

**PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG
BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS
HIDROLISAT PROTEIN KEPALA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)**

SKRIPSI

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

Oleh:

ACHMAD FATHONY

NIM. 105080301111043



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

**PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG
BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS
HIDROLISAT PROTEIN KEPALA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)**

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

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

**Oleh:
ACHMAD FATHONY
NIM. 105080301111043**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

SKRIPSI

PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG
BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS
HIDROLISAT PROTEIN KEPALA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)

Oleh:

ACHMAD FATHONY
NIM. 105080301111043

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 24 Juli 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No, : _____
Tanggal : _____

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Kartini Zaelani, MS)
NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal : _____

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Yahya, MP)
NIP. 19630706 199003 1 003

Tanggal : _____

Menyetujui
Desen Pembimbing I

(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D)
NIP. 19640919 198903 1 002

Tanggal : _____

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. M. Firdaus, MS)
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : _____

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wilujeng E., 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 2014

Mahasiswa

Achmad Fathony

NIM. 105080301111043



UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. PT. Graha Makmur Cipta Pratama, Buduran-Sidoarjo yang telah memberikan bantuan bahan baku penelitian berupa kepala udang vaname
2. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D selaku dosen pembimbing I, yang telah banyak memberikan bantuan bahan (molase & khamir laut) dan dana penelitian 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 Dr. Ir. Yahya, MP 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 Agar-Agar I, yang setia menemani dalam suka maupun duka mulai dari awal penelitian hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
7. Teman-teman THP 2010 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 2014

Penulis

RINGKASAN

ACHMAD FATHONY. Sripsi tentang Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) (dibawah bimbingan **Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D** dan **Dr. Ir. M. Firdaus, MP**).

Udang merupakan salah satu andalan ekspor yang menghasilkan devisa negara cukup tinggi. Begitu juga dengan produksi olahan udang vaname di Indonesia semakin meningkat. Hal tersebut akan meningkatkan limbah hasil olahan udang vaname tersebut. Kepala udang merupakan limbah dengan berat paling tinggi dan masih mengandung beberapa komponen protein yang cukup tinggi. Sehingga dapat berpotensi sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein. Hidrolisat protein merupakan cairan atau pasta yang dibuat dengan cara fermentasi dari limbah hasil perikanan dan menggunakan enzim proteolitik. Enzim proteolitik dapat diperoleh dari khamir laut yang sebarannya cukup melimpah. Khamir laut memerlukan sumber karbon untuk nutrisi kebutuhan hidupnya. Sumber karbon dapat diperoleh dengan adanya penambahan molase. Molase dengan perlakuan perebusan dapat meningkatkan nutrisi bagi pertumbuhan khamir laut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan lama fermentasi dan volume molase rebus yang optimal terhadap mutu hidrolisat protein kepala udang vaname.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimenten. Penelitian ini terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan penentuan fase logaritmik khamir laut, penentuan volume molase dan lama fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat protein. Penelitian utama dilakukan dengan pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan *starter* khamir laut yang dianalisis kimia (analisis proksimat, total asam amino, kadar kalsium, pH, emulsi, dan daya buih) terhadap kualitas hidrolisat protein kepala udang vaname. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor yaitu volume molase rebus yang terdiri dari 100mL, 200mL 300mL dan lama fermentasi pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12 serta dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Hasil penelitian diperoleh hidrolisat protein kepala udang vaname terbaik dengan lama fermentasi 9 hari dan volume molase 300 mL. Komposisi kimia yang terkandung dari hidrolisat protein kepala udang vaname tersebut antara lain 65,06% kadar protein, 16,04% kadar air, 2,59% kadar lemak, 12,94% kadar abu, 3,37% kadar karbohidrat, 0,00549% kadar kalsium, 44,09% emulsi, 9,99% daya buih dan pH 4,47.

Hasil analisis total asam amino hidrolisat protein kepala udang vaname terbaik diperoleh 16 macam asam amino. Asam amino yang terkandung ada dua jenis yaitu esensial dan non esensial. Asam amino esensial meliputi lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonine, methionine, valin, dan phenilalanin. Sedangkan asam amino non esensial antara lain glutamat, sistin, aspartate, alanine, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Kandungan asam amino tertinggi pada produk hidrolisat protein kepala udang vaname yaitu asam amino glutamat.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-NYA penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan beberapa uji terkait dengan penentuan kualitas dari hidrolisat protein kepala udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) 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 2014

Penulis

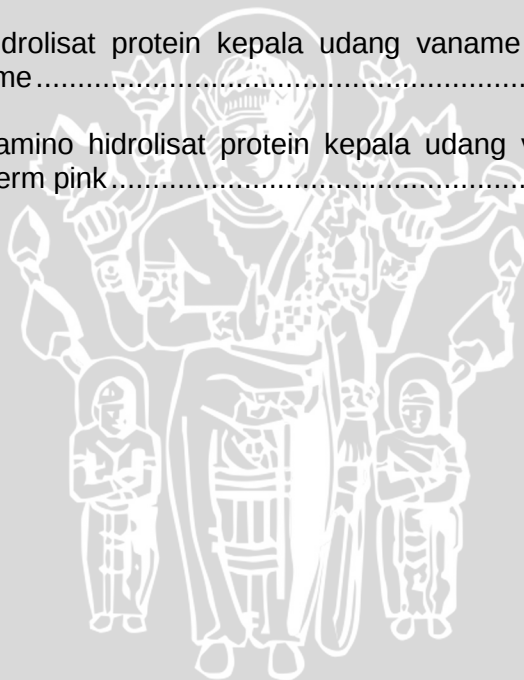
DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Hipotesis	6
1.5 Kegunaan	6
1.6 Tempat dan Waktu	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Udang Vaname <i>Litopenaeus vannamei</i>	7
2.1.1 Karakteristik Udang Vaname	7
2.1.2 Kepala Udang Vaname	8
2.1.3 Komposisi Kimia Kepala Udang Vaname	9
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	13
2.3 Molase	14
2.3.1 Definisi Molase	14
2.3.2 Komposisi Kimia Molase	15
2.3.3 Pengaruh Perebusan terhadap Molase	16
2.4 Fermentasi	17
2.4.1 Definisi dan Manfaat Fermentasi	17
2.4.2 Teknologi Fermentasi	18
2.4.3 Fermentasi dengan Starter Khamir Laut	18
2.5 Hidrolisat Protein	20
2.5.1 Definisi dan Manfaat Hidrolisat Protein	20
2.5.2 Teknologi Hidrolisat Protein	21
2.5.3 Hidrolisat Protein dengan Biokatalisator Khamir Laut	23

3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian.....	24
3.1.1 Bahan Penelitian	24
3.1.2 Alat Penelitian	24
3.2 Metode Penelitian.....	25
3.3 Perlakuan dan Rancangan Percobaan	26
3.4 Skema Kerja Penelitian	29
3.4.1 Skema Kerja Kultur Khamir Laut	29
3.4.2 Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname	30
3.5 Prosedur Penelitian	31
3.5.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut.....	31
3.5.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname	34
3.5.3 Prosedur Analisis Proksimat.....	36
3.5.4 Prosedur Analisis Derajat Keasaman (pH)	40
3.5.5 Prosedur Analisis Emulsi.....	41
3.5.6 Prosedur Analisis Daya Buih	41
3.5.7 Prosedur Analisis Kadar Kalsium	42
3.5.8 Prosedur Analisis Total Asam Amino	43
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penelitian Pendahuluan	47
4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik.....	47
4.1.2 Penentuan Volume Molase Rebus	50
4.1.3 Penentuan Lama Waktu Fermentasi	53
4.2 Penelitian Utama.....	56
4.2.1 Komposisi Kimia Kepala Udang Vaname	56
4.2.2 Rendemen Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname	57
4.2.3 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Kepala Udang	59
4.2.4 Analisis Derajat Keasaman (pH).....	70
4.2.5 Analisis Emulsi	72
4.2.6 Analisis Daya Buih	74
4.2.7 Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname Terbaik.....	76
4.2.8 Analisis Total asam Amino	79
5. KESIMPULAN DAN SARAN	83
5.1 Kesimpulan	83
5.2 Saran	83
DAFTAR PUSTAKA.....	84
LAMPIRAN	92

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi gizi kepala udang vaname	9
2. Kandungan nutrisi, asam lemak, asam amino esensial, dan mineral kultur khamir laut.....	12
3. Komposisi kimia larutan tetes tebu	15
4. Komposisi kimia hidrolisat protein ikan	22
5. Rancangan data pengamatan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda ..	27
6. Komposisi kimia kepala udang vaname	57
7. Komposisi kimia hidrolisat protein kepala udang vaname terbaik dan kepala udang vaname	76
8. Kandungan asam amino hidrolisat protein kepala udang vaname dan kepala udang northern pink.....	80



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Reaksi hidrolisis protein	21
2. Skema kerja kultur khamir laut.....	29
3. Skema kerja pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname.....	30
4. Pengenceran kultur khamir laut hingga pengenceran 10^{-4}	32
5. Pertumbuhan sel khamir laut dengan pengamatan setiap 12 jam sekali selama 4 hari	47
6. Mikrograf kepadatan khamir laut dalam berbagai lama kultur dengan perbesaran 1000	49
7. Rendemen hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda	54
8. Rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda	58
9. Kadar air kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	60
10. Kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	62
11. Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	64
12. Kadar abu kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	67
13. Kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	69
14. pH kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda	71
15. Emulsi kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	72

16. Daya buih kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda..... 74



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan komposisi kultur khamir laut	92
2. Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir laut.....	93
3. Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran.....	94
4. Perhitungan kepadatan sel khamir laut	95
5. Perhitungan rendemen hidrolisat protein kepala udang dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	98
6. Data pengamatan dan analisis data rendemen kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	99
7. Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	102
8. Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	105
9. Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	108
10. Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	111
11. Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda	114
12. Data pengamatan dan analisis data pH kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	117
13. Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	120
14. Data pengamatan dan analisis data daya buih kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	123

15. Perbandingan data volume cairan dan rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	126
16. Data hasil analisis kadar kalsium	127
17. Data hasil analisis total asam amino hidrolisat protein kepala udang vaname.....	128
18. Foto pengamatan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase yang berbeda.....	130
19. Foto pembuatan kultur khamir laut.....	132
20. Foto proses kepadatan sel khamir laut menggunakan hemositometer ...	133
21. Foto proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname.....	134
22. Foto proses analisis kadar air	135
23. Foto proses analisis kadar lemak.....	136
24. Foto proses analisis kadar abu	137
25. Foto proses analisis kadar protein	138
26. Foto proses analisis pH	139
27. Foto proses analisis emulsi.....	140
28. Foto proses analisis daya buih.....	141

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang sebagai salah satu komoditas perikanan di Indonesia yang harus ditingkatkan produksinya, karena sebagai andalan ekspor hasil perikanan yang menghasilkan devisa negara cukup tinggi. Ekspor udang di Indonesia hingga tahun 2004 mencapai 139.450 ton (Ditjen Perikanan Budidaya 2005). Kiat Indonesia dalam memenuhi kebutuhan ekspor udang yaitu dengan cara pengkapan dan budidaya. Penangkapan udang di laut mencapai 74.000 ton/tahun dan lahan budidaya udang mencapai 866.500 hektar (Lestari, 2009).

Salah satu jenis udang yang dibudidayakan di Indonesia yaitu udang vaname (*L. vannamei*). Udang vaname memberikan dampak yang baik bagi perkembangan perekonomian negara. Udang ini merupakan jenis udang yang mudah untuk dibudidayakan (Lestari, 2009). Udang vaname lebih responsive terhadap pakan atau mempunyai nafsu makan yang tinggi, lebih tahan terhadap serangan penyakit serta memiliki pemasaran internasional yang baik (Adiwidjaya *et al.*, 2008). Selain dibudidayakan untuk menunjang sarana eksport, udang vaname diproduksi menjadi produk olahan guna meningkatkan nilai jual.

Produksi olahan udang vaname di Indonesia semakin meningkat yaitu sebesar 7,4 % atau sebesar 785.025 ton per tahun. Hal tersebut berakibat meningkatnya pula limbah udang vaname yang dihasilkan oleh industri pengolahan udang (Darmawan *et al.*, 2007). Limbah udang yang dihasilkan berkisar 30 - 40% dari berat total udang atau sekitar 33.000 – 51.000 ton basah atau 8.200 – 12.700 ton kering per tahun (Zulkarnain, 2000).

Limbah dari hasil pengolahan udang dapat berupa kepala, ekor, dan kulit (Haryani *et al.*, 2007). Kepala udang (*cephalothorax*) merupakan bagian limbah yang mempunyai berat paling tinggi bila dibandingkan dengan ekor, kaki ataupun kulit udang. Agus dan Harun (2001) menambahkan bahwa kepala udang selama ini hanya dimanfaatkan sebagai produksi bernilai ekonomis rendah. Bahkan terkadang banyak kepala udang yang terbuang percuma, padahal pada limbah tersebut masih mengandung sejumlah protein yang cukup tinggi. Kepala udang (*cephalothorax*) mengandung protein yaitu 14,65% (Muzaifa *et al.*, 2011), sehingga dapat berpotensi sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan produk yang berupa cairan dibuat dari ikan rucah atau limbah hasil perikanan dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein (Haslina, 2004). Bahan baku yang dapat digunakan dalam pembuatan Hidrolisat Protein antara lain kepala udang, ikan rucah (Koesoemawardani *et al.*, 2011), kerang hijau (Amalia, 2007), kerang mas ngur (Purbasari, 2008), ikan mujair (Widyasari, 2000), jeroan ikan tuna (Salwanee *et al.*, 2013), ikan ekor kuning (Bernadeta *et al.*, 2012), ikan selar kuning (Hidayat, 2005), lele dumbo (Widadi, 2011). Hidrolisat protein ikan juga merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa (Widadi, 2011). Salah satu cara untuk mengoptimalkan kerja enzim yaitu dengan menggunakan fermentasi.

Fermentasi dengan jangka waktu yang tepat dapat menghasilkan hidrolisat protein yang optimal karena komponen kompleks dipecah menjadi bentuk yang lebih sederhana. Berdasarkan hasil penelitian Bueno-Solano *et al.*, (2008) dijelaskan bahwa hidrolisat kepala udang hasil fermentasi asam laktat

selama 36 jam dengan suhu 30°C menghasilkan protein $46,73 \pm 1,29$ % (bubuk); $28,02 \pm 1,32$ % (pasta); dan $8,43 \pm 0,22$ % (cairan). Sedangkan menurut penelitian Irma *et al.*, (1997) dijelaskan bahwa hidrolisat kepala udang windu dengan waktu hidrolisis 8, 9 dan 10 hari mempunyai kadar protein antara lain 21,356%, 21,384% dan 21,403%.

Kebanyakan dari hasil penelitian dalam proses pembuatan hidrolisat protein hasil perikanan hanya menggunakan penambahan enzim papain. Bernadeta *et al.*, (2012) menyampaikan bahwa enzim papain merupakan enzim protease yang ada pada getah pepaya. Enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis protein pada substrat seperti limbah ikan ekor kuning. Widadi (2011) menjelaskan bahwa pada proses pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim papain dan waktu fermentasi selama 6 jam yang menghasilkan hidrolisat protein 35,37%. Oleh sebab itu perlu adanya inovasi atau modifikasi terkait cara atau metode dalam pembuatan hidrolisat protein hasil perikanan.

Dalam memodifikasi pembuatan hidrolisat protein yaitu dengan cara fermentasi dengan starter khamir laut. Karena diketahui bahwa potensi khamir laut cukup melimpah. Zhenming *et al.*, (2006) menjelaskan bahwa khamir laut merupakan penghasil *single cell protein* (SCP) tertinggi dan juga penghasil substansi bioaktif. Sukoso (2012) menambahkan bahwa khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase, sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein.

Khamir laut memerlukan nutrisi untuk kelangsungan hidupnya. Sejauh ini, nutrisi yang dibutuhkan khamir laut dalam media pertumbuhannya yaitu dengan adanya penambahan gula sederhana seperti glukosa maupun sukrosa sebagai sumber karbon. Biasanya sumber karbon yang digunakan sebagai

media pertumbuhannya yaitu diperoleh dari penambahan gula pasir (Ahmad, 2005). Belum ada penelitian yang menggunakan alternatif lain sebagai pengganti gula pasir yaitu dengan penambahan molase pada media pertumbuhan khamir laut. Sulistyo *et al.*, (2007) menyampaikan molase banyak mengandung gula yakni 48% - 56% gula yang dapat difermentasi, yang terdiri dari 70% sukrosa dan 30% gula invers.

Penggunaan molase dengan konsentrasi yang tepat dapat mengoptimalkan pertumbuhan khamir laut saat fermentasi berlangsung. Novianti (2007) melaporkan bahwa penambahan molase 1% yang ditambahkan dalam pembuatan biomassa isolat khamir R1 dan R2 merupakan perlakuan terbaik yang dapat meningkatkan bobot biomassa isolate khamir R1 dan R2.

Kebanyakan dari hasil penelitian menunjukan bahwa molase yang digunakan yaitu menggunakan molase segar. Sari (2014) menyampaikan hasil analisis komposisi kimia molase segar antara lain 23,23% kadar protein, 0,08% kadar lemak, 66,20% kadar air, 4,13% kadar abu, dan 6,36% kadar karbohidrat. Belum ada penelitian yang menggunakan perlakuan molase rebus. Apabila molase dilakukan perebusan maka akan membentuk warna hitam kecoklatan, menghilangkan atau membunuh mikroorganisme lain dalam suatu substansi yang di rebus, dan meningkatkan nutrient bagi pertumbuhan khamir laut (Buckle, 1987). Sari (2014) menambahkan bahwa molase rebus dengan konsentrasi 45% dapat meningkatkan sel khamir laut. disamping itu, hasil analisis komposisi kimia molase rebus antara lain 24,04% kadar protein, 0,05% kadar lemak, 64,63% kadar air, 4,95% kadar abu, dan 5,73% kadar karbohidrat.

Selama ini belum ada penelitian yang menunjukkan pembuatan hidrolisat protein dari kepala udang vaname *L. vannamei* menggunakan starter khamir laut dengan penambahan sumber karbon berupa molase rebus. Oleh sebab itu dalam penelitian ini akan dilakukan kajian mengenai pemanfaatan limbah kepala udang vaname *L. vannamei* menjadi hidrolisat protein dan pengaruh fermentasi dan molase rebus dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname *L. vannamei*.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Adakah pengaruh lama fermentasi dan penambahan molase rebus dengan volume berbeda terhadap kandungan gizi hidrolisat protein kepala udang vaname (*L. vannamei*)?
2. Berapa lama fermentasi dan volume molase rebus yang optimal dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*L. vannamei*)?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh dan mendapatkan lama fermentasi dan volume molase rebus yang optimal terhadap mutu hidrolisat protein kepala udang vaname (*L. vannamei*)

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diambil dari penelitian ini yaitu diduga lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda berpengaruh terhadap mutu hidrolisat protein kepala udang vaname *L. vannamei*

1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap mutu hidrolisat protein kepala udang vaname (*L. vannamei*)

1.6 Tempat dan Waktu

Pelaksanaan Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi, Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan; Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya; dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari - Juni 2014

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

2.1.1 Karakteristik Udang Vaname

Udang vaname sering disebut sebagai *white shrimp*. Udang jenis ini berasal dari perairan Amerika dan Hawaii. Udang vaname termasuk crustacean dalam ordo dekapoda dimana di dalamnya juga termasuk udang, lobster dan kepiting. Menurut Saanin (1984), klasifikasi udang vaname adalah sebagai berikut:

Phylum	: Anthropoda
Subphylum	: Crustacea
Class	: Malacostraca
Subclass	: Eumalacostraca
Order	: Decapoda
Suborder	: Dendrobranchiata
Super Family	: Penaeidae
Family	: Penaeidae
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>Litopenaeus vannamei</i>

Menurut Yuniasari (2009), bagian tubuh udang vaname terdiri dari kepala (thorax) dan perut (abdomen). Kepala udang vaname terdiri dari antenula, antenna, mandibular dan sepasang maxillae. Kepala udang vaname juga dilengkapi dengan 5 pasang kaki jalan (periopod), dimana kaki jalan ini terdiri dari 2 pasang maxillae dan 3 pasang maxilliped. Perut udang vaname terdiri dari 6 ruas dan juga terdapat 5 pasang kaki renang (pleopod) serta sepasang uropods yang membentuk kipas bersama-sama telson. Sifat udang vaname aktif pada kondisi gelap (*nokturnal*), dapat hidup pada kisaran salinitas lebar (*euryhaline*), suka memangsa sesama jenis (kanibal), tipe pemakan lambat tapi terus-menerus (*continuous feeder*), serta mencari makan lewat organ sensor (*chemoreceptor*).

Udang vaname mempunyai tubuh berwarna putih transparan sehingga lebih umum disebut dengan *white shrimp*. Udang vaname juga mempunyai ukuran tubuh yang relative kecil. Hal inilah yang membedakan udang vaname dengan udang jenis lainnya (Kanna dan Amri, 2008). Udang vaname ini termasuk omnivora atau pemakan segala. Udang vaname hidup pada perairan dengan salinitas 0,1-60 ppt dan suhu 24-34°C (Kordi dan Tancung, 2005).

2.1.2 Kepala Udang Vaname

Kepala udang merupakan salah satu limbah dari proses pengolahan produk perikanan. Potensi kepala udang ini cukup besar dimana beratnya mencapai 30-40% dari berat udang (Abun, 2009). Kepala udang ini mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai campuran dalam pembuatan pakan ternak dengan kandungan gizi yang cukup tinggi. Kandungan gizi kepala udang antara lain protein kasar 41,9%, kalsium karbonat 15,30% dan kitin 17,0%. Kandungan protein yang tinggi tersebut dapat dimanfaatkan untuk pakan hewan ternak (Ariesta, 2007).

Udang vaname sebagai komoditas udang ekspor di Indonesia semakin meningkat. Komoditi tersebut diekspor dalam bentuk udang beku tanpa kepala, sehingga menghasilkan limbah berupa kepala, kulit dan alat renang. Kepala udang mempunyai presentase sebesar 38%, kulit udang sebesar 7%, sedangkan daging udang mempunyai persentase sebesar 55% (Suharso, 2006). Suptijah *et al.*, (1992) menambahkan bahwa limbah udang dikategorikan menjadi tiga jenis berdasarkan jenis pengolahannya yaitu kepala udang biasanya merupakan hasil samping dari industri pembekuan udang tanpa kepala, kulit udang biasanya merupakan hasil samping dari industri pembekuan udang kelas mutu dua atau industri pengalengan udang, dan campuran keduanya.

2.1.3 Komposisi Kimia Kepala Udang vaname

Besarnya kandungan nilai gizi pada limbah kepala udang vaname tidak beda jauh dengan kandungan gizi udang vaname yang utuh. Komponen *non-protein nitrogenous* (NPN) dapat mencapai setengah dari nilai protein kasar. *Non-protein nitrogenous* (NPN) pada kepala udang terdiri dari 5% asam amino, 5% peptide, 5% nukleotida, 5% betain dan komponen lain yang bersifat volatile (Damuringrum, 2002). Komposisi gizi kepala udang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi gizi kepala udang vaname

Komposisi	Jumlah (%)
Air	81,60
Protein	16,60
Lemak	0,20
Abu	0,50
Karbohidrat	0,10

Sumber: Damuringrum (2002), dimodifikasi oleh Fathony dan Sukoso (2014).

Tabel 1 menunjukkan hasil komposisi gizi kepala udang. Terlihat bahwa kepala udang vaname masih mempunyai kandungan protein yang cukup tinggi. Sejauh ini kepala udang belum termanfaatkan dengan baik, oleh sebab itu perlu pengolahan lebih lanjut untuk memanfaatkan kandungan gizi yang ada pada kepala udang vaname tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ariesta (2007) bahwa kandungan protein kepala udang lebih tinggi bila disbanding dengan kandungan yang lain seperti kalsium karbonat dan kitin. Kepala udang vaname memiliki kandungan protein kasar 41,9%, kalsium karbonat 15,30% dan kitin 17,0%. Mujiica et al., menambahkan kandungan gizi pada kepala udang antara lain; 74,22% kadar air, 11,53% kadar protein, 4,35% kadar lemak, dan 4,28% kadar abu.

2.2 Khamir Laut

2.2.1 Karakteristik Khamir Laut

Khamir adalah mikroorganisme yang bersel tunggal yang berukuran antara 5 dan 20 mikron. Biasanya berukuran 5 sampai 10 kali lebih besar dari bakteri (Buckle, 1987). Sel khamir mempunyai ukuran yang bervariasi yaitu panjang 1-5 mm sampai 20-50 mm dan lebar 1-10 mm. Bentuk khamir bermacam-macam yaitu bulat, oval, silinder, ogival yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung, berbentuk botol, berbentuk apikulat atau lemon, membentuk pseudomiselium (Waluyo, 2005).

Khamir merupakan organisme uniseluler dari golongan jamur. Khamir dapat berbentuk bulat oval seperti jeruk, silindris, segitiga, memanjang seperti miselium sejati atau miselium palsu, oval yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung. Khamir adalah mikro organisme bersel tunggal dengan ukuran antara 5 dan 20 mikro. Biasanya berukuran 5 sampai 10 kali lebih besar dari bakteri (Jannah, 2012).

Indratwari (2010) menyatakan bahwa khamir (yeast) merupakan fungi uniselular yang bereproduksi secara seksual maupun aseksual. Apabila berproduksi dengan seksual yaitu menggunakan spora dan apabila aseksual menggunakan pertunasan, pembelahan atau kombinasi keduanya. Habitat khamir cukup luas dan beragam dan sesuai dengan strainnya. Khamir yang dapat hidup pada salinitas tinggi yaitu dikenal dengan nama khamir laut.

Khamir laut (marine yeast) mampu hidup pada lingkungan yang 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). Suhu optimum pertumbuhannya yaitu berkisar antara 25-30°C, dengan suhu maksimum 35-

47°C. Khamir lebih menyukai hidup pada keadaan asam yaitu pada pH 4-4,5 dan tidak dapat tumbuh pada medium alkali kecuali telah beradaptasi (Fardiaz, 1992). Sukoso (2012) menambahkan bahwa khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase.

2.2.2 Komposisi Kimia Khamir Laut

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).

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%, BETIN (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, Sukoso (2012) menambahkan bahwa kandungan kimia yang terdapat pada khamir laut yaitu mengandung asam lemak dan mineral. Asam lemak kultur khamir laut antara lain oleat, linoleat, linolenat, stearate, laurat, dan palmitat. Sedangkan kandungan mineral khamir laut antara lain; calcium, phosphor, ferrum, cuprum, chlor, mangan, NO_3 , NO_2 , Zinc, dan Magnesium. Kandungan nutrisi, asam lemak, asam amino esensial, dan mineral khamir laut dapat dilihat pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. 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	-
	Thereonin	0,187	-
	Ca	-	2,161
Mineral:	P	-	2,276
	Cl	-	7.452,459
	Mn	-	2.844
	Zn	-	266.241
	Mg	0,09	-

Sumber: Febriani (2001), dimodifikasi oleh Fathony dan Sukoso (2014).

Tabel 2 menunjukkan bahwa kandungan kimia khamir laut yang menonjol yaitu kadar protein. Selain itu, vitamin B kompleks seperti thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin juga dimiliki pada khamir laut (Becker, 1994). Selama pertumbuhannya, khamir laut mempunyai daya cerna yang tinggi dan dapat meningkatkan aktivitas tripsin dalam mencerna protein (Febriani, 2006). Kandungan protease khamir laut dari Cina telah ditemukan dari jenis *Candida lipolytica*, *Yarrowia lipolytica*, *Aurebasidium pullulans*, *Metschnikowia* (Tobe et al., 1976; Ogrydziak, 1993; Li et al., 2007; Ni et al., 2008).

2.2.3 Manfaat Khamir Laut

Khamir laut dapat menghasilkan beberapa komponen seperti inulinase. Enzim ini dapat diterima di kalangan masyarakat karena telah diterapkan dalam produksi bahan bakar etanol dan sirup yang mempunyai kandungan fruktosa tinggi. D-fruktosa yaitu merupakan pemanis yang 70% lebih tinggi dibandingkan sukrosa. Oleh sebab itu kandungan gula yang dihasilkan khamir laut ini cocok untuk substrat dalam formula fermentasi (Bharathi *et al.*, 2011).

Potensi bioteknologi yang dimiliki khamir laut cukup besar dan dapat diaplikasikan dalam kehidupan manusia. Khamir laut memproduksi berbagai enzim antara lain enzim protease, amylase, lipase yang akan membantu pencernaan dalam zat makanan dalam tubuh (Made *et al.*, 1996). Khamir laut 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°C dan pH 2-11. Selama pertumbuhannya, khamir laut juga menghasilkan senyawa seperti nukleotida dan asam amino (Febriani, 2006).

Khamir laut juga menghasilkan berbagai senyawa bioaktif antara lain protein sel tunggal, asam amino, probiotik, vitamin C, glutathione, β -karotenoid, glukosa, amylase, phytase, pembunuh toksin, dan protease (Zheniming *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). Pada 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 digunakan hidrolisat protein udang yang didapatkan aktivitas inhibitor-ACE tertinggi pada ikatan peptide (Ni *et al.*, 2008).

2.3 Molase

2.3.1 Karakteristik Molase

Tetes tebu atau *molasses* dapat didefinisikan sebagai residu sirup, dimana merupakan suatu hasil akhir yang didapat pada pembuatan gula dengan kristalisasi berulang. Tetes tebu ini tidak dapat dikristalkan lagi atau tidak dapat dijadikan bentuk sukrosa lagi akan tetapi masih mengandung kadar gula tinggi 50-60%, asam amino dan mineral. Hal tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku bioethanol. Dalam 1000 Kg tetes tebu terkandung 450 – 520 Kg gula yang bisa menghasilkan 250 L etanol (Sari, 2011). Murni *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa ada 4 jenis molase yang dikenal hingga saat ini antara lain: (1) *Sugarcane molasses* adalah *molasses* yang berasal dari industri pengolahan tebu menjadi gula, (2) *Beet molasses* merupakan limbah dari pengolahan bit menjadi gula bit, (3) *Citrus molasses* yaitu limbah yang dihasilkan dalam pengolahan jeruk, dan (4) *Wood molasses* merupakan *molasses* yang didapat dari industri kertas, *fiber board* dan selulosa mumi.

Molasses juga dapat dikatakan produk sampingan (limbah) industri gula masih mengandung kadar gula 50 %. Molase digunakan secara luas sebagai bahan baku fermentasi dan untuk produksi antibiotik, asam organik, dan khamir untuk pembuatan roti, bumbu masak (MSG) atau diberikan langsung untuk makanan ternak (Nurcahyo, 2011).

Noviati (2007) menjelaskan bahwa molase adalah limbah dari pengolahan tebu yang berbentuk cairan kental berwarna coklat tua kehitaman, berbau manis atau harum khas. Molase termasuk medium pertumbuhan kompleks yang kaya akan sukrosa. Ditambahkan penjelasan Fardiaz (1992) bahwa gula yang umumnya dapat difermentasi oleh khamir adalah glukosa, galaktosa, maltose, surosa, laktosa, trehalosa, melibiosa dan raffinosa.

2.3.2 Komposisi Kimia Molase

Tetes merupakan suatu campuran kompleks dari bahan-bahan organik, anorganik, dan air. Tetes tebu berbentuk seperti sirup kental, berwarna coklat yang tidak bisa dikristalkan lagi dengan cara sederhana. Tetes tebu ini bersifat asam dengan pH 5,5 – 6,5 (Sari, 2011). Tabel 3 berikut merupakan komposisi kimia larutan tetes tebu.

Tabel 3. Komposisi Kimia Larutan Tetes Tebu

Konstituen	Komponen		Normal Range (%)
Air			17 – 25
Karbohidrat	Gum, kanji, pentosan		2 – 5
Gula	Sukrosa		30 – 40
	Glukosa (dextrose)		4 – 9
	Fruktosa (lelevosa)		5 – 12
	Gula reduksi lain (invert)		1 – 4
	Gula reduksi total (invert)		10 – 25
Asam - asam	Asam akonitat, asam sitrat, asam malat, oksalat, glikolat		0,5 – 1,5
Komponen nitrogen	Protein (N x 6,25)		2,5 – 4,5
	True protein		0,5 – 1,5
	Asam amino		0,3 – 0,5
	Tak teridentifikasi		1,5 – 3,0
Komponen non nitrogen			1,5 – 6,0
Abu	Karbonat	%abu	7 – 15
	Basa:		
	K ₂ O	30 – 50	
	CaO	7 – 15	
	MgO	2 – 14	
	Ha ₂ O	0,3 – 9	
	R ₂ O ₃	0,4 – 2,7	
	Asam:		
	SO ₃	7 – 17	
	Cl	12 – 20	
	P ₂ O ₅	0,5 – 2,5	
	SiO ₂ dan insol	1 – 7	
Wax, sterols dan phospatide			0,1 – 1,0
Vitamin			Bervariasi

Sumber: Sari (2011), dimodifikasi oleh Fathony dan Sukoso (2014).

Tabel 3 menunjukkan komposisi kimia larutan tetes tebu atau molase. Sitompul (2011) menyatakan bahwa molase merupakan hasil samping proses pembuatan gula. Molase mengandung sejumlah gula baik sukrosa maupun gula pereduksi. Kadar gula terlalu tinggi maka waktu fermentasi yang dibutuhkan lebih lama dengan sebagian gula tidak terkonversi, sehingga menyebabkan tidak ekonomis. Buckle *et al.*, (1987) menambahkan bahwa gula tebu / *molasses* harus dibeli berdasarkan pengujian. Sembilan kriteria terhadap sampel termasuk warna dasar, gula pereduksi, kekeruhan dalam alcohol, kadar pencemaran nitrogen, kandungan abu, kadar air, pengaruh pemanasan larutan 50%, kondisi bakteriologis

2.3.3 Pengaruh Perebusan terhadap Molase

Perebusan merupakan pemanasan suatu substrat yang berbentuk larutan dalam suatu wadah. Perebusan biasanya dilakukan untuk mendidihkan suatu larutan tersebut dengan tujuan untuk menghomogenkan atau untuk memasak suatu larutan tersebut. Apabila gula dilakukan perebusan maka akan membentuk warna kecoklatan. Selain itu dengan perebusan dapat menghilangkan atau membunuh mikroorganisme lain dalam suatu substansi yang di rebus tersebut.

Bahan makanan mengandung molekul senyawa yang terikat satu sama lain dengan ikatan hidrogen. Proses perebusan atau pemanasan dengan media air dapat mengurangi daya tarik-menarik antar molekul. Sehingga dengan pemanasan dapat memutuskan ikatan hidrogen dan menjadikan molekul lebih sederhana (Winarno, 2004).

Faktor utama yang mempengaruhi mutu sukrosa adalah pemanasan. Penggunaan teknik konsentrasi hampa udara dalam proses penggilingan dan pemurnian mengurangi pembentukan warna gelap oleh proses karamelisasi.

Invert sukrosa menyebabkan berkurangnya hasil dan kadar air yang tinggi pada produk akhir. Selain itu apabila gula tebu atau molasses dipanaskan akan memecah ikatan pada molekul kompleks di pecah menjadi bentuk molekul yang lebih sederhana sehingga memudahkan khamir laut untuk memanfaatkan molase sebagai nutrient untuk pertumbuhan khamir laut (Sukoso, 2012). Faktor-faktor lain yang mempengaruhi mutu gula atau molasses yaitu termasuk efisiensi proses-proses penjernihan sari tebu (dengan kapur dan arang), kerja mikroorganisme pada tanaman, dan penggilingan (Buckle *et al.*, 1987).

2.4 Fermentasi

2.4.1 Definisi dan Manfaat Fermentasi

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

Fermentasi merupakan proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama adalah karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu (Fardiaz, 1992). Proses fermentasi dapat mengakibatkan terjadinya perubahan fisik dan kimia pada bahan pangan tersebut. Perubahan - perubahan ini dapat memperbaiki aspek gizi, daya cerna serta daya simpan produk yang difermentasi. (Buckle *et al.* 1987).

2.4.2 Teknologi Fermentasi

Pada penelitian Tampoebolon (2009) telah diuraikan bahwa teknologi fermentasi dengan pengkayaan substrat menggunakan mineral berfungsi meningkatkan kecepatan pertumbuhan kapang, sehingga akan mempersingkat waktu fermentasi. Ditambahkan penjelasan Candra (2006) bahwa fermentasi terjadi karena 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.

Astuti *et al.*, (2013) menjelaskan bahwa kualitas produk fermentasi bergantung kepada jenis mikroba, dosis dan lama fermentasi, serta media yang digunakan. Selain itu 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..

2.4.3 Fermentasi dengan Starter Khamir Laut

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

Tampoebolon (2009) menjelaskan bahwa 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. Proses fermentasi mempunyai kelebihan antara lain: tidak mempunyai efek samping yang negatif, mudah dilakukan, relatif tidak membutuhkan peralatan khusus dan biaya relatif murah.

Pada fermentasi dapat menghasilkan cairan berupa bioethanol, dimana cairan ini mengandung gula yang digunakan untuk pertumbuhan khamir. Khamir memerlukan medium dan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembang-biakannya. Unsur-unsur dasar yang dibutuhkan yaitu karbon, hidrogen, oksigen, fosfor, zat besi dan magnesium. Unsur karbon tersebut banyak diperoleh dari gula, sumber nitrogen didapatkan dari amonia, asam amino, peptida, pepton nitrat, atau urea tergantung pada jenis khamir. Fosfor merupakan unsur penting dalam kehidupan khamir terutama untuk pembentukan alkohol dari gula (Rahim, 2009).

Khamir banyak digunakan dalam proses industri pangan seperti produk fermentasi karena khamir dianggap cukup aman untuk komposisi manusia. Khamir ini akan menghasilkan enzim protease yang berfungsi untuk menhidrolisis substrat yang akan diolah pada fermentasi. Khamir mempunyai protein cukup tinggi yaitu kira-kira ($N \times 6.25$) sebesar 40 – 48% protein kasar. Disamping itu khamir juga mampu menghasilkan enzim protease yang dapat digunakan dalam mendegradasi protein pada substras saat proses fermentasi berlangsung (Winarno, 2007).

Pada awal proses fermentasi, khamir membutuhkan oksigen sebagai media pertumbuhannya sehingga fermentasi berlangsung secara aerob. Pada kondisi aerob pada fermentasi, maka etanol yang terbentuk lebih sedikit karena terjadi respirasi yang mengakibatkan terjadinya konversi gula menjadi sel, CO_2 , dan Air. Suhu optimum yang digunakan dalam pertumbuhan khamir yaitu 25 –

30°C dan maksimum pada 35 – 47°C. Sedangkan pH optimumnya antara 4 – 5. Perubahan pH mempengaruhi pembentukan hasil samping fermentasi. Nilai pH pertumbuhan berhubungan erat dengan pembentukan asam piruvat. Pada pH tinggi maka fase lag akan lebih singkat dan aktivitas fermentasi akan meningkat pula (Rahim, 2009).

2.5 Hidrolisat Protein

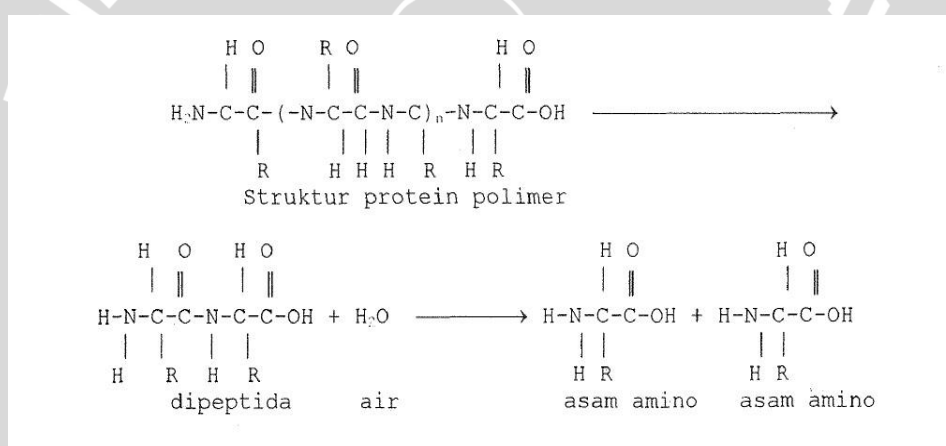
2.5.1 Definisi dan Manfaat Hidrolisat Protein

Secara umum, hidrolisat protein merupakan suatu substansi dari hasil hidrolisis suatu substrat. Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa substrat yang digunakan dalam hidrolisis adalah ikan rucah. Dalam proses hidrolisis dengan menggunakan teknik enzimatis yaitu dengan menggunakan enzim papain komersial. Selain ikan rucah, Mahata (2012) mengatakan bahwa bahan baku yang dapat digunakan dalam proses pembuatan hidrolisat protein yaitu limbah udang.

Hidrolisat protein ikan yaitu suatu produk cairan yang dibuat dari ikan rucah dengan penambahan bahan penghidrolisis berupa asam, basa atau enzim dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein. Hidrolisat protein ikan ini sangat kaya akan asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh (Indratwari, 2010). Penggunaan hidrolisat telah berkembang dengan pesat sesuai perkembangan zaman. Hidrolisat sering kali digunakan dalam penyedap makanan seperti kaldu, keju, biskuit dan lain – lain. Hidrolisat protein dapat memberikan flavor yang lebih baik (Widyasari, 2000).

2.5.2 Teknologi Hidrolisat Protein

Secara garis besar pokok – pokok pembuatan hidrolisat protein ikan itu hampir sama dengan pembuatan tepung ikan yang meliputi langkah – langkah pemasakan, pengepresan, pengeringan dan penggilingan (Afrianto dan Liviawati, 1992). Ditambahkan penjelasan menurut Kholilah (2002) bahwa pemasakan diperlukan untuk mendenaturasi protein dan memecah dinding sel daging ikan sehingga lemak dan air dapat dikeluarkan dari ikan dengan cara pengepresan. Dalam proses hidrolisis protein akan mengalami pemecahan secara bertahap menjadi suatu molekul peptide yang sederhana dan asam amino yang dapat dilihat pada gambar 2 berikut.



Gambar 1. Reaksi hidrolisis protein (Irma *et al.*, 1997).

Gambar 1 menjelaskan bahwa protein yang dipecah oleh enzim membentuk ikatan-ikatan dipeptida dan setiap ikatan dipeptide dibebaskan satu molekul air. Satu molekul protein terdiri dari rantai polipeptida tunggal atau sejumlah rantai polipeptida yang bergabung dengan ikatan-ikatan silang. Lalu ikatan-ikatan peptida terputus dan membebaskan sejumlah komponen asam-asam-amino (Irma *et al.*, 1997).

Pada penelitian Salwanee *et al.*, (2013) dijelaskan bahwa protein-protein yang ada pada limbah ikan tuna akan di hidrolisis menjadi suatu produk yaitu

hidrolisat protein ikan (HPI). Dimana pada proses hidrolisis ini perlu pengaturan suhu, PH dan Derajat Hidrolisis. DH pada hidrolisat protein jeroan ikan tuna meningkat secara signifikan pada $p < 0,05$. Hasil kandungan kimia pada hidrolisat jeroan tuna diperoleh hasil kadar protein $78,17 \pm 2,91$ (%) dan kadar lemak $0,23 \pm 0,15$ (%). Tabel 4 berikut menunjukkan komposisi kimia hidrolisat protein ikan.

Tabel 4. Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Ikan

Komposisi Penyusun	Kadar (%)
Total Padatan	97,0
Total Nitrogen	7,0
Padatan Organik	50,0
Kadar Abu termasuk NaCl	45,0
Amonium Klorida	3,5
Sodium Klorida	35,0
PH (Larutan 3%)	5,2
MSG	19,8

Sumber: Amalia (2007), dimodifikasi oleh Fathony dan Sukoso (2014).

Tabel 4 menjelaskan komposisi kimia yang terkandung dalam hidrolisat protein ikan. Widadi (2011) menyatakan dalam penelitiannya bahwa kandungan gizi hidrolisat protein ikan antara lain; 5% kadar air, 0,3% kadar abu, 84% kadar protein, 11% kadar lemak, dan 97% daya cerna pepsin. Hidayat (2005) menyatakan bahwa proses hidrolisis protein diawali dengan pengecilan ukuran terlebih dahulu. Hasil dari hidrolisis nantinya dapat distabilkan pada pH rendah melalui penambahan asam. Akan tetapi dengan digunakan asam atau basa dalam hidrolisis akan berdampak negative yaitu bisa merusak beberapa gugus asam amino serta dapat menghasilkan senyawa karsinogenik. Oleh karena itu peran dari asam dan basa tersebut dapat digantikan dengan menambahkan enzim spesifik yang dapat menghidrolisis protein dalam substrat. Kondisi yang perlu diperhatikan selama hidrolisi berlangsung adalah suhu, nilai pH, konsentrasi/ perbandingan enzim dengan protein dan lama hidrolisis.

Pada umumnya hidrolisat diproduksi untuk 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.

2.5.3 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 (*Leiognthus sp.*). 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.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku, bahan untuk kultur khamir laut, bahan dalam pembuatan hidrolisat protein, bahan untuk analisis kimia. Bahan baku dalam penelitian ini menggunakan kepala udang vaname (*L. vannamei*) yang di dapatkan dari limbah pabrik pembekuan PT. Graha Makmur Cipta Pratama, Buduran, Sidoarjo. Bahan yang digunakan untuk mengkultur khamir laut yaitu air laut, stok khamir laut, pupuk daun, aquadest dan gula pasir. Selanjutnya bahan yang di butuhkan dalam pembuatan hidrolisat protein antara lain kepala udang vaname, molase dan kultur 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 merkptoetanol. Bahan berikutnya yaitu bahan untuk analisa proksimat antara lain kertas label, silica gel, n-heksan, tablet kjedhal, metil orange, NaOH, Borax, H₂SO₄. Bahan untuk uji pH, *foaming* dan emulsi yaitu *aquadest* dan minyak jagung.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan dalam kultur khamir laut; peralatan dalam pembuatan hidrolisat protein; peralatan dalam pengujian proksimat, emulsi, *foaming*, pH, Total Asam Amino. Peralatan yang digunakan untuk mengkultur khamir laut antara lain kompor gas, botol kaca, sendok plastik, gelas ukur 50 mL, Erlenmeyer 250 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, selang aerator, gunting, panci perebusan, botol spray, Bunsen, crushable tank. Peralatan yang

digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein antara lain timbangan digital, beaker glas, water bath, blender, botol plastik, selang, aerator, pipet volum, *cuvet*, *sentrifuge*.

Peralatan yang digunakan dalam analisis kimia antara lain pengujian proksimat diantaranya oven, botol timbang, *goldfish*, *sampel tube*, gelas piala, *muffle*, penjavit, 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*.

3.2 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 dengan cara menumbuhkan atau mengkultur khamir laut terlebih dahulu. Pada proses ini dilakukan 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. Selanjutnya dilakukan penentuan volume molase terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein. Pada proses ini dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam proses pembuatan hidrolisat protein. Setelah itu dilakukan penelitian utama yaitu penelitian pada pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname *L. vannamei* dengan *starter* khamir laut. Pada pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname *L. vannamei* ini akan dilakukan analisis kimia (analisis proksimat, total asam amino, kadar kalsium, pH, emulsi, dan daya buih) terhadap kualitas hidrolisat protein kepala udang vaname *L. vannamei* tersebut.

3.3 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Menurut Hartanto (2003), variabel adalah semua ciri atau faktor yang dapat menunjukkan variasi. Berdasarkan fungsinya ada 3 macam variabel yaitu variabel bebas, terkontrol dan terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya atau faktor yang menjadi pokok permasalahan yang ingin diteliti. Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan dan dibuat sama antara kelompok yang diteliti. Variabel terikat yaitu variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah volume molase rebus yang berbeda antara lain 100 mL, 200 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 20 mL pada semua perlakuan. Sedangkan untuk variabel terikat adalah parameter yang diamati antara lain komposisi kimia (kandungan kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu dan karbohidrat), total asam protein, kadar kalsium, pH, emulsi dan *foaming* pada hidrolisat protein kepala udang vaname *L.vannamei*.

Berdasarkan variabel bebas atau perlakuan, penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor yaitu volume molase rebus yang terdiri dari 100mL, 200mL 300mL dan lama fermentasi pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12. Sesuai rumus perhitungan dalam menentukan ulangan dalam suatu penelitian, penelitian ini dilakukan dengan 3 kali ulangan. Rumus perhitungan ulangan penelitian dan metode analisa sidik ragam yang mengikuti model sebagai berikut :

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t = Jumlah Perlakuan
r = Jumlah Ulangan

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = Hasil pengamatan untuk faktor A level ke-I faktor B level ke-I, pada ulangan ke-k
 μ = Rataan umum
 α_i = Pengaruh faktor A pada level ke-i
 β_j = Pengaruh faktor B pada level ke-i
 $(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi antara A dan B pada faktor A level ke-I faktor B level ke-j
 ϵ_{ijk} = Galat percobaan untuk faktor A level ke-I, faktor B level ke-j pada ulangan/kelompok ke-k

Apabila hasil analisis keragaman (ANOVA) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata/sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Tabel Duncant ini dilakukan supaya mengetahui perlakuan terbaik. Tabel Desain Rancangan Data Pengamatan dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

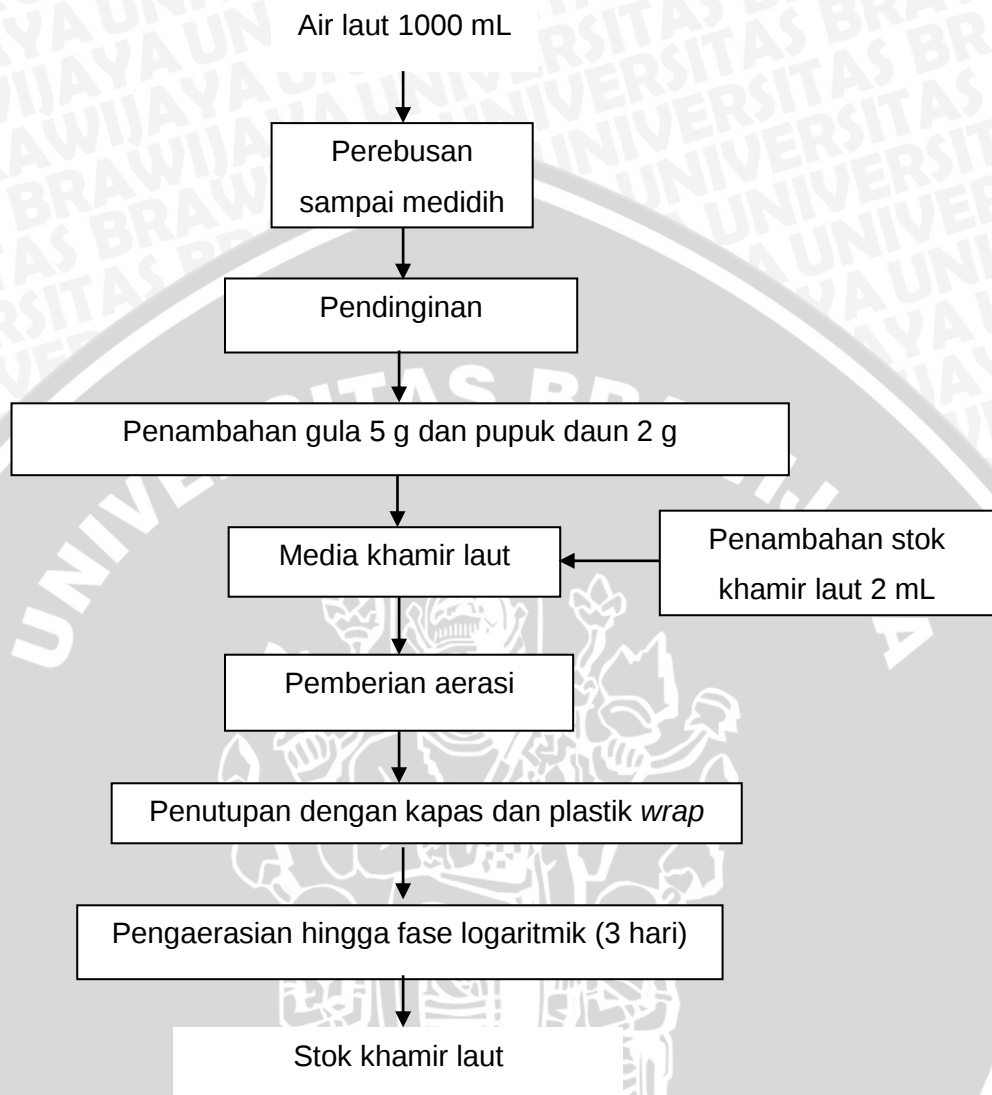
Tabel 5. Rancangan Data Pengamatan Hidrolisat Protein Kepala Udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Lama Fermentasi	Perlakuan volume molase rebus	Ulangan			Total	Rata-rata
		I	II	III		
3 hari	100 mL					
	200 mL					
	300 mL					
6 hari	100 mL					
	200 mL					
	300 mL					
9 hari	100 mL					
	200 mL					
	300 mL					
12 hari	100 mL					
	200 mL					
	300 mL					

Parameter uji yang analisa menggunakan rancangan percobaan adalah semua uji yang dilakukan dalam penelitian ini. Dari hasil penghitungan pada uji – uji yang dilakukan pada penelitian ini, kemudian data-data tersebut akan dianalisa menggunakan model analisa sidik ragam tersebut.

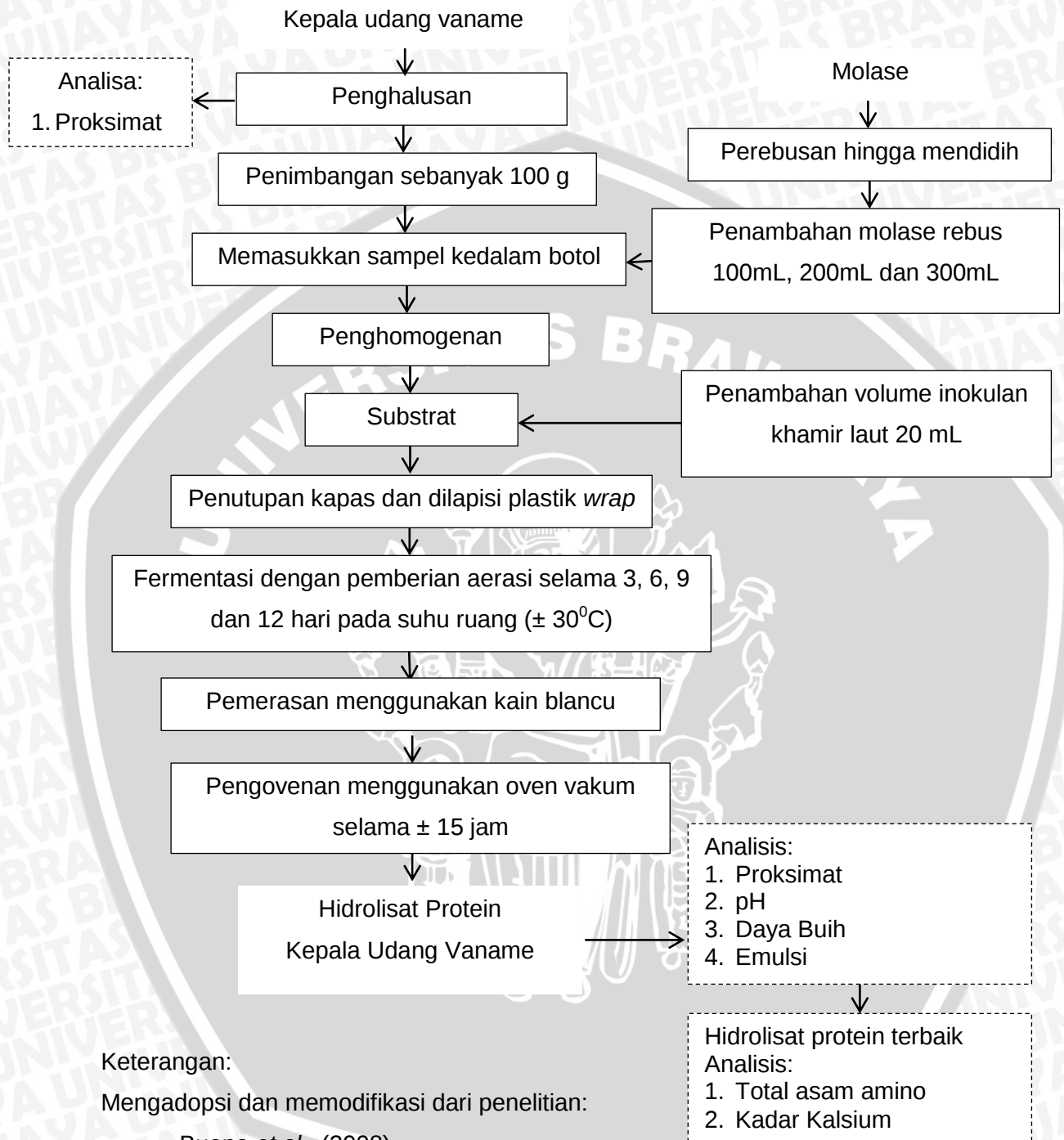
3.4 Skema Kerja Penelitian

3.4.1 Skema Kerja Kultur Khamir Laut



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

3.4.2 Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname



Gambar 3. Skema kerja pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut

Prinsip dari penentuan fase log yaitu dengan cara perhitungan jumlah sel khamir laut menggunakan hemositometer pada mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap 12 jam sekali kultur khamir laut untuk 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. Foto pengamatan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 20.

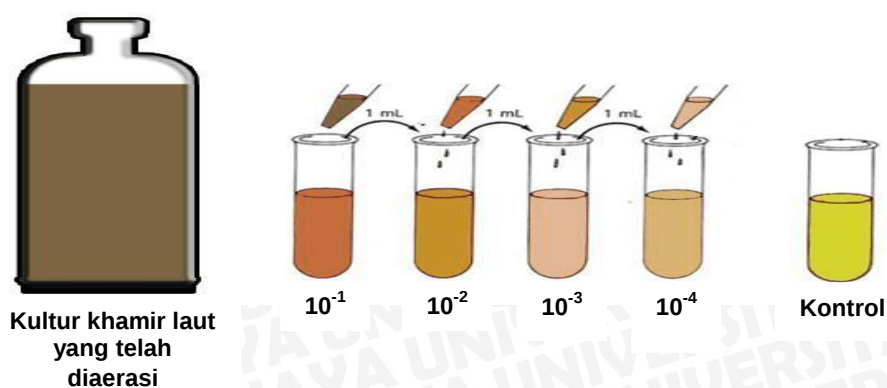
Cara kerja yang pertama yang dilakukan dalam penentuan fase logaritmik yaitu mengkultur khamir laut. Menurut Jannah (2012) prinsip kultur adalah perbanyak khamir laut yang dapat memproduksi protease, pada proses pertumbuhannya menggunakan media air laut dengan memanfaatkan gula sebagai sumber nutrisi, pupuk sebagai sumber nitrogen dan aerasi yang cukup sebagai suplai oksigen dalam pertumbuhannya. Khamir mampu mentransportasikan dan memanfaatkan senyawa nitrogen organik dan anorganik. Selama pertumbuhannya khamir laut menghasilkan senyawa-senyawa seperti nukleotida, asam amino, enzim dan faktor pertumbuhan yang belum diidentifikasi yang mampu menstimulasi pertumbuhan dan enzim. Menurut Bekatorou *et al.*, (2006) dalam perkembangbiakan khamir, suplai udara adalah kebutuhan untuk produksi biomassa yang optimal.

Prosedur dalam mengkultur khamir laut (Lampiran 19) sebagai berikut:

- Bahan berupa air laut, 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 2 jam.

Prosedur pengamatan tingkat kepadatan sel pada kultur khamir laut pada hemositometer yaitu diamati khultur khamir pada jam ke-0 sampai jam ke-96. Langkah pertama yang dilakukan sebelum dilakukan perhitungan hemositometri pada mikroskop yaitu dilakukan pengenceran pada kultur khamir laut tersebut. Pengenceran dilakukan dari 10^{-1} sampai 10^{-4} . Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 3 dan 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 reaksi 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 reaksi tersebut dihomogenkan begitu seterusnya sampai 10^{-4} .
- Dari hasil pengenceran 10^{-4} diuji kepadatan sel khamirnya menggunakan hemositometer pada mikroskop.

Pengamatan kepadatan khamir laut dilakukan setiap 12 jam selama 3 hari dengan menggunakan hemositometer pada mikroskop (Lampiran 17) 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. Perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.5.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname

Prinsip dari pembuatan hidrolisat yaitu melakukan suatu pemecahan substrat dengan bantuan air atau H_2O dan adanya penambahan enzim untuk memecah substrat tersebut menjadi komponen yang lebih sederhana. Foto proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname ini dapat dilihat pada Lampiran 21. Prosedur yang dilakukan dalam penelitian utama ini yaitu langkah pertama dengan mempersiapkan bahan baku udang vaname *L. vannamei*. Dalam penelitian ini untuk bahan baku awal tanpa diberi perlakuan yaitu menggunakan bahan baku kepala udang vaname segar. Kemudian dihaluskan menggunakan *chopper*. Tujuan dihaluskan yaitu supaya bahan baku lebih mudah bercampur dengan komponen bahan-bahan yang lain. Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap bahan baku. Bahan baku ini dilakukan uji makro yaitu dengan cara analisa proksimat. Pada dasarnya komposisi gizi bahan pangan terdiri dari empat komponen utama yaitu air, protein, karbohidrat dan lemak. Jumlah masing-masing komponen tersebut berbeda-beda pada bahan pangan tergantung dari sifat alamiah bahan misalnya, kekerasan, citarasa dan warna (Winarno, 2007).

Langkah selanjutnya yaitu dilakukan penambahan molase rebus dengan berbagai konsentrasi yang berbeda yaitu 100%, 200% dan 300%. Tujuan diberikan perlakuan yang berbeda pada molase rebus yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas molase rebus tersebut dalam proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname *L. vannamei*. Selanjutnya ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 20 mL. Pada tahap ini digunakan inokulan khamir laut dari hasil penentuan fase logaritmik khamir laut karena pada fase tersebut pertumbuhan khamir laut menunjukkan pertumbuhan tertinggi. Disamping itu tujuan digunakan khamir laut yaitu sebagai *starter* dalam proses hidrolisis pada

kepala udang vaname *L. vannamei*. Setelah itu untuk membuat 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 kepala udang vaname *L. vannamei*. Langkah berikutnya yaitu dilakukan analisis terhadap hasil fermentasi ke-3, 6, 9 dan 12 hari. Sebelum dilakukan analisis yaitu diperas menggunakan kain blacu. Tujuan diperas yaitu 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 analisis yang 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 dan analisis kadar kalsium.

3.5.3 Prosedur Analisis Proksimat

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

Metode pengujian kadar air yang digunakan yaitu metode pengeringan atau menggunakan oven. Prinsip analisis kadar air menggunakan metode oven (Lampiran 22) yaitu mengeringkan sampel dalam oven pada suhu 100°C - 105°C sampai diperoleh berat konstan. Metode ini dilakukan dengan cara mengeluarkan air dari bahan dengan bantuan panas.

Prosedur kerja dalam pengujian kadar air sebagai berikut:

- Cawan kosong beserta tutupnya dikeringkan dalam oven selama 15 menit dengan suhu 105°C.
- Cawan kosong beserta tutupnya dimasukkan ke dalam desikator bertujuan untuk menyerap panas dan uap air selama 10 menit.
- Cawan kosong beserta tutupnya ditimbang dengan timbangan digital lalu dicatat sebagai berat A.
- Sampel ditimbang dengan berat 5 g dan dicatat sebagai berat B.
- Sampel dimasukkan ke dalam cawan yang telah dioven sebelumnya.
- Cawan yang berisi sampel dioven suhu 105°C selama 3 jam.
- Cawan yang berisi sampel dipindahkan ke dalam desikator dan ditunggu selama 10 menit.
- Cawan yang berisi sampel ditimbang dan dicatat sebagai berat C.
- Dihitung kadar air sesuai dengan rumus % kadar air sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air (basis kering)} = \frac{b - (c - a)}{(c - a)}$$

dimana : a = berat cawan kering yang sudah konstan

b = berat sampel awal

c = berat cawan dan sampel kering yang sudah konstan

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

Metode yang digunakan dalam uji kadar lemak yaitu metode ekstraksi Goldfisch. Prinsip dari metode ini yaitu menghitung prosentase kadar lemak dengan melarutkan lemak pada sampel dengan menggunakan pelarut non polar. Keuntungan dari metode ini yaitu sangat praktis dan mudah pemakaiannya. Selain itu pelarut yang sudah dipakai dalam metode ini dapat dipakai kembali.

Prosedur yang dilakukan dalam pengujian kadar protein menggunakan metode goldfisch (Lampiran 23) yaitu bahan atau sampel yang telah dihaluskan sebanyak 2 g, dimasukkan kedalam thimble dan dipasang dalam tabung penyangga yang pada bagian bawahnya berlubang. Bahan pelarut yang digunakan ditempatkan pada beakerglas dibawah tabung penyangga. Bila dipanaskan uap pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga akan mengembun dan menetes pada sampel demikian terus menerus sehingga bahan atau sampel akan dibasahi oleh pelarut dan lipid akan terekstraksi dan selanjutnya akan tertampung pada beakerglass kembali. Setelah dipanaskan 3 – 4 jam, pemanas dimatikan, kemudian dilakukan hal yang sama akan tetapi pelarut diganti yang baru. Selanjutnya residu dioven dalam 100°C sampai berat konstan. Berat residu ini dinyatakan sebagai minyak atau lemak yang ada pada bahan pangan. Selanjutnya dihitung kadar lemaknya menggunakan rumus % kadar lemak sebagai berikut:

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

keterangan: a = berat awal (g)

b = berat kertas saring (g)

c = berat akhir (g)

c) Kadar Protein (Andarwulan *et al.*, 2011)

Metode yang digunakan dalam analisis protein yaitu menggunakan metode Kjeldahl. Metode ini sangat umum digunakan dalam menentukan kadar protein dalam bahan pangan. Proses analisis kadar protein dapat dilihat pada Lampiran 25. Prinsip dalam menggunakan metode ini yaitu pengujian dilakukan dengan beberapa tahapan antara lain tahap penghancuran (destruksi), tahap netralisasi dan destilasi, tahap titrasi.

Pada tahap destruksi, sampel sebanyak 0,1 – 0,5 g dimasukkan kedalam labu Kjeldahl lalu ditambahkan 3-10 mL HCl 0,02 N dan dilakukan pemanasan pada suhu sekitar 370°C. Tahap ini perlu dilakukan karena bertujuan untuk membebaskan nitrogen dari sampel. Untuk mempercepat proses penghancuran biasanya dilakukan penambahan merkuri oksida (HgO) atau dengan potassium sulfat. Pada proses ini dilakukan dalam labu Kjeldahl. Setelah semua bahan masuk pada labu Kjeldahl selanjutnya dididihkan diatas pemanas listrik selama 1 – 1,5 jam sampai cairan menjadi jernih. Pembentukan cairan jernih menunjukkan bahwa semua komponen organik yang ada dalam sampel sudah dihancurkan dan nitrogen sudah terbebas. Setelah selesai, kemudian didinginkan lalu ditambahkan sedikit demi sedikit air.

Proses destruksi selesai dilanjutkan dengan tahap netralisasi dan destilasi. Setelah larutan dalam labu dingin, larutan tersebut dituangkan ke dalam alat destilasi. Labu Kjeldahl dibilas dengan air 5-6 kali hingga tidak ada hasil destruksi yang tertinggal. Pada alat destilasi, dibagian bawah kondensor dipasang erlenmeyer yang berisi 5 mL larutan H_3BO_3 dan 2 tetes indikator. Dilakukan penambahan air untuk memasitikan ujung dari alat destilator terendam larutan asam borat. Lalu dilakukan penambahan alkali (NaOH) pekat sebanyak 8-10 mL untuk menetralkan asam sulfat. Dengan adanya larutan NaOH pekat ini, maka

ammonium sulfat akan dipecah menjadi gas amoniak. Dengan melalui proses distilasi, gas amoniak ini kemudian akan menguap dan ditangkap oleh asam borat (H_3BO_3) membentuk $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$. Hasil destilasi (destilat) ditampung hingga kira-kira 15 mL destilat dalam Erlenmeyer.

Selanjutnya destilat yang tertampung didalam Erlenmeyer kemudian ditrasi diatas *magnetic stirrer* dengan menggunakan larutan HCl 0,02 N sampai terjadi perubahan warna menjadi abu-abu. Penetapan yang sama juga dilakukan untuk blangko yang akan digunakan sebagai faktor koreksi dalam perhitungan

Perhitungan:

Persen nitrogen pada contoh dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%N = \frac{(\text{mL HCl contoh} - \text{blangko}) \times \text{Normalitas} \times 14,007 \times 100}{\text{mg contoh}}$$

Kadar Protein dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Protein} = \%N \times F, F = \text{Faktor konversi} = 100 / (\%N \text{ dalam protein contoh})$$

d) Kadar Abu (Andarwulan *et al.*, 2011)

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

Prosedur kerja analisis kadar abu menggunakan metode pengaabuan langsung (Lampiran 24) yaitu langkah awal cawan pengabuan yang sudah disiapkan dibakar dahulu dalam tanur dengan suhu 105°C . Kemudian

didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Kemudian sampel dimasukkan kedalam cawan lalu ditimbang sebanyak 5 – 10 g. Cawan yang berisi sampel di panaskan dalam pembakar *burner* dengan api sedang untuk menguapkan bahan organik yang ada sampai sampel tidak berasap lagi dan berwarna hitam. Kemudian sampel dipindahkan kedalam tanur dan dipanaskan dalam suhu 300°C. Selanjutnya suhu dinaikkan hingga mencapai 550-600°C dengan waktu 3 jam. Setelah itu cawan diambil dengan hati –hati. Ditimbang dan dihitung menggunakan rumus untuk menentukan %kadar abu. Rumus perhitungan % kadar abu sebagai berikut:

$$\% \text{ abu} = \{ (W_2 - W_0) / (W_1 - W_0) \} \times 100\%$$

Keterangan: W_2 = Berat cawan dan sampel setelah pengabuan (g)

W_0 = Berat cawan kosong (g)

W_1 = Berat cawan dan sampel sebelum pengabuan (g)

e) Karbohidrat (Andarwulan *et al.*, 2011)

Secara umum uji karbohidrat yaitu menggunakan karbohidrat *by difference*. Artinya kandungan tersebut diperoleh dari hasil pengurangan angka 100 dengan presentasi komponen lain (air, abu, lemak dan protein). Bila hasil pengurangan ini dikurangi dengan presentasi serat, maka akan diperoleh kadar karbohidrat yang dapat dicerna oleh tubuh.

3.5.4 Prosedur Analisis pH (SNI 06-6989.11-2004)

Nilai pH menunjukkan derajat keasaman suatu bahan, dimana 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 mikroba-mikroba hanya dapat hidup dan berkembang biak dalam lingkungan dengan kondisi pH tertentu.

Prosedur dalam pengukuran pH (Lampiran 26) antara lain:

- Elektroda dikeringkan dengan kertas tisu dan selanjutnya dibilas dengan air suling
- Bilas elektroda dengan contoh uji
- Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap
- Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter
-

3.5.5 Prosedur Analisis Emulsi (Rieuwpassa *et al.*, 2013).

Prinsip dari pengujian emulsifikasi yaitu membuat sistem heterogen yang tersusun atas dua fase cairan yang tidak tercampur tetapi cairan yang satu terdispersi dengan baik dalam cairan yang lain. Daya kerja emulsifier terutama disebabkan oleh bentuk molekulnya yang dapat terikat baik pada minyak maupun air. Ada dua tipe emulsi yaitu minyak dalam air (o.w) dan emulsi air dalam minyak (w/o) (Rita, 2011).

Prosedur pengujian emulsifikasi (Lampiran 27) yaitu:

- Sampel ditimbang sebanyak 5 g.
- Sampel tersebut dimasukkan kedalam cuvet kemudian ditambahkan 20 mL air dan 20 mL minyak jagung.
- Dihomogenisasi selama 1 menit lalu disentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit.
- Kapasitas emulsi dihitung menggunakan rumus.

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

3.5.6 Prosedur Analisis Daya Buih (Rieuwpassa *et al.*, 2013).

Daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlahnya protein yang terhidrolisis selama proses, tetapi tidak dapat untuk menentukan stabilitas buih atau sebaliknya. Buih adalah bentuk disperse koloida gas dalam cairan. Daya buih protein sangat dipengaruhi sifat topografikal dan sifat kimia dari sifat permukaan protein (*surface protein*). Selain itu, sifat fisikokimia terutama dari sifat molekul proteinnya juga menentukan keberhasilan terbentuknya kondisi sifat fungsional (Koesoemawardani *et al.*, 2008).

Prosedur pengujian daya buih (Lampiran 28) antara lain:

- Sampel ditimbang sebanyak 1 g
- Sampel ditambahkan ke dalam 10 mL air dan dihomogenisasi selama 1 menit
- Sampel dipindahkan kedalam 25 mL beaker glass
- Dilihat kapasitas busa yang terbentuk dan dihitung kapasitas busanya dibandingkan dengan kapasitas volume awal.
- Dihitung kapasitas busa menggunakan rumus

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

3.5.7 Prosedur Analisis Kadar Kalsium (AOAC, 1984).

Metode yang digunakan dalam analisis kadar kalsium ini yaitu menggunakan metode *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS). Metode AAS berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu tergantung pada sifat unsurnya.

Prosedur kerja analisis kadar kalsium sebagai berikut:

- Menyiapkan larutan standart
 - Memperhitungkan konsentrasi larutan standart masuk dalam range linier

- Pembuatan larutan standart dapat dilakukan dengan cara pengenceran larutan induk dengan menggunakan labu takar pada volume tertentu
 - Deretan larutan standart minimal 3 varian, biasanya dibuat 5 varian
- Preparasi sampel
- Sampel dapat berupa padat, cair, dan gas
 - Agar dapat dianalisis dengan AAS, sampel harus berupa larutan jernih dan homogen, boleh berupa larutan berwarna
 - Sampel yang belum jernih harus diencerkan dengan pelarut tertentu atau diabukan kemudian dilarutkan
 - Volume minimal sampel 0,5 mL
 - Larutan dengan pelarut organik dapat dianalisis secara langsung, jika viskositasnya tidak jauh beda dengan air
- Memilih garis resonansi
- Optimasi kondisi alat
- Membaca absorbansi larutan standart
- Membaca absorbansi larutan sampel
- Mengintrapolasi absorbansi larutan sampel pada kurva linier

3.5.8 Prosedur Analisis Total Asam Amino (AOAC, 1984).

Prinsip dari HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) yaitu menggunakan kromatografi. Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan yang berdasarkan pada perbedaan perbedaan migrasi komponen-komponen antasa dua fase yaitu fase diam dan fase gerak.

Pada system HPLC, fase diam berupa serbuk berukuran μm , ditempatkan pada kolom secara mampat dengan diameter 0,5 cm dengan panjang 5 – 50 cm.

Fasegerak berupa cairan murni atau campuran ataupun larutan, untuk menggerakkan fase gerak dengan tekanan tinggi digunakan pompa.

Tahapan Pengujian sampel menggunakan HPLC sebagai berikut:

a. Preparasi AccQ Fluor TM Reagent kit

1. Panaskan pemanas sampai suhu 55°C
2. Vial 2A (AccQ Fluor reagen powder) dipanaskan sebentar agar powder dibawah vial
3. Masukkan 1 mL vial 2B (AccQ fluor reagent diluent) kedalam vial 2A
4. Tutup vial dan kocok selama 10 detik
5. Panaskan kembali vial 2A kocok sampai powder tercampur rata

b. Preparasi Standart

- Pengenceran standart
 1. Standart asam amino H Pierce. Pengenceran dengan air samapai 10 mL
 2. Ambil 10 μ L stok standart pierce. Pengenceran dengan air samapai 10 mL
 3. $FP=10.000 \text{ mL} / 10\text{mL} = 1000x$. Sehingga konsentrasi standart menjadi 2,5 n mol/ mL

c. Preparasi solvent

- Solven A
 1. 19 g sodium acetate
 2. 2,27 g TEA
 3. 40% phosphoric acid
 4. 5 mL CAN

Campur 19 gsodium aasetat dan 2,27 g TEA dalam 1L air. Tambahkan 40% phosphoric acid ($\pm 6 \text{ mL}$ / lebih) sampai pH 5,1. Tambahkan 5 mL CAN

- Solven B : CAN (Acetonitrile)
- Solvent C : Air

d. Preparasi sampel HPLC atau hidrolisis

1. Timbang 100 mg sampel.
2. Masukkan 5 mL 6N HCL
3. Keringkan sampel dengan nitrogen / argon
4. Tutup tabung dan masukkan oven pada suhu 112°C selama 22 jam

5. Saring sampel menggunakan 0,45 mikrometer kertas saring
6. Ambil sampel yang sudah disaring sebanyak 100 μL dan diencerkan dengan mQ water sebanyak 5 mL

e. Preparasi sampel HPLC (Derivatization)

1. Ambil sampel yang sudah diencerkan sebanyak 50 mikro lit
2. Campurkan dengan 350 mikroliter AccQ derivatiozation buffer dan 100 mikrolit AccQ fluor reagen to derivatize
3. Dikocok sebentar dan masukan dalam air yang sudah dipanaskan selama 10 menit dengan suhu 55°C
4. Sampel siap diinjeksikan

f. Analisa Asam Amino

1. Nyalakan UPS
2. Nyalakan tombol di tiap-tiap masing bagian (a, b, c, dan d)
3. Nyalakan adaptor untuk solvent menager
4. Nyalakan computer
5. Atur kondisi kromatografi meliputi:
 - Temperatur 37°C
 - Laju alir 1 ml/menit
 - Detector fluorescence
 - Eksitasi (ex) : 250 nm
 - Emisi (em) : 395 nm
6. Masukkan keprogram total chrom navigator:
 - Run $\rightarrow$ take control (untuk mengatur auto sampler dan pump)
 - $\rightarrow$ flexar LC $\rightarrow$ Ok $\rightarrow$ tunggu
7. Build Sequence :
 - Create new sequence $\rightarrow$ Ok
 - Instrument : flexar LC
 - Build : vial by vial $\rightarrow$ Ok
8. Append new cycles
 - Type : Blank
 - Name : Blanko
 - # of cycles : 2
 - Vial : 1
 - Method : amino acid $\rightarrow$ select

Blok semuanya → klik kanan → edit token string → clear → tokens → sample name → fill down

9. Selesai → Save as → berinama

10. Action → set up

Set up parameters :

- Starting row : 1
- End row : 5
- Run : start run when ready
- Proceeding : suppress report/plots → Ok

11. Run → release control (untuk menghentikan pengaturan auto sampler dan pump)

12. Tutup TC Navigator

13. Matikan computer

14. Matikan tiap masing-masing alat (a, b, c dan d)

15. Matikan UPS

Perhitungan

Asam amino (mg/100 g) =

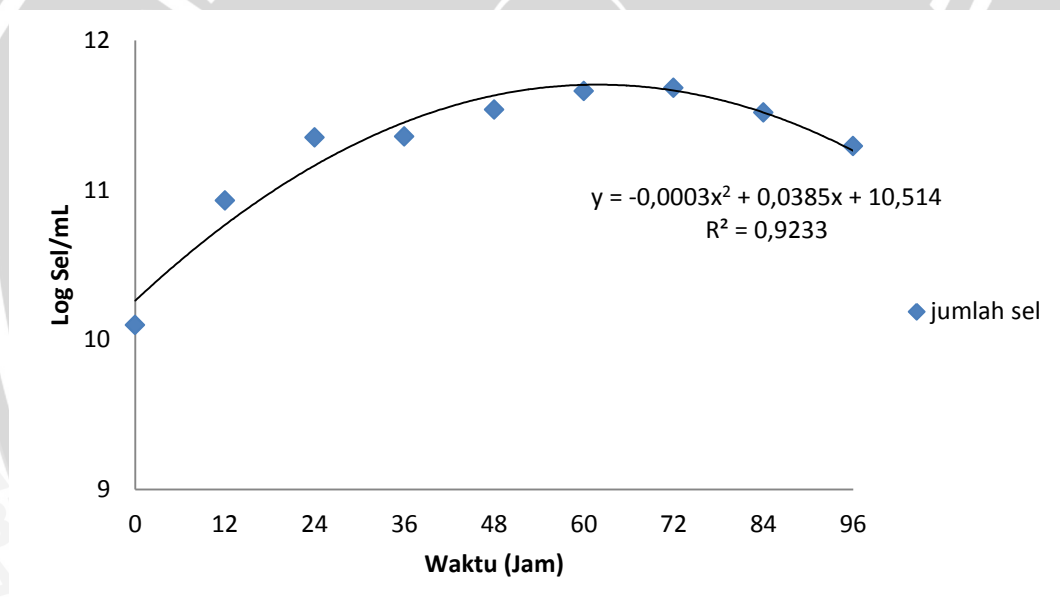
$$\frac{\left(\frac{\text{area komponen}}{\text{area AABBA}}\right) \text{ sampel} \times \text{konsentrasi standart} \times \text{BM} \times \text{tp}}{\left(\frac{\text{area komponen}}{\text{area MBA}}\right) \text{ standart} \times 1.000.000 \times \text{bobot sampel} \times 1.000} \times 100\%$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 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. Hasil pengamatan pertumbuhan khamir laut dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



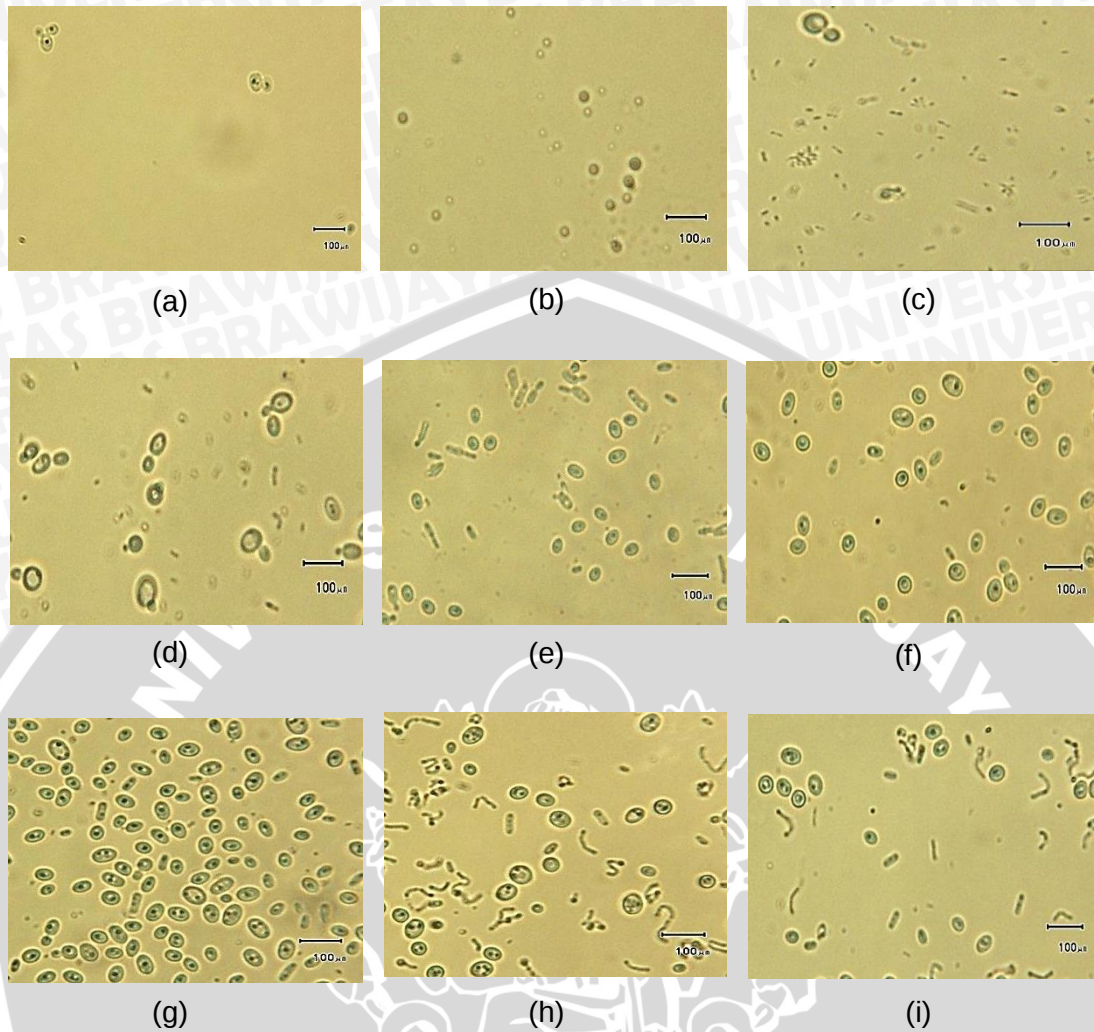
Gambar 5. Pertumbuhan sel khamir laut dengan pengamatan setiap 12 jam sekali selama 4 hari.

Gambar 5 menunjukkan bahwa pertumbuhan sel khamir laut sangat cepat. Terlihat bahwa pertumbuhan pada fase adaptasi/lag jam ke-0 hingga jam ke-12 meningkat tajam. Hal tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat khamir laut mampu beradaptasi dan memanfaatkan pupuk/urea sebagai sumber

nitrogen secara efisien sehingga tidak memerlukan waktu yang lama untuk tumbuh dan bereproduksi (Sugoro, 2006). 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.

Pertumbuhan khamir laut pada jam ke-12 sampai jam ke-72 terus mengalami peningkatan, hal tersebut juga ditandai adanya perubahan pada kultur khamir laut yang dibiakkan. Perubahan yang terjadi yaitu adanya kekeruhan yang menunjukkan bahwa khamir laut mulai mengalami pertumbuhan dan warna khas fermentasi khamir laut. Pengambilan atau panen kultur khamir laut yang akan digunakan sebagai starter dalam fermentasi hidrolisat protein yaitu pada jam ke-72. Pada saat jam ke-72 khamir laut mengalami pembelahan secara cepat sehingga memiliki jumlah sel paling banyak dan menyebabkan tingkat kekeruhan meningkat. Kondisi demikian dikenal dengan istilah fase logaritmik. Sedangkan pada jam ke-72 hingga jam ke-86 pertumbuhan khamir laut mulai menurun.

Fase log terjadi pada jam ke-72, hal tersebut diperkuat dengan pengamatan hemositometri pada mikroskop. Hasil pengamatan hemositometri berupa jumlah kepadatan sel khamir laut dan berupa foto kepadatan. Perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 4. Mikrograf yang dihasilkan dari kepadatan khamir laut terhadap lama kultur dapat dilihat pada Gambar 6 berikut.



Gambar 6. Mikrograf kepadatan khamir laut dalam berbagai lama kultur 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 sel khamir laut terlihat jelas dan berbentuk bulat. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Sukoso (2012) bahwa sel khamir laut sangat berbeda dengan sel bakteri atau jenis mikroorganisme lainnya karena sel khamir laut berukuran lebih besar daripada bakteri (5-8 μm 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. Kondisi tersebut menunjukkan pembelahan sel dengan cepat atau disebut dengan fase log. Proses pembelahan sel menurut Buckle *et al.*, (1987) dimana timbul suatu gelembung kecil dari permukaan sel induk. Gelembung ini secara bertahap membesar, dan setelah mencapai ukuran yang sama dengan induknya terjadi pengerutan yang melepaskan tunas dari induknya. Sel yang baru terbentuk selanjutnya akan memasuki tahap pertunasan kembali.

Gambar 6 (h) menunjukkan bahwa pada jam ke- 84 mulai terjadi penurunan sel. Hal tersebut dimungkinkan karena ketersediaan nutrisi mulai berkurang karena sel khamir yang membelah terlampaui banyak sehingga nutrisi tidak mencukupi dan pada akhirnya dapat menyebabkan kematian atau penurunan sel. Fase ini bisa disebut fase stasioner atau menuju kematian. Gambar 6 (i) terlihat kepadatan sel khamir laut sudah menurun, hal tersebut kadena sudah banyak sel khamir laut yang mengalami kematian.

4.1.2 Penentuan Volume Molase Rebus

Penentuan volume molase pada pembuatan hidrolisat protein ini bertujuan untuk menentukan volume molase yang optimal dalam menentukan range volume molase yang akan digunakan sebagai landasan pada melakukan penelitian utama. Percobaan pertama berdasarkan penelitian Bueno-Solano *et al.*, (2008) bahwa dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang melalui penambahan volume gula sebanyak 10 mL, akan tetapi dalam penelitian ini gula diganti dengan molase sebagai sumber karbon khamir laut. Penggunaan molase pada penelitian ini dengan perlakuan perebusan. Buckle *et al.*, (1987)

menyatakan perebusan bertujuan untuk pembentukan warna gelap oleh proses karamelisasi. Selain itu apabila molase dipanaskan akan memecah molekul kompleks pada molase menjadi molekul yang lebih sederhana sehingga memudahkan khamir laut dalam memanfaatkan sumber karbon untuk kelangsungan hidupnya. Berdasarkan penelitian Bueno-Solano *et al.*, (2008), pembuatan hidrolisat protein dilakukan tanpa adanya aerasi sebagai sistem fermentor dalam fermentasi tersebut.

Hasil dari percobaan pertama (Lampiran 18) tersebut mengalami pembusukan dan warna produk menjadi coklat pucat. Fermentasi hidrolisat protein pada percobaan pertama ini hanya mampu bertahan 24 jam atau 1 hari. Hal tersebut dimungkinkan karena konsentrasi molase rebus yang ditambahkan dalam pembuatan hidrolisat terlalu sedikit sehingga menyebabkan produk terlalu padat dan khamir laut yang mengandung protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat tersebut. Disamping molase sebagai pengencer substrat kepala udang, molase juga sebagai nutrisi atau sumber karbon pertumbuhan khamir laut. Oleh karena itu, jika nutrisi yang diberikan pada khamir laut sedikit maka fermentasi juga berlangsung singkat.

Percobaan selanjutnya dilakukan peningkatan volume molase rebus dalam pembuatan hidrolisat protein. Volume molase rebus yang digunakan dalam percobaan kedua yaitu 20 mL, 30 mL, 40 mL dan 50 mL dengan sampel kepala udang yang sudah diblender sebanyak 50 g. Pada percobaan kedua ini, penambahan inokulan khamir fase logaritmik sebanyak 10 mL dengan kepadatan $48,1 \times 10^{10}$ sel. Fermentasi kedua ini dilakukan aerasi karena khamir laut hidup dalam kondisi aerob. Menurut Sukoso (2012), dalam kultur khamir laut diberikan sistem aerasi sehingga kandungan O_2 tercukupi dalam pertumbuhan khamir laut. Kultur khamir laut menghasilkan berbagai enzim misalnya protease.

Hasil dari percobaan kedua (Lampiran 18) menunjukkan bahwa kenampakan hasil hidrolisis protein kepala udang dengan berbagai volume molase rebus terdapat perbedaan dilihat dari segi organoleptik. Semakin banyak volume molase rebus yang ditambahkan maka warna hidrolisat semakin coklat ke hitam dan menyebabkan sampel hidrolisat semakin cair. Hidrolisat dengan penambahan volume 50 mL menunjukan hasil semakin cair, berwarna coklat kehitaman dan bau tidak busuk atau bau khas fermentasi. Hidrolisat protein dengan molase rebus 50 mL ini dapat bertahan dalam fermentasi lebih dari 3 hari.

Penambahan molase rebus volume 20-40mL menunjukan bahwa hasil hidrolisat protein kepala udang tersebut mengalami pembusukan sama halnya dengan percobaan pertama. Hal tersebut disebabkan karena volume molase yang ditambahkan dalam pembuatan hirolisat terlalu sedikit sehingga menyebabkan produk terlalu padat dan khamir laut yang mengandung protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat tersebut. 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 kedua telah diperoleh *range* bawah atau batas bawah yang akan digunakan dalam penelitian utama. Selanjutnya perlu dilakukan percobaan ketiga untuk menentukan batas atas, titik optimal lama fermentasi dan volume molase rebus yang digunakan dalam penelitian utama. Penelitian ketiga ini menggunakan volume molase rebus 50 mL, 100 mL dan 150 mL dengan sampel kepala udang yang sudah diblender sebanyak 50 g. Pada percobaan

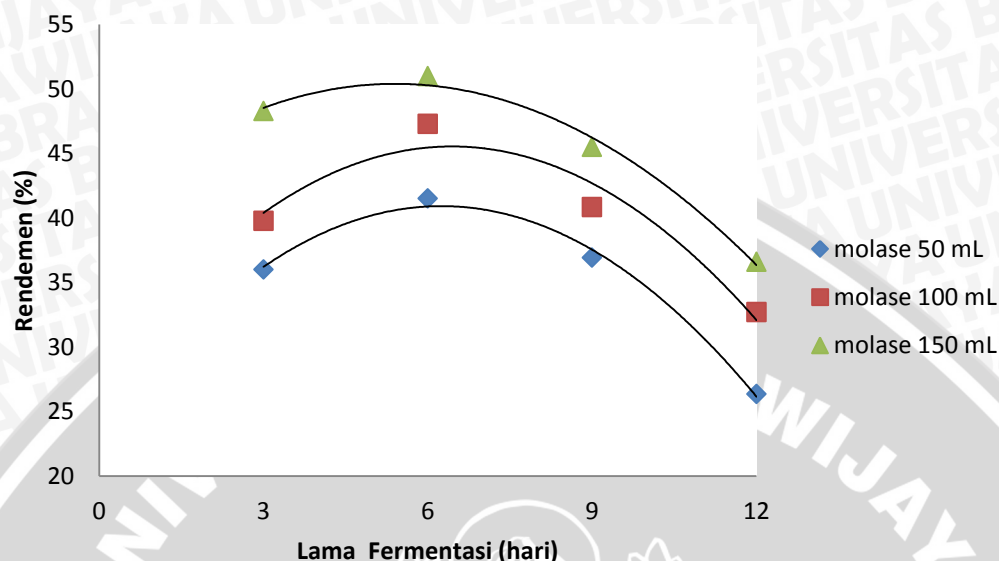
ketiga ini, penambahan inoculan khamir fase logaritmik sama dengan percobaan kedua yaitu sebanyak 10 mL dengan kepadatan $48,1 \times 10^{10}$ sel.

Hasil dari percobaan ketiga (Lampiran 18) ini tidak mengalami pembusukan. Kenampakan dari tiap volume molase berbeda. Semakin tinggi volume molase, warna hidrolisat semakin kehitaman. Semakin tinggi volume molase, warna hidrolisat protein semakin kehitaman. Menurut *Prescott and Dunn* (1959), zat warna pada tetes tebu (molase) pada umumnya bersifat anionik. Zat warna dominan yang terdapat dalam molase antara lain; material caramel (berwarna coklat kehitaman), polyphenol-iron kompleks (berwarna kuning kehijauan) dan melanoidines. Hidrolisat protein dengan volume 50 mL, 100 mL dan 150 mL dapat bertahan hingga 12 hari dan tidak bau busuk. Dari percobaan ketiga tersebut volume molase rebus 50 mL, 100 mL, dan 150 mL dapat dijadikan landasan pada penelitian utama. Akan tetapi dikarenakan berat hidrolisat yang diperoleh kurang mencukupi untuk dilakukan pengujian maka dari itu dilakukan penggandaan dari formula awal. Sehingga volume molase yang akan dilakukan pada penelitian utama yaitu 100 mL, 200 mL dan 300 mL dengan sampel kepala udang yang sudah diblender sebanyak 100 g. Sedangkan penambahan inoculan khamir laut sebanyak 20 mL dengan kepadatan $48,1 \times 10^{10}$ sel pada fase logaritmik.

4.1.3 Penentuan Lama Waktu Fermentasi

Hidrolisat protein dengan volume 50 mL, 100 mL dan 150 mL dapat bertahan hingga 12 hari. Dari percobaan tersebut telah diperoleh volume molase rebus 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 kepala yang akan diterapkan pada penelitian utama. Grafik pengamatan rendemen dapat dilihat pada Gambar 7 berikut.



Gambar 7. Rendemen hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Gambar 7 memperlihatkan bahwa hidrolisat protein kepala udang dengan lama fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari telah menunjukkan titik optimal hidrolisis yaitu pada hari ke-6. Rendemen hidrolisat protein kepala udang pada hari ke-6, untuk molase rebus 50 mL yaitu 48,15%; molase rebus 100 mL yaitu 76,68% dan molase rebus 150 mL yaitu 84,29%. Perhitungan rendemen hidrolisat protein kepala udang dapat dilihat pada Lampiran 5. Rendemen hidrolisat protein kepala udang 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 rebus yang paling optimal dalam menghasilkan rendemen tertinggi yaitu pada konsentrasi 150 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 kepala udang 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 kepala udang tersebut. Titik optimal yang menghasilkan rendemen tertinggi yaitu pada lama fermentasi 6 hari.

4.2 Penelitian Utama

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, diketahui bahwa proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*L. vannamei*) dilakukan penambahan molase rebus dengan volume 100 mL, 200 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 20 mL dengan kepadatan $48,1 \times 10^{10}$ sel pada fase logaritmik. Selanjutnya variabel yang diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan tersebut digunakan sebagai landasan dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*L. vannamei*) pada penelitian utama. Produk hidrolisat protein kepala udang (*L. vannamei*) pada penelitian ini dalam bentuk pasta. Untuk melihat kemungkinan pemakaian hidrolisat protein kepala udang (*L. vannamei*) 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 kalsium, uji pH, emulsi dan daya buih.

4.2.1 Komposisi Kimia Kepala Udang Vaname (*L. vannamei*)

Sampel utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kepala udang vaname (*L. vannamei*) segar. Sampel dalam penelitian ini merupakan limbah tak termanfaatkan dari perusahaan pembekuan udang PT. GMCP Buduran Sidoarjo. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi kepala udang vaname tersebut. Hasil analisis kandungan kimia kepala udang vaname dapat dilihat pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Komposisi kimia kepala udang vaname

Parameter	Nilai rata-rata (%)	
	Kepala Udang Vaname *)	Kepala Udang Vaname **)
Kadar Air	66,89	74,22
Kadar Protein	13,94	11,53
Kadar Lemak	4,72	4,35
Kadar Abu	14,35	4,28
Kadar Karbohidrat	0,10	-

Sumber: *) Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, (2014).

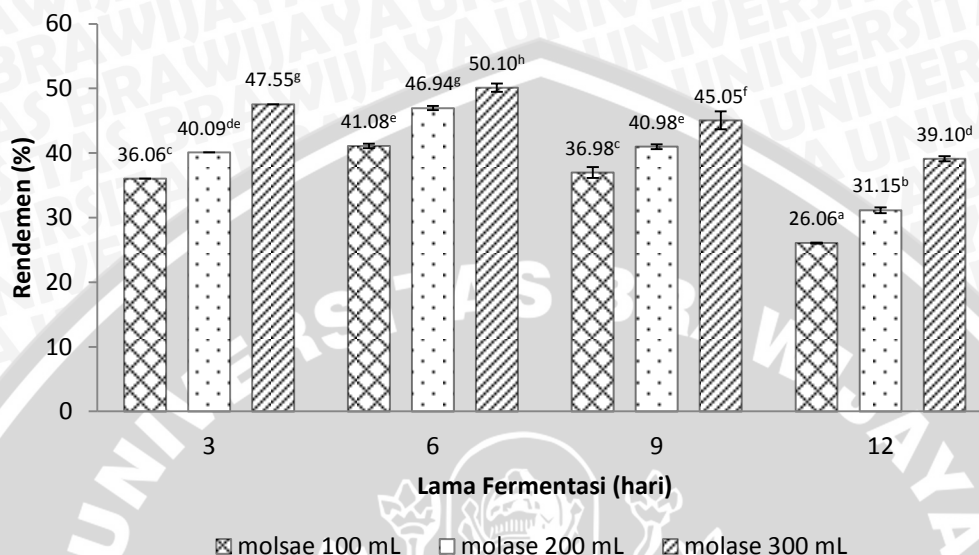
**) Mujica *et al.*, (2013).

Tabel 10 tersebut memperlihatkan kandungan gizi dari kepala udang vaname (*L. vannamei*) segar. Secara umum, *trend* atau kesetaraan komposisi kimia kepala udang yang digunakan dalam sampel penelitian ini sebanding dengan penelitian Mujika (2013) yang membahas tentang karakteristik kimia udang vaname. Hal ini berarti komposisi kimia kepala udang vaname pada umumnya mempunyai nilai yang sama. Apabila terdapat perbedaan yang terlihat mencolok terhadap komposisi kimia kepala udang vaname tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal. Hidayat (2005) menjelaskan bahwa faktor yang mempengaruhi komposisi ikan meliputi jenis ikan, jenis kelamin, sifat warisan, habitat, musim, dan jenis pakan yang tersedia.

4.2.2 Rendemen Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname

Data pengamatan dan analisis data rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 6. Peningkatan hasil rendemen hidrolisat protein kepala udang memiliki kecenderungan atau *trend* yang sama dengan cairan hidrolisat yang dihasilkan (Lampiran 15). Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap rendemen hidrolisat protein

kepala udang vaname. Rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 8 berikut.



Gambar 8. Rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Gambar 8 menunjukkan bahwa rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda mengalami kenaikan hingga lama fermentasi 6 hari selanjutnya mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis yang terjadi pada bahan baku kepala udang vaname. Kusmantono dan Noya (2008) melaporkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan sampai batas waktu tertentu. Hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil dari metabolit khamir laut yang digunakan untuk menghidrolisis protein pada kepala udang vaname terus bertambah. Perwitasari dan Cahyo (2009) menyatakan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, waktu,

katalisator, pH, dan suhu yang digunakan. 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 penelitiannya yaitu semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Waktu optimal hidrolisis akan menghasilkan rendemen paling tinggi. Rendemen tertinggi yaitu pada lama fermentasi 6 hari dengan volume molase 300 mL.

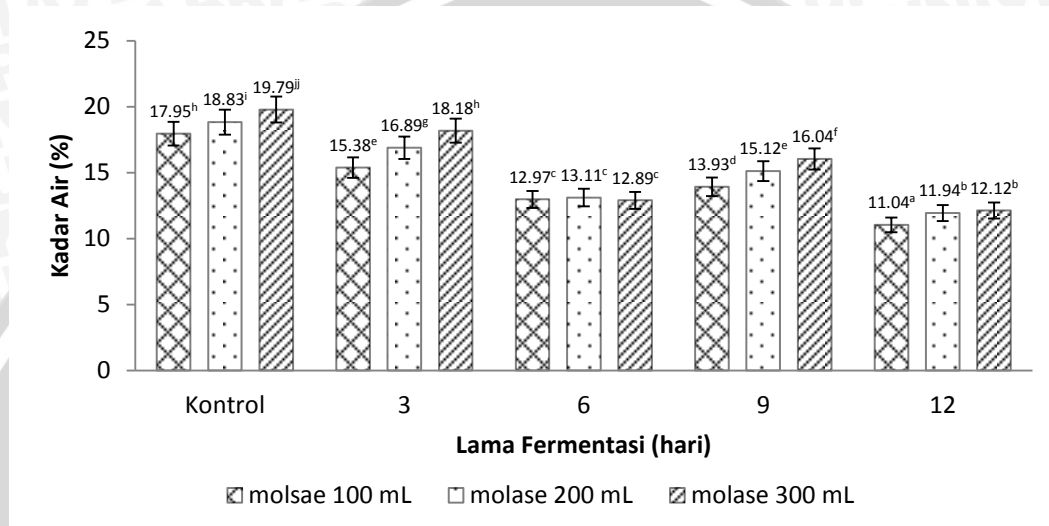
Gambar 8 juga memperlihatkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda adanya penurunan rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname. Hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil metabolit khamir laut tidak bekerja dengan maksimal dalam menghidrolisis protein yang ada pada kepala udang vaname tersebut. Rosdianti (2008) menjelaskan 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. Penurunan rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname ini terjadi pada lama fermentasi 9 dan 12 hari. Nilai rendemen terendah pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase 100 mL.

4.2.3 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Kepala Udang

a) Kadar Air

Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dibandingkan dengan kadar air hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 7. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar

lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar air hidrolisat protein kepala udang vaname. Kadar air kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 9 berikut.



Gambar 9. Kadar air kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

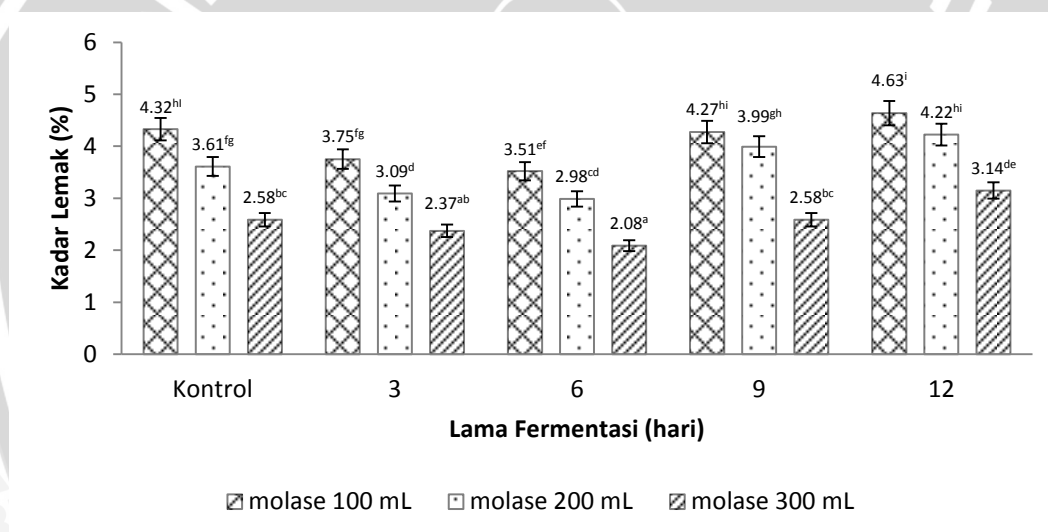
Gambar 9 menunjukkan bahwa kadar air kontrol lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar air hidrolisat protein kepala udang vaname dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena komposisi bahan awal dari pembuatan hidrolisat kepala udang itu sendiri memiliki kandungan kadar air yang tinggi. Mujjica *et al.*, (2013), melaporkan bahwa kandungan kadar air kepala udang vaname yaitu 74,22%. Hidayat (2005) menjelaskan bahwa hidrolisis itu memerlukan air atau kadar air yang tinggi dikarenakan (1) mempermudah proses pengadukan selama hidrolisis berjalan yang berpengaruh terhadap kelancaran homogenasi antara enzim dengan substrat yang tersedia, (2) mempercepat laju reaksi enzimatik, karena kadar air

bebas yang rendah mengakibatkan penghambatan difusi enzim dan substrat sehingga proses hidrolisis hanya berlangsung pada bagian substrat yang langsung berhubungan dengan enzim, (3) memperluas bidang kontak antara substrat dengan enzim, sehingga pada rentang waktu tertentu dapat dihasilkan produk hidrolisat yang lebih besar.

Gambar 9 juga memperlihatkan adanya penurunan kadar air hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Hal ini menunjukkan adanya pelepasan ion (H^+) dan (OH^-) saat terjadi proses perombakan (hidrolisis) protein pada kepala udang vaname. Widadi (2011) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi yang digunakan maka semakin rendah kadar airnya. Kadar air pada penelitiannya yaitu tercatat 5,46%. Hal tersebut dimungkinkan karena adanya proses metabolisme yang dilakukan oleh khamir laut sehingga menghasilkan energi (panas) yang akhirnya memicu air untuk menguap. Dewi (2002), Anggraeni dan Yuwono (2014) menyatakan bahwa saat hidrolisis berlangsung menyebabkan turunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air. Sehingga semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan, akibatnya tekstur bahan menjadi lunak dan berair. Simanjorang (2012) menambahkan bahwa kenaikan air tersebut disebabkan oleh proses metabolisme (katabolisme) yang dilakukan oleh mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tersebut. Proses metabolisme tersebut menghasilkan energi (panas) yang pada akhirnya menyebabkan air dapat berkurang (menguap) selama selang waktu fermentasi berlangsung. Kadar air terendah pada hidrolisat lama fermentasi 12 hari dan molase 100 mL.

b) Kadar Lemak

Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar lemak hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase dan lama fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap kadar lemak hidrolisat protein kepala udang vaname. Kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 10 berikut.



Gambar 10. Kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

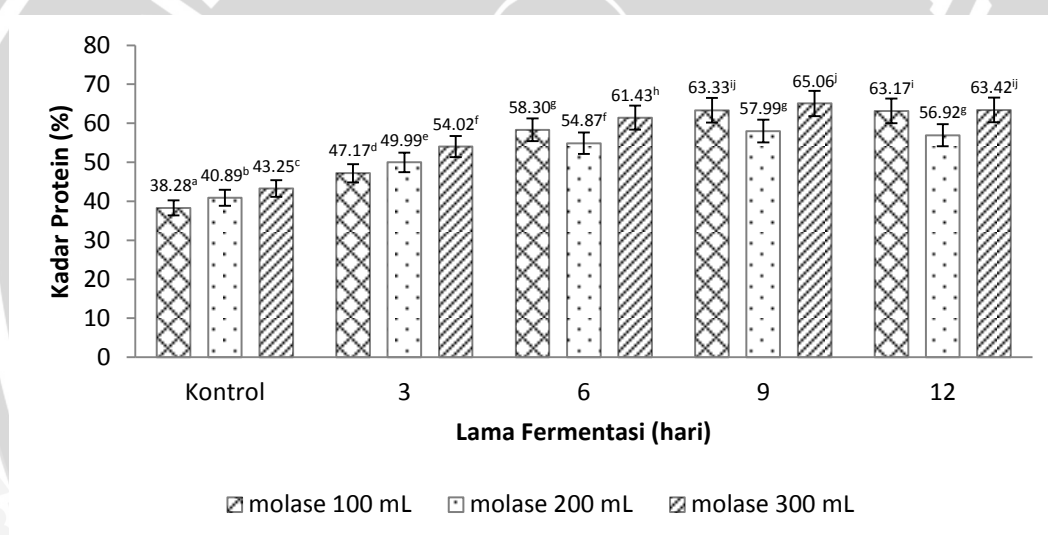
Gambar 10 menunjukkan bahwa kadar lemak kontrol dibandingkan dengan kadar lemak hidrolisat protein kepala udang vaname dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda menunjukkan adanya peningkatan yang tidak terlalu memberikan pengaruh yang nyata (konstan). Hal ini dimungkinkan karena sumber lemak hanya berasal dari bakhan baku kepala

udang dan adanya sedikit penambahan bahan lain yang mengandung kadar lemak seperti molase. Sari (2014) melaporkan bahwa kandungan kadar lemak dari molase rebus yaitu 0,05%.

Gambar 10 juga memperlihatkan adanya peningkatan kadar lemak hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis lemak kepala udang vaname oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar lemak yang dihasilkan. Dalam penelitiannya dijelaskan bahwa kandungan kadar lemak hidrolisat protein ikan rucah yaitu 1,02% (fermentasi ½ jam) dan 5,03% (fermentasi 1 jam). Hal tersebut dimungkinkan karena enzim yang dihasilkan oleh khamir laut bekerja dengan maksimal sehingga memicu terjadinya peningkatan kadar lemak. Sukoso (2012) menyatakan enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Fauziah *et al.*, (2014) menyatakan bahwa fermentasi dalam jangka waktu tertentu menyebabkan enzim hasil metabolit dapat memecah ikatan trigliserida yang ada pada substrat dan membentuk gliserol dan asam lemak bebas sehingga kadar lemak hasil hidrolisis semakin tinggi. Selain itu, Koesoemawardani dan Hadiwiyoto (2001) menambahkan bahwa kapasitas pengikatan lemak dipengaruhi oleh derajat hidrolisis, dalam hal ini derajat hidrolisis sejalan dengan protein terlarut. Semakin tinggi kadar protein yang terbentuk maka semakin tinggi pula kadar lemaknya.

c) Kadar Protein

Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 9. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar protein hidrolisat protein kepala udang vaname. Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 11 berikut.



Gambar 11. Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Gambar 11 menunjukkan bahwa kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) lebih rendah bila dibandingkan kadar protein hidrolisat protein kepala udang vaname dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut pada bahan baku kepala udang vaname segar. Noviat

(2007) melaporkan bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk pembelahan sel dan metabolismenya. Selain itu kadar protein pada fermentasi 0 hari diperoleh dari kandungan protein bahan baku atau penunjang dari pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname tersebut seperti kepala udang vaname, molase, dan khamir laut. Kandungan protein kepala udang vaname 11,53% (Mujiica et al., 2013)., molase rebus 24,64% (Sari, 2014)., dan khamir laut 28,29% (Sukoso, 2012).

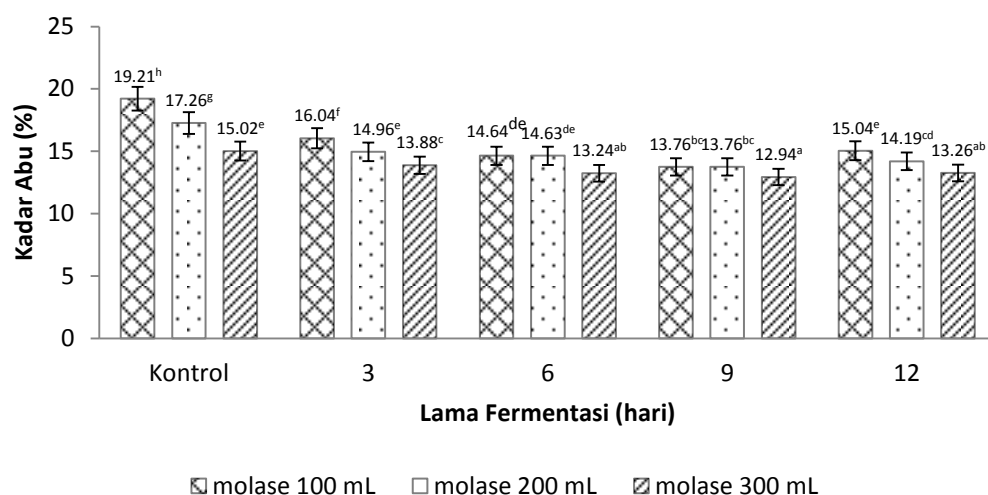
Gambar 11 juga memperlihatkan adanya peningkatan kadar protein hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis protein pada bahan baku kepala udang vaname oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Bueno *et al.*, (2008) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar protein yang dihasilkan. Dalam penelitiannya dijelaskan bahwa kandungan kadar protein hidrolisat protein dari limbah udang yaitu 45,11%. Selain itu, dimungkinkan karena adanya penambahan protein dari khamir laut itu sendiri dan aktivitasnya yang memanfaatkan karbon yang ada pada molase sehingga memicu mengeluarkan hasil metabolitnya berupa enzim guna untuk proses hidrolisis pada kepala udang vaname. 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). Sedangkan Haslina *et al.*, (2006) menyatakan enzim yang dihasilkan mikroorganisme akan berikatan dengan ikatan peptida (protein) pada substrat.

Gambar 11 memperlihatkan bahwa kadar protein tertinggi pada hidrolisat protein kepala udang vaname fermentasi 9 hari dengan volume molase 300 mL. Hal ini dimungkinkan fermentasi hari ke-9 merupakan batas optimal lama fermentasi dan enzim yang digunakan hidrolisis hanya mampu menghidrolisis

sampai batas tersebut. Rosdianti (2008) menyatakan 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. Purbasari (2008) menambahkan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, tekstur substrat, dan konsentrasi enzim

d) Kadar Abu

Abu merupakan salah satu komponen bahan makanan. Komponen yang terkandung dalam kadar abu tersebut menunjukkan mineral yang ada dalam bahan pangan seperti pada produk hidrolisat protein ikan. Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar abu hidrolisat protein kepala udang vaname. Kadar abu kontrol dan hidrolisat hidrolisat dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Kadar abu kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

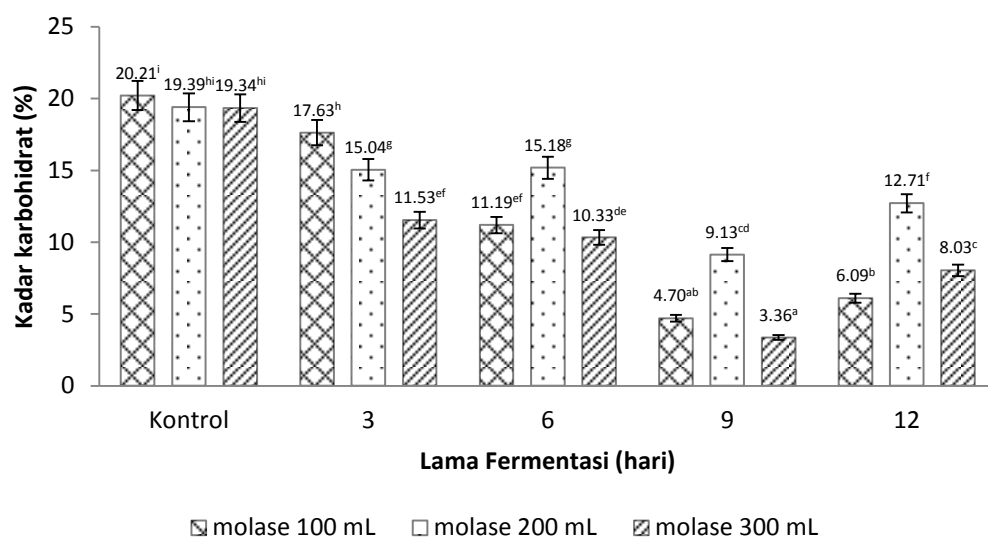
Gambar 12 menunjukkan bahwa kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan kadar abu hidrolisat protein kepala udang vaname dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis atau degradasi terhadap unsur mineral atau unsur-unsur lain. Selain itu, dimungkinkan komposisi bahan baku awal atau bahan penunjang dari pembuatan hidrolisat kepala udang itu sendiri memiliki kandungan kadar abu yang tinggi. Mujiica *et al.*, (2013) melaporkan bahwa kadar abu dari kepala udang vaname yaitu 4,28%. Sari (2014) menambahkan bahwa kadar abu molase rebus yaitu 4,95%.

Gambar 12 juga memperlihatkan adanya penurunan kadar abu hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Sebagian besar kadar abu termasuk zat anorganik atau unsur mineral (Arifin, 2008). Bueno *et al.*, (2008) melaporkan bahwa semakin lama fermentasi kadar abunya juga semakin rendah. Pada penelitiannya yang membahas tentang karakteristik kimia dan biologi hidrolisat protein limbah udang, kandungan kadar abunya yaitu 8,18% (kering);

5,56% (pasta) dan 1,61% (cair). 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). Selain itu, kemampuan khamir laut dalam mengabsorpsi logam atau mineral berbeda selama selang waktu fermentasi. Purwaningsih (2012) menyatakan adanya perbedaan kadar abu diduga bahwa setiap organisme mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mengabsorpsi dan meregulasi logam. Sedang Palupi (2007) menyatakan pada umumnya, garam-garam mineral tidak terpengaruh signifikan dengan perlakuan kimia atau fisik selama fermentasi. Jadi apabila terjadi penurunan atau kenaikan dimungkin hanya nilai secara kuantitas karena hasil dari fermentasi tersebut. Kadar abu terendah pada lama fermentasi 9 hari dengan volume molase 300 mL.

e) Kadar Karbohidrat

Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan kadar karbohidrat hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar karbohidrat hidrolisat protein kepala udang vaname. Kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 13 berikut.



Gambar 13. Kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

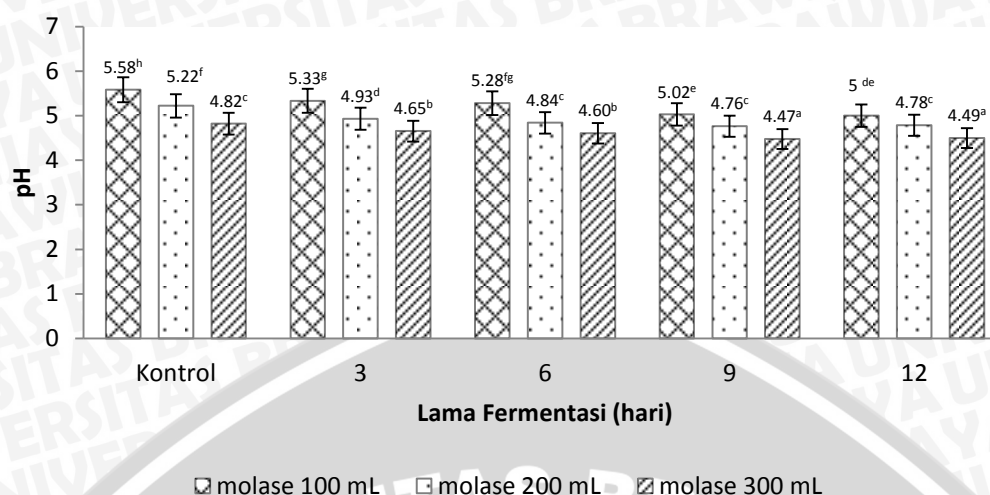
Gambar 13 menunjukkan bahwa kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan kadar karbohidrat hidrolisat protein kepala udang vaname dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis atau degradasi terhadap gula-gula reduksi pada bahan baku kepala udang vaname segar. Selain itu, dimungkinkan komposisi bahan baku awal atau bahan penunjang dari pembuatan hidrolisat kepala udang itu sendiri memiliki kandungan kadar karbohidrat yang tinggi. Damuringrum (2002) melaporkan bahwa kadar karbohidrat dari kepala udang vaname yaitu 0,10%. Sari (2011) menyatakan bahwa kadar karbohidrat dari molase yaitu 10-25%.

Gambar 13 juga memperlihatkan adanya penurunan kadar karbohidrat hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Kadar karbohidrat Purbasari (2008) melaporkan bahwa kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang mas ngur menurun selama selang waktu fermentasi. Kadar karbohidrat hidrolisat kerang mas ngur pada penelitiannya yaitu 0,16%. Hal ini dimungkinkan karena

bahan organik seperti karbon atau nitrogen digunakan sebagai nutrisi atau memenuhi kebutuhan energi untuk kebutuhan metabolisme khamir laut sehingga memicu penurunan kadar karbohidrat. Septiani *et al.*, (2004) menyatakan bahwa karbohidrat merupakan gula reduksi dari hasil fiksasi CO₂ (reaksi gelap) oleh tanaman. Contoh bahan yang mengandung gula reduksi menurut Sari (2011) yaitu molase. Molase mengandung gula reduksi total yaitu 10-25% Kurniati (2012) menyatakan bahan organik seperti pati / gula reduksi digunakan untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan mikroorganisme. Sehingga kandungan bahan organik mengalami penurunan selama fermentasi. Kadar karbohidrat terendah pada lama fermentasi 9 hari dengan volume molase 300 mL.

4.2.4 Analisis Derajat Keasaman (pH)

Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan pH hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap pH hidrolisat protein kepala udang vaname. pH kontrol (fermentasi 0 hari) bila dibandingkan pH hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14 berikut.



Gambar 14. pH kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

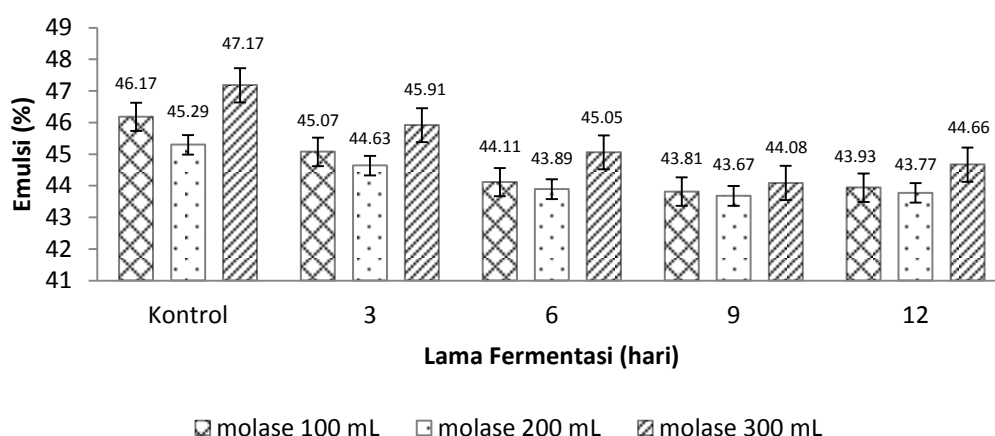
Gambar 14 menunjukkan bahwa pH kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan pH hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi fermentasi yang menghasilkan asam-asam atau alkohol hasil dari degradasi/hidrolisis sehingga pH masih tinggi atau medekat netral. Karnila *et al.*, (2006) melaporkan bahwa pH kepala udang segar yaitu sekitar 6-7.

Gambar 14 juga memperlihatkan adanya penurunan pH hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Hidayat (2005), Machbubatul (2008), dan Purbasari (2008) melaporkan bahwa pH hidrolisat protein dibawah netral (<7) yaitu 4-6. Hal ini dimungkinkan karena terjadinya degradasi bahan organik saat fermentasi yang memicu banyaknya asam yang terbentuk. Simbolon (2008) menyatakan bahwa asam atau alkohol terbentuk akibat degradasi dari karbohidrat oleh khamir. Semakin tinggi presentase khamir yang ditambahkan saat fermentasi memicu tingginya asam yang terbentuk. Selain itu Hidayat (2005)

menyatakan nilai pH dan waktu optimum didasarkan atas dengan sifat atau keadaan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam proses hidrolisis. Sukoso (2012) menjelaskan dalam bukunya bahwa pH optimal pertumbuhan khamir laut yaitu 2,2 - 8. Berdasarkan hasil penelitian terbukti bahwa *range* pH hidrolisat protein pada penelitian ini termasuk dalam *range* pH khamir laut. pH terendah pada hidrolisat lama fermentasi 9 hari dan volume molase 300 mL.

4.2.5 Analisis Emulsi

Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) yang dibandingkan emulsi hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase rebus dan lama fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap emulsi hidrolisat protein kepala udang vaname. Emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 15 berikut.



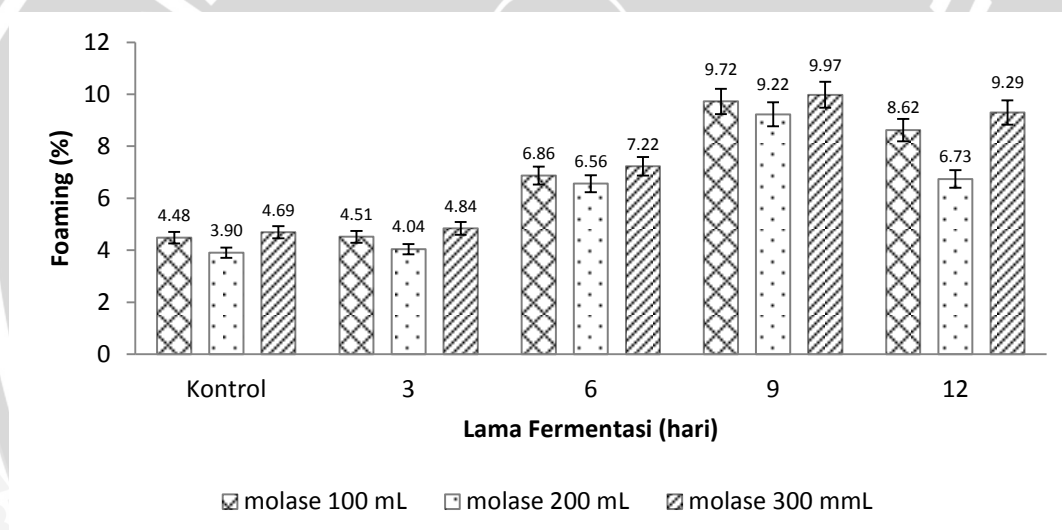
Gambar 15. Emulsi kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Gambar 15 menunjukkan bahwa emulsi kontrol lebih tinggi bila dibandingkan emulsi hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena belum mengalami hidrolisis yang akan menghasilkan asam-asam amino. Menurut Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa asam amino hasil hidrolisis sebagian akan terserap oleh minyak yang memicu kestabilan emulsi pada jangka waktu fermentasi.

Gambar 15 juga memperlihatkan adanya penurunan emulsi yang tidak terlalu memberikan pengaruh yang nyata atau relative konstan pada hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa emulsi hidrolisat ikan rucah terlihat relative stabil (tidak berbeda nyata) yaitu pada 51,38%. Hal ini dimungkinkan karena adanya kemampuan hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan sejumlah peptida yang panjang sehingga memicu untuk menurunkan kadar emulsi pada hidrolisat protein kepala udang tersebut. Gbogouri *et al.*, (2004). menyatakan bahwa kestabilan emulsi akan lebih baik pada derajat hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan peptida panjang. Peptida-peptida yang terbentuk akan terserap pada lapisan minyak akibatnya kestabilan emulsi menjadi lebih rendah. Koesoemawardani *et al.*, (2011).menambahkan bahwa perbedaan stabilitas emulsi pada hidrolisat yang dihasilkan oleh masing-masing enzim yang digunakan bergantung pada sifat spesifik enzim dalam memecah protein dan gugus aktifnya.

4.2.6 Analisis Daya Buih

Data pengamatan dan analisis data daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dibandingkan daya buih hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar volume molase dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap daya buih hidrolisat protein kepala udang vaname. Daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 16 berikut.



Gambar 16. Daya buih kontrol dan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Gambar 19 menunjukkan bahwa daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) lebih rendah bila dibandingkan daya buih hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Noviati (2007) melaporkan bahwa khamir laut

memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk pembelahan sel dan metabolismenya. Selain itu, Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi.

Gambar 16 juga memperlihatkan adanya peningkatan daya buih hidrolisat protein kepala udang vaname antar perlakuan. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa daya buih hidrolisat protein ikan rucah terjadi peningkatan pada lama inkubasi $\frac{1}{2}$ jam yaitu sebesar 9,63%. Hal ini dimungkinkan karena selama selang waktu fermentasi terbentuk asam amino yang dapat mengabsorpsi antara fase udara dengan air sehingga memicu terbentuknya buih yang banyak. 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 16 memperlihatkan bahwa daya buih tertinggi pada hidrolisat protein kepala udang vaname fermentasi 9 hari. Hal ini dimungkinkan pada hari ke-9 protein terhidrolisis sudah mencapai titik optimum sehingga memicu penurunan daya buih pula pada selang lama waktu fermentasi berikutnya.. Rosdianti (2008) menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan proses hidrolisis tidak efisien. Purbasari (2008) menambahkan bahwa kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi, tekstur substrat, enzim, pH dan suhu.

4.2.7 Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname Terbaik

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein kepala udang diperoleh hasil terbaik yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 9 hari dengan volume 300 mL. Hal ini ditinjau dari kandungan protein tertinggi yang diperoleh dari hidrolisat protein kepala udang vaname 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 property dari hidrolisat tersebut seperti pH, emulsi, dan daya buih. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan dari penelitiannya bahwa kualitas produk hidrolisat protein terbaik ditandai dengan daya buih dan emulsi yang tinggi. Komposisi kimia hidrolisat protein kepala udang vaname dan kepala udang vaname dapat dilihat pada Tabel 7 berikut.

Tabel 7. Komposisi kimia hidrolisat protein kepala udang vaname terbaik dan kepala udang vaname

Parameter	Satuan	Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname Terbaik	Kepala Udang Vaname
Kadar Protein	%	65,06	13,94
Kadar air	%	16,04	66,89
Kadar Lemak	%	2,59	4,72
Kadar Abu	%	12,94	14,35
Kadar Karbohidrat	%	3,37	0,10
Kadar Kalsium ^{*)}	%	0,00549	3,16
pH	-	4,47	6,5
Emulsi	%	44,09	-
Daya buih	%	9,99	-

Sumber: Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan (2014).

^{*)} Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan (2014).

Tabel 7 tersebut menunjukkan adanya kesetimbangan massa antara kandungan gizi (proksimat) kepala udang vaname segar dibandingkan dengan hidrolisat protein kepala udang vaname terbaik 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 kepala udang vaname 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. 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).

Kandungan kadar air pada bahan baku kepala udang vaname lebih tinggi bila dibandingkan dengan hidrolisat protein kepala udang vaname. Hal ini dimungkinkan karena kepala udang vaname segar memiliki kandungan air baik kerikat maupun bebas yang tinggi. Selain itu kepala udang vaname ini belum mengalami proses dari hidrolisis yang akan menurunkan kadar airnya. Hadiwiyoto (1993) menyatakan bahwa dalam tubuh ikan yang masih segar memiliki kandungan air bebas dan terikat yang tinggi. Mujiica et al., (2011) menambahkan bahwa kadar air kepala udang vaname 74,22%.

Hidrolisat protein kepala udang menunjukan hasil kadar lemaknya lebih rendah bila dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini dimungkinkan karena lemak pada bahan baku menguap menjadi asam lemak yang bersifat volatile saat berlangsungnya hidrolisis. Sulistiani (2009) menyatakan lemak yang dihidrolisis akan menghasilkan asam-asam lemak yang mudah menguap (*Volatile Fatty Acid*). Purbasari (2008) menambahkan bahwa hidrolisat protein

dengan kadar lemak yang rendah pada umumnya lebih stabil dan tahan lama. Selain itu, rendahnya kadar lemak pada produk hidrolisat dapat digunakan sebagai makanan diet (makanan dengan kandungan lemak kurang dari 5%).

Kandungan kadar abu pada bahan baku kepala udang vaname segar lebih tinggi bila dibandingkan dengan hidrolisat protein kepala udang vaname. Hal ini dimungkinkan karena pada bahan baku awal belum mengalami hidrolisis atau degradasi terhadap unsur mineral atau unsur-unsur lain yang menyebabkan kadar abu turun pada jangka waktu fermentasi. Hidayat (2005) melaporkan bahwa kadar abu hidrolisat ikan selar kuning dari hasil penelitiannya yaitu 16,98%. Arifin (2008) menyatakan bahwa sebagian besar unsur mineral termasuk zat anorganik atau kadar abu.

Bahan baku kepala udang vaname segar memiliki kadar karbohidrat lebih rendah bila dibandingkan dengan hidrolisat protein kepala udang vaname. Hal ini dimungkinkan karena kadar karbohidrat yang terkandung dalam kepala udang vaname memang sedikit. Bahkan, Mujiica *et al.*, (2013) melaporkan bahwa kepala udang vaname tidak memiliki sedikitpun kandungan karbohidrat. Pada hidrolisat protein kepala udang vaname ini memiliki kandungan kadar karbohidrat 3,36%. Hal ini dimungkinkan adanya penambahan molase dalam pembuatan hidrolisat tersebut. Sari (2014) menyatakan bahwa kadar karbohidrat pada molase rebus yaitu 5,73%.

Kadar kalsium hidrolisat protein kepala udang vaname (Lampiran 16) lebih rendah bila dibandingkan bahan baku kepala udang vaname segar. Hal ini dimungkinkan karena sebagian kalsium yang ada pada bahan baku kepala udang segar telah digunakan untuk nutrisi pertumbuhan khamir laut. Retnowati *et al.*, (2014) melaporkan bahwa selain sumber karbon, khamir laut juga memerlukan mineral untuk pertumbuhan dan metabolismenya. Sukoso (2012)

dalam bukunya menjelaskan bahwa mineral yang digunakan nutrisi khamir laut yaitu kalsium, pospor, ferrum, dan klor.

Derajat keasaman (pH) bahan baku kepala udang vaname lebih tinggi bila dibandingkan dengan pH hidrolisat protein kepala udang vaname. Hal ini dimungkinkan karena bahan baku kepala udang vaname masih dalam kondisi segar dan belum mengalami hidrolisis. Karnila *et al.*, (2006) melaporkan kepala udang segar memiliki kandungan pH 6-7. Apabila bahan baku telah terhidrolisis, pH akan menurun. Hal ini dimungkinkan karena degradasi bahan organik saat fermentasi yang memicu banyaknya asam yang terbentuk.

Emulsi dan daya buih hanya ada pada hidrolisat protein kepala udang. Hal ini dimungkinkan emulsi dan daya buih sebagai parameter atau property tingkat kualitas dari hidrolisat protein tersebut. Koesoemawardani *et al.*, (2008) melaporkan dari penelitiannya bahwa kualitas produk hidrolisat protein terbaik ditandai dengan daya buih dan emulsi yang tinggi.

4.2.8 Analisis Total Asam Amino

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein kepala udang diperoleh hasil terbaik yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 9 hari dengan volume 300 mL. Hasil terbaik hidrolisat protein kepala udang vaname ini dianalisis total asam amino untuk mengetahui asam-asam amino yang terkandung dalam produk hidrolisat protein kepala udang vaname tersebut. Analisis data total asam amino hidrolisat protein kepala udang vaname dapat dilihat pada Lampiran 17. Kandungan asam amino hidrolisat protein kepala udang yang dibandingkan dengan kepala udang northern pink dapat dilihat pada Tabel 8 berikut.

Tabel 8. Kandungan asam amino hidrolisat protein kepala udang vaname dan kepala udang northern pink

No.	Jenis Asam Amino	Kandungan Asam Amino Hidrolisat Protein (%)		
		Kepala Udang Vaname ¹	Kepala Udang Vaname ²	Kepala Udang Northern pink ³
Esensial				
1	Lisin	0,90	34,82	5,07
2	Histidin	0,20	10,71	2,82
3	Arginin	0,64	35,27	4,35
4	Leusin	0,63	33,71	4,90
5	Isoleusin	0,46	18,53	2,45
6	Threonin	0,24	16,29	3,43
7	Methionin	0,11	10,27	2,42
8	Valin	0,66	22,22	3,15
9	Triptofan	-	5,13	-
10	Phenilalanin	0,34	19,42	3,69
Non Esensial				
11	Glutamat	1,96	58,71	9,77
12	Sistin	-	1,79	0,48
13	Aspartat	1,17	38,39	6,36
14	Alanin	1,23	31,03	5,13
15	Serin	0,12	11,83	3,62
16	Glisin	0,47	35,49	5,54
17	Prolin	1,08	25,89	4,42
18	Tirosin	0,17	17,64	3,54
	Total	10,40	427,14	71,14

Sumber: ¹ Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (2014).

² Cao *et al.*, (2007).

³ Ruttanapornvareesakul (2005).

Tabel 8 menunjukkan bahwa asam amino yang diperoleh hidrolisat protein kepala udang vaname dan hidrolisat protein kepala udang northern pink, pada umumnya mengandung 16-18 macam asam amino. Hal ini dimungkinkan hidrolisis yang terjadi pada produk hidrolisat tersebut berjalan mendekati sempurna. 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. Abun (2006) menjelaskan bahwa umumnya protein mengandung 16% unsur N terlarut dan kadang-kadang mengandung unsur fosfor atau sulfur. Protein juga merupakan suatu makromolekul atau molekul besar yang terbentuk dari molekul - molekul kecil yang terangkai secara berulang. Molekul yang membentuk suatu protein ialah asam amino yang biasa disebut juga monomer. Biasanya sifat polimer tidak hanya ditentukan dari sifat monomernya. Jadi belum tentu sama jumlah total asam amino dengan kadar protein protein dalam suatu bahan.

Jika dilihat dari jumlah asam amino untuk setiap jenisnya, hidrolisat protein kepala udang vaname pada penelitian ini mengandung asam amino lebih rendah bila dibandingkan dengan hidrolisat lainnya. 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). Bueno *et al.*, (2008) menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar protein atau asam-asam amino yang dihasilkan. Mujiica *et al.*, (2013) menambahkan kandungan protein kepala udang vaname 11,53%.

Asam amino yang penting dan perlu mendapat perhatian khusus yaitu asam amino esensial. Mutu protein juga dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut. Pada prinsipnya, protein yang menyediakan asam amino esensial dalam komposisinya berarti protein tersebut

memiliki mutu yang tinggi dan dapat digunakan dalam kebutuhan manusia (Purbasari, 2008). Tabel 7 memaparkan bahwa terdapat 9 asam amino esensial yaitu lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonine, methionine, valin, dan phenilalanin. Selain itu juga terdapat 7 asam amino non esensial antara lain glutamat, sistin, aspartate, alanine, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Pada produk hidrolisat hampir semua jenis asam amino esensial dihasilkan kecuali triptofan. Hal ini dikarenakan triptofan akan mengalami kerusakan jika dianalisis pada saat proses hidrolisis asam. Untuk menganalisis asam amino tersebut harus menggunakan hidrolisis basa. Hidrolisis basa yang biasanya dilakukan menggunakan NaOH 2-4 N dan tidak merusak triptofan tetapi menyebabkan deaminasi terhadap asam amino lainnya (Hidayat, 2011).

Produk hidrolisat protein kepala udang vaname dan hidrolisat lainnya, 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. 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 menu penderita gangguan pencernaan, mempercepat penyembuhan luka pada usus, meningkatkan kesehatan mental, dan meredakan depresi.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian tentang Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname yaitu hidrolisat protein kepala udang vaname terbaik pada lama fermentasi 9 hari dan volume molase rebus 300 mL.

5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu apabila ingin membuat hidrolisat protein, dapat menggunakan penambahan volume molase rebus 300 mL dan lama fermentasi selama 9 hari. Selain itu, perlu adanya pemurnian enzim protease dari hasil metabolit khamir laut dengan harapan akan meningkatkan kandungan asam amino hidrolisat protein kepala udang tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abun. 2009. Pengolahan Limbah Udang Windu Secara Kimiawi dengan NaOH dan H₂SO₄ terhadap Protein dan Mineral Terlarut. Skripsi. Universitas Padjadjaran: Jatinangor
- Adiwidjaya, D., Supito, dan I. Sumantri. 2008. Penerapan Teknologi Budidaya Udang Vaname *L. vannamei* Semi-intensif pada Lokasi Tambak Salinitas Tinggi. Media Budidaya Air Payau Perekayasaan.
- Afrianto, E dan E. Liviawati. 1992. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta
- Agus H.T dan Harun. Pemanfaatan Limbah Kepala Udang Untuk Menopang Keberhasilan Budidaya Ikan Air Tawar di Pulau Singkep. Proyek Pengkajian dan Pemanfaatan Sumberdaya Hayati
- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Sccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. J. Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 15 (1): 49 – 55
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein menggunakan Enzim Papain. Skripsi. 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. J. Pangan dan Agroindustri. 2 (2): 59-70
- A.O.A.C. 1984. Officials Methods of Analysis. Assoiciation of Officials Analytical Chemists. Wasington.D.C..USA
- Ariesta, A. 2007. Karakteristik Mutu dan Kelarutan Kithosan dari Ampas Silase Kepala Udang Windu (*P. monodon*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Arifin, Z. 2008. Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro dalam Sistem Biologi dan Metode Analisisnya. J. Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 27 (3): 99-105
- 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
- Bamforth, C. W.. 2005. Food, Fermentation and Micro-organisms. New York

- Bharathi, S., D. Saravanan, M. Radhakrishnan, and R. Balagurunathan. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Reference to Inulinase Production. *J. Chem.Tech. Research.* 3 (3): 1514-1519
- Bekatorou, A., C. Psarianos, and A..A. Koutinas. 2006. Production of Food Grade Yeast. *J. Food Technol. Biotech.* 44 (3): 407 – 415
- Bernadeta, P. Ardiningsih, dan I. H. Silalahi. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. *J. Pengeluaran Kas.* 1 (1): 26 – 30
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, dan M. Wootton. 1978. Ilmu Pangan. UI Press : Jakarta
- Bueno-Solano, C., J. L. Cervantes, O. N. C. Baypoli, R. L. Garcia, N. P. A. Bante, and D. I. S. Machado. 2008. Chemical and Biological Characteristics of Protein Hydrolysates from Fermented Shrimp by-products. Article. Mexico
- Candra, J. I. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam Ikan Bandengan (*Chanos chanos*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Cao, W., C. Zhang, P. Hong, and H. Ji. 2008. Response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis. *J. Food Chem.* 109 (8): 176-183
- Damuringrum, A. A. 2002. Mempelajari Karakteristik Bakso Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan bubuk flavor dari ekstrak kepala udang windu (*Penaeus monodon*). Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Darmawan, E., S. Mulyaningsih dan F. Firdaus. 2007. Karakteristik Khitosan yang Dihasilkan dari Limbah Kulit Udang Vaname dan Daya Hambatnya terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *J. Logika.* 4 (2): 28-40
- Dewi, G. C. 2002. Studi Penggunaan Enzim Papain pada Produksi Hidrolisat Protein Ikan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. 2005. Statistik Ekspor Hasil Perikanan 2004. Departemen Kelautan dan Perikanan
- Fuziah, 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
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia: Jakarta
- Febriani. 2001. Pemanfaatan Fungi sebagai Sumber Protein Nabati Alternatif untuk Pertumbuhan dan Konversi Pakan Juvenile Ikan Kerapu Tikus. *J. Agrotek.* 11 (2): 2764-2769

- Firlianty. 2009. Pemanfaatan Limbah Udang (*Penaeus sp.*) sebagai Alternatif bahan pengolahan Kerupuk untuk Mengurangi Resiko Pencemaran Lingkungan. J. Tropical Fisheries. 4 (2): 450 – 459
- Gbogouri, G.A., M. Linder, J. Fanni, and M. Parmentier. 2004. Influence of Hydrolysis Degree on The Functional Properties. J Food Science. 69 (8): 615-622
- Hadiwiyoto, S. 1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Jilid 1. Liberty. Yogyakarta
- Hartanto, R. 2003. Modul Metodologi Penelitian. Universitas Diponegoro. Semarang
- Haryani, K., Hargono, dan C. S. Budiati. 2007. Pembuatan Khitosan dari Kulit Udang untuk Mengadsorpsi Logam krom (Cr^{6+}) dan Tembaga (Cu). J. Reaktor. 11 (2): 86 – 90
- 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. J. Gizi Indo. 1 (2): 34-40
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Hidayat, T. 2011. Profil Asam Amino Kerang Bulu. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Holihah. 2005. Pengaruh Penambahan Molase terhadap Keefektifan Ekstrak Kompos untuk Pengendalian *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butter dan Bisby Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai. Skripsi. 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 Gula Pasir dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Sirup Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Indratwari, A. 2010. Karakteristik Ekstrak Khamir Laut dalam Hidrolisat Protein Kepala Ikan Peperek (*Lelognathus sp.*). 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 (*Karapaks penaeus 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
- Kanna, I. dan K. Amri. 2008. Budidaya Udang Vanname Secara Intensif, Semi Intensif dan Tradisional. Penerbit PT. Gramedia. Jakarta.
- Karnila, R., Suparmi, dan M. Romaida. 2006. Kajian Sifat Mutu Udang Galah M. rosenbergii Segar pada Penyimpanan Suhu Kamar. J. Berkala Perikanan Terubuk. 33 (2): 121-125
- Kartika, Y. D. 2009. Karakterisasi Sifat fungsional Konsentrat Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L.). Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Kholilah, W. 2002. Daya Terima dan Gizi Biskuit dengan Penambahan Konsentrat Protein Ikan Layang (*Decapterus russelli* Ruppel.) dan Difortifikasi Zat Besi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Koesoemawardani, D. dan S. Hadiwiyoto. 2001. Produksi Hidrolisat Protein Ikan Kembung. Himpunan Makalah Seminar Teknologi Pangan Buku A. Teknologi Pangan dan Rekayasa. Semarang.
- Koesoemawardani, D., F. Nuraini, dan Hidayati. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat protein ikan Rucah. J. Natur Indo.13 (3): 256 – 261
- Kordi, G dan A.B. Tancung. 2005. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. Penerbit Rineka Cipta: Jakarta
- Kurniati, L. I., N. Aida, S. Gunawan, dan T. Widjaja. 2012. Pembuatan MOCAF (Modifies Cassava Flour) dengan Proses Fermentasi menggunakan *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, dan *R. oryzae*. J. Teknik Pomits. 1 (1): 1-6
- Kusmartono, B. dan M. A. Noya. 2008. Hidrolisis Kolagen Pembuatan Lem dari Kulit Split dengan Katalisator H_2SO_4 . J. Teknologi. 1 (1): 78-82
- Lestari, A. 2009. Manajemen Risiko dalam Usaha Pembenihan Udang Vaname (*L. vannamei*), Studi Kasus di PT. Suri Tani Pemuka, Kabupaten Serang, Provinsi Banten. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Li, J., Z. Chi, Z. Liu, L. Peng, and X. Wang. 2009. Cloning and Characterization of a novel aspartic protease from the marine yeast *aureobasidium pullulans* for Bioactive Peptide Production from Different Sources. J. Marine Biotech. 27 (5): 343-351
- Machbubatul. 2008. Pembuatan Kaldu dari Kepala Ikan Tuna dengan Cara Hidrolisis Asam (Kajian Penambahan Air dan pH). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang

- Made, A., S. Saleh dan Andayani. 1996. Kajian tentang Kualitas Produk Model Aktivitas dan Manfaat Penggunaan Kultur Khamir dalam Lahan Ternak Ayam. Direktorat Pembinaan dan Pengabdian Masyarakat. Dirjen Pendidikan Tinggi. Depdikbud. Jakarta
- Mahata, M. E. 2012. The Effect of shrimp Waste Hydrolysate on Broiler's Tibia Weight, Calcium and Phosphorous Content. J. Nutrition. 11 (4): 375 – 378
- Mujiica, P. I. C., M. M. Lima, M. L. Nunes, A. B. Santos, and A. M. Lima. 2013. Chemical Characterization of Head Gray Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Abstract. Universidade Federal do Tocantins. Campus de Palmas. Brasil
- Murni, R., Suparjo, Akmal, dan B. L. Ginting. 2008. Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah untuk Pakan. Laboratorium Makanan Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Jambi. Jambi
- Muzaifa, M., Fahrizal, and N. Safriani. 2011. Physicochemical Properties of Fish Protein Hidrolysates Prepares From by Product Using Algae and Flafouryme Enzyme. J.Biological Education. 3 (2): 5 – 8
- Nagahama, T., M. Hamamoto, T. Nakse, H. Takami, and K. Hoikhosi. 2001. Distribution and Identification of Red Yeast in Deep Sea Environment Around the Northwest Pasific Ocean. J. Anthony van Leuwenhoek. 80 : 101 – 171
- 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*. J.Biochem. Biophysic. 46: 294-498
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Permentor *AIR-LIFT* 18 Liter. Skripsi. Universitas Islam Negeri: Jakarta.
- Nurchahyo, H. 2011. Diktat Bioteknologi. Universitas Negeri Yogyakarta: Yogyakarta
- Ogrydziak, D. M. 1993. Yeast Extracellular Proteases. Crit. Rev. Biotechno. 13 (1): 1-55
- Palupi, N. S., F. R. Zakaria, dan E. Prangdimurti. 2007. Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi Pangan. Modul *e-Learning* IPB. Bogor
- Pelczar, M. I. dan E. C. S. Chan. 1989. Mikrobiologi Dasar. Mc Graww Hill Book Company: New York
- Perwitasari, D. S. dan A. Cahyo. 2009. Pembuatan Dekstrin sebagai Bahan Perekat dari Hidrolisis Pati Umbi Talas dengan Katalisator HCl. Chemical Engineering Seminar tanggal 18 Juni 2009: hlm: 1-8
- Ping, W., C. Zhenming, and M. A. Chunling. 2006. Alkaline Protease Production by a Strain of Marine Yeast. J. Ocean University of China. 5 (3):: 263-268

- Prescott, S.C. and C. G. Dunn. 1959. *Industrial Microbiology*. Mc.Graw-Hill. New York
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakteristik Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*A. striata*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*C. obtusa*). J. Ilmu Kelautan. 17 (1): 39-48
- Rahim, D. A. 2009. Produksi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* var. ellipsoideus dari sirup dekstrin Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) menggunakan Metode Aerasi Penuh dan Aerasi Dihentikan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Retnowati Y., W.D. Uno, S. Kumaji, dan Y. Humokor. 2014. Pertumbuhan Kapang *M. purpureus*, *A. flafus* dan *Penicillium* sp. pada Media Beras Jagung dan Kombinasi Beras Jagung. Jurusan Biologi. Universitas Negeri Gorontalo
- Rita, I. 2011. Proses Emulsifikasi dan Analisis Biaya Produksi Minuman Emulsi minyak sawit merah. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Rieuwpassa, F.J., J. Santoso, dan W. Trilaksani. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Konsentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*K. pelamis*). J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis. 5 (2): 299-309
- 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
- Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Bina Cipta: Jakarta
- Salwanee, S., W. M. Wan Aida, S. Mamot, M. Y. Maskat, and S. Ibrahim. 2013. Effect of Enzyme Concentration, Temperature, PH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna (*Euthynnus affinis*) by Using Alcalase. J. Sains Malaysiana. 42 (3): 279 – 287
- Sari, R. D. 2011. Optimasi Produksi Etanol oleh Flocculant *Sacchromyces cerevisiae* (NRRL – Y 265) dari Tetes Tebu (Kajian Kecepatan Agitasi dan Konsentrasi Urea). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Sari, S. P. 2014. Substitusi Molase Rebus dengan Kadar yang Berbeda pada Medium Fermentasi Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang
- Septiani, Y., T. Purwoko, dan A. Pangastuti. 2004. Kadar Karbohidrat, Lemak, dan Protein pada Kecap dari Tempe. J. Biotech. 1 (2): 48-53

- Simanjorang, E., N. Kurniawati, dan Z. Hasan. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. J. Perikanan dan Kelautan. 3 (4): 209-220
- Simbolon, K. 2008. Pengaruh Presentase Ragi Tape dan Lama Fermentasi terhadap Mutu Tape Ubi Jalar. Skripsi. Universitas Sumatera Utara
- Sitompul, R. 2011. Teknologi Energi Terbarukan yang Tepat untuk Aplikasi di Masyarakat Pedesaan. PNPM Support Facility (PSF): Jakarta
- SNI 06-6989.11-2004. Air dan Air Limbah – Bagian 11: Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. Badan Standarisasi Nasional
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 2003. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty: Yogyakarta
- Sugoro, I. 2006. Optimasi Sumber Nitrogen Probiotik Khamir R1 dan R110 dalam Medium Ekstrak Singkong. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. hlm. 905-911
- Suharso, T. 2006. Pembuatan Bubuk Flavour Kepala Udang Windu (*P. monodon*) secara Enzimatis sebagai Bumbu Instan Masakan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB: Malang
- Sulistiani, E. 2009. Pengaruh Waktu Penyimpanan terhadap Nilai Asam Lemak yang Mudah Menguap (VFA) pada Lateks dalam Pembuatan Karet Remah di PT. Bridgestone Sumatera Rubber Estate. Karya Ilmiah. Universitas Sumatera Utara
- Sulistyo, D. R. Arief, dan A. Nur. 2007. Pembuatan Nata dari Limbah Cair Tahu dengan menggunakan Molasses sebagai Sumber Karbon *Acetobacter Xylinum*. J. Ekulibrium. 6 (1): 1 – 5
- Suptijah, P., E. Salamah, H. Sumaryanto, J. Santoso, dan S. Purwaningsih. 1992. Pengaruh Berbagai Metode Isolasi Khitin Kulit Udang terhadap Kadar dan Mutunya. Laporan Akhir Penelitian. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Susanto, A. 2009. Uji Korelasi Kadar Air Kadar Abu Water Activity dan Bahan Organik pada Jagung di tingkat petani, pedagang pengumpul dan Pedagang Besar. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan veteriner.
- 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

- Tobe, S., Takami, Ikeda, and Horikoshi. 1976. Production of Some Enzyme Properties of Alkaline Protease of *Candida Lipolytica*. J. Agric. Biomol. Chem. 40: 1087-1092
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang
- Widadi, I. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Widyasari, R. A. H. 2000. Pemanfaatan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) dalam Pengolahan "Cookies" sebagai Makanan Tambahan Balita. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Williams. 2007. Teori Pengembangan Konsep dan Aplikasi. Pustaka Belajar: Yogyakarta
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- _____. 2007. Teknobiologi Pangan. M-Brio Press: Bogor
- Wiyanto. 2003. Bioprospecting Khamir Laut melalui Pendekatan Fisiologis dan Isolasi DNA Total. Thesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya: Malang
- Yuniasari, D. 2009. Pengaruh Pemberian Bakteri Nitrifikasi dan Denitrifikasi serta Molase dengan C/N Rasio berbeda terhadap Profil Kualitas Air, Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Yustianti, M. N. Ibrahim, dan Ruslaini. 2013. Pertumbuhan dan Sintasan Larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui substitusi tepung Ikan dengan Tepung Usus Ayam. J.Mina Laut Indonesia. 01 (01): 93 – 103
- Zhenming, C., L. Zhiqiang, G. Lingmei, G. Fang, M. A. Chunling, W. Xianghong, and LI. Haifeng. 2006. Marine Yeast and Their Applications in Marineculture. J. Ocean University of China. 5 (3): 251 – 256
- Zulkarnain, B. 2000. Limbah Udang Sebagai Sumber Protein Pintas Rumen. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan komposisi kultur khamir laut

- ❖ Air laut = 1 Liter = 1000 mL

- ❖ Gula pasir 0,5%

$$0,5\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,5\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{1000 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$0,5\% = 5 \text{ mL} = 4,5 \text{ g} \approx 5 \text{ g}$$

Jadi gula pasir yang digunakan dalam kultur khamir laut sejumlah 5 g

- ❖ Pupuk daun 0,2%

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{1000 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$0,2\% = 2 \text{ mL} = 1,8 \text{ g} \approx 2 \text{ g}$$

Jadi pupuk daun yang digunakan dalam kultur khamir laut sejumlah 2 g

- ❖ Starter khamir laur 0,2%

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya starter khamir laut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya starter khamir laut}}{1000 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$= 2 \text{ mL}$$

Jadi starter khamir laur yang digunakan dalam kultur khamir laut sejumlah 2 mL

Lampiran 2. Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir laut

❖ Air laut = 50 mL

❖ Gula pasir 0,25%

$$0,25\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,25\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{50 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$0,5\% = 0,125 \text{ g}$$

Jadi gula pasir yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut sejumlah 0,125 g

❖ Pupuk daun 0,1%

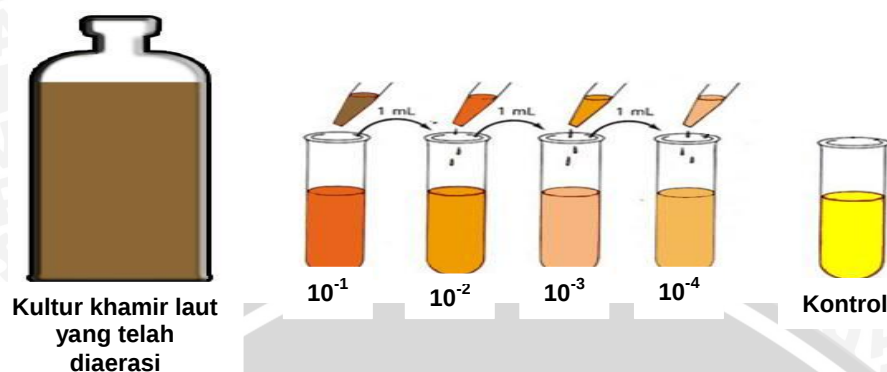
$$0,1\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,1\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{50 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$0,5\% = 0,05 \text{ g}$$

Jadi pupuk daun yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut sejumlah 0,05 g

Lampiran 3. Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran



Pengamatan hari ke- 0

Hasil kepadatan sel khamir laut pada pengenceran 10^{-4} menggunakan hemositometer pada mikroskop dan pengambilan sampel menggunakan mikropipet ukuran 50 mikrolit = 0,05 mL yaitu 10,0969 sel

$0,05 \text{ mL} \approx 10,0969 \text{ sel}$

$5 \text{ mL} = 1009,69 \text{ sel}$

$1 \text{ mL} = 201,938 \text{ sel}$

$1 \text{ tabung reaksi} = 10 \text{ mL} \approx 2019,38 \text{ sel (tabung } 10^{-4})$

$10^{-3} = 20193,8 \text{ sel}$

$10^{-2} = 201938 \text{ sel}$

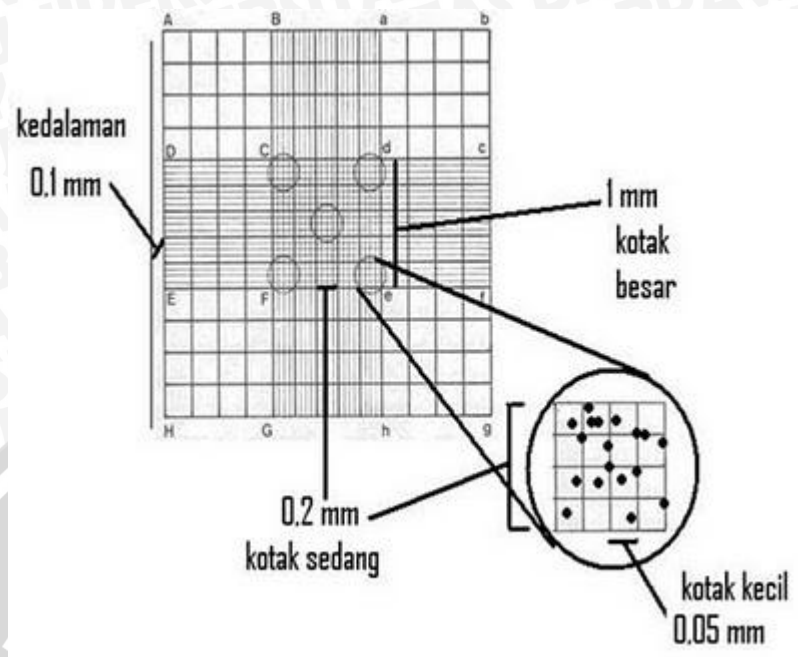
$10^{-1} = 2019380 \text{ sel}$

$1 \text{ mL} = 2,01938 \times 10^6 \text{ sel}$

$1 \text{ Lt} = 2,01938 \times 10^9 \text{ sel}$

Jadi dalam 1 liter kultur khamir laut pada hari ke- 0 terdapat $2,01938 \times 10^9$ sel khamir laut

Lampiran 4. Perhitungan kepadatan sel khamir laut



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

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

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

$$\begin{aligned}\text{karena } 1 \text{ mL} &= 1 \text{ cm}^3 \\ \text{maka, } &= 0,04 \text{ mm}^3 \\ &= 0,000004 \text{ cm}^3 \\ &= 4 \times 10^{-6} \text{ mL}\end{aligned}$$

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 = 1

Pojok kanan bawah = 2

Pojok kiri atas = 10

Pojok kiri bawah = 9

Tengah = 3

Jumlah sel = $(1+2+10+9+3)/5$

= 25/5

= 5

Jumlah sel/mL = $5 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $1,25 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 10,0969

Jumlah sel = $(125+120+33+75+94)/5$

= 447/5

= 89,4

Jumlah sel/mL = $89,4 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $22,35 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,3493

Pengamatan jam ke-12

Pojok kanan atas = 37

Pojok kanan bawah = 44

Pojok kiri atas = 17

Pojok kiri bawah = 10

Tengah = 62

Jumlah sel = $(37+44+17+10+62)/5$

= 170/5

= 34

Jumlah sel/mL = $34 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

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

log sel/mL = 10,9294

Jumlah sel = $(71+92+41+148+102)/5$

= 454/5

= 90,8

Jumlah sel/mL = $90,8 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $22,7 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,356

Pengamatan jam ke-24

Pojok kanan atas = 125

Pojok kanan bawah = 120

Pojok kiri atas = 33

Pojok kiri bawah = 75

Tengah = 94

Pengamatan jam ke-48

Pojok kanan atas = 173

Pojok kanan bawah = 175

Pojok kiri atas = 53

Pojok kiri bawah = 194

Tengah = 94

Jumlah sel = $(173+175+53+194+94)/5$

= 689/5

= 137,8

Jumlah sel/mL = $137,8 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $34,45 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,5371

Pengamatan jam ke-60

Pojok kanan atas = 239

Pojok kanan bawah = 163

Pojok kiri atas = 115

Pojok kiri bawah = 109

Tengah = 289

Jumlah sel= (239+163+115+109+289)/5

= 915/5

= 183

Jumlah sel/mL= $183 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $45,75 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,6604

Pengamatan jam ke-72

Pojok kanan atas = 234

Pojok kanan bawah = 179

Pojok kiri atas = 129

Pojok kiri bawah = 112

Tengah = 311

Jumlah sel= (234+179+129+112+311)/5

= 962/5

= 192,4

Jumlah sel/mL= $192,4 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $48,1 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,6821

Pengamatan jam ke-84

Pojok kanan atas = 66

Pojok kanan bawah = 102

Pojok kiri atas = 133

Pojok kiri bawah = 214

Tengah = 143

Jumlah sel= (66+102+133+214+143)/5

= 658/5

= 131,6

Jumlah sel/mL= $131,6 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $32,9 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,5172

Pengamatan jam ke-96

Pojok kanan atas = 53

Pojok kanan bawah = 74

Pojok kiri atas = 74

Pojok kiri bawah = 134

Tengah = 57

Jumlah sel = (53+74+74+134+57)/5

= 392/5

= 78,4

Jumlah sel/mL= $78,4 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$

= $19,6 \times 10^{10}$ sel/mL

log sel/mL = 11,2922

Lampiran 5. Perhitungan rendemen hidrolisat protein kepala udang dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Perlakuan		Rendemen (%)	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus			
0 hari	100 mL	30.5479	227.73	69.5667327
	200 mL	34.9768	339.37	118.700766
	300 mL	43.4534	459.78	199.790043
3 hari	100 mL	36.0067439	226.03	81.3860433
	200 mL	39.7810237	342.96	136.432999
	300 mL	48.2852021	457.16	220.74063
6 hari	100 mL	41.5041621	228.63	94.8909657
	200 mL	47.2869737	342.77	162.08556
	300 mL	50.994933	453.08	231.047842
9 hari	100 mL	36.9225955	227.59	84.0321351
	200 mL	40.850051	331.77	135.528214
	300 mL	45.4957681	448.29	203.952979
12 hari	100 mL	26.3636428	232.15	61.2031968
	200 mL	32.6999897	338.08	110.552125
	300 mL	36.5944248	461.92	169.036967

Rumus %Rendemen = $\frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$

Lampiran 6. Data pengamatan dan analisis data rendemen kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data Pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	200 mL	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	300 mL	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3 hari	100 mL	36,0067	35,7394	36,4472	36,0644	0,35740
	200 mL	39,7810	40,4270	40,0732	40,0937	0,32350
	300 mL	48,2852	47,0818	47,2904	47,5525	0,64305
6 hari	100 mL	41,5041	41,6420	40,1129	41,0863	0,84585
	200 mL	47,2869	46,5736	46,9847	46,9484	0,35805
	300 mL	50,9949	48,5134	50,8017	50,1033	1,38027
9 hari	100 mL	36,9226	36,9880	37,0398	36,9834	0,05874
	200 mL	40,8500	41,4859	40,6127	40,9829	0,45153
	300 mL	45,4957	44,6749	44,9938	45,0548	0,41380
12 hari	100 mL	26,3636	26,2912	25,5480	26,0679	0,45092
	200 mL	32,6999	30,5856	30,1703	31,1519	1,35659
	300 mL	36,5944	40,2985	40,4369	39,1099	2,17963

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Rendemen_Pasta				
Lama Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	0,0000	0,00000	3
	200 mL	0,0000	0,00000	3
	300 mL	0,0000	0,00000	3
	Total	0,0000	0,00000	9
3 hari	100 mL	36,0645	0,35740	3
	200 mL	40,0938	0,32351	3
	300 mL	47,5525	0,64305	3
	Total	41,2369	5,06378	9
6 hari	100 mL	41,0864	0,84586	3
	200 mL	46,9485	0,35806	3
	300 mL	50,1034	1,38027	3
	Total	46,0461	4,04849	9
9 hari	100 mL	36,9835	0,05874	3
	200 mL	40,9829	0,45154	3
	300 mL	45,0549	0,41380	3
	Total	41,0071	3,50857	9

12 hari	100 mL	26,0679	,45093	3
	200 mL	31,1520	1,35659	3
	300 mL	39,1100	2,17963	3
	Total	32,1100	5,84017	9
Total	100 mL	34,0980	5,49251	15
	200 mL	38,8581	5,60162	15
	300 mL	44,9884	4,02676	15
	Total	39,3148	6,71302	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Rendemen_Pasta

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	13175.946 ^a	14	941,139	1,336E3	0,000	0,998
Intercept	46310.707	1	46310,707	6,573E4	0,000	1,000
Lama_Fermentasi	12489.483	4	3122,371	4,432E3	0,000	0,998
Volume Molase	520.976	2	260,488	369,739	0,000	0,961
Lama_Fermentasi * Volume Molase	165.488	8	20,686	29,362	0,000	0,887
Error	21.136	30	0,705			
Total	59507.789	45				
Corrected Total	13197.082	44				

a. R Squared = 0,998 (Adjusted R Squared = 0,998)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama Fermentasi

Dependent Variable: Rendemen_Pasta

Volume Molase	Lama Fermentasi	Mean	Std, Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	-1,066E-14	0,485	-0,990	0,990
	3 hari	36,064	0,485	35,075	37,054
	6 hari	41,086	0,485	40,097	42,076
	9 hari	36,983	0,485	35,994	37,973
	12 hari	26,068	0,485	25,078	27,058
200 mL	0 hari	-9,770E-15	0,485	-0,990	0,990
	3 hari	40,094	0,485	39,104	41,083
	6 hari	46,948	0,485	45,959	47,938
	9 hari	40,983	0,485	39,993	41,973
	12 hari	31,152	0,485	30,162	32,142
300 mL	0 hari	-2,132E-14	0,485	-0,990	0,990
	3 hari	47,553	0,485	46,563	48,542
	6 hari	50,103	0,485	49,114	51,093
	9 hari	45,055	0,485	44,065	46,045
	12 hari	39,110	0,485	38,120	40,100

❖ Post Hoc Test

Duncan

Lama Fermentasi	N	Subset			
		1	2	3	4
0 hari	9	0,0000			
12 hari	9		32,1100		
9 hari	9			41,0071	
3 hari	9			41,2369	
6 hari	9				46,0461
Sig.		1,000	1,000	0,566	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

The error term is Mean Square(Error) = 0,705.

Duncan

Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
100 mL	15	28,0404		
200 mL	15		31,8354	
300 mL	15			36,3641
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

The error term is Mean Square(Error) = 0,717

Duncan

Interaksi	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
0 hari - 100 ml	3	0,00								
0 hari - 200 ml	3	0,00								
0 hari - 300 ml	3	0,00								
12 hari - 100 ml	3		26,06							
12 hari - 200 ml	3			31,15						
3 hari - 100 ml	3				36,06					
9 hari - 100 ml	3				36,98					
12 hari - 300 ml	3					39,11				
3 hari - 200 ml	3					40,09	40,09			
9 hari - 200 ml	3						40,98			
6 hari - 100 ml	3						41,08			
9 hari - 300 ml	3							45,05		
6 hari - 200 ml	3								46,94	
3 hari - 300 ml	3								47,55	
6 hari - 300 ml	3									50,10
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,190	0,161	0,181	1,000	0,385	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7. Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data Pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	18,3569	17,8989	17,5978	17,9512	0,382243
	200 mL	19,2568	18,7267	18,5236	18,8357	0,378558
	300 mL	19,5743	20,0438	19,7529	19,79033	0,236978
3 hari	100 mL	15,11819	16,0612	14,9863	15,38856	0,586241
	200 mL	16,82873	17,002	16,8631	16,89794	0,09174
	300 mL	18,3124	18,2443	17,9936	18,18343	0,16789
6 hari	100 mL	12,892	12,9297	13,0928	12,9715	0,106727
	200 mL	13,1228	13,5398	12,6877	13,11677	0,426082
	300 mL	12,8693	13,0735	12,7556	12,89947	0,161083
9 hari	100 mL	14,1084	14,0314	13,6531	13,93097	0,2437
	200 mL	15,4065	14,7058	15,2488	15,12037	0,367582
	300 mL	16,2298	15,8076	16,0863	16,04123	0,214678
12 hari	100 mL	11,1739	10,952	11,0124	11,0461	0,114724
	200 mL	12,3731	11,8359	11,6114	11,94013	0,391402
	300 mL	11,9295	12,6167	11,825	12,12373	0,430107

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics					
Dependent Variable:Kadar_Air					
Lama Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N	
0 hari	100 mL	17,9512	0,38224	3	
	200 mL	18,8357	0,37856	3	
	300 mL	19,7903	0,23698	3	
	Total	18,8591	0,84906	9	
3 hari	100 mL	15,3886	0,58624	3	
	200 mL	16,8979	0,09174	3	
	300 mL	18,1834	0,16789	3	
	Total	16,8233	1,25013	9	
6 hari	100 mL	12,9715	0,10673	3	
	200 mL	13,1168	0,42608	3	
	300 mL	12,8995	0,16108	3	
	Total	12,9959	0,25280	9	
9 hari	100 mL	13,9310	0,24370	3	
	200 mL	15,1204	0,36758	3	
	300 mL	16,0412	0,21468	3	
	Total	15,0309	0,94849	9	

12 hari	100 mL	11,0461	0,11472	3
	200 mL	11,9401	0,39140	3
	300 mL	12,1237	0,43011	3
	Total	11,7033	0,58062	9
Total	100 mL	14,2577	2,42216	15
	200 mL	15,1822	2,59754	15
	300 mL	15,8076	3,06421	15
	Total	15,0825	2,72318	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kadar_Air

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	323,217 ^a	14	23,087	225,358	0,000	0,991
Intercept	10236,676	1	10236,676	9,992E4	0,000	1,000
Lama_Fermentasi	297,615	4	74,404	726,277	0,000	0,990
Volume Molase	18,242	2	9,121	89,031	0,000	0,856
Lama_Fermentasi * Volume Molase	7,360	8	0,920	8,980	0,000	0,705
Error	3,073	30	0,102			
Total	10562,966	45				
Corrected Total	326,290	44				

a. R Squared = 0,991 (Adjusted R Squared = 0,986)

❖ Estimated Marginal Means

Dependent Variable:Kadar_Air

Volume Molase	Lama Fermentasi	Mean	Std, Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	17,951	0,185	17,574	18,329
	3 hari	15,389	0,185	15,011	15,766
	6 hari	12,972	0,185	12,594	13,349
	9 hari	13,931	0,185	13,554	14,308
	12 hari	11,046	0,185	10,669	11,423
200 mL	0 hari	18,836	0,185	18,458	19,213
	3 hari	16,898	0,185	16,521	17,275
	6 hari	13,117	0,185	12,739	13,494
	9 hari	15,120	0,185	14,743	15,498
	12 hari	11,940	0,185	11,563	12,318
300 mL	0 hari	19,790	0,185	19,413	20,168
	3 hari	18,183	0,185	17,806	18,561
	6 hari	12,899	0,185	12,522	13,277
	9 hari	16,041	0,185	15,664	16,419
	12 hari	12,124	0,185	11,746	12,501

❖ Post Hoc Test

Kadar_Air

Duncan

Lama_Fermentasi	N	1	2	3	4	5
12 hari	9	11,7033				
6 hari	9		12,9959			
9 hari	9			15,0309		
3 hari	9				16,8233	
0 hari	9					18,8591
Sig,		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,102

Kadar_Air

Duncan

Volume Molase	N	1	2	3
100 mL	15	14,2577		
200 mL	15		15,1822	
300 mL	15			15,8076
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,102

Kadar_Air

Duncan

Interaksi	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
12 hari - 100 mL	3	11,04									
12 hari - 200 mL	3		11,94								
12 hari - 300 mL	3		12,12								
6 hari - 300 mL	3			12,89							
6 hari - 100 mL	3			12,97							
6 hari - 200 mL	3			13,11							
9 hari - 100 mL	3				13,93						
9 hari - 200 mL	3					15,12					
3 hari - 100 mL	3					15,38					
9 hari - 300 mL	3						16,04				
3 hari - 200 mL	3							16,89			
0 hari - 100 mL	3								17,95		
3 hari - 300 mL	3								18,18		
0 hari - 200 mL	3									18,83	
0 hari - 300 mL	3										19,79
Sig,		1,000	0,488	0,440	1,000	0,313	1,000	1,000	0,381	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 8. Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data Pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	4,3257	4,2978	4,3572	4,3269	0,029718
	200 mL	3,6342	3,5745	3,6235	3,610733	0,031832
	300 mL	2,6051	2,5979	2,5576	2,586867	0,0256
3 hari	100 mL	3,762	3,8162	3,6802	3,7528	0,068465
	200 mL	3,3357	2,5361	3,4091	3,093633	0,484231
	300 mL	2,1939	2,3231	2,605	2,374	0,210223
6 hari	100 mL	3,547	3,4979	3,5132	3,519367	0,025124
	200 mL	2,9682	3,0461	2,9441	2,986133	0,053312
	300 mL	2,2855	1,6513	2,3258	2,087533	0,378326
9 hari	100 mL	4,6573	3,8268	4,3391	4,2744	0,419013
	200 mL	3,84	3,93	4,2035	3,991167	0,189312
	300 mL	2,4933	2,6921	2,5801	2,5885	0,099666
12 hari	100 mL	4,6961	4,7784	4,4369	4,637133	0,178223
	200 mL	4,0231	4,0632	4,585	4,223767	0,313479
	300 mL	3,1695	3,1124	3,1628	3,148233	0,031213

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Kadar_Lemak				
Lama Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	4,3269	0,02972	3
	200 mL	3,6107	0,03183	3
	300 mL	2,5869	0,02560	3
	Total	3,5082	0,75779	9
3 hari	100 mL	3,7528	0,06847	3
	200 mL	3,0936	0,48423	3
	300 mL	2,3740	0,21022	3
	Total	3,0735	0,65385	9
6 hari	100 mL	3,5194	0,02512	3
	200 mL	2,9861	0,05331	3
	300 mL	2,0875	0,37833	3
	Total	2,8643	0,65528	9
9 hari	100 mL	4,2744	0,41901	3
	200 mL	3,9912	0,18931	3
	300 mL	2,5885	0,09967	3
	Total	3,6180	0,81644	9

12 hari	100 mL	4,6371	0,17822	3
	200 mL	4,2238	0,31348	3
	300 mL	3,1482	0,03121	3
	Total	4,0030	0,68979	9
Total	100 mL	4,1021	0,45601	15
	200 mL	3,5811	0,55200	15
	300 mL	2,5570	0,39765	15
	Total	3,4134	0,79670	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar_Lemak						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	26,359 ^a	14	1,883	35,982	0,000	0,944
Intercept	524,312	1	524,312	1,002E4	0,000	0,997
Lama_Fermentasi	7,340	4	1,835	35,069	0,000	0,824
Volume Molase	18,537	2	9,269	177,139	0,000	0,922
Lama_Fermentasi * Volume Molase	0,481	8	0,060	1,150	0,361	0,235
Error	1,570	30	0,052			
Total	552,240	45				
Corrected Total	27,928	44				

a, R Squared = 0,944 (Adjusted R Squared = 0,918)

❖ Estimated Marginal means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable:Kadar_Lemak						
Volume Molase	Lama Fermentasi	Mean	Std, Error	95% Confidence Interval		
100 mL	0 hari	4,327	0,132	4,057	4,597	
	3 hari	3,753	0,132	3,483	4,023	
	6 hari	3,519	0,132	3,250	3,789	
	9 hari	4,274	0,132	4,005	4,544	
	12 hari	4,637	0,132	4,367	4,907	
200 mL	0 hari	3,611	0,132	3,341	3,880	
	3 hari	3,094	0,132	2,824	3,363	
	6 hari	2,986	0,132	2,716	3,256	
	9 hari	3,991	0,132	3,721	4,261	
	12 hari	4,224	0,132	3,954	4,493	
300 mL	0 hari	2,587	0,132	2,317	2,857	
	3 hari	2,374	0,132	2,104	2,644	
	6 hari	2,088	0,132	1,818	2,357	
	9 hari	2,588	0,132	2,319	2,858	
	12 hari	3,148	0,132	2,879	3,418	

❖ Post Hoc Test

Duncan

Lama_Fermentasi	N	Subset		
		1	2	3
6 hari	9	2,8643		
3 hari	9	3,0735		
0 hari	9		3,5082	
9 hari	9		3,6180	
12 hari	9			4,0030
Sig,		0,062	0,316	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,052

Duncan

Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
300 mL	15	2,5570		
200 mL	15		3,5811	
100 mL	15			4,1021
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,052

Duncan

Interaksi	N	Subset for alpha = 0,05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
6 hari - 300 mL	3	2,0875								
3 hari - 300 mL	3	2,3740	2,3740							
0 hari - 300 mL	3		2,5869	2,5869						
9 hari - 300 mL	3		2,5885	2,5885						
6 hari - 200 mL	3			2,9861	2,9861					
3 hari - 200 mL	3				3,0936					
12 hari - 300 mL	3				3,1482	3,1482				
6 hari - 100 mL	3					3,5194	3,5194			
0 hari - 200 mL	3						3,6107	3,6107		
3 hari - 100 mL	3						3,7528	3,7528		
9 hari - 200 mL	3							3,9912	3,9912	
12 hari - 200 mL	3								4,2238	4,2238
9 hari - 100 mL	3								4,2744	4,2744
0 hari - 100 mL	3								4,3269	4,3269
12 hari - 100 mL	3									4,6371
Sig,		0,136	0,288	0,051	0,421	0,056	0,248	0,062	0,110	0,050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 9. Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data Pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	38,5632	37,9758	38,3215	38,28683	0,29523
	200 mL	40,5743	40,8549	41,2431	40,89077	0,33584
	300 mL	43,3472	42,9768	43,4523	43,25877	0,249781
3 hari	100 mL	46,5794	47,2104	47,739	47,17627	0,580553
	200 mL	50,1103	49,6103	50,264	49,99487	0,341796
	300 mL	53,9099	53,8895	54,2618	54,0204	0,209307
6 hari	100 mL	60,5535	58,0893	56,2812	58,308	2,14453
	200 mL	54,9104	54,0599	55,6555	54,87527	0,79838
	300 mL	63,8743	61,7211	58,7121	61,43583	2,592896
9 hari	100 mL	63,6472	63,7451	62,6003	63,33087	0,63458
	200 mL	58,8735	56,7255	58,3792	57,99273	1,124941
	300 mL	65,3525	65,5105	64,3267	65,06323	0,64273
12 hari	100 mL	64,0105	63,1144	62,3998	63,1749	0,807053
	200 mL	56,6687	57,0171	57,0887	56,92483	0,224688
	300 mL	62,8735	63,4483	63,942	63,42127	0,534763

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Kadar_Protein				
Lama_Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	38,2868	0,29523	3
	200 mL	40,8908	0,33584	3
	300 mL	43,2588	0,24978	3
	Total	40,8121	2,16889	9
3 hari	100 mL	47,1763	0,58055	3
	200 mL	49,9949	0,34180	3
	300 mL	54,0204	0,20931	3
	Total	50,3972	2,99973	9
6 hari	100 mL	58,3080	2,14453	3
	200 mL	54,8753	0,79838	3
	300 mL	61,4358	2,59290	3
	Total	58,2064	3,32654	9
9 hari	100 mL	63,3309	0,63458	3
	200 mL	57,9927	1,12494	3
	300 mL	65,0632	0,64273	3
	Total	62,1289	3,27207	9

12 hari	100 mL	63,1749	0,80705	3
	200 mL	56,9248	0,22469	3
	300 mL	63,4213	0,53476	3
	Total	61,1737	3,22690	9
Total	100 mL	54,0554	10,21874	15
	200 mL	52,1357	6,50109	15
	300 mL	57,4399	8,37951	15
	Total	54,5437	8,59838	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar_Protein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	3221,441 ^a	14	230,103	218,610	0,000	0,990
Intercept	133875,466	1	133875,466	1,272E5	0,000	1,000
Lama_Fermentasi	2885,917	4	721,479	685,442	0,000	0,989
Volume Molase	216,374	2	108,187	102,783	0,000	0,873
Lama_Fermentasi * Volume Molase	119,150	8	14,894	14,150	0,000	0,791
Error	31,577	30	1,053			
Total	137128,484	45				
Corrected Total	3253,018	44				

a. R Squared = 0,990 (Adjusted R Squared = 0,986)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable:Kadar_Protein

Volume Molase	Lama Fermentasi	Mean	Std, Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	38,287	0,592	37,077	39,497
	3 hari	47,176	0,592	45,967	48,386
	6 hari	58,308	0,592	57,098	59,518
	9 hari	63,331	0,592	62,121	64,541
	12 hari	63,175	0,592	61,965	64,385
200 mL	0 hari	40,891	0,592	39,681	42,100
	3 hari	49,995	0,592	48,785	51,205
	6 hari	54,875	0,592	53,666	56,085
	9 hari	57,993	0,592	56,783	59,202
	12 hari	56,925	0,592	55,715	58,135
300 mL	0 hari	43,259	0,592	42,049	44,468
	3 hari	54,020	0,592	52,811	55,230
	6 hari	61,436	0,592	60,226	62,646
	9 hari	65,063	0,592	63,854	66,273
	12 hari	63,421	0,592	62,212	64,631

❖ Post Hoc Test

Kadar_Protein

Duncan		Subset			
Lama_Fermentasi	N	1	2	3	4
0 hari	9	40,8121			
3 hari	9		50,3972		
6 hari	9			58,2064	
12 hari	9				61,1737
9 hari	9				62,1289
Sig,		1,000	1,000	1,000	,058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 1,053

Duncan		Subset		
Volume Molase	N	1	2	3
200 mL	15	52,1357		
100 mL	15		54,0554	
300 mL	15			57,4399
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 1,053

Duncan		Subset for alpha = 0,05									
Interaksi	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 hari - 100 mL	3	38,28									
0 hari - 200 mL	3		40,89								
0 hari - 300 mL	3			43,25							
3 hari - 100 mL	3				47,17						
3 hari - 200 mL	3					49,99					
3 hari - 300 mL	3						54,02				
6 hari - 200 mL	3						54,87				
12 hari - 200 mL	3							56,92			
9 hari - 200 mL	3							57,99			
6 hari - 100 mL	3							58,30			
6 hari - 300 mL	3								61,43		
12 hari - 100 mL	3									63,17	
9 hari - 100 mL	3									63,33	63,33
12 hari - 300 mL	3									63,42	63,42
9 hari - 300 mL	3										65,06
Sig,		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,316	0,128	1,000	0,784	0,059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 10. Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data Pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	19,2156	19,4545	18,9786	19,21623	0,237951
	200 mL	17,5645	17,6132	16,6132	17,26363	0,563818
	300 mL	15,0532	15,1132	14,8989	15,02177	0,110554
3 hari	100 mL	16,0774	15,921	16,1469	16,04843	0,115702
	200 mL	15,014	14,591	15,2933	14,9661	0,353592
	300 mL	13,6722	13,8977	14,0781	13,88267	0,203367
6 hari	100 mL	14,6806	14,6806	14,5591	14,6401	0,070148
	200 mL	14,558	14,558	14,7984	14,63813	0,138795
	300 mL	13,1049	13,1049	13,5116	13,24047	0,234808
9 hari	100 mL	13,7978	13,3667	14,1161	13,7602	0,376112
	200 mL	14,0197	13,7349	13,5255	13,76003	0,248057
	300 mL	12,7553	12,6668	13,4011	12,94107	0,40085
12 hari	100 mL	14,7142	15,5486	14,8787	15,04717	0,441975
	200 mL	13,9099	14,4112	14,2775	14,19953	0,259585
	300 mL	13,4222	13,3251	13,0537	13,267	0,190997

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Kadar_Abu				
Lama_Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	19,2162	0,23795	3
	200 mL	17,2636	0,56382	3
	300 mL	15,0218	0,11055	3
	Total	17,1672	1,84410	9
3 hari	100 mL	16,0484	0,11570	3
	200 mL	14,9661	0,35359	3
	300 mL	13,8827	0,20337	3
	Total	14,9657	0,96147	9
6 hari	100 mL	14,6401	0,07015	3
	200 mL	14,6381	0,13880	3
	300 mL	13,2405	0,23481	3
	Total	14,1729	0,71336	9
9 hari	100 mL	13,7602	0,37611	3
	200 mL	13,7600	0,24806	3
	300 mL	12,9411	0,40085	3
	Total	13,4871	0,50856	9

12 hari	100 mL	15,0472	0,44197	3
	200 mL	14,1995	0,25959	3
	300 mL	13,2670	0,19100	3
	Total	14,1712	0,81819	9
Total	100 mL	15,7424	1,96741	15
	200 mL	14,9655	1,29470	15
	300 mL	13,6706	0,79570	15
	Total	14,7928	1,64721	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kadar_Abu

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	116,768 ^a	14	8,341	95,597	0,000	0,978
Intercept	9847,259	1	9847,259	1,129E5	0,000	1,000
Lama_Fermentasi	73,289	4	18,322	210,004	0,000	0,966
Volume Molase	32,864	2	16,432	188,341	0,000	0,926
Lama_Fermentasi * Volume Molase	10,615	8	1,327	15,208	0,000	0,802
Error	2,617	30	0,087			
Total	9966,645	45				
Corrected Total	119,385	44				

a. R Squared = 0,978 (Adjusted R Squared = 0,968)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable:Kadar_Abu

Volume Molase	Lama_Fermentasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	19,216	0,171	18,868	19,565
	3 hari	16,048	0,171	15,700	16,397
	6 hari	14,640	0,171	14,292	14,988
	9 hari	13,760	0,171	13,412	14,108
	12 hari	15,047	0,171	14,699	15,395
200 mL	0 hari	17,264	0,171	16,915	17,612
	3 hari	14,966	0,171	14,618	15,314
	6 hari	14,638	0,171	14,290	14,986
	9 hari	13,760	0,171	13,412	14,108
	12 hari	14,200	0,171	13,851	14,548
300 mL	0 hari	15,022	0,171	14,673	15,370
	3 hari	13,883	0,171	13,534	14,231
	6 hari	13,240	0,171	12,892	13,589
	9 hari	12,941	0,171	12,593	13,289
	12 hari	13,267	0,171	12,919	13,615

❖ Post Hoc Test

Kadar_Abu

Duncan

Lama_Fermentasi	N	Subset			
		1	2	3	4
9 hari	9	13,4871			
12 hari	9		14,1712		
6 hari	9		14,1729		
3 hari	9			14,9657	
0 hari	9				17,1672
Sig,		1,000	0,991	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,087

Duncan

Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
300 mL	15	13,6706		
200 mL	15		14,9655	
100 mL	15			15,7424
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,087

Duncan

Interaksi	N	Subset for alpha = 0,05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
9 hari - 300 mL	3	12,941							
6 hari - 300 mL	3	13,240	13,240						
12 hari - 300 mL	3	13,267	13,267						
9 hari - 200 mL	3		13,760	13,760					
9 hari - 100 mL	3		13,760	13,760					
3 hari - 300 mL	3			13,882					
12 hari - 200 mL	3			14,199	14,199				
6 hari - 200 mL	3				14,638	14,638			
6 hari - 100 mL	3				14,640	14,640			
3 hari - 200 mL	3					14,966			
0 hari - 300 mL	3					15,021			
12 hari - 100 mL	3					15,047			
3 hari - 100 mL	3						16,048		
0 hari - 200 mL	3							17,263	
0 hari - 100 mL	3								19,216
Sig,		0,212	0,056	0,105	0,093	0,139	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 11. Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data pengamatan

Lama Fermentasi	Perlakuan Volume Molase Rebus	Ulangan			Rata-rata	SD
		I	II	III		
0 hari	100 mL	19,5386	20,373	20,7449	20,21883	0,61775
	200 mL	18,9702	19,2307	19,9966	19,39917	0,533535
	300 mL	19,4202	19,2683	19,3383	19,34227	0,076028
3 hari	100 mL	18,46301	16,9912	17,4476	17,63394	0,75339
	200 mL	14,71127	16,2606	14,1705	15,04746	1,084848
	300 mL	11,9116	11,6454	11,0615	11,5395	0,434832
6 hari	100 mL	8,8269	11,4025	13,3537	11,19437	2,270566
	200 mL	14,8406	15,7962	14,9143	15,1837	0,531719
	300 mL	7,866	10,4492	12,6949	10,3367	2,416415
9 hari	100 mL	3,7893	5,03	5,2914	4,703567	0,802493
	200 mL	7,8603	10,9038	8,643	9,1357	1,580439
	300 mL	3,1691	3,323	3,6058	3,365967	0,221498
12 hari	100 mL	5,4053	5,6066	7,2722	6,0947	1,0247
	200 mL	13,0252	12,6726	12,4374	12,71173	0,295848
	300 mL	8,6053	7,4975	8,0165	8,039767	0,554266

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Kadar_Karbohidrat				
Lama_Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	20,2188	0,61775	3
	200 mL	19,3992	0,53354	3
	300 mL	19,3423	0,07603	3
	Total	19,6534	0,59029	9
3 hari	100 mL	17,6339	0,75339	3
	200 mL	15,0475	1,08485	3
	300 mL	11,5395	0,43483	3
	Total	14,7403	2,73873	9
6 hari	100 mL	11,1944	2,27057	3
	200 mL	15,1837	0,53172	3
	300 mL	10,3367	2,41641	3
	Total	12,2383	2,79952	9
9 hari	100 mL	4,7036	0,80249	3
	200 mL	9,1357	1,58044	3
	300 mL	3,3660	0,22150	3
	Total	5,7351	2,76370	9

12 hari	100 mL	6,0947	1,02470	3
	200 mL	12,7117	0,29585	3
	300 mL	8,0398	0,55427	3
	Total	8,9487	3,00594	9
Total	100 mL	11,9691	6,43502	15
	200 mL	14,2956	3,56831	15
	300 mL	10,5248	5,48694	15
	Total	12,2632	5,41057	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kadar_Karbohidrat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1251,030 ^a	14	89,359	72,381	0,000	0,971
Intercept	6767,326	1	6767,326	5,482E3	0,000	0,995
Lama_Fermentasi	1029,187	4	257,297	208,411	0,000	0,965
Volume Molase	108,583	2	54,291	43,976	0,000	0,746
Lama_Fermentasi * Volume Molase	113,261	8	14,158	11,468	0,000	0,754
Error	37,037	30	1,235			
Total	8055,394	45				
Corrected Total	1288,067	44				

a. R Squared = 0,971 (Adjusted R Squared = 0,958)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable:Kadar_Karbohidrat

Volume Molase	Lama_Fermentasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	20,219	0,641	18,909	21,529
	3 hari	17,634	0,641	16,324	18,944
	6 hari	11,194	0,641	9,884	12,504
	9 hari	4,704	0,641	3,393	6,014
	12 hari	6,095	0,641	4,785	7,405
200 mL	0 hari	19,399	0,641	18,089	20,709
	3 hari	15,047	0,641	13,737	16,358
	6 hari	15,184	0,641	13,874	16,494
	9 hari	9,136	0,641	7,826	10,446
	12 hari	12,712	0,641	11,402	14,022
300 mL	0 hari	19,342	0,641	18,032	20,652
	3 hari	11,539	0,641	10,229	12,850
	6 hari	10,337	0,641	9,027	11,647
	9 hari	3,366	0,641	2,056	4,676
	12 hari	8,040	0,641	6,730	9,350

❖ Post Hoc Test

Kadar_Karbohidrat

Duncan						
Lama_Fermentasi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
9 hari	9	5,7351				
12 hari	9		8,9487			
6 hari	9			12,2383		
3 hari	9				14,7403	
0 hari	9					19,6534
Sig,		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 1,235,

Kadar_Karbohidrat

Duncan				
Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
300 mL	15	10,5248		
100 mL	15		11,9691	
200 mL	15			14,2956
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 1,235,

Kadar_Karbohidrat

Duncan										
Interaksi	N	Subset for alpha = 0,05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
9 hari - 300 mL	3	3,36								
9 hari - 100 mL	3	4,70	4,70							
12 hari - 100 mL	3		6,09							
12 hari - 300 mL	3			8,03						
9 hari - 200 mL	3			9,13	9,13					
6 hari - 300 mL	3				10,33	10,33				
6 hari - 100 mL	3					11,19	11,19			
3 hari - 300 mL	3					11,53	11,53			
12 hari - 200 mL	3						12,71			
3 hari - 200 mL	3							15,04		
6 hari - 200 mL	3							15,18		
3 hari - 100 mL	3								17,63	
0 hari - 300 mL	3								19,34	19,34
0 hari - 200 mL	3								19,39	19,39
0 hari - 100 mL	3									20,21
Sig,		0,151	0,136	0,236	0,196	0,220	0,124	0,882	0,075	0,370

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 12. Data pengamatan dan analisis data pH kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan Volume Molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data pengamatan

Lama Fermentasi	Perlakuan Volume Molase Rebus	Ulangan			Rata-rata	SD
		I	II	III		
0 hari	100 mL	5,56	5,57	5,61	5,58	0,026458
	200 mL	5,22	5,19	5,25	5,22	0,03
	300 mL	4,89	4,77	4,8	4,82	0,06245
3 hari	100 mL	5,35	5,35	5,3	5,333333	0,028868
	200 mL	4,99	4,92	4,88	4,93	0,055678
	300 mL	4,63	4,66	4,67	4,653333	0,020817
6 hari	100 mL	5,24	5,22	5,38	5,28	0,087178
	200 mL	4,79	4,86	4,87	4,84	0,043589
	300 mL	4,56	4,59	4,67	4,606667	0,056862
9 hari	100 mL	5,04	4,99	5,05	5,026667	0,032146
	200 mL	4,76	4,8	4,73	4,763333	0,035119
	300 mL	4,46	4,48	4,48	4,473333	0,011547
12 hari	100 mL	5,06	5,01	4,93	5	0,065574
	200 mL	4,77	4,82	4,76	4,783333	0,032146
	300 mL	4,44	4,55	4,5	4,496667	0,055076

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable:pH				
Lama_Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std. Deviation	N
0 hari	100 mL	5,5800	0,02646	3
	200 mL	5,2200	0,03000	3
	300 mL	4,8200	0,06245	3
	Total	5,2067	0,33132	9
3 hari	100 mL	5,3333	0,02887	3
	200 mL	4,9300	0,05568	3
	300 mL	4,6533	0,02082	3
	Total	4,9722	0,29798	9
6 hari	100 mL	5,2800	0,08718	3
	200 mL	4,8400	0,04359	3
	300 mL	4,6067	0,05686	3
	Total	4,9089	0,30143	9
9 hari	100 mL	5,0267	0,03215	3
	200 mL	4,7633	0,03512	3
	300 mL	4,4733	0,01155	3
	Total	4,7544	0,24094	9

12 hari	100 mL	5,0000	0,06557	3
	200 mL	4,7833	0,03215	3
	300 mL	4,4967	0,05508	3
	Total	4,7600	0,22338	9
Total	100 mL	5,2440	0,22611	15
	200 mL	4,9073	0,17588	15
	300 mL	4,6100	0,13470	15
	Total	4,9204	0,31700	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	4,355 ^a	14	0,311	139,831	0,000	0,985
Intercept	1089,485	1	1089,485	4,898E5	0,000	1,000
Lama_Fermentasi	1,242	4	0,311	139,622	0,000	0,949
Volume Molase	3,019	2	1,509	678,493	0,000	0,978
Lama_Fermentasi * Volume Molase	0,094	8	0,012	5,271	0,000	0,584
Error	0,067	30	0,002			
Total	1093,906	45				
Corrected Total	4,421	44				

a. R Squared =0,985 (Adjusted R Squared = 0,978)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable:pH

Volume Molase	Lama_Fermentasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	5,580	0,027	5,524	5,636
	3 hari	5,333	0,027	5,278	5,389
	6 hari	5,280	0,027	5,224	5,336
	9 hari	5,027	0,027	4,971	5,082
	12 hari	5,000	0,027	4,944	5,056
200 mL	0 hari	5,220	0,027	5,164	5,276
	3 hari	4,930	0,027	4,874	4,986
	6 hari	4,840	0,027	4,784	4,896
	9 hari	4,763	0,027	4,708	4,819
	12 hari	4,783	0,027	4,728	4,839
300 mL	0 hari	4,820	0,027	4,764	4,876
	3 hari	4,653	0,027	4,598	4,709
	6 hari	4,607	0,027	4,551	4,662
	9 hari	4,473	0,027	4,418	4,529
	12 hari	4,497	0,027	4,441	4,552

❖ Post Hoc Test

pH					
Duncan					
Lama_Fermentasi	N	Subset			
		1	2	3	4
9 hari	9	4,7544			
12 hari	9	4,7600			
6 hari	9		4,9089		
3 hari	9			4,9722	
0 hari	9				5,2067
Sig,		0,804	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,002,

pH				
Duncan				
Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
300 mL	15	4,6100		
200 mL	15		4,9073	
100 mL	15			5,2440
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,002,

Duncan										
Subset for alpha = 0,05										
Interaksi	N	1	2	3	4	5	6	7	8	
9 hari - 300 mL	3	4,4733								
12 hari - 300 mL	3	4,4967								
6 hari - 300 mL	3		4,6067							
3 hari - 300 mL	3		4,6533							
9 hari - 200 mL	3			4,7633						
12 hari - 200 mL	3			4,7833						
0 hari - 300 mL	3			4,8200						
6 hari - 200 mL	3			4,8400						
3 hari - 200 mL	3				4,9300					
12 hari - 100 mL	3				5,0000	5,0000				
9 hari - 100 mL	3					5,0267				
0 hari - 200 mL	3						5,2200			
6 hari - 100 mL	3						5,2800	5,2800		
3 hari - 100 mL	3							5,3333		
0 hari - 100 mL	3								5,5800	
Sig,		0,549	0,235	0,077	0,079	0,494	0,130	0,176	1,000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 13. Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan Volume Molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	46,0135	45,9789	46,5454	46,17927	0,317552
	200 mL	45,6277	45,3588	44,8976	45,2947	0,369247
	300 mL	46,9555	47,0311	47,5521	47,17957	0,32483
3 hari	100 mL	45,4783	45,4545	44,2857	45,07283	0,681781
	200 mL	44,826	44,5454	44,5454	44,63893	0,162004
	300 mL	46,5652	45,7391	45,4545	45,9196	0,576931
6 hari	100 mL	44,34	43,6363	44,3636	44,1133	0,413263
	200 mL	44,34	43,6956	43,6363	43,89063	0,390291
	300 mL	44,34	45,3703	45,4545	45,05493	0,62058
9 hari	100 mL	44,45	43,45	43,5454	43,81513	0,551876
	200 mL	44,04	43,5454	43,4545	43,67997	0,315093
	300 mL	43,72	44,3636	44,1818	44,08847	0,331796
12 hari	100 mL	44,27	43,7142	43,833	43,93907	0,292688
	200 mL	44,24	43,5454	43,536	43,7738	0,403768
	300 mL	44,45	44,7272	44,826	44,66773	0,194926

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Emulsi				
Lama_Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	46,1793	0,31755	3
	200 mL	45,2947	0,36925	3
	300 mL	47,1796	0,32483	3
	Total	46,2178	0,86755	9
3 hari	100 mL	45,0728	0,68178	3
	200 mL	44,6389	0,16200	3
	300 mL	45,9196	0,57693	3
	Total	45,2105	0,72398	9
6 hari	100 mL	44,1133	0,41326	3
	200 mL	43,8906	0,39029	3
	300 mL	45,0549	0,62058	3
	Total	44,3530	0,68084	9
9 hari	100 mL	43,8151	0,55188	3
	200 mL	43,6800	0,31509	3
	300 mL	44,0885	0,33180	3
	Total	43,8612	0,40121	9

12 hari	100 mL	43,9391	0,29269	3
	200 mL	43,7738	0,40377	3
	300 mL	44,6677	0,19493	3
	Total	44,1269	0,49127	9
Total	100 mL	44,6239	1,00949	15
	200 mL	44,2556	0,70328	15
	300 mL	45,3821	1,17641	15
	Total	44,7539	1,07093	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Emulsi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	45,112 ^a	14	3,222	18,066	0,000	0,894
Intercept	90130,868	1	90130,868	5,053E5	0,000	1,000
Lama_Fermentasi	33,322	4	8,330	46,705	0,000	0,862
Volume Molase	9,897	2	4,948	27,743	0,000	0,649
Lama_Fermentasi * Volume Molase	1,894	8	0,237	1,327	0,268	0,261
Error	5,351	30	0,178			
Total	90181,331	45				
Corrected Total	50,463	44				

a. R Squared = 0,894 (Adjusted R Squared = 0,844)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable:Emulsi

Volume Molase	Lama_Fermentasi	Mean	Std, Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	46,179	0,244	45,681	46,677
	3 hari	45,073	0,244	44,575	45,571
	6 hari	44,113	0,244	43,615	44,611
	9 hari	43,815	0,244	43,317	44,313
	12 hari	43,939	0,244	43,441	44,437
200 mL	0 hari	45,295	0,244	44,797	45,793
	3 hari	44,639	0,244	44,141	45,137
	6 hari	43,891	0,244	43,393	44,389
	9 hari	43,680	0,244	43,182	44,178
	12 hari	43,774	0,244	43,276	44,272
300 mL	0 hari	47,180	0,244	46,682	47,678
	3 hari	45,920	0,244	45,422	46,418
	6 hari	45,055	0,244	44,557	45,553
	9 hari	44,088	0,244	43,590	44,586
	12 hari	44,668	0,244	44,170	45,166

❖ Post Hoc Test

Emulsi

Duncan

Lama_Fermentasi	N	Subset			
		1	2	3	4
9 hari	9	43,8612			
12 hari	9	44,1269	44,1269		
6 hari	9		44,3530		
3 hari	9			45,2105	
0 hari	9				46,2178
Sig,		0,192	0,265	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,178,

Emulsi

Duncan

Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
200 mL	15	44,2556		
100 mL	15		44,6239	
300 mL	15			45,3821
Sig,		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,
The error term is Mean Square(Error) = 0,178,

Emulsi

Duncan

Interaksi	N	Subset for alpha = 0,05					
		1	2	3	4	5	6
9 hari - 200 mL	3	43,6800					
12 hari - 200 mL	3	43,7738					
9 hari - 100 mL	3	43,8151					
6 hari - 200 mL	3	43,8906	43,8906				
12 hari - 100 mL	3	43,9391	43,9391				
9 hari - 300 mL	3	44,0885	44,0885				
6 hari - 100 mL	3	44,1133	44,1133				
3 hari - 200 mL	3		44,6389	44,6389			
12 hari - 300 mL	3		44,6677	44,6677			
6 hari - 300 mL	3			45,0549			
3 hari - 100 mL	3			45,0728			
0 hari - 200 mL	3			45,2947	45,2947		
3 hari - 300 mL	3				45,9196	45,9196	
0 hari - 100 mL	3					46,1793	
0 hari - 300 mL	3						47,1796
Sig,		0,284	0,054	0,098	0,080	0,457	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

Lampiran 14. Data pengamatan dan analisis data daya buih kontrol dan hidrolisat protein kepala udang dengan penambahan Volume Molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

❖ Data pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Rata-rata	SD
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III		
0 hari	100 mL	4,4	4,58	4,4642	4,4814	0,091224
	200 mL	3,9	3,899	3,912	3,903667	0,007234
	300 mL	4,6	4,721	4,7531	4,691367	0,080737
3 hari	100 mL	5	4,09	4,4642	4,518067	0,457385
	200 mL	4,4	3,63	4,0909	4,0403	0,387486
	300 mL	4,8	5,09	4,6363	4,8421	0,229761
6 hari	100 mL	7,1	6,58	6,9285	6,8695	0,264973
	200 mL	6,6	6,54	6,5454	6,5618	0,033192
	300 mL	7,6	6,54	7,5454	7,228467	0,596854
9 hari	100 mL	9	10,63	9,5454	9,725133	0,829731
	200 mL	9,5	9,09	9,0901	9,2267	0,236685
	300 mL	10,3	9,09	10,5454	9,978467	0,779157
12 hari	100 mL	8,5	8,52	8,849	8,623	0,195977
	200 mL	6,5	7,08	6,636	6,738667	0,303324
	300 mL	9	9,25	9,636	9,295333	0,320414

❖ Analysis of varian

Descriptive Statistics				
Dependent Variable:Foaming				
Lama_Fermentasi	Volume Molase	Mean	Std, Deviation	N
0 hari	100 mL	4,4814	0,09122	3
	200 mL	3,9037	0,00723	3
	300 mL	4,6914	0,08074	3
	Total	4,3588	0,35849	9
3 hari	100 mL	4,5181	0,45739	3
	200 mL	4,0403	0,38749	3
	300 mL	4,8421	0,22976	3
	Total	4,4668	0,47440	9
6 hari	100 mL	6,8695	0,26497	3
	200 mL	6,5618	0,03319	3
	300 mL	7,2285	0,59685	3
	Total	6,8866	0,43633	9
9 hari	100 mL	9,7251	0,82973	3
	200 mL	9,2267	0,23668	3
	300 mL	9,9785	0,77916	3
	Total	9,6434	0,66904	9

12 hari	100 mL	8,6230	0,19598	3
	200 mL	6,7387	0,30332	3
	300 mL	9,2953	0,32041	3
	Total	8,2190	1,17289	9
Total	100 mL	6,8434	2,22653	15
	200 mL	6,0942	2,05268	15
	300 mL	7,2071	2,30127	15
	Total	6,7149	2,19605	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Foaming

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	207,318 ^a	14	14,808	91,065	0,000	0,977
Intercept	2029,063	1	2029,063	1,248E4	0,000	0,998
Lama_Fermentasi	193,258	4	48,314	297,111	0,000	0,975
Volume Molase	9,661	2	4,830	29,705	0,000	0,664
Lama_Fermentasi * Volume Molase	4,399	8	0,550	3,381	0,007	0,474
Error	4,878	30	0,163			
Total	2241,259	45				
Corrected Total	212,196	44				

a. R Squared = 0,977 (Adjusted R Squared = 0,966)

❖ Estimated Marginal Means

Volume Molase * Lama_Fermentasi

Dependent Variable: Foaming

Volume Molase	Lama_Fermentasi	Mean	Std, Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
100 mL	0 hari	4,481	0,233	4,006	4,957
	3 hari	4,518	0,233	4,043	4,994
	6 hari	6,869	0,233	6,394	7,345
	9 hari	9,725	0,233	9,250	10,201
	12 hari	8,623	0,233	8,148	9,098
200 mL	0 hari	3,904	0,233	3,428	4,379
	3 hari	4,040	0,233	3,565	4,516
	6 hari	6,562	0,233	6,086	7,037
	9 hari	9,227	0,233	8,751	9,702
	12 hari	6,739	0,233	6,263	7,214
300 mL	0 hari	4,691	0,233	4,216	5,167
	3 hari	4,842	0,233	4,367	5,318
	6 hari	7,228	0,233	6,753	7,704
	9 hari	9,978	0,233	9,503	10,454
	12 hari	9,295	0,233	8,820	9,771

❖ Post Hoc Test

Foaming					
Duncan					
Lama_Fermentasi	N	Subset			
		1	2	3	4
0 hari	9	4,3588			
3 hari	9	4,4668			
6 hari	9		6,8866		
12 hari	9			8,2190	
9 hari	9				9,6434
Sig,		0,574	1,000	1,000	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed, The error term is Mean Square(Error) = 0,163,					

Foaming				
Duncan				
Volume Molase	N	Subset		
		1	2	3
200 mL	15	6,0942		
100 mL	15		6,8434	
300 mL	15			7,2071
Sig,		1,000	1,000	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed, The error term is Mean Square(Error) = 0,163,				

Foaming								
Duncan								
Interaksi	N	Subset for alpha = 0,05						
		1	2	3	4	5	6	7
0 hari - 200 mL	3	3,9037						
3 hari - 200 mL	3	4,0403	4,0403					
0 hari - 100 mL	3	4,4814	4,4814	4,4814				
3 hari - 100 mL	3	4,5181	4,5181	4,5181				
0 hari - 300 mL	3		4,6914	4,6914				
3 hari - 300 mL	3			4,8421				
6 hari - 200 mL	3				6,5618			
12 hari - 200 mL	3				6,7387			
6 hari - 100 mL	3				6,8695			
6 hari - 300 mL	3				7,2285			
12 hari - 100 mL	3					8,6230		
9 hari - 200 mL	3					9,2267	9,2267	
12 hari - 300 mL	3					9,2953	9,2953	9,2953
9 hari - 100 mL	3						9,7251	9,7251
9 hari - 300 mL	3							9,9785
Sig,		0,097	0,079	0,327	0,072	0,062	0,163	0,058
Means for groups in homogeneous subsets are displayed,								

Lampiran 15. Perbandingan data volume cairan dan rendemen hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	Nilai rata-rata	
		Volume Hidrolisat (mL)	Rendemen HPI pasta (%)
0 hari	100 mL	110	30,2878
	200 mL	215	35,11343
	300 mL	330	43,1212
3 hari	100 mL	140	36,06446
	200 mL	220	40,09378
	300 mL	340	47,55251
6 hari	100 mL	180	41,08636
	200 mL	290	46,94846
	300 mL	375	50,10338
9 hari	100 mL	140	36,98347
	200 mL	250	40,98292
	300 mL	290	45,05486
12 hari	100 mL	115	26,06793
	200 mL	100	31,15199
	300 mL	240	39,10998

Lampiran 16. Data hasil analisis kadar kalsium



LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU dan KEAMANAN PANGAN
(Testing Laboratory of Food Quality and Food Safety)
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 Jl. Veteran, Malang 65145, Telp/Fax. (0341) 573358
 E-mail : labujiipangan_thpub@yahoo.com

KEPADA : Achmad Fathony
TO FPIK_UB
MALANG

LAPORAN HASIL UJI
REPORT OF ANALYSIS

Nomor / Number : 4517/THP/LAB/2014
 Nomor Analisis / Analysis Number : 4517
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 17 Juni 2014

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
The undersigned ratifies that examination
 Dari contoh / of the sample (s) of : Hidrolisat Protein
 Untuk analisis / For analysis :
 Keterangan contoh / Description of sample :
 Diambil dari / Taken from : -
 Oleh / By : -
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 03 Juni 2014
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 03 Juni 2014
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Kode	Ca (ppm)
KSMR	54,86

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK
 CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL
 CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN
 TANDING BARANG

Ketua,



Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.Sc.
 NIP. 19631216 198803 1 002

Lampiran 17. Data hasil analisis total asam amino hidrolisat protein kepala udang vaname



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI (LSIH)

Jl. Veteran Malang

Telp./Fax. +62 341 559054

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

SERTIFIKAT HASIL ANALISA

(CERTIFICATE OF ANALYSIS)

No: 063/LSIH-UB/3-COA/VI/2014

Nama Pemilik : Dewanti Budy
(Name)

Tgl. Diterima
(Date Received)

: 03 Juni 2014

Alamat : Jl. Bendungan Jatiluhur No. 11
(Address)

Tgl. Penerbitan Sertifikat : 01 Juli 2014
(Date of Certificate Issued)

Telp./ HP. : 0857 3044 1373
(Phone/HP.)

Jenis Uji : Asam amino
(Type of Analysis)

Hasil :
(Result)

Jenis sampel (Sample Name)	No. Rujukan (Reference Number)	Jenis Uji (Analysis)	Hasil Analisa (Analysis Result)	Metode Analisis (Analysis Method)
Hidrolisat Protein KSMS	298/S-UJ/LSIH-UB/VI/2014	Asam Amino	Terlampir	HPLC
Hidrolisat Protein KSMR	299/S-UJ/LSIH-UB/VI/2014	Asam Amino	Terlampir	HPLC
Hidrolisat Protein KRMS	300/S-UJ/LSIH-UB/VI/2014	Asam Amino	Terlampir	HPLC
Hidrolisat Protein KRMR	301/S-UJ/LSIH-UB/VI/2014	Asam Amino	Terlampir	HPLC



Dr. Ir. Nur Hidayat, MP.
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

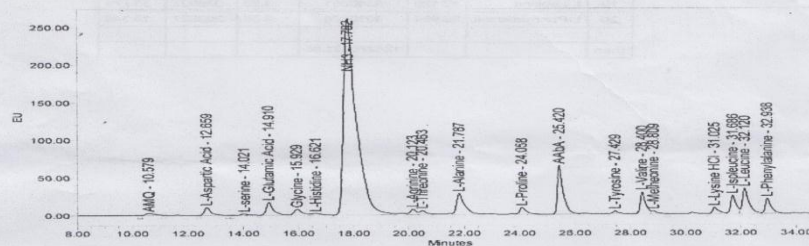
Halaman 1 dari 1

Kode sampel Uji : Hidrolisis Protein KSMR

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Aspartat	%	1.17
	Glutamat	%	1.96
	Serin	%	0.12
	Glisin	%	0.47
	Histidin	%	0.20
	Arginin	%	0.64
	Threonin	%	0.24
	Alanin	%	1.23
	Prolin	%	1.08
	Falin	%	0.66
	Metionin	%	0.11
	Isoleusin	%	0.46
	Leusin	%	0.63
	Phenilalanin	%	0.34
	Lisin(lysine HCl)	%	0.90
	Sistin	%	Not detected
	Tirosin	%	0.17
	Total	%	10.40

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	406.1389	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Asam amino 140618
Injection #:	1	Acq. Method Set:	asam amino rutin
Injection Volume:	5.00 ul	Processing Method:	amino 140619
Run Time:	45.0 Minutes	Channel Name:	2475ChA ex250/em395
		Proc. Chnl. Descr.:	2475ChA ex250/em395
Date Processed:	6/20/2014 8:59:58 AM WIT		



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount
1 AMQ	10.579	563102	0.45	26490	0.646
2 L-Aspartic Acid	12.659	1767547	1.40	105803	65.539
3 L-Serine	14.021	348100	0.27	17064	8.604
4 L-Glutamic Acid	14.910	3024243	2.40	170828	98.969
5 Glycine	15.929	1580277	1.25	77955	46.797
6 L-Histidine	16.621	477757	0.38	22693	9.501
7 NH3	17.782	82233384	65.13	2600596	13.704
8 L-Agrinine	20.123	1083514	0.86	75207	27.286

Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount
9 L-Threonine	20.463	957914	0.76	53927	14.703
10 L-Alanine	21.787	5701361	4.52	281351	102.722
11 L-Proline	24.058	1567557	1.24	92417	69.411
12 AAbA	25.420	9139662	7.24	646860	1.089
13 L-Cystine	26.776				
14 L-Tyrosine	27.429	506162	0.40	40846	8.864
15 L-Valine	28.400	3851401	3.05	289478	41.874
16 L-Methionine	28.809	508420	0.40	38105	5.540
17 L-Lysine HCl	31.025	1236370	0.98	85361	36.612
18 L-Isoleucine	31.686	3368891	2.67	244404	26.033
19 L-Leucine	32.120	5346351	4.23	336927	35.779
20 L-Phenylalanine	32.938	3010008	2.38	202827	15.346
Sum		126270021.85			

Lampiran 18. Foto pengamatan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan volume molase yang berbeda

Komposisi Pembuatan Hidrolisat Protein	Foto Hidrolisat Protein	Keterangan
Kepala udang 50 g Molase rebus 10 mL Khamir laut 10 mL Tanpa diaerasi		Fermentasi bertahan 24 jam Warna Coklat pucat Bau busuk
Kepala udang 50 g Molase rebus 20 mL Khamir laut 10 mL Diaerasi		Fermentasi bertahan 24 jam Warna Coklat Bau busuk
Kepala udang 50 g Molase rebus 30 mL Khamir laut 10 mL Diaerasi		Fermentasi bertahan 2 hari Warna Coklat kehitaman Bau busuk
Kepala udang 50 g Molase rebus 40 mL Khamir laut 10 mL Diaerasi		Fermentasi bertahan 2 hari Warna Coklat kehitaman Bau busuk

Kepala udang 50 g
Molase rebus 50 mL
Khamir laut 10 mL
Diaerasi



Fermentasi lebih dari 3 hari
Warna Coklat kehitaman
Bau khas molase / fermentasi
Dijadikan *range* bawah untuk penelitian utama

Kepala udang 50 g
Molase rebus 100 mL
Khamir laut 10 mL
Diaerasi



Fermentasi lebih dari 3 hari
Warna Coklat kehitaman
Bau khas molase / fermentasi

Kepala udang 50 g
Molase rebus 150 mL
Khamir laut 10 mL
Diaerasi



Fermentasi lebih dari 3 hari dan bertahan hingga 12 hari
Rendemen hidrolisat yang dihasilkan semakin menurun
Warna Coklat kehitaman
Bau khas molase / fermentasi
Dijadikan *range* atas untuk penelitian utama

Lampiran 19. Foto pembuatan kultur khamir laut



Perebusan air laut 1 L sampai mendidih



Sterilisasi peralatan



Penimbangan 5 g gula



Penyaringan dan pendinginan



Penimbangan 2 g



Media Kultur Khamir Laut



Penambahan Starter Khamir Laut pada Media Kultur



Pengambilan Stok Khamir Laut sebanyak 2 mL

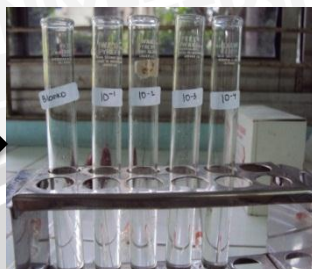


Pemberian aerasi selama 3 hari pada kultur khamir laut

Lampiran 20. Foto proses kepadatan sel khamir laut menggunakan hemositometer



Kultur Khamir Laut



Pengenceran hingga 10^{-4}



Penyemprotan Mikropipet, Kaca Hemosito dan *coverglass* dengan alkohol



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 21. Foto proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname



Kepala udang vaname dithawing



Penghalusan menggunakan blender



Penimbangan sebanyak 100 g



Penambahan molase rebus 100 mL, 200 mL dan 300 mL



Perebusan molase hingga mendidih



memasukkan ke dalam wadah



Penambahan volume inokulan khamir laut 20 mL



Fermentasi dengan penambahan aerasi selama 3, 6, 9 dan 12 hari



Pengepresan menggunakan kain blacu



Hidrolisat Protein Kepala Udang bentuk Pasta



Pengovenan menggunakan oven vacum suhu 55°C selama ± 15 jam

Lampiran 22. Foto proses analisis kadar air



Pengovenan cawan kosong 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 8 g (B)



Penimbangan sampel sebagai berat C

Lampiran 23. Foto proses analisis kadar lemak



Mengoven kertas saring dan tali 105°C selama 24 jam



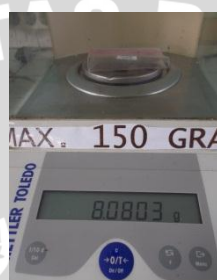
Memasukkan kertas saring dan tali kedalam desikator 15 menit



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 selama 3 jam



Pengovenan selama 15 menit



Memasukkan sampel kedalam desikator 15 menit



Penimbangan sampel sebagai berat akhir

Lampiran 24. Foto proses analisis kadar abu



Pengovenan cawan porselin 105°C selama 24 jam



Memasukkan cawan kedalam desikator 15 menit



Penimbangan berat cawan porselin kosong



Melakukan pengarangan hingga membara dan tidak berasap



Penimbangan sampel sebanyak 2 g



Penghalusan sampel dari kadar lemak



Memasukkan kedalam tanur pengabuan suhu 600°C selama 3 jam



memasukkan kedalam desikator 15 menit



Penimbangan sebagai berat akhir

Lampiran 25. Foto proses analisis kadar protein



Penimbangan sampel sebanyak 0,5 g



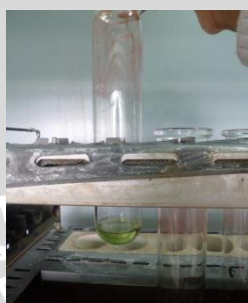
Penghalusan tablet kjedhal



Penimbangan tablet kjedhal halus sebanyak 2 g



Penambahan H_3BO_3 dengan indikator *metile orange*



Hasil destruksi sampel berwarna kehijauan



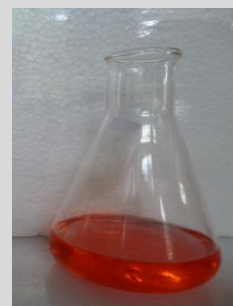
Memasukkan sampel, tablet kjedhal dan H_2SO_4 kedalam alat destruksi dan pendestruksian selama 3 jam



proses destilasi

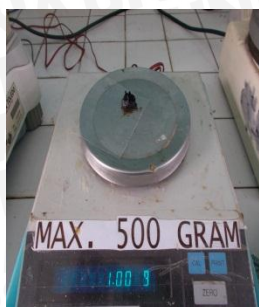


Titrasi pada destilat dengan H_3BO_3 dan mencatat hasil titrasinya



Hasil titrasi berubah warna merah muda

Lampiran 26. Foto proses analisis pH



Penimbangan sampel sebanyak 1 g



Penambahan sampel dengan 10 mL akuades



Penghomogenan



Pencelupan elektroda pada sampel (sampai pembacaan stabil)



Membilas elektroda dengan akuades



Menyalakan pH meter



Mencatat pH yang terukur

Lampiran 27. Foto proses analisis emulsi



Penimbangan sampel
sebanyak 1,25 g



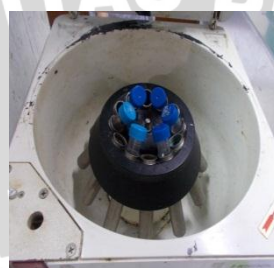
Memasukkan sampel
kedalam cuvet



Penambahan 5 mL akuades
kedalam sampel



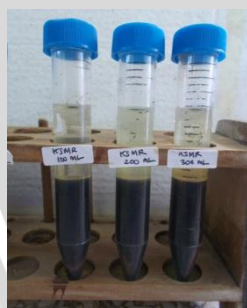
Sentrifus 3750 rpm
selama 10 menit



Memasukkan
kedalam sentrifus

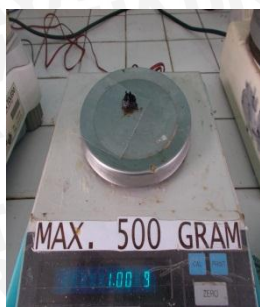


Penambahan 5 mL minyak
jagung kedalam sampel



Hasil emulsi setelah
disentrifus

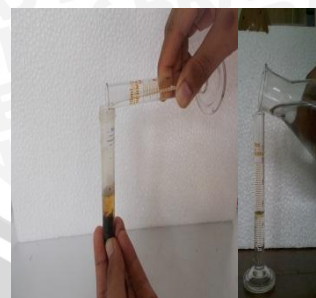
Lampiran 28. Foto proses analisis daya buih



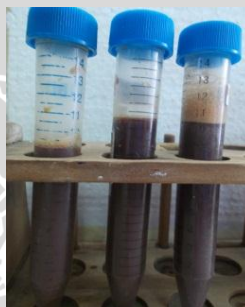
Penimbangan sampel
sebanyak 1 g



Memasukkan sampel
kedalam cuvet



Penambahan 10 mL
akuades kelim sampel



Hasil kapasitas
Buih yang
terbentuk



Pengocokan
selama 1 menit