,47
300 mL	153,14	153,84	152,72	150,26	148,38	758,34
Total	462,40	463,08	461,00	455,50	454,17	2296,15

FK	117162,61
JK Total	39,26
JK Ulangan	7,51
JK Perlakuan	5,75
JK Galat	26,00

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan	4	7,51	1,88	2,74	2,62	3,86
JK Perlakuan	2	5,75	2,87	4,20	3,25	5,21
JK Galat	38	26,00	0,68			
JK Total	44					

Perlakuan	Kelompok						Total	Rerata	St. Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari				
200 mL	51,41	51,60	51,49	51,24	51,37	257,11	51,42	0,13	
250 mL	51,67	51,48	51,27	50,51	50,55	255,49	51,10	0,54	
300 mL	51,05	51,28	50,91	50,09	49,46	252,78	50,56	0,76	
Total	154,13	154,36	153,67	151,83	151,39	765,38			
Rerata	51,38	51,45	51,22	50,61	50,46				
St.Dev	0,32	0,16	0,29	0,58	0,96				

UJI BNT

T.tabel 5%

1,69

Tabel BNT 5%

1,14

Perlakuan	Rerata	300 mL	250 mL	200 mL	Notasi
		50,56	51,10	51,42	
300 mL	50,56	0,00			a
250 mL	51,10	0,54	0,00		a
200 mL	51,42	0,87	0,32	0,00	a

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	0 hari	3 hari	Notasi
		50,46	50,61	51,22	51,38	51,45	
12 hari	50,46	0,00					a
9 hari	50,61	0,15	0,00				a
6 hari	51,22	0,76	0,61	0,00			a
0 hari	51,38	0,91	0,77	0,16	0,00		a
3 hari	51,45	0,99	0,84	0,23	0,08	0,00	a

Lampiran 17. Data Pengamatan dan Analisis Data Analisa pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan		Ulangan					
Lama fermentasi	Volume molase segar	I	II	III	Total	Rerata	Std.Dev
0 hari (kontrol)	200 ml	4,42	4,41	4,41	13,24	4,41	0,01
	250ml	4,40	4,39	4,39	13,18	4,39	0,01
	300ml	4,39	4,38	4,39	13,16	4,39	0,01
3 hari	200 ml	4,36	4,34	4,37	13,07	4,36	0,02
	250 ml	4,31	4,32	4,36	12,99	4,33	0,03
	300ml	4,18	4,31	4,30	12,79	4,26	0,07
6 hari	200 ml	4,26	4,40	4,40	13,06	4,35	0,08
	250 ml	4,23	4,38	4,38	12,99	4,33	0,09
	300 ml	4,21	4,35	4,23	12,79	4,26	0,08
9 hari	200 ml	4,40	4,38	4,36	13,14	4,38	0,02
	250 ml	4,38	4,30	4,33	13,01	4,34	0,04
	300 ml	4,32	4,27	4,30	12,89	4,30	0,03
12 hari	200 ml	4,30	4,30	4,29	12,89	4,30	0,01
	250 ml	4,27	4,29	4,26	12,82	4,27	0,02
	300 ml	4,22	4,20	4,23	12,65	4,22	0,02

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	13,24	13,07	13,06	13,14	12,89	65,40
250 mL	13,18	12,99	12,99	13,01	12,82	64,99
300 mL	13,16	12,79	12,79	12,89	12,65	64,28
Total	39,58	38,85	38,84	39,04	38,36	194,67

FK	842,14
JK Total	0,19
JK Ulangan	0,09
JK Perlakuan	0,04
JK Galat	0,06

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan	4	0,09	0,02	12,71	2,62	3,86
JK Perlakuan	2	0,04	0,02	12,66	3,25	5,21
JK Galat	38	0,06	0,00			
JK Total	44					

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	St.Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	4,41	4,36	4,35	4,38	4,30	21,80	4,36	0,04
250 mL	4,39	4,33	4,33	4,34	4,27	21,66	4,33	0,04
300 mL	4,39	4,26	4,26	4,30	4,22	21,43	4,29	0,06
Total	13,19	12,95	12,95	13,01	12,79	64,89	12,98	0,15
Rerata	4,40	4,32	4,32	4,34	4,26			
St.Dev	0,01	0,05	0,05	0,04	0,04			

UJI BNT

T.tabel 5%

1,69

Tabel BNT 5%

0,06

Perlakuan	Rerata	200 mL			Notasi
		300 mL	250 mL	200 mL	
		4,29	4,33	4,36	
300 mL	4,29	0,00			a
250 mL	4,33	0,05	0,00		a
200 mL	4,36	0,07	0,03	0,00	b

Kelompok	Rerata	Notasi				
		12 hari	6 hari	3 hari	9 hari	0 hari
		4,26	4,32	4,32	4,34	4,40
12 hari	4,26	0,00				
6 hari	4,32	0,05	0,00			
3 hari	4,32	0,05	0,00	0,00		
9 hari	4,34	0,08	0,02	0,02	0,00	
0 hari	4,40	0,14	0,08	0,08	0,06	0,00

Lampiran 18. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	St.Dev
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	200	55,05	53,64	54,63	163,31	54,44	0,72
	250	54,63	55,14	54,63	164,40	54,80	0,29
	300	55,05	55,00	55,05	165,09	55,03	0,03
3 Hari	200	52,73	53,70	53,27	159,70	53,23	0,49
	250	53,70	54,63	53,64	161,97	53,99	0,56
	300	54,29	54,63	54,21	163,12	54,37	0,23
6 Hari	200	53,33	53,21	53,21	159,76	53,25	0,07
	250	54,13	54,29	53,70	162,12	54,04	0,30
	300	54,21	54,63	54,13	162,96	54,32	0,27
9 Hari	200	52,38	51,92	52,29	156,60	52,20	0,24
	250	52,78	52,38	52,73	157,89	52,63	0,22
	300	53,21	52,73	52,78	158,72	52,91	0,27
12 Hari	200	50,94	50,45	51,38	152,77	50,92	0,46
	250	51,43	51,43	51,43	154,29	51,43	0,00
	300	52,29	51,46	51,85	155,60	51,87	0,42

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	163,31	159,70	159,76	156,60	152,77	792,14
250 mL	164,40	161,97	162,12	157,89	154,29	800,66
300 mL	165,09	163,12	162,96	158,72	155,60	805,49
Total	492,80	484,79	484,84	473,20	462,66	2398,29

FK	127817,63
JK Total	72,24
JK Ulangan	61,86
JK Perlakuan	6,10
JK Galat	4,29

ANOVA						
SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan	4	61,86	15,46	137,05	2,62	3,86
JK Perlakuan	2	6,10	3,05	27,02	3,25	5,21
JK Galat	38	4,29	0,11			
JK Total	44					

Perlakuan	Kelompok						Total	Rerata	St. Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari				
200 mL	54,44	53,23	53,25	52,20	50,92	264,05	52,81	1,32	
250 mL	54,80	53,99	54,04	52,63	51,43	266,89	53,38	1,34	
300 mL	55,03	54,37	54,32	52,91	51,87	268,50	53,70	1,28	
Total	164,27	161,60	161,61	157,73	154,22	799,43	159,89		
Rerata	54,76	53,87	53,87	52,58	51,41				
St.Dev	0,30	0,58	0,55	0,36	0,47				

UJI BNT

T.tabel 5%	1,69
Tabel BNT 5%	0,46

Perlakuan	Rerata	200 ml	250 ml	300 ml	Notasi
		52,81	53,38	53,70	
200 ml	52,81	0,00			a
250 ml	53,38	0,57	0,00		b
300 ml	53,70	0,89	0,32	0,00	b

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	3 hari	6 hari	0 hari	Notasi
		51,41	52,58	53,87	53,87	54,76	
12 hari	51,41	0,00					a
9 hari	52,58	1,17	0,00				b
3 hari	53,87	2,46	1,29	0,00			c
6 hari	53,87	2,46	1,29	0,00	0,00		c
0 hari	54,76	3,35	2,18	0,89	0,89	0,00	d



Lampiran 19. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan		Ulangan					
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	I	II	III	Total	Rerata	Std.Dev
0 Hari (Kontrol)	200	0,13	0,18	0,12	0,43	0,14	0,03
	250	0,21	0,21	0,23	0,66	0,22	0,01
	300	0,26	0,24	0,24	0,74	0,25	0,01
3 Hari	200	0,18	0,19	0,26	0,63	0,21	0,04
	250	0,22	0,23	0,28	0,73	0,24	0,03
	300	0,29	0,27	0,28	0,83	0,28	0,01
6 Hari	200	0,23	0,29	0,26	0,77	0,26	0,03
	250	0,26	0,28	0,27	0,81	0,27	0,01
	300	0,29	0,28	0,29	0,86	0,29	0,00
9 Hari	200	0,29	0,30	0,26	0,85	0,28	0,02
	250	0,31	0,32	0,28	0,91	0,30	0,02
	300	0,31	0,32	0,30	0,93	0,31	0,01
12 Hari	200	0,32	0,31	0,26	0,90	0,30	0,03
	250	0,32	0,32	0,29	0,94	0,31	0,02
	300	0,33	0,32	0,34	1,00	0,33	0,01

Perlakuan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Total
200 mL	0,43	0,63	0,77	0,85	0,90	3,59
250 mL	0,66	0,73	0,81	0,91	0,94	4,04
300 mL	0,74	0,83	0,86	0,93	1,00	4,36
Total	1,83	2,19	2,44	2,69	2,83	11,98

FK	3,19
JK Total	0,11
JK Ulangan	0,07
JK Perlakuan	0,02
JK Galat	0,02

ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
JK Ulangan	4	0,07	0,02	30,61	2,62	3,86
JK Perlakuan	2	0,02	0,01	17,21	3,25	5,21
JK Galat	38	0,02	0,00			
JK Total	44					

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata	St.Dev
	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari			
200 mL	0,14	0,21	0,26	0,28	0,30	1,20	0,24	0,06
250 mL	0,22	0,24	0,27	0,30	0,31	1,35	0,27	0,04
300 mL	0,25	0,28	0,29	0,31	0,33	1,45	0,29	0,03
Total	0,61	0,73	0,81	0,90	0,94			
Rerata	0,20	0,24	0,27	0,30	0,31			
St.Dev	0,05	0,03	0,01	0,01	0,02			

UJI BNT

T.tabel 5%	1,69
Tabel BNT 5%	0,03

Perlakuan	Rerata	300 mL			Notasi
		200 mL	250 mL	mL	
		0,24	0,27	0,29	
200 mL	0,24	0,00			a
250 mL	0,27	0,03	0,00		a
300 mL	0,29	0,05	0,02	0,00	b

Kelompok	Rerata	Notasi				
		0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12hari
		0,20	0,24	0,27	0,30	0,31
0 hari	0,20	0,00				
3 hari	0,24	0,04	0,00			b
6 hari	0,27	0,07	0,03	0,00		b
9 hari	0,30	0,10	0,06	0,03	0,00	c
12 hari	0,31	0,11	0,07	0,04	0,02	0,00

Lampiran 20. Foto Proses Analisis Kadar Air



Pengovenan cawan pada suhu 105°C selama 24 jam



Memasukkan cawan kedalam desikator 15 menit



Penimbangan cawan sebagai berat (a)



Memasukkan cawan kedalam desikator 15 menit



Pengovenan suhu 105°C selama 3 jam



Penimbangan sampel sebanyak 15 g (b)



Penimbangan sampel sebagai berat (c)

Lampiran 21. Foto Proses Analisis Kadar Lemak



Mengoven kertas saring dan tali 105°C selama 24 jam



Memasukkan kertas saring dan tali kedalam desikator 15 menit



Penimbangan berat kertas saring dan tali



Membungkus sampel dengan kertas saring dan mengikatnya dengan tali



Penimbangan sampel halus sebagai berat awal



Penghalusan sampel dari kadar air



Memasukkan sampel kedalam goldfish



Pengovenan selama 15 menit



Memasukkan sampel kedalam desikator 15 menit



Penimbangan sampel sebagai berat akhir

Lampiran 22. Foto Proses Analisa Kadar Protein



Penimbangan sampel sebanyak 0,5 gram



Penghalusan tablet kjedhal



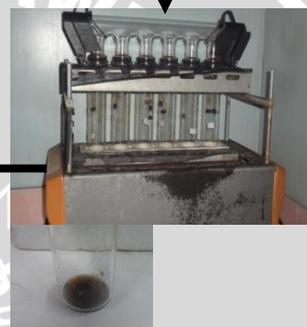
Penimbangan tablet kjedhal halus sebanyak 2 gram



Penambahan H_3BO_3 dengan indikator *metile orange*



Hasil destruksi sampel berwarna kehijauan



Memasukkan sampel, tablet kjedhal dan H_2SO_4 kedalam alat destruksi dan pendestruksian selama 2 jam



Proses Destilasi



Sampel dan molase yang telah homogen di masukkan kedalam botol plastik

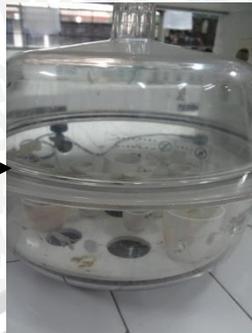


Hasil titrasi berubah warna merah muda

Lampiran 23. Foto proses analisis kadar abu



Pengovenan cawan porselin 105^o C selama 24 jam



Memasukkan cawan kedalam desikator 15 menit



Penimbangan berat cawan porselin kosong



Melakukan pengaranga hingga membara dan tidak berasap



Penimbangan sampel sebanyak 2 g



Penghalusan dari kadar lemak sampel



Memasukkan kedalam pengabuan suhu 600^o C selama 3 jam



Memasukkan kedalam desikator 15 menit



Penimbangan tanur sebagai berat akhir



Lampiran 24. Foto Proses Analisis pH



Pengukuran aquades sebanyak 10 mL



Pemasukkan aquades kedalam beaker glass



Ditimbang sampel sebanyak 1 g



pengukuran pH sampel



Penghomogenan



Sampel dimasukkan kedalam beaker glass berisi aquades



Pembilasan elektroda dengan aquades



Biarkan pH meter stabil

Lampiran 25. Foto Proses Analisis Kapasitas Emulsi



Penimbangan sampel 1,00 g



Pengambilan minyak jagung 5 mL dimasukkan kedalam cuvet



Pengambilan aquades 5 mL dimasukkan kedalam cuvet



Sentrifus 5000 rpm selama 7,5 menit



Pemasukkan sampel kedalam sentrifus



Sampel sebelum disentrifus



Hasil emulsi setelah disentrifus

Lampiran 26. Foto Proses Analisis Daya Buih



Penimbangan sampel 1 g



Pemasukan sampel kedalam cuvet



Hasil kapasitas buih yang terbentuk



Penambahan 10 mL aquades

Lampiran 27. Foto Pembuatan kultur Khamir Laut



Perebusan air laut 1 L sampai mendidih



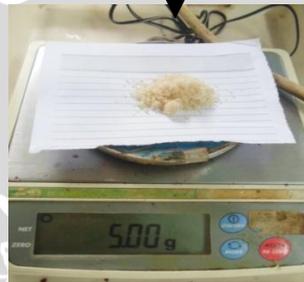
Penimbangan 2 g pupuk daun



Memasukan air laut ke dalam botol



pendinginan



Penimbangan 5 g gula



Pengambilan Stok Khamir Laut sebanyak 2 mL



Media Kultur Khamir Laut



Penambahan Starter Khamir Laut pada Media Kultur



setelah aerasi selama 3 hari



Pemberian aerasi selama 3 hari

Lampiran 28. Foto Pengamatan Kepadatan Khamir Laut di Mikroskop



Kultur Khamir Laut



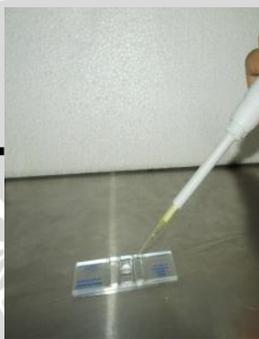
Pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-4}



Penyemprotan Mikopipet, Kaca Hemosito dan *coverglass* dengan alkohol 70 %



Kepadatan sel khamir laut diamati di mikroskop



Meneteskan sampel ke kaca hemosito dan ditutup *cover glass*



Pengambilan khamir laut 0,05 mL pada pengenceran 10^{-4} menggunakan mikropipet

Lampiran 29. Foto Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng gondok



Pencucian dan pemotongan eceng gondok



Penambahan aquades ke dalam eceng gondok



Perebusan Eceng gondok dengan suhu 55°C selama 15 menit



Diukur molase sebanyak 200 mL, 250 mL, dan 300 mL



Penimbangan eceng gondok rebus sebanyak 100 g



Penirisan Eceng gondok rebus



Penuangan molase pada blander dan sampel yang telah ditimbang 100 g



Sampel dan molase yang telah homogen di masukkan kedalam botol plastik



Dilakukan panen Hidrolisat pada hari ke 0, 3,6 ,9 dan 12



Aerasi selama 12 hari



Penambahan khamir 5 mL



Pemerasan hidrolisat dengan kain blacu



Hidrolisat diletakkan pada cawan petri sebelum divacum



Pemvacuman hidrolisat selama 15 jam suhu 55° C



Pasta hidrolisat protein eceng gondok

Lampiran 30. Data hasil analisis total asam amino hidrolisat protein Eceng Gondok



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

SERTIFIKAT HASIL ANALISA
 (CERTIFICATE OF ANALYSIS)
 No: 049/LSIH-UB/3-COA/V/2015

Nama Pemilik : Dilla Passrelela **Tgl. Diterima** : 18 Mei 2015
(Name) Date Received

Alamat : FPIK UB **Tgl. Penerbitan Sertifikat** : 10 Juni 2015
(Address) Date of Certificate Issued

Telp./ HP. : 0857 4696 8555
(Phone/HP.)

Jenis Uji : Asam amino
(Type of Analysis)

Hasil :
(Result)

Jenis sampel <small>(Sample Name)</small>	No. Rujukan <small>(Reference Number)</small>	Jenis Uji <small>(Analysis)</small>	Hasil Analisa <small>(Analysis Result)</small>	Metode Analisis <small>(Analysis Method)</small>
Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dan Molase Segar	281/S-UJ/LSIH-UB/V/2015	Asam amino	Terlampir	HPLC



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

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

DP/5.10.8.02/LSIH Halaman 1 dari 1





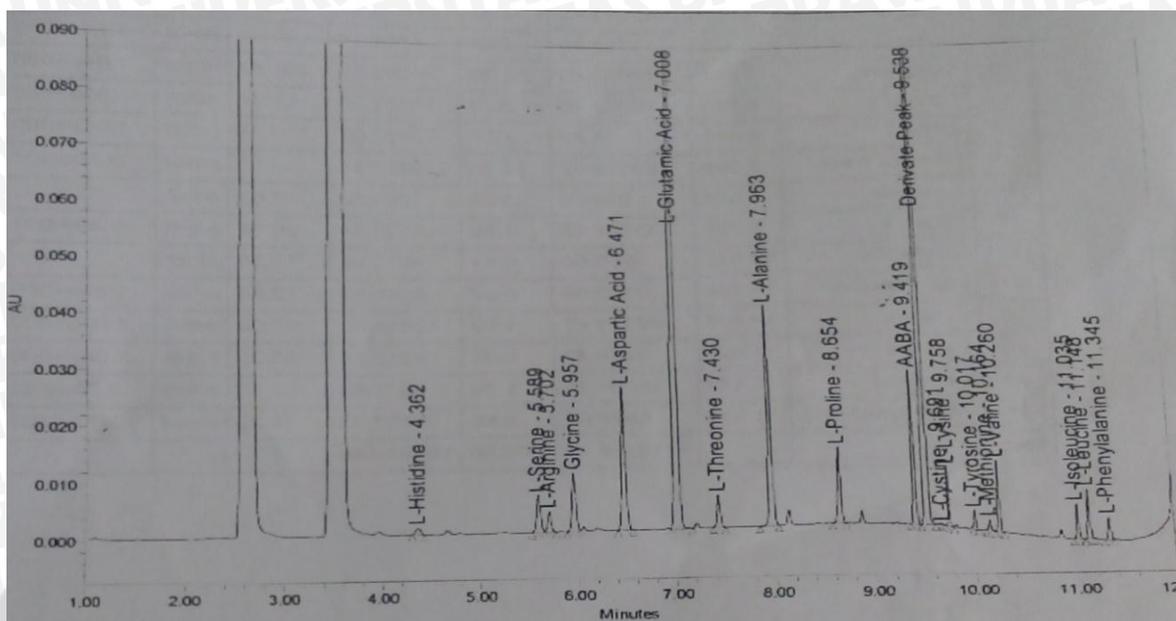
Lampiran No:049/LSIH-UB/3-LU/V/2015

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

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Valin	%	0.17
	Threonin	%	0.15
	Lisin (Lysine HCl)	%	0.13
	Serin	%	0.17
	Isoleusin	%	0.12
	Alanin	%	0.72
	Histidin	%	0.06
	Phenilalanin	%	0.11
	Glutamat	%	5.22
	Tirosin	%	0.08
	Prolin	%	0.33
	Arginin	%	0.14
	Glisin	%	0.20
	Leusin	%	0.17
	Aspartat	%	0.80
	Metionin	%	0.05
	Sistin	%	Not detected
Total	%	8.60	





	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units	USP Tailing
1	AMQ	2.648						
2	NH3	3.578						
3	L-Histidine	4.362	3845.08	0.37	1184.24	7.48	pmol	9.93e-001
4	L-Serine	5.589	18145.80	1.74	6570.71	69.02	pmol	1.09e+000
5	L-Arginine	5.702	8712.99	0.84	3642.64	16.80	pmol	9.59e-001
6	Glycine	5.957	28129.00	2.70	10394.65	108.42	pmol	1.09e+000
7	L-Aspartic Acid	6.471	64666.48	6.22	25787.09	128.43	pmol	1.13e+000
8	L-Glutamic Acid	7.008	350613.49	33.71	152629.05	910.12	pmol	1.12e+000
9	L-Threonine	7.430	12766.99	1.23	5774.14	48.61	pmol	1.04e+000
10	L-Alanine	7.963	86639.46	8.33	39932.10	307.43	pmol	1.04e+000
11	L-Proline	8.654	28353.46	2.73	13391.95	67.37	pmol	1.02e+000
12	AABA	9.419	47564.28	4.57	27673.67	116.18	pmol	1.01e+000
13	Dervate Peak	9.538	325519.69	31.29	220756.11		pmol	8.79e-001
14	L-Cystine	9.691	358.73	0.03	261.86	0.83	pmol	
15	L-Lysine	9.758	11347.68	1.09	10560.54	28.34	pmol	9.89e-001
16	L-Tyrosine	10.017	4579.60	0.44	3515.05	17.35	pmol	
17	L-Methionine	10.164	3302.66	0.32	2010.92	12.56	pmol	1.38e+000
18	L-Valine	10.260	16154.27	1.55	12658.37	61.00	pmol	1.02e+000
19	L-Isoleucine	11.035	9308.40	0.89	6212.25	35.35	pmol	1.04e+000
20	L-Leucine	11.148	13364.25	1.28	8871.60	52.52	pmol	9.70e-001
21	L-Phenylalanine	11.345	6825.83	0.66	4087.75	13.22	pmol	9.77e-001
	Sum		1040198.14	100.00	555914.69			