

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

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

**Oleh:  
YUDHA EKO PRASETYO  
NIM. 115080300111050**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



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



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

**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:  
**YUDHA EKO PRASETYO  
NIM. 115080300111050**



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

**SKRIPSI  
HIDROLISAT PROTEIN ENCENG GONDOK (*Eichchoronia crassipes*) SEGAR  
MENGUNAKAN STARTER KHAMIR LAUT DAN MOLASE REBUS DENGAN  
PROSES FERMENTASI**

Oleh :

**YUDHA EKO PRASETYO  
NIM. 115080300111050**

Telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 10 Agustus 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. : \_\_\_\_\_

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

**Dosen Penguji I**

**Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS**  
NIP. 19550503 198503 2 001  
Tanggal : \_\_\_\_\_

**Dosen Penguji II**

**Dr. Ir. Yahya, MP**  
NIP. 19630706 199003 1 003  
Tanggal : \_\_\_\_\_

**Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I**

**Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D**  
NIP. 19640919 198903 1 002  
Tanggal : \_\_\_\_\_

**Dosen Pembimbing II**

**Dr. Muhammad Firdaus, MP**  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal : \_\_\_\_\_

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan**

**Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal : \_\_\_\_\_

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya 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, 28 Mei 2015  
Mahasiswa,

Yudha eko prasetyo  
NIM. 115080300111050

## UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Mama Jumiyati dan Ayah Samiyono tercinta yang telah memberikan doa dan dukungan yang begitu besar.
2. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph. D selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak memberikan bimbingan selama penyusunan skripsi ini, dan memberikan koleksi khamir laut serta molase yang sangat membantu dalam penelitian saya.
3. Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan pengetahuan dan membimbing saya dengan sabar hingga saya dapat memahami materi penelitian saya.
4. Teman-teman seperjuangan MY TEAM, Reny, Dian, dan Dilla yang selalu mendampingi di kala susah dan senang bersama.
5. Sahabatku Amri, Mas Adi, Nurholis, Iwan, Tomi dan TIM SOLEH K 92 yang Selalu Memberi Motivasi Untuk Terus Maju Meraih Cita – Cita Yang Kita Harapkan dan teman – teman THP 2011.
6. Pihak lain yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan, doa, dan semangat selama penulis menyelesaikan skripsi ini.

Malang, April 2015

Penulis

## RINGKASAN

**YUDHA EKO PRASETYO.** Skripsi tentang Hidrolisat Protein Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Segar Menggunakan Stater Khamir Laut Dan Molase Rebus Dengan Proses Fermentasi (dibawah bimbingan **Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D** dan **Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP**).

Enceng gondok merupakan kelompok gulma perairan sebab tanaman ini memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi, sehingga jika tidak dimanfaatkan dengan baik akan menjadi limbah perairan. Enceng Gondok merupakan bahan baku yang sering dimanfaatkan untuk dijadikan suatu kerajinan, padahal enceng gondok memiliki komposisi gizi yang tinggi untuk dijadikan produk yang bermanfaat berupa 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 diharapkan dapat meningkatkan kemampuan khamir laut dalam menghidrolisis Enceng Gondok segar sehingga dapat meningkatkan mutu hidrolisat Enceng Gondok Segar.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok Sederhana yaitu volume molase segar yang terdiri dari 200 mL, 250 ml, 300 mL dan lama fermentasi pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12 serta dilakukan dengan 3 kali ulangan. Penelitian ini terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan penentuan fase logaritmik khamir laut, penentuan volume molase dan lama fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat protein enceng gondok. Penelitian utama dilakukan dengan pembuatan hidrolisat protein kerang hijau dengan *starter* khamir laut yang dianalisis kimia (analisis proksimat, total asam amino, pH, emulsi, dan daya buih) terhadap kualitas hidrolisat protein enceng gondok.

Hasil penelitian ini adalah volume molase rebus yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok yaitu 300 ml dengan kandungan nutrisi sebesar 16,26% kadar air, 1,44% kadar lemak, 17,64% kadar abu, 18,33% kadar protein, 50,14% kadar karbohidrat, 4,49 pH, 0,25% daya buih, 51,56% kapasitas emulsi, sedangkan lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat enceng gondok yaitu pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 19,24% kadar protein, 16,17% abu, 1,25% lemak kasar, 48,19% kapasitas emulsi, 50,73% kadar karbohidrat, 12,61% kadar air, 4,40 pH, 0,26% daya buih.

Hasil analisis total asam amino hidrolisat protein kerang hijau terbaik diperoleh 17 macam asam amino. Asam amino yang terkandung ada dua jenis yaitu esensial dan non esensial. Asam amino esensial meliputi lisin, arginin, histidin, leusin, valin, isoleusin, treonin, phenilalanin dan methionin. Sedangkan asam amino non esensial antara lain asam glutamat, sistin, asam aspartate, alanine, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Total dari asam amino enceng gondok sebesar 10,68%.

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucap puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-NYA penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Hidrolisat Protein Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Segar Menggunakan Stater Khamir Laut Dan Molase Rebus Dengan Proses Fermentasi Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembuatan hidrolisat protein Enceng Gondok Segar (*Eichhornia crassipes*) dan beberapa uji terkait dengan penentuan karakteristik dari hidrolisat protein Enceng Gondok Segar (*Eichhornia crassipes*). Dalam penyusunan tulisan laporan kami mengakui masih terdapat kekurangan karena keterbatasan kemampuan dan pengetahuan kami sebagai insan manusia biasa. Untuk itu kami sangat mengharapkan adanya saran dan kritik untuk kami dalam penyusunan laporan yang selanjutnya. Besarnya seseorang adalah sejauh mana dia bermanfaat bagi orang lain, dan sebaik-baik tulisan adalah yang bermanfaat bagi orang yang membacanya. Akhirnya, semoga laporan Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pihak yang memerlukan.

Malang, April 2015

Penulis



## DAFTAR ISI

|  |      |
|--|------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                                     | ii   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....                                | iii  |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....                   | iv   |
| <b>HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....                       | v    |
| <b>RINGKASAN</b> .....   | vi   |
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....                                    | vii  |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....  | viii |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                                      | x    |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                                     | xi   |
| <b>LAMPIRAN</b> .....  | xiii |
| <br>   |      |
| <b>1. PENDAHULUAN</b>  |      |
| 1.1. Latar Belakang .....                                      | 1    |
| 1.2. Rumusan Masalah .....                                     | 5    |
| 1.3. Tujuan Penelitian .....                                   | 5    |
| 1.4. Hipotesis .....   | 6    |
| 1.5. Kegunaan Penelitian .....                                 | 6    |
| 1.6. Tempat Dan Waktu Penelitian .....                         | 6    |
| <br>   |      |
| <b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>                                     |      |
| 2.1 Enceng gondok .....  | 7    |
| 2.1.1 Karakteristik Enceng Gondok .....                        | 7    |
| 2.2.2 Komposisi Gizi Enceng Gondok .....                       | 8    |
| 2.2 Khamir Laut .....  | 10   |
| 2.2.1 Karakteristik Khamir Laut .....                          | 10   |
| 2.2.2 Isolasi khamir laut .....                                | 11   |
| 2.2.3 Komposisi Kimia Khamir laut .....                        | 11   |
| 2.2.4 Potensi Bioteknologi Khamir Laut .....                   | 12   |
| 2.3 Molase .....   | 13   |
| 2.3.1 Karakteristik Molase .....                               | 13   |
| 2.3.2 Manfaat Molase Terhadap Pertumbuhan Khamir Luat .....    | 15   |
| 2.4 Fermentasi .....   | 16   |
| 2.4.1 Definisi Fermentasi .....                                | 16   |
| 2.4.2 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi .....       | 17   |
| 2.4.3 Pengaruh Lama Fermentasi dengan Mikroorganisme .....     | 19   |
| 2.5 Hidrolisat Protein .....                                   | 20   |
| 2.5.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein .....          | 20   |
| 2.5.2 Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan .....              | 21   |
| 2.6 Protease .....   | 22   |
| 2.7 Pengertian HPLC (High Pressure Liquid Chromatography)..... | 23   |

### 3. METODOLOGI PENELITIAN

|  |    |
|--|----|
| 3.1 Materi Penelitian .....  | 26 |
| 3.1.1 Bahan Penelitian .....   | 26 |
| 3.1.2 Alat Penelitian .....  | 26 |
| 3.2 Metode Penelitian .....  | 27 |
| 3.2.1 Metode .....   | 27 |
| 3.2.2 Variabel .....   | 28 |
| 3.3 Prosedur Penelitian .....  | 28 |
| 3.3.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut Mix .....                                  | 28 |
| 3.3.2 Prosedur Pembuatan Kultur Khamir Laut .....  | 29 |
| 3.3.3 Pembuatan Media Pengenceran dan perhitungan khamir laut ....                       | 29 |
| 3.3.4 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar .                        | 31 |
| 3.3.5 Prosedur pengujian Ph Hidrolisat Protein Enceng gondok segar<br>molase rebus ..... | 34 |
| 3.4 Rancangan Penelitian dan Analisa Data .....  | 34 |
| 3.5 Pengamatan .....   | 36 |
| 3.5.1 Rendemen .....   | 36 |
| 3.5.2 Analisa Proksimat .....  | 36 |
| 3.5.2.1 Analisa Kadar Air Metode Termogravimetri .....                                   | 36 |
| 3.5.2.2 Analisa Kadar Abu Metode Gravimetri .....  | 37 |
| 3.5.2.3 Analisa Kadar Lemak Metode Goldfisch .....                                       | 37 |
| 3.5.2.4 Analisa Kadar Protein Metode Kjeldahl .....                                      | 37 |
| 3.5.2.5 Analisa Kadar Karbohidrat By Diference .....                                     | 38 |
| 3.5.3 Nilai Ph .....   | 38 |
| 3.5.4 Kapasitas Emulsi .....   | 38 |
| 3.5.5 Daya Buih .....  | 38 |
| 3.5.6 Analisa Profil Asam Amino .....  | 39 |
| 3.5.7 Derajat Hidrolisis .....   | 41 |

### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

|  |    |
|--|----|
| 4.1 Penelitian Pendahuluan .....                                 | 42 |
| 4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik .....                            | 42 |
| 4.1.2 Penentuan Volume Molase dan Lama Fermentasi .....          | 46 |
| 4.1.3 Penentuan Volume Khamir Laut yang Optimal.....             | 53 |
| 4.1.4 Komposisi Kimia Enceng Gondok Rebus .....                  | 54 |
| 4.2 Penelitian Utama .....                                       | 55 |
| 4.2.1 Rendemen Hidrolisat Protein Enceng Gondok Rebus .....      | 55 |
| 4.2.2 Kadar Air .....  | 58 |
| 4.2.3 Kadar Lemak .....  | 60 |
| 4.2.4 Kadar Abu .....  | 62 |
| 4.2.5 Kadar Protein .....  | 64 |
| 4.2.6 Kadar Karbohidrat .....                                    | 66 |
| 4.2.7 Analisis Derajat Keasaman(pH).....                         | 69 |
| 4.2.8 Analisis Daya Buih .....                                   | 71 |
| 4.2.9 Analisis Kapasitas Emulsi.....                             | 73 |
| 4.3 Hidrolisat Protein Eceng Gondok Tertinggi .....              | 76 |
| 4.4 Analisis Total Asam Amino .....                              | 78 |
| 4.5 analisis HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ..... | 82 |
| 4.6 Analisa Derajat Hldrolisis .....                             | 86 |

**5. PENUTUP**

5.1 Kesimpulan ..... 89

5.2 Saran ..... 89

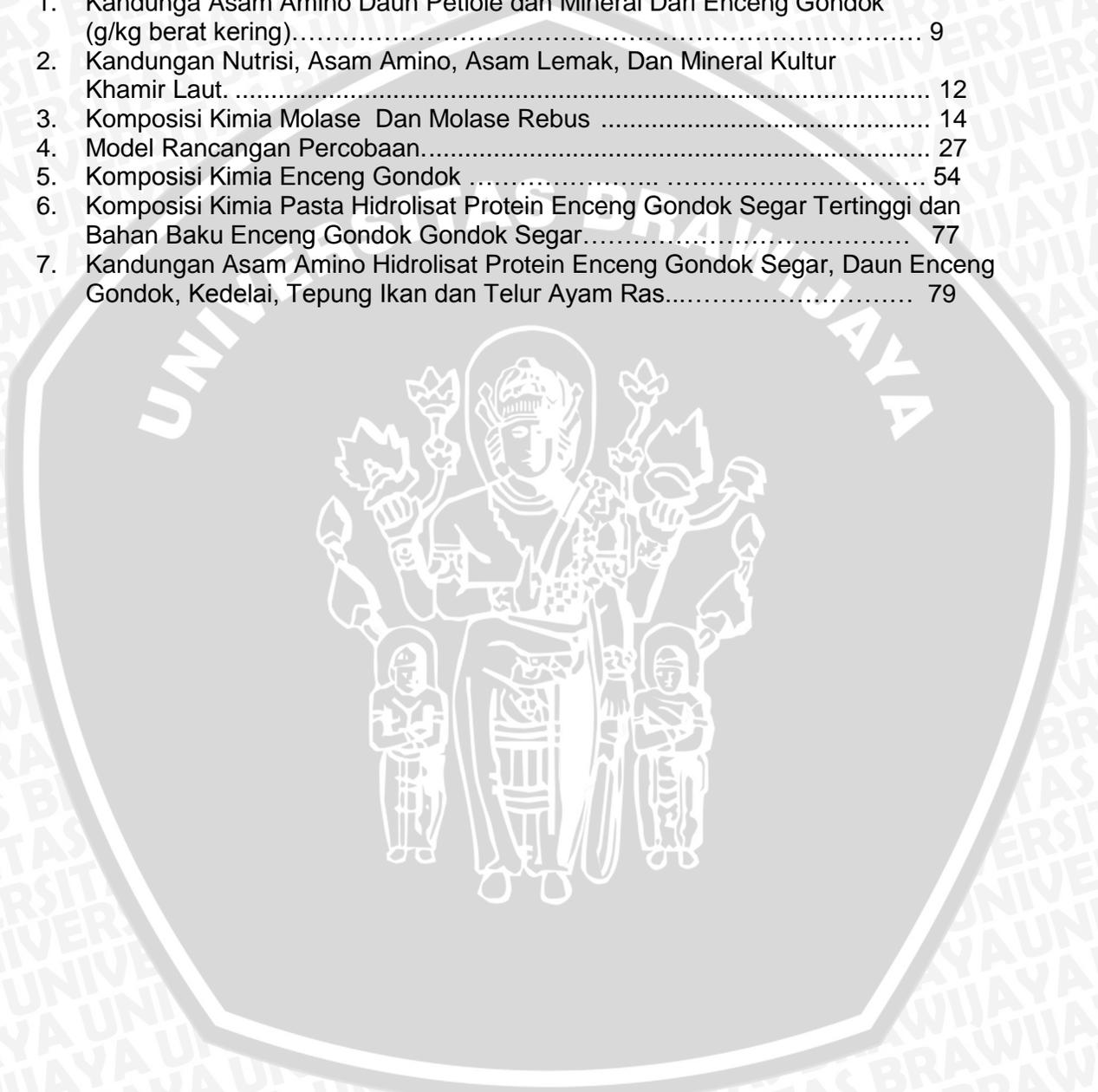
**DAFTAR PUSTAKA** ..... **90**

**LAMPIRAN** ..... **98**



DAFTAR TABEL

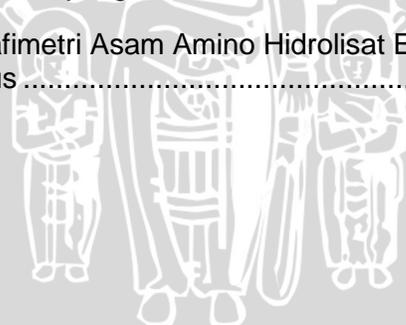
| Tabel  | Halaman |
|--|---------|
| 1. Kandunga Asam Amino Daun Petiole dan Mineral Dari Enceng Gondok (g/kg berat kering).....                                      | 9       |
| 2. Kandungan Nutrisi, Asam Amino, Asam Lemak, Dan Mineral Kultur Khamir Laut.....  | 12      |
| 3. Komposisi Kimia Molase Dan Molase Rebus .....   | 14      |
| 4. Model Rancangan Percobaan.....  | 27      |
| 5. Komposisi Kimia Enceng Gondok .....   | 54      |
| 6. Komposisi Kimia Pasta Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar Tertinggi dan Bahan Baku Enceng Gondok Gondok Segar.....         | 77      |
| 7. Kandungan Asam Amino Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar, Daun Enceng Gondok, Kedelai, Tepung Ikan dan Telur Ayam Ras..... | 79      |



## DAPTAR GAMBAR

| <b>Gambar</b>  | <b>Halaman</b> |
|--|----------------|
| 1. Morfologi Eceng Gondok.....   | 7              |
| 2. Pengenceran kultur khamir laut hingga pengenceran 10 <sup>-4</sup> .....  | 31             |
| 3. Diagram Alir pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar.....   | 33             |
| 4. Pertumbuhan Sel Khamir Laut dengan Pengamatan setiap 12 Jam<br>sekali selama 4 hari .....                         | 42             |
| 5. Foto Kepadatan Khamir Laut dengan Perbesaran 1000x.....   | 44             |
| 6. Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama<br>Fermentasi yang Berbeda.....                        | 48             |
| 7. Nilai pH padatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama<br>Fermentasi yang Berbeda.....                | 50             |
| 8. Nilai pH cairan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama<br>Fermentasi yang Berbeda.....                 | 50             |
| 9. Nilai pH Campuran Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama<br>Fermentasi yang Berbeda.....               | 51             |
| 10. Rata – rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus<br>dengan Volume Molase yang Berbeda .....      | 56             |
| 11. Rata – rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus<br>dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....    | 56             |
| 12. Rata – rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan<br>Volume Molase yang Berbeda .....     | 58             |
| 13. Rata – rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan<br>Lama Fermentasi yang Berbeda .....   | 59             |
| 14. Rata – rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus<br>dengan Volume Molase yang Berbeda .....   | 60             |
| 15. Rata – rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus<br>dengan Lama Fermentasi yang Berbeda ..... | 61             |
| 16. Rta – rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan<br>Volume Molase yang Berbeda .....      | 62             |
| 17. Rata – rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus<br>dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....   | 63             |

|   |    |
|---|----|
| 18. Rata – rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....       | 64 |
| 19. Rata – rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....     | 65 |
| 20. Rata – Rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....   | 67 |
| 21. Rata - rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda ..... | 68 |
| 22. Rata – Rata Kadar pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....            | 69 |
| 23. Rata – rata Kadar pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Femrentasi yang Berbeda .....          | 70 |
| 24. Rata – rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....           | 72 |
| 25. Rata – rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....         | 72 |
| 26. Rata – rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda .....    | 74 |
| 27. Rata – rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda .....  | 75 |
| 28. Hasil dari kromatografimetri Asam Amino Hidrolisat Enceng Gondok Segar dengan Molase Rebus .....                    | 84 |



## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran   | Halaman |
|--|---------|
| 1. Perhitungan Kultur Khamir Laut .....  | 98      |
| 2. Diagram Alir Pembuatan Kultur Khamir Laut Mix .....   | 99      |
| 3. Perhitungan komposisi Media Pengenceran kultur Khamir Laut ..   | 100     |
| 4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut .....  | 101     |
| 5. Data Kepadatan sel khamir laut .....  | 102     |
| 6. Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Dilakukan Pengenceran .....  | 103     |
| 7. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut .....   | 104     |
| 8. Diagram Alir Analisis Kadar Air.....  | 106     |
| 9. Diagram Alir Analisis Kadar Abu.....  | 107     |
| 10. Diagram Alir Analisis Kadar Lemak .....  | 108     |
| 11. Diagram Alir Analisis Kadar Protein .....  | 109     |
| 12. Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar Dengan Penambahan Molase Rebus Dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....                          | 110     |
| 13. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan.....   | 111     |
| 14. Hasil Analisis Nilai Rendemen Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda ..... | 112     |
| 15. Hasil Analisis Nilai pH Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....       | 117     |
| 16. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....  | 118     |
| 17. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....           | 119     |
| 18. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....          | 121     |
| 19. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....        | 123     |

|   |     |
|---|-----|
| 20. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....             | 126 |
| 21. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....         | 128 |
| 22. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....     | 130 |
| 23. Data Pengamatan dan Analisis Data Derajat Keasaman (pH) Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda ..... | 133 |
| 24. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....             | 135 |
| 25. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda .....      | 137 |
| 26. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut .....  | 141 |
| 27. Dokumentasi Pembuatan Media dan Pengenceran Khamir Laut .   | 143 |
| 28. Dokumentasi Pengamatan Kepadatan khamir laut .....  | 145 |
| 29. Dokumentasi Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .....   | 146 |
| 30. Dokumentasi Analisis Kadar Air Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .....  | 149 |
| 31. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .....  | 150 |
| 32. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Hidrolisat protein Eceng Gondok Segar .....  | 151 |
| 33. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .....  | 152 |
| 34. Dokumentasi Analisis pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .....   | 155 |
| 35. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar .....   | 156 |
| 36. Dokumentasi Analisis Daya Buih Hidrolisat protein Eceng Gondok Segar .....  | 157 |
| 37. Hasil Proksimat Enceng Gondok .....   | 158 |

38. Hasil Analisa Asam Amino Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar .  
..... 159

39. Data dan analisa Derajat Hidrolisis..... 165



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Enceng gondok merupakan kelompok gulma perairan sebab tanaman ini memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi. Enceng gondok dapat mudah menyebar melalui saluran air, persawaan, kolam dan waduk. Pertumbuhan enceng gondok yang cepat dan baik apabila habitat hidupnya banyak mengandung limbah pertanian atau pabrik. Oleh karena itu banyaknya enceng gondok di suatu perairan sering dijadikan indikator tercemar perairan tersebut. Didukung oleh Laboratorium Ilmu Makan Ternak (2005), mengatakan bahwa enceng gondok (*Eichhornia crassipes*) adalah salah satu tumbuhan air yang sering merusak lingkungan danau dan sungai, dapat menyumbat saluran irigasi, mempercepat hilangnya air, mencemari areal penangkapan ikan. Enceng gondok tumbuhan dengan cepat sehingga perlu dilakukan upaya untuk menanganinya agar tidak mengganggu dan merusak lingkungan.

Tanaman Enceng gondok (*Eichhornia crassipes*) mudah berkembang biak dengan vegetative, pada daerah yang memiliki musim tropis dan subtropis. Didukung oleh pernyataan Riswandi (2014), mengtakan bahwa enceng gondok merupakan salah tanaman air dan gulma air yang memiliki perkembangan tumbuh yang sangat cepat dan penyesuaian terhadap lingkungan hidup yang tinggi. Kandungan nilai gizi eceng gondok (*E. crassipes*) sebagai berikut, kandungan protein kasar 9,8–12,0 %, abu 11,9–23,9 %, lemak kasar 1,1–3,3 %, serat kasar 16,8–24,6 %. Kandungan protein yang ada dan masih bisa digunakan sebagai bahan pakan alternatif. Enceng gondok sebagai bahan pakan alternatif sangat mudah untuk didapatkan karena bahan ini tersedia banyak di alam dan masih belum

termanfaatkan dengan baik. Oleh karena itu akan diolah menjadi produk hidrolisat protein.

Hidrolisat protein ikan adalah merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi senyawa-senyawa berantai pendek karena adanya proses hidrolisis baik oleh enzim, asam maupun basa. didukung oleh Bernadeta *et al.* (2012), mengatakan bahwa Hidrolisat protein pada industri pangan digunakan untuk bahan tambahan yang ditambahkan dalam suplemen makanan diet, dalam bidang farmasi digunakan untuk produk produk dermatologis, seperti krim pembersih muka dan pelembab kulit tetapi biasanya hidrolisat protein digunakan sebagai bahan pengemulsi. 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). Hidrolisat protein ikan dapat diproduksi secara kimiawi dan enzimatis. Hidrolisis secara enzimatis lebih efisien, murah, menghasilkan hidrolisat protein ikan tanpa kehilangan asam amino esensial. Pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan enzim mikroorganismenya dapat dilakukan dengan cara fermentasi.

Salah satu upaya untuk meningkatkan kandungan nutrisi dari eceng gondok adalah dengan melakukan fermentasi secara biologis dengan menggunakan mikroba proteolitik dan mikroba selulolitik. Mikroba proteolitik dapat menghasilkan enzim protease yang mampu mengubah protein menjadi asam amino sedangkan enzim selulase dapat mendegradasi selulosa menjadi senyawa oligosakarida, disakarida, dan monosakarida yang bersifat larut. Hasil penelitian Agustono *et al.* (2010), mengatakan bahwa fermentasi eceng gondok selama 7 hari menggunakan

kombucha dapat meningkatkan kandungan protein kasar dari 13,3040 % menjadi 15,9977% , dengan menggunakan formulasi Eceng gondok + tetes 2 % + kombucha 22,5 %. Peningkatan protein kasar dari eceng gondok yang difermentasi dengan Kombucha menunjukkan bahwa di dalam Kombucha terdapat mikroba proteolitik. Salah satu mikroba proteolitik yang terdapat dalam Kombucha adalah *Lactobacillus* sp. Mikroba ini menghasilkan enzim protease yang akan merombak protein menjadi polipeptida kemudian dirombak lagi menjadi asam – asam amino.

Fermentasi oleh mikrobia mampu mengubah makro molekul kompleks menjadi molekul sederhana yang mudah dicerna oleh unggas dan tidak menghasilkan senyawa kimia beracun. Lama fermentasi yang berbeda dapat menghasilkan hasil hidrolisat yang berbeda sebab dalam selang waktu tersebut terjadi penguraian senyawa kompleks menjadi sederhana. Hasil penelitian Mangisah, *et al.* (2009), mengatakan bahwa pemeraman 6 minggu dengan *Aspergillus niger* mempengaruhi kadar nutrisi daun eceng gondok. Kadar protein kasar daun eceng gondok fermentasi meningkat 11,39% menjadi 18,84% dan kadar serat kasar menurun 36,59% menjadi 15,73% dibanding dengan daun eceng gondok yang tidak difermentasi.

Didalam proses fermentasi pasti terdapat mikroorganisme yang membantu untuk proses fermentasi. Pemilihan mikroorganisme ini harus sesuai dalam membantu untuk proses hidrolisat protein. Mikroorganisme yang digunakan adalah organisme yang non patogen, mudah dikultur, dan mudah berkembang biak serta tidak membutuhkan nutrisi yang spesifik, yaitu khamir. Menurut hasil penelitian Sukoso (2010), mengatakan bahwa pertumbuhan sel khamir yang cepat, tidak

membutuhkan wadah (fermentor), teknologi pembiakan yang sederhana dan dapat dilakukan dalam ruang yang sangat efisien.

Khamir laut membutuhkan nutrisi untuk melakukan aktivitas dalam proses fermentasi misalnya sumber karbon, nitrogen, oksigen. Sumber karbon yang digunakan biasanya berasal dari gula pasir. Karena gula pasir yang relatif mahal jika dijadikan sebagai sumber karbon sehingga alternatifnya menggunakan molase yang belum dimanfaatkan dengan baik. Didukung oleh pernyataan Pangesti *et al.* (2012), mengatakan bahwa Beberapa sumber karbon yang sering digunakan adalah molase, sereal, pati, glukosa, sukrosa, dan laktosa. Molase yang merupakan hasil samping dari proses pembuatan gula, masih mengandung gula 62%, air 20%, non-gula 10%, dan garam - garam anorganik (abu) 8%. Molase dibutuhkan oleh *Aspergillus niger* sebagai sumber karbon, nitrogen, mineral dan nutrisi bagi pertumbuhan mikroba sehingga dapat menghasilkan enzim. Untuk mengurangi kontaminasi molase dari mikroba yaitu dengan perebusan karena dapat mengurangi kontaminasi dan dapat menguraikan molase sukrosa menjadi lebih sederhana sehingga dapat langsung digunakan untuk metabolisme khamir laut. Wahyuni (1997), mengatakan bahwa molase mengandung unsur nitrogen 4,5%, sukrosa 35%, dekstrosa (glukosa) 7%, laevulose (fruktosa) 9%.

Selama ini belum ada penelitian mengenai khamir laut sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein dari enceng gondok segar dengan fermentasi dan penambahan sumber karbon berupa molase rebus, maka perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut. Dari paparan yang telah dijelaskan maka diperlukan kajian yang membahas tentang pemanfaatan khamir laut sebagai biokatalisator dalam pembuatan hidrolisat enceng gondok segar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Enceng gondok merupakan tanaman gulma yang banyak dijumpai di perairan yang mudah berkembangbiak sehingga menjadi masalah untuk perairan tersebut. Meskipun enceng gondok itu gulma, tumbuhan ini memiliki nilai gizi yang bisa dimanfaatkan sebagai alternatif pakan yaitu hidrolisat protein enceng gondok dengan menggunakan metode fermentasi dengan bantuan khamir laut. Pemanfaatan khamir laut yang dapat menghasilkan enzim misalnya protease dalam fermentasi enzim tersebut dapat meningkatkan nilai gizi hidrolisat protein enceng gondok. Penggunaan volume molase rebus untuk media pertumbuhan khamir laut dan sumber nutrisi serta lama fermentasi yang tetap dapat mempengaruhi kualitas hidrolisat protein enceng gondok segar yang akan dihasilkan. Dari uraian diatas dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

- Bagaimana pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok segar ?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok segar

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian tentang pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok (*Eichhornia crassipes*) segar selama masa fermentasi dengan starter khamir laut adalah:

- Untuk mendapatkan volume molase rebus yang paling tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok

- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang paling tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok

#### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

- Penambahan molase rebus berpengaruh terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok
- Lama fermentasi yang berbeda berpengaruh terhadap karakteristik hidrolisat protein

#### **1.5 Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan enceng gondok sebagai bahan pembuatan hidrolisat protein, pengaruh lama fermentasi dan volume molase segar yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok.

#### **1.6 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan, dan Laboratorium Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Januari – April 2015.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Enceng Gondok

#### 2.1.1 Karakteristik Enceng Gondok

Menurut Tangio (2012), enceng gondok (*Eichhornia Crassipes*) merupakan gulma air yang memiliki pertumbuhan yang cepat dan sangat susah pengendaliannya. Enceng gondok merupakan herba yang mengapung, menghasilkan tunas merayap yang keluar dari ketiak daun yang dapat tumbuh lagi menjadi tumbuhan baru dengan tinggi 0,4-0,8 tumbuhan ini memiliki bentuk fisik berupa daun-daun yang tersusun dalam bentuk radikal (roset). Gambar enceng gondok dapat dilihat pada Gambar 1. Enceng gondok memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut :

Divisio : Embryophytasi Phonogama

Sub Divisio : Spermathopyta

Klas : Monocotyledoneae

Ordo : Ferinosae

Famili : Pontederiaceae

Genus : Eichhornia

Spesies : *Eichhornia crassipes*



**Gambar 1.** Enceng Gondok Segar

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.) adalah salah satu jenis tumbuhan air mengapung, memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi sehingga tumbuhan ini dianggap sebagai gulma yang dapat merusak lingkungan perairan. Kecepatan pertumbuhan eceng gondok sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan seperti unsur hara, cahaya, kedalaman air, salinitas dan pH. Proses regenerasi vegetatif yang cepat dan toleransinya terhadap lingkungan yang cukup besar, menyebabkan tumbuhan eceng gondok dapat mendatangkan masalah antara lain dapat meningkatkan evapotranspirasi, menghambat

transportasi di perairan dan merupakan sarang vector penyakit. Namun disamping mempunyai kerugian, semua bagian dari eceng gondok juga punya banyak manfaat (Aeni *et al.*, 2011).

Eceng gondok (*Eichornnia crassipes* (Martz) Solms) merupakan gulma akuatik yang memiliki kemampuan tumbuh yang sangat besar sehingga mampu membentuk populasi yang sangat besar dalam waktu yang singkat. Hal ini banyak menimbulkan kerugian baik secara ekonomi maupun ekologi. Oleh karena itu maka berbagai upaya pengendalian populasinya terus dilakukan baik secara mekanis, kimiawi maupun biologis. Selain upaya pengendalian, upaya pemanfaatan secara ekonomis pun dilakukan. Di beberapa daerah, eceng gondok dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan kerajinan tangan, sebagai bahan untuk pembuatan kertas dan eceng gondok dapat dimanfaatkan untuk memproduksi metana (Surthikanthi, 2005).

Secara fisiologis eceng gondok dapat berperan secara tidak langsung dalam mengatasi bahan pencemar perairan. Oksigen hasil fotosintesis di daun dan tangkai daun ditransfer ke akar yang luas serta air di sekitarnya. Ini membuat rizosfer menyediakan lingkungan mikro dengan kondisi yang kondusif bagi bakteri nitrit. Oleh karena itu aktivitas dekomposisi oleh bakteri jenis ini yaitu perubahan amoniak menjadi nitrat lebih meningkat (Haryanti *et al.*, 2015).

### **2.1.2 Komposisi Gizi Eceng Gondok**

Komposisi kimia eceng gondok tergantung pada kandungan unsur hara tempatnya tumbuh, dan sifat daya serap tanaman tersebut. Eceng gondok mempunyai sifat-sifat yang baik antara lain dapat menyerap logam-logam berat, senyawa sulfida, selain itu mengandung protein lebih dari 11,5% dan mengandung selulosa yang lebih besar dari non selulosanya seperti lignin, abu, lemak, dan zat-zat lain. Daun eceng gondok memiliki asam amino sebagai

senyawa aktif dalam proses adsorpsi, hal ini didukung dengan hasil analisa kimia dari Enceng gondok dalam keadaan segar diperoleh bahwa kadar N total 0,28 %, bahan organik 36,59 %, C organik 21,23 %, P total 0,0011 % dan K total 0,016 % (Tangio, 2012).

Menurut Mangisah, et.al., (2009), kadar nutrisi daun eceng gondok dalam bentuk bahan kering (BK) yaitu protein kasar 6,31%, serat kasar 26,61%, lemak kasar 2,83%, abu 16,12% dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 48,18%. Karena tingginya kadar serat kasar perlu dilakukan pengolahan, salah satunya dengan fermentasi. Fermentasi oleh mikrobia mampu mengubah makromolekul kompleks menjadi molekul sederhana yang mudah dicerna oleh unggas dan tidak menghasilkan senyawa kimia beracun. Ditambahkan oleh Tham (2012), kandungan asam amino dan konsentrasi mineral dari enceng gondok dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kandungan Asam Amino Daun Petiole dan Mineral Dari Enceng Gondok(g/kg berat kering)

| Asam amino               | Daun | Petiole | Mineral      |
|--------------------------|------|---------|--------------|
| Alanine                  | 34   | 29      | Ca           |
| Arginine                 | 36   | 11      | P            |
| Asparagines              | 51   | 34      | Na           |
| Cysteine                 | 4    | -       | K            |
| Cystine                  | 8    | -       | Mg           |
| Glutamine                | 59   | 30      | Mn           |
| Glycine                  | 30   | 32      | Fe           |
| Histidine                | 11   | 6       | Cu(mg/kg DM) |
| Isoleucine               | 23   | 14      | Cu(mg/kg Dm) |
| Leucine                  | 51   | 27      |              |
| Lysine                   | 27   | 16      |              |
| Methionine               | 13   | -       |              |
| Phenylalanine            | 34   |         |              |
| Phenylalanine + Tyrosine | -    | 19      |              |
| Proline                  | 27   | 17      |              |
|                          | 26   | 18      |              |
| Serine                   |      |         |              |
| Threonine                | 26   | 16      |              |

|          |    |    |
|----------|----|----|
| Tyrosine | 22 | -  |
| Valine   | 28 | 20 |

---

Sumber : Tham (2012)

## 2.2 Khamir Laut

### 2.2.1 Karakteristik Khamir Laut

Khamir adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan ukuran antara 5-20 mikron, biasanya berukuran sampai 5-10 kali lebih besar dari bakteri. Terdapat berbagai macam bentuk ragi, bentuk ini tergantung pada pembelahannya. Sel khamir sering dijumpai secara sel tunggal, tetapi apabila anak-anak sel tidak dilepaskan dari induknya setelah pembelahan, maka akan terjadi bentuk yang disebut *pseudomiselum*. Khamir tidak bergerak, pembelahan khamir terjadi secara aseksual atau tunas (Sari, 2009).

Morfologi Khamir berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur. Perkembang biak dengan cara membelah diri melalui "*budding cell*", reproduksi khamir dapat dipengaruhi oleh lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel. Khamir dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Selain itu untuk menunjang kebutuhan hidup diperlukan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen (Ahmad, 2005).

Khamir atau disebut yeast, merupakan jamur bersel satu yang mikroskopik, tidak berflagela. Beberapa genera membentuk filamen (*pseudomiselium*). Cara hidupnya sebagai saprofit dan parasit. Hidup di dalam tanah atau debu di udara, tanah, daun-daun, nektar bunga, permukaan buah-buahan, di tubuh serangga, dan cairan yang mengandung gula seperti sirup, madu dan lain-lain. Khamir berbentuk bulat (*speroid*), elips, batang atau silindris, seperti buah jeruk, sosis, dan lain-lain. Bentuknya yang tetap dapat digunakan untuk identifikasi. Khamir dapat dimasukkan ke dalam kelas Ascomycetes,

Basidiomycetes dan Deuteromycetes. Perkembang biakan sel khamir dapat terjadi secara vegetatif maupun secara generatif (seksual). Secara vegetatif (aseksual), (a) dengan cara bertunas (*Candida* sp., dan khamir pada umumnya), (b) pembelahan sel (*Schizosaccharomyces* sp.), dan (c) membentuk spora aseksual (klas Ascomycetes). Secara generatif dengan cara konyugasi (reproduksi seksual) (Sumarsih, 2003).

### 2.2.2 Isolasi Khamir Laut

Khamir merupakan mikroorganisme bersel satu yang berukuran 5-20 mikron, bentuknya oval, atau bulat tak beraturan. Khamir dapat diisolasi dari manusia atau hewan berdarah panas, namun yang utama diisolasi dari tanah, air laut, produk fermentasi, hewan berdarah dingin, dan sebagainya. Sel khamir memiliki beberapa organel seperti badan Golgi, inti sel, mitokondria, vakuola sebagai tempat menyimpan cadangan nutrisi, sitoplasma, dinding sel yang mengandung glukukan dan manan serta terdapat kitin dan protein, dan membran sel yang terdiri atas lipid dan protein (Falahudin, 2008).

Khamir dapat diisolasi dari tanah yang berasal dari kebun anggur, kebun buah-buahan dan biasanya khamir juga berada dalam cairan yang mengandung gula, seperti cairan buah, madu, sirup, dan sebagainya. Bentuk sel khamir bulat (bola), oval, dan biasanya tidak mempunyai flagella. Suhu optimum khamir adalah 25°C sampai 30°C dan suhu maksimum sebesar 35°C – 47°C. Sementara itu, pH yang optimal untuk tumbuh sekitar 4 – 4,5 pada suasana asam (Hasanah, 2007).

### 2.2.3 Komposisi Kimia Khamir Laut

Kandungan kimia dari khamir laut yaitu dinding sel terdiri dari glukukan atau selulosa khamir (3-35%), mannan (30%), lemak (8,5-13%), protein (6-8%), dan

kitin (1-2%) dari berat kering sel (Waluyo, 2007). Kandungan nutrisi khamir laut yang telah diisolasi dari laut Jawa dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Kandungan nutrisi, asam amino, asam lemak, dan mineral kultur khamir laut.

| Kandungan           |                   | Persentase (%) | Mg/100g   |
|---------------------|-------------------|----------------|-----------|
| Analisa proksimat   | Bahan kering oven | 71,85          | -         |
|                     | Protein           | 28,29          | -         |
|                     | Lemak             | 0,34           | -         |
|                     | BETN              | 4,33           | -         |
|                     | Serat kasar       | 0,95           | -         |
|                     | Abu               | 66,09          | -         |
| Asam amino esensial | Arginin           | 0,206          | -         |
|                     | Histidin          | 0,262          | -         |
|                     | Isoleusin         | 0,310          | -         |
|                     | Leucin            | 0,318          | -         |
|                     | Lisidin           | 0,463          | -         |
|                     | Threonin          | 0,187          | -         |
|                     | Metionin + sistin | 0,773          | -         |
|                     | Valin             | 0,342          | -         |
|                     | Phenylalanin      | 0,274          | -         |
|                     | Asam lemak        | Oleat          | 14.447    |
| Linoleat            |                   | 7.469          | -         |
| Linolenat           |                   | 0,875          | -         |
| Stearat             |                   | 28.726         | -         |
| Laurat              |                   | 1,842          | -         |
| Palmitat            |                   | 17.437         | -         |
| Mineral             | Ca                |                | 2.161     |
|                     | P                 |                | 2.276     |
|                     | Cl                |                | 7.452,459 |
|                     | Mn                |                | 2.844     |
|                     | Zn                |                | 266.241   |
|                     | Mg                | 0,09           | -         |

Sumber : Febriani (2010)

### 2.2.4 Potensi Bioteknologi Khamir Laut

Menurut Asngad dan suparti (2009), khamir memiliki sekumpulan enzim yang diketahui sebagai zymase yang berperan pada fermentasi senyawa gula, seperti glukosa menjadi etanol (etil alkohol) dan karbon dioksida. Proses fermentasi alkohol hanya dapat terjadi apabila terdapat sel-sel khamir. Cepat lambatnya khamir juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya

adalah formulasi media yang digunakan sebagai proses pengembangbiakan, inokulum, tahapan fermentasi dan ketersediaan substrat cukup. Waktu fermentasi yang lebih lama akan memberikan kesempatan bagi mikrobia (khamir) untuk melakukan penguraian yang lebih banyak. Namun bila fermentasi terlalu lama nutrisi dalam substrat, akan habis dan khamir tidak dapat memfermentasi bahan.

Cendawan selain merugikan karena menimbulkan penyakit seperti aspergilosis dan aflatoksikosis, banyak pula yang tergolong menguntungkan dan dipakai untuk kepentingan manusia misalnya kapang sebagai control biologi cacing dan ragi khamir sebagai probiotik dan imunostimulan. Pemakaian ragi sebagai salah satu bahan utama pembuatan roti dan kue sudah sejak lama dipakai pada zaman Mesir kuno, yang belakangan ini diketahui sebagai khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Bersama dengan kemajuan zaman pada abad ke-18, pembuatan bir dilakukan pula dengan menggunakan khamir genus *Saccharomyces* spp., sebagai biostarter. Di Indonesia *S. cerevisiae* sebagai khamir telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk keperluan pembuatan roti, dan tape singkong. Pada masa kini, khamir paling banyak digunakan untuk keperluan berbagai industri dalam proses produksi minuman beralkohol, biomasa, ekstrak untuk keperluan industri kimia, senyawa beraroma dan produksi protein rekombinan untuk menunjang kegiatan bioteknologi khususnya bidang molekuler biolog (Ahmad, 2005).

### **2.3 Molase**

#### **2.3.1 Karakteristik Molase**

Menurut Widyanti (2010), molase yang merupakan *by product* yang dihasilkan dari sisa proses produksi gula, berwarna coklat dan berbentuk cairan kental. Bahan ini tidak dapat dihilangkan warnanya meskipun sudah mengalami

pengenceran atau penambahan zat aditif. Sampai saat ini pemanfaatan masih terbatas pada industri alkohol dan MSG. Komposisi molase dan molase rebus dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Komposisi Kimia molase dan Molase rebus

| Komposisi kimia |                   | Kandunga (%) |              |
|-----------------|-------------------|--------------|--------------|
|                 |                   | Molase       | Molase rebus |
| Kandungan Gula  | Fruktosa          | 4.5652       | 3.9174       |
|                 | Gula reduksi      | 1.5602       | 2.1615       |
|                 | Sukrosa           | 0.5299       | 0.3982       |
| Proksimat       | Air               | 66.20        | 64.63        |
|                 | Protein           | 23.23        | 24.64        |
|                 | Karbohidrat       | 6.36         | 5.73         |
|                 | Abu               | 4.13         | 4.95         |
|                 | Lemak             | 0.08         | 0.05         |
| Asam amino      | L – asam glutamat | 2.912        | 3.594        |
|                 | L – prolin        | 0.640        | 0.350        |
|                 | L – alanin        | 0.610        | 0.512        |
|                 | L – asam aspartat | 0.405        | 0.669        |
|                 | L – serin         | 0.069        | 0.234        |
|                 | L – glisin        | 0.051        | 0.187        |
|                 | L – valin         | 0.046        | 0.124        |
|                 | L – lisin         | 0.035        | 0.966        |
|                 | L – leusin        | 0.027        | 0.121        |
|                 | L – isoleusin     | 0.024        | 0.084        |
|                 | L – treonin       | 0.021        | 0.112        |
|                 | L – tirosin       | 0.015        | 0.060        |
|                 | L – histidin      | 0.014        | 0.074        |
|                 | L – fenilalanin   | 0.009        | 0.073        |
|                 | L – metionin      | 0.008        | 0.034        |
|                 | L – arginin       | 0.007        | 0.107        |
|                 | L – sistein       | -            | 0.081        |

Sumber : Rohim (2014)

Molase adalah hasil samping yang berasal dari pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum* L). Tetes tebu berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan Kristal gula. Molase tidak dapat lagi dibentuk menjadi sukrosa namun masih mengandung gula dengan kadar tinggi 50-60%, asam amino dan mineral dan pH molase berkisar antara 5,5-6,5. Molase atau tetes tebu mengandung kurang lebih 60% selulosa dan 35,5% hemiselulosa (Juwita, 2012).

Molases adalah hasil samping yang berasal dari pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum* L). Molases berupa cairan kental dan diperoleh dari

tahap pemisahan kristal gula. Molases tidak dapat lagi dibentuk menjadi sukrosa namun masih mengandung gula dengan kadar tinggi 50-60%, asam amino dan mineral. Molases kaya akan biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor, dan sulfur. Selain itu juga mengandung gula yang terdiri dari sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12%. Tetes tebu digunakan secara luas sebagai sumber karbon untuk denitrifikasi, fermentasi anaerobik, pengolahan limbah aerobik, dan diaplikasikan pada budidaya perairan. Komposisi nutrisi tetes dalam 100 % bahan kering adalah 0,3 % lemak kasar, 0,4 % serat kasar, 84,4 % BETN, 3,94 % protein kasar dan 11% abu (Ahmad dan Nasich 2015).

Menurut Fauzi (2009), komposisi kimia tetes tebu (molase) memiliki komposisi kimia yaitu air 17 -25 %, gula ( sukrosa 30 - 40%, fruktosa 4 – 9%), gula reduksi total (sebagai invert), 10-25%, gula reduksi total (sebagai invert), 10 -25. Karbohidrat (gum, kanji, pentose, 2- 5%), abu 7 -15%, komponen nitrogen ( Protein (N × 6,25), true protein 0.5 – 1,5% , asam amino 0,3 -0,5 %). Asam sitrat, malat, oksalat, dan akonitat 0,5 – 1,5 %.

### 2.3.2 Manfaat Molase Terhadap Pertumbuhan Khamir Laut

Molase yang merupakan sumber nutrisi bagi bakteri probiotik diharapkan dapat meningkatkan populasi bakteri probiotik sehingga dapat memaksimalkan kerja dari bakteri probiotik sebagai agen bioremediasi. Molase mempunyai kandungan karbon organik sebesar 42,3%. Bakteri dan mikroorganisme akan memanfaatkan karbohidrat sebagai pakan untuk menghasilkan energi dan sumber karbon bersama dengan nitrogen diperairan akan memproduksi protein sel baru (Sartika *et al.*, 2012).

Menurut Novianti (2007), penambahan molase dapat mempercepat tercapainya fase eksponensial. Gula invert yang terkandung dalam molase, memungkinkan khamir untuk langsung menggunakan gula tersebut sebagai

sumber karbonnya tanpa diperlukan proses pemecahan terlebih dahulu. Setelah mencapai fase eksponensial, terjadi penurunan produksi biomassa dihari berikutnya. Kemudian pada hari selanjutnya terjadi kenaikan dan penurunan produksi biomassa.

## **2.4 Fermentasi**

### **2.4.1 Definisi Fermentasi**

Fermentasi adalah suatu pengolahan dimana prosesnya memanfaatkan enzim atau mikroorganisme untuk penguraian senyawa dari bahan – bahan kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Selama proses fermentasi protein akan terhidrolisis menjadi asam- asam amino dan peptida, kemudian asam amino akan terurai menjadi komponen komponen lain sedangkan karbohidrat akan dipecah menjadi alkohol dan karbondioksida (CO<sub>2</sub>). Dalam proses fermentasi, peranan mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan khamir sangat mempengaruhi mutu akhir produk pangan yang difermentasikan. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi dapat berasal dari kandungan produk itu sendiri atau sengaja ditambahkan dari luar kandungan produk (Hasan, 2002).

Fermentasi adalah sebagai hasil kegiatan beberapa jenis mikroorganisme baik bakteri, khamir, dan kapang. Dalam proses fermentasi, mikroorganisme harus mempunyai 3 karakteristik penting yaitu: 1.) Mikroorganisme harus mampu tumbuh dengan cepat dalam suatu substrat dan lingkungan yang cocok untuk memperbanyak diri, 2.) Mikroorganisme harus memiliki kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologi dan memiliki enzim-enzim esensial yang mudah dan banyak supaya perubahan-perubahan kimia yang dikehendaki dapat terjadi, 3.) Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan harus sesuai supaya produksi maksimum. Sedangkan Berdasarkan sumber mikroorganisme, proses

fermentasi dibagi 2 yaitu: 1.) Fermentasi spontan adalah fermentasi bahan pangan dimana dalam pembuatannya tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi, tetapi mikroorganisme yang berperan aktif dalam proses fermentasi, 2.) Fermentasi tidak spontan adalah fermentasi yang terjadi dalam bahan pangan yang dalam pembuatannya ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi, dimana mikroorganisme tersebut akan tumbuh dan berkembangbiak secara aktif merubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan (Suprihatin, 2010).

#### 2.4.2 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi.

Fermentasi adalah suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Faktor - faktor yang mempegaruhi fermentasi adalah jenis substrat, jenis mikroorganisme, ph, oksigen, suhu.

##### a) Jenis Mikroorganisme

Menurut febriani (2006), meyakini bahwa khamir merupakan organisme selluler dari golongan jamur yang bersifat kemoorganotrof dan bereproduksi seksual degan petunasan bisa juga dengan asexual berupa pertunasan. Khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim yaitu enzim protease, amylase, lipase dan selama pertumbuhan sel khamir dapat menghasilkan senyawa seperti nukleotida, asam amino, vitamin B kompleks (thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin). Sebagai sumber protein khamir memiliki keunggulan yaitu laju pertumbuhan tinggi, dapat tumbuh pada media sederhana tanpa membutuhkan bahan-bahan tambahan yang mahal, mampu tumbuh dalam kepadatan tinggi, kandungan nutrisi tinggi, tidak bersifat racun, mudah diperoleh dan daya cernah tinggi.

b) Jenis Substrat

Menurut Suprihatin (2010), jenis substrat yang dibutuhkan oleh mikroba tumbuh yaitu sumber carbon, selulosa, nitrogen. Sumber carbon berasal karbohidrat yang biasanya berasal dari glukosa dan sukrosa tetapi karena harganya mahal sumber carbon didapat dari molase dan selulosa dan nitrogen dari enceng gondok untuk pertumbuhan khamir. Molase merupakan sumber karbohidrat termurah. Disamping mengandung sejumlah gula, molase juga mengandung senyawa bernitrogen, vitamin dan elemen terbatas. Komposisi molase bervariasi tergantung bahan mentah yang digunakan untuk produksi gula, misalnya molase gula bit dan gula tebu. Sumber Selulosa didapat dari limbah enceng gondok.

c) Kebutuhan Oksigen

Menurut Suprihatin (2010), berdasarkan kebutuhan akan oksigen mikroba dapat dibedakan yaitu mikroba yang bersifat aerobik, anaerobik dan anaerobik fakultatif. Kapang dan khamir pada umumnya bersifat aerobik, sedangkan bakteri dapat bersifat aerobik dan anaerobik. Dalam fermentasi menggunakan mikroba aerobik, aerasi selama proses fermentasi sangat berpengaruh terhadap produk akhir yang dihasilkan.

d) pH

Menurut Suprihatin (2010), menyatakan Nilai pH untuk pertumbuhan mikroba mempunyai hubungan dengan suhu pertumbuhannya. Jika suhu pertumbuhan naik, pH optimum untuk pertumbuhan juga naik. Khamir menyukai pH 4 – 5 dan tumbuh pada kisaran pH 2.5 – 8.5. Oleh karena itu untuk menumbuhkan khamir biasanya dilakukan pada pH rendah untuk mencegah kontaminasi bakteri.

e) Suhu

Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi kecepatan pertumbuhan khamir. Jika suhu didalam fermentor sesuai maka akan menyebabkan khamir tumbuh dengan maksimal sehingga dapat menguraikan substrat yang ada dengan optimal. Menurut ferbriani (2006), mengatakan bahwa toleransi tumbuh khamir laut untuk hidup yaitu pada suhu 20 - 45°C.

#### **2.4.3 Pengaruh Lama Fermentasi dengan Stater Mikroorganisme.**

Fermentasi oleh mikrobia mampu mengubah makromolekul kompleks menjadi molekul sederhana yang mudah dicerna oleh unggas dan tidak menghasilkan senyawa kimia beracun. Menurut Mangisah, *et al.* (2009), pemeraman 6 minggu dengan *Aspergillus niger* mempengaruhi kadar nutrisi daun eceng gondok. Kadar protein kasar daun eceng gondok fermentasi meningkat 65,41% (dari 11,39% menjadi 18,84%) dan kadar serat kasar menurun 57% (dari 36,59% menjadi 15,73%) dibanding dengan daun eceng gondok yang tidak difermentasi. Menurunnya serat kasar diakibatkan *Aspergillus niger* menghasilkan enzim amilase, amiloglukosidase dan selulase yang dapat mendegradasi selulosa.

Menurut Rahmadi (2003), mengatakan bahwa lama fermentasi dapat meningkatkan kadar air dan lemak kasar tetapi menurunkan kadar abu dengan menggunakan limbah kubis + bekatul + 6% KMC (kultur Mikroorganisme Campuran) dalam waktu 1, 2 dan 3 minggu lama fermentasi. Hasil yang kadar air tidak difermentasi 54,28 naik menjadi 62, 51, kadar abu 14,58 turun menjadi 17,75 difermentasi selama 3 minggu. Sedangkan lemak kasar meningkat dari 5, 59 menjadi 8.53.

## 2.5 Hidrolisat Protein

### 2.5.1 Pengertian dan Manfaat Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein merupakan sumber protein alami yang dihidrolisis secara parsial sehingga lebih mudah diasimilasi oleh makhluk hidup. Proses hidrolisis diawali dengan pengecilan ukuran. Pada kondisi tertentu, substrat dihancurkan sehingga diperoleh peptida maupun asam amino. Hasil hidrolisis antara lain adalah  $\alpha$ -amino nitrogen bebas yang umumnya digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis. Perbandingan antara  $\alpha$ -amino nitrogen bebas dengan total nitrogen digunakan untuk menentukan mutu hidrolisat protein. Pada umumnya hidrolisat protein digunakan untuk memperbaiki karakteristik berbagai produk pangan, sebagai penyedap rasa, sebagai lanjutan untuk isolasi asam amino, serta untuk pengobatan. Selain itu hidrolisat protein juga dapat disertakan sebagai menu para penderita gangguan pencernaan. Aplikasi produk hidrolisat protein ikan diantaranya digunakan dalam pengolahan bahan makanan tambahan dengan tujuan selain menambah sumber protein yang kaya dengan asam amino. (Purbasari, 2008).

Hidrolisat protein ikan (HPI) adalah protein ikan yang telah terurai menjadi turunan-turunan protein karena adanya proses hidrolisis oleh enzim, asam ataupun basa. HPI mempunyai sifat fungsional yang lebih baik daripada tepung ikan karena mempunyai kelarutan yang sangat tinggi dan kelarutan ini tidak banyak berubah walaupun mendapat perlakuan suhu tinggi. Faktor yang berpengaruh terhadap kecepatan hidrolisat dan kekhasan produk pada pembuatan hidrolisat protein yaitu suhu, waktu hidrolisis dan konsentrasi enzim yang ditambahkan, sedangkan tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, serta kondisi dan jenis bahan penghidrolisis. Lama proses hidrolisis dapat mempengaruhi mutu hidrolisat protein semakin lama

proses hidrolisis menyebabkan jumlah peptida dan asam amino menurun dan padatan tidak fungsional meningkat (Haslina, 2004).

### 2.5.2 Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan

Ciri khas dari hasil produk hidrolisat protein adalah memiliki rasa pahit, rasa pahit produk HPI disebabkan oleh peptida berantai pendek sebagai produk hasil pemecahan protein. Mekanisme terjadinya komponen penyebab rasa pahit tersebut tidak dapat diprediksi, karena berbagai faktor yang sangat kompleks berperan dalam pembentukan komponen penyebab rasa pahit tersebut. Rasa manis pada HPI kemungkinan disebabkan oleh asam amino glisin selama proses hidrolisis, sedangkan rasa gurih disebabkan oleh pembentukan oligopeptida yang mempunyai proporsi molaritas yang tinggi dari asam glutamat selama proses hidrolisis berlangsung (Bernadeta *et al.*, 2012).

Pengolahan ikan menjadi hidrolisat protein bertujuan untuk mengatasi kerusakan ikan dan untuk mendapatkan bahan pangan yang lebih mudah dicerna oleh tubuh karena proteinnya telah terurai menjadi asam amino dan peptida-peptida yang lebih sederhana. Hidrolisat protein ikan (HPI) adalah protein ikan yang telah terurai menjadi turunan-turunan protein karena adanya proses hidrolisis oleh enzim, asam ataupun basa. HPI mempunyai sifat fungsional yang lebih baik daripada tepung ikan karena mempunyai kelarutan yang sangat tinggi dan kelarutan ini tidak banyak berubah walaupun mendapat perlakuan suhu tinggi misalnya pada proses sterilisasi mampu bertahan dalam bentuk cair pada konsentrasi tinggi (Haslina *et al.*, 2006).

## 2.6 Protease

Protease adalah enzim yang dapat mehidrolisis ikatan peptida pada protein. Enzim protease merupakan salah satu enzim yang banyak digunakan baik dalam industri pangan maupun non pangan. sumber enzim biasanya didapat dari hewan, tanaman, dan mikroorganism. Protease yang berasal dari mikroorganism mempunyai keunggulan dari protease yang lainnya yaitu dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak, produktivitasnya mudah ditingkatkan, mutu lebih seragam, harga lebih murah, dapat ditumbuhkan dengan cepat, pertumbuhannya mudah diatur dan enzim yang dihasilkan mudah diisolasi (Novita *et al.*, 2006). Mikroba yang telah dikembangkan secara komersial sebagai penghasil protease antara lain *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Aspergillus oryzae*, dan *Aspergillus niger* (Suri *et al.*, 2013).

Kemampuan protease dalam mempercepat reaksi dipengaruhi oleh beberapa faktor untuk menghasilkan kinerja yang optimal. Faktor yang mempengaruhi adalah konsentrasi enzim, substrat, senyawa inhibitor dan aktifator, Ph, temperatur lingkungan. Pada temperatur rendah, reaksi enzimatik berlangsung lambat, kenaikan temperatur akan mempercepat reaksi, hingga suhu optimum tercapai dan reaksi enzimatik mencapai maksimum (Noviyanti *et al.*, 2012).

Protease, dapat menghasilkan produk hidrolisa yang bersifat mudah larut dan menjadi sumber nutrisi yang digunakan oleh mikroba pembentuk asam asetat. Kinerja enzim protease akan maksimal bila bekerja pada pH optimumnya 4,5-7,0 dan temperatur dengan kisaran 55-75° C (purwati *et al.*, 2011). Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energy karean reaksinya tidak membutuhkan energy tinggi, bersifat spesifik, dan tidak beracun (Suri *et al.*, 2013).

## 2.7 Pengertian HPLC (High Pressure Liquid Chromatography)

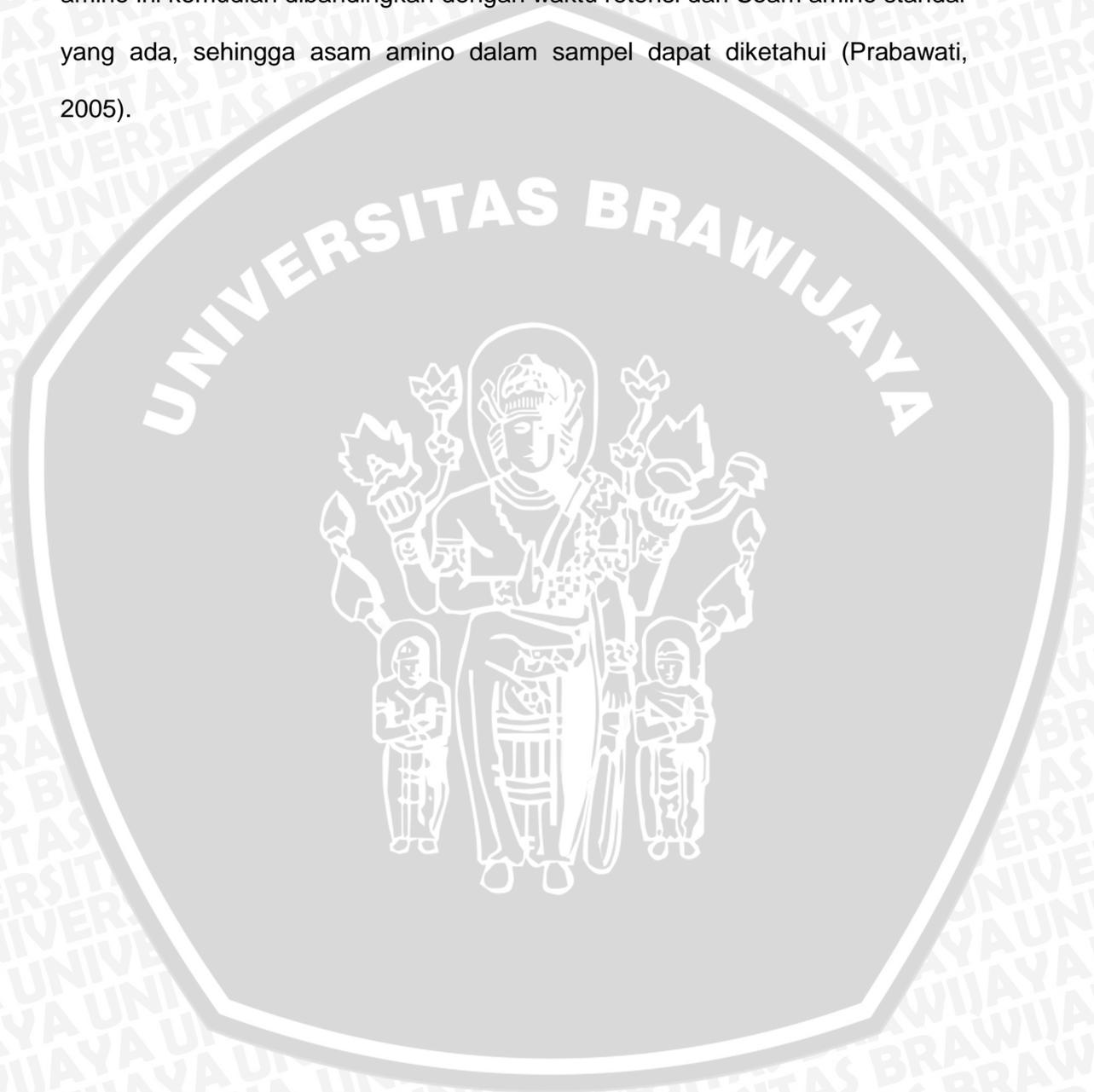
Menurut Putra (2004), megatakan bahwa kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat. Mampu memisahkan moleku – molekul dari suatu campuran, mudah pelaksanaany, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat mengurangi kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam –macam detektor, kolom dapat digunakan kembali, mudah melakukan “sample recovery”.

Cara analisis asam amino yang masih biasa digunakan sampai saat ini adalah kromatografi dengan berbagai macam teknik seperti kromatografi kertas, lapisan, tipis dan kolom. Kromatografi kolom lebih banyak dikembangkan karena selain dapat digunakan untuk keperluan kualitatif juga dapat untuk keperluan kuantitatif dan preparatif. Akan tetapi pada kromatografi kolom biasa (open column), diperlukan waktu yang lama untuk memisahkan asam amino secara sempurna. Karena itu perlu ada metode analisis yang dapat memisahkana asam amino tersebut secara sempurna dalam waktu singkat dengan hasil yang tepat dan teliti. Analisis asam amino dengan kromatografi cair yang menggunakan resin penukaran kation sebagai fase diam analisis menggunakan metode ini sangat rumit sehingga pada era moderen ini menggunakan kromatografi cair dengan kinerja tinggi (High Performance Liquid Chromatography) karena metode ini menggunakan alat yang modern, menggunakan kolom yang sangat efisien dan dibawah tekanan yang besar, sehingga analisis asam amino dapat dilakukan dalam waktu yang singkat dan memberikan hasil yang teliti (Rediatning dan Kartini, 1987).

Biasanya sebelum dilakukan analisis asam amino dengan kromatografi terlebih dahulu dilakukan hidrolisis yang bertujuan untuk memutuskan ikatan peptidannya dengan hidrolisis asam dan basah yang kuat atau menggunakan enzim spesifik untuk mendapatkan asam amino. Pada hidrolisis asam menggunakan HCL 6 M, suhu 110<sup>0</sup>C dan waktu 24 jam sedangkan hidrolisis basah menggunakan NaOH 2M pada 100<sup>0</sup>C untuk memutuskan ikatan amida yang menghasilkan destruksi arginine, sistein, serin dan treonin. Hidrolisis asam mengakibatkan triptofan tidak stabil pada keadaan asam sehingga rusak dan serin dan treonin mengalami sedikit rusak sedangkan asparagine dan glutamin akan terhidrolisa sempurna menjadi asam aspartat dan asam glutamat dengan membebaskan ion amonium. Kelemahan dari metode KCKT adalah sulitnya mendeteksi senyawa yang sesuai kita inginkan jika sampel digunakan memiliki banyak pengotor (Dewi, 2013).

Masalah pertama dalam analisis asam amino adalah pemisahan dan sensitifitasnya. Beberapa protein asam amino mempunyai rantai samping dengan sifat fisik yang dapat langsung diketahui dalam larutan. Gugus-gugus utama seperti fenilalanin, tirosin, triptofan dapat dideteksi dengan detektor UV-Vis, fluoresens dan elektrokimia karena mempunyai gugus aromatik, tetapi secara umum asam amino mempunyai sedikit gugus kromofor sehingga untuk dapat dideteksi dengan detektor UV-Vis maka asam amino tersebut perlu diderivatiskan terlebih dahulu. Tujuan utama dari proses derivatisasi asam amino adalah diperolehnya suatu senyawa baru yang mempunyai gugus kromofor sehingga diharapkan dapat menaikkan sensitivitas deteksi dengan demikian senyawa baru tersebut dapat terdeteksi dengan detektor UV-Vis. Reaksi yang terjadi pada derivatisasi asam amino adalah reaksi adisi nukleofilik yaitu gugus NH<sub>2</sub> dari asam amino menyerang atom C dari PITC, terjadi siklisasi

menghasilkan suatu derivat N-feniltiourea, kemudian dengan lepasnya air maka akan terbentuk derivat *phenylthiohydantoin* (PTH). PTH-asam amino imlah yang dapat diidentifikasi secara kromatografi. Waktu retensi dari derivat PTH-asam amino ini kemudian dibandingkan dengan waktu retensi dari Soam amino standar yang ada, sehingga asam amino dalam sampel dapat diketahui (Prabawati, 2005).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk kultur khamir laut terdiri dari air laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), starter khamir laut, kapas, plastik *wrap*, dan plastik. Bahan-bahan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari stok khamir laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), kapas, alkohol, dan tissue. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein terdiri dari Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) yang didapatkan dari Bendungan Selorejo Pandansari, Kecamatan Ngantang, Kabupaten Malang, Jawa Timur sebagai bahan dasar pembuatan hidrolisat protein, sedangkan bahan lain yang digunakan yaitu molase, akuades, dan inokulan khamir laut

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

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir laut terdiri dari botol kaca, kompor, panci perebusan, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, *aerator*, selang, corong, dan *beaker glass*. Peralatan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari mikroskop, *Petroff-Hauser Chamber (Haemocytometer)*, mikropipet, *cover glass*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, *vortex mixer*, bola hisap, pipet volume 10 ml, Erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 100 ml dan 50 ml, timbangan digital, spatula, *sprayer*, dan

corong. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) segar terdiri dari kompor, panci, *waterbath*, *beaker glass*, timbangan digital, piring, bola hisap, pipet volume, botol, sentrifus, selang, aerator, kuvet, blender, dan *food processor*.

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

### **3.2 Metode Penelitian**

#### **3.2.1 Metode**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen pada dasarnya adalah ingin menguji hubungan suatu sebab (cause) dengan akibat (effect). Pengujian dilakukan dalam suatu sistem tertutup, yang kondisinya terkontrol (Hartanto, 2003). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki seberapa besar dan ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir, 2005). Ditambahkan oleh pernyataan Hartanto (2003), mengatakan bahwa kegunaan dari rancangan eksperimen adalah mendapatkan informasi yang relevan dengan permasalahan penelitian secara maksimal, dengan materi, biaya dan waktu yang minimal. Sehingga penelitian jadi lebih efektif dan efisien dalam waktu, biaya, tenaga dan analisis statistiknya.

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

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

### 3.2.2 Variabel

Variabel penelitian adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel Dependen (terikat). Variabel Terikat merupakan Variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Aditya, 2013).

Penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah volume molase rebus dan lama fermentasi, sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah analisis proksimat (meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), pH, daya buih, kapasitas emulsi, profil asam amino.

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut mix

Prosedur penentuan fase log dilakukan dengan pengamatan melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap 12 jam sekali kultur khamir laut mix untuk diukur kepadatannya dengan menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop. Berdasarkan penelitian Jannah (2012), hasil tingkat kekeruhan dan pengamatan mikroskop menunjukkan bahwa pertumbuhan khamir laut pada hari ke-3 mempunyai tingkat kekeruhan yang

paling tinggi dimana khamir laut mengalami pembelahan sangat cepat dan dikenal dengan istilah fase log. Sedangkan menurut Alkili (2012) menyatakan bahwa pertumbuhan khamir laut yang paling tinggi terdapat pada hari ke-2. Oleh karena itu, dilakukan pengamatan kultur khamir laut mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-4 untuk mengetahui tingkat pertumbuhan khamir laut yang paling optimum.

### 3.3.2 Prosedur Pembuatan Kultur Khamir Laut

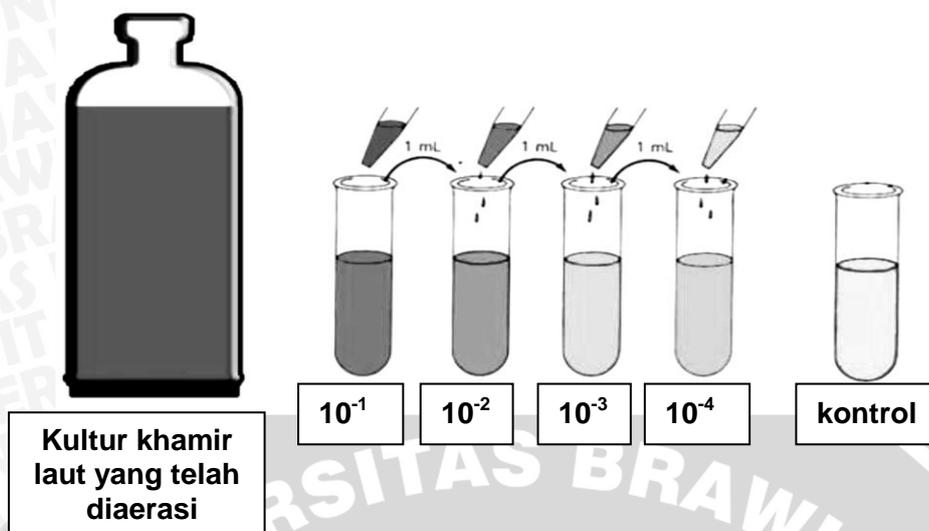
Prosedur pertama yang dilakukan dalam penentuan fase log yaitu mengkultur khamir laut. Tahapan dalam mengkultur khamir laut menurut Sukoso (2012), yaitu disiapkan bahan-bahan seperti air laut, gula pasir, pupuk daun, dan biakan khamir laut. Air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Air laut steril yang sudah dingin kemudian dimasukkan ke dalam botol gelas kaca, lalu ditambahkan gula pasir 0,5% sebagai sumber nutrisi dan pupuk daun 0,2% sebagai sumber nitrogen (v:b) serta dihomogenkan sehingga diperoleh media khamir laut. Lalu ditambah starter khamir laut sebanyak 0,2% dari air laut yang digunakan (v:v) dan dihomogenkan. Perhitungan pembuatan kultur khamir laut dapat dilihat pada lampiran 1. Kultur khamir laut yang telah siap kemudian ditutup dengan kapas dan dilapisi plastik *wrap* untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan, lalu diberi aerasi yang cukup untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut. Aerasi dilakukan selama empat hari untuk dilakukan pengamatan tingkat kepadatan sel khamir laut. Diagram alir kultur khamir laut mix dapat dilihat pada lampiran 2.

### 3.3.3 Pembuatan Media Pengenceran dan Perhitungan Khamir Laut

Prosedur perhitungan kepadatan sel khamir laut yaitu pada hari pertama sampai hari ke-empat kultur khamir laut yang telah diaerasi diambil sebanyak 1

mL untuk dilakukan pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Namun terlebih dahulu disiapkan media yang akan digunakan. Adapun prosedur pembuatan media khamir laut menurut Alkili (2012) yaitu air laut sebanyak 100 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Lalu diambil air laut steril sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 0,25% (b/v) dan pupuk daun sebanyak 0,1% (b/v) serta dihomogenkan. Setelah media yang akan digunakan siap, langkah selanjutnya adalah perhitungan kepadatan sel khamir laut mix dengan menggunakan *haemocytometer*. Perhitungan pembuatan media pengenceran khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 3.

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



**Gambar 2.** Pengenceran kultur khamir laut hingga pengenceran  $10^{-4}$

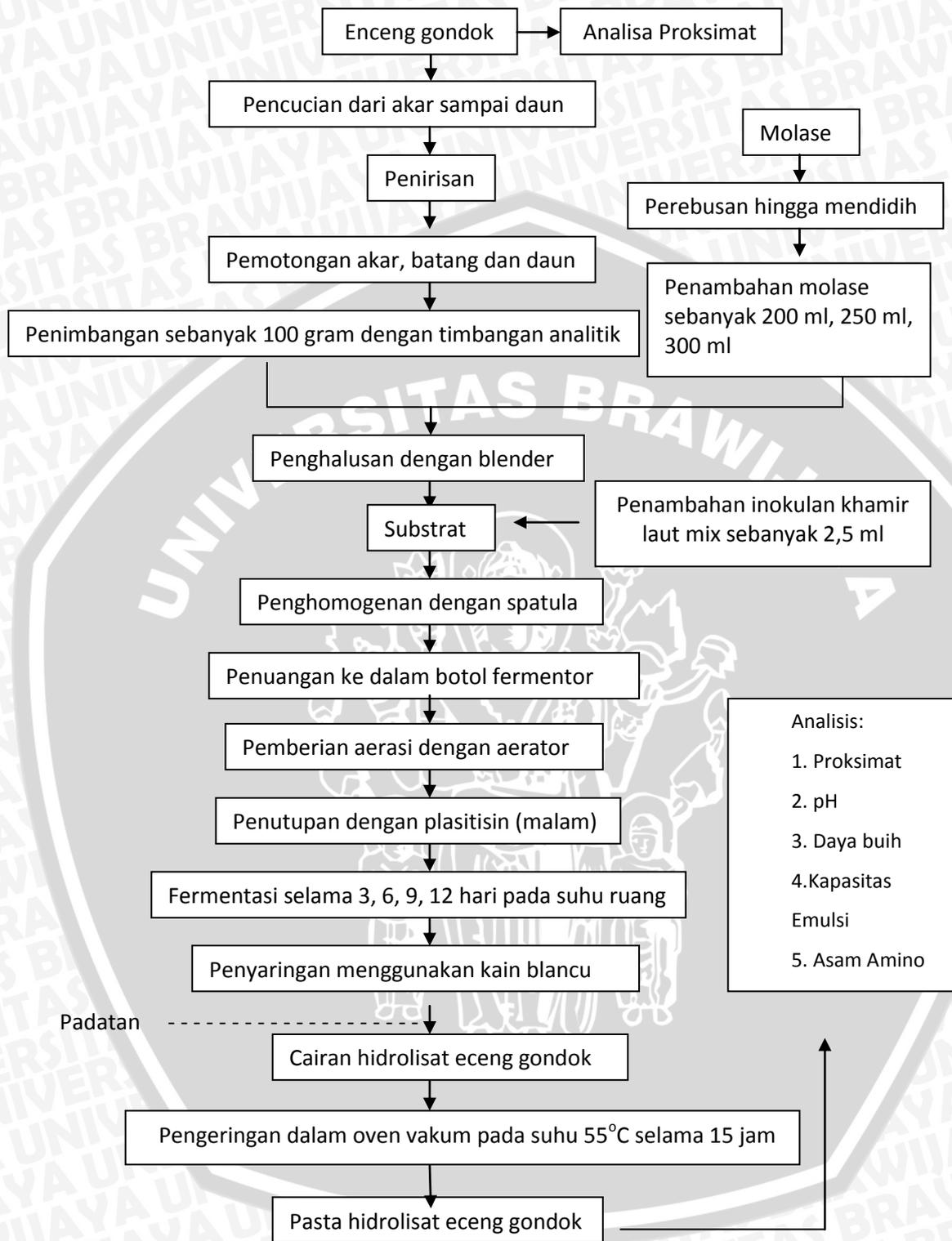
### 3.3.4 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok segar

Penelitian yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat eceng gondok adalah menggunakan formulasi molase 200 ml, 250 ml, 300 ml dengan menggunakan khamir 2,5 ml dan lama fermentasi yang berbeda.

Prosedur pembuatan hidrolisat eceng gondok segar dengan molase rebus yaitu eceng gondok segar dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir. Setelah itu ditiriskan dan ditimbang 100 gram dimana setiap 100 gram eceng gondok memiliki kisaran berat akar 40,12 gram, batang 35,91 gram, dan daun 23,97 gram. Setelah itu pengencilan ukuran dengan mencacah eceng gondok sampai ukuran kecil – kecil. Setelah itu dimasukkan ke dalam blender dan ditambah molase rebus dengan konsentrasi berbeda sesuai perlakuan yaitu 200 ml, 250 ml, 300 ml sampai halus, kemudian dimasukkan ke dalam botol. Substrat yang telah siap ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 2,5 ml. Setelah itu penghomongenan dengan spatula, kemudian dilakukan proses penimbangan sebagai berat awal selanjutnya proses aerasi dan penutupan dengan platisin. Lalu difermentasi selama 3, 6, 9, 12 hari pada suhu ruang, kemudian setiap

selesai waktu fermentasi 3, 6, 9, 12 dilakukan proses penimbangan sebagai berat setelah fermentasi. Kemudian sampel disaring menggunakan kain putih dan didapat cairan hidrolisat enceng gondok dan padatan. Setelah itu yang padatan di timbang dan cairan diukur sehingga didapat rendemen. Lalu cairan hidrolisat enceng gondok segar dikeringkan menggunakan oven vakum pada suhu 55°C selama 15 jam dan didapatkan pasta hidrolisat enceng gondok. Setelah itu pasta dianalisa proksimat (kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar karbohidrat), pH, Daya buih, Kapasitas Emulsi dan Asam amino. Prosedur penelitian pembuatan hidrolisat enceng gondok segar molase rebus dapat dilihat pada Gambar 3





**Gambar 3.** Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein enceng gondok segar dengan molase rebus (modifikasi Fathony, 2014)

### 3.3.5 Prosedur pengujian pH Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Molase Rebus

Pada penelitian pendahuluan dilakukan pengujian pH pada hidrolisat enceng gondok segar dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Pengujian pH dilakukan pada campuran fitrat dan residu hidrolisat eceng gondok, residu hidrolisat enceng gondok dan fitrat hidrolisat enceng gondok yang bertujuan untuk mengetahui apakah enceng gondok terhidrolisis oleh khamir laut dengan sempurna. Prosedur pengujian pH yaitu langkah pertama elektroda dibilas dengan menggunakan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam larutan penyangga (buffer) pH 7 dan ditunggu hingga Ph meter menunjukkan angka 7. Selanjutnya elektroda dicelupkan ke dalam sampel yang akan diuji dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap. Lalu dicatat hasil dari nilai yang tertera dalam pH meter. Untuk lebih jelasnya prosedur penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 16.

### 3.4. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

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

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat perlakuan dan empat kelompok. Dengan perlakuan A= molase rebus 200 mL, B= molase 250 mL, C= molase 300 mL dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu kelompok hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12. Rancangan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Model rancangan percobaan penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Model Rancangan Percobaan

| Perlakuan          | Kelompok (hari ) |   |   |   |    | Total | Rerata |
|--------------------|------------------|---|---|---|----|-------|--------|
|                    | 0                | 3 | 6 | 9 | 12 |       |        |
| Volume molase (ml) |                  |   |   |   |    |       |        |
| 200 ml             |                  |   |   |   |    |       |        |
| 250 ml             |                  |   |   |   |    |       |        |
| 300 ml             |                  |   |   |   |    |       |        |

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

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

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

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

Keterangan:

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

$\mu$  = Nilai tengah umum



Ti = Pengaruh perlakuan ke-i

Bj = Pengaruh blok ke-j

εij = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$$\text{BNT} = \text{Nilai } t \text{ tabel} \times \sqrt{2xKT \text{ galat}}$$

Ulangan

### 3.5 Pengamatan

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

#### 3.5.1 Rendemen (Purbasari, 2008)

Rendemen merupakan jumlah persentase sampel akhir setelah proses dan dinyatakan dalam % (persen). Rendemen produk hidrolisat protein merupakan persentase banyaknya produk hidrolisat yang dihasilkan terhadap bahan baku yang digunakan sebelum hidrolisis.

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

Keterangan : A = Berat awal sampel setelah dicampur (gram)

B = Berat akhir hidrolisat setelah proses fermentas / dikerigkan (gram)

#### 3.5.2 Analisis Proksimat

##### 3.5.2.1 Analisis Kadar Air Metode Termogravimetri (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Analisis kadar air dengan metode termogravimetri dilakukan dengan cara mengeluarkan air dari dalam bahan pangan atau disebut dengan penguapan air yang dilakukan dengan cara pemanasan. Prosedur analisis kadar air dapat dilihat pada Lampiran 8.

### 3.5.2.2 Analisis Kadar Abu Metode Gravimetri (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Kadar abu merupakan zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Prinsip dari analisis kadar abu adalah mengoksidasi semua zat organik pada suhu tinggi yaitu sekitar 500-600oC dan kemudian melakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut. Prosedur analisis kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 9.

### 3.5.2.3 Analisis Kadar Lemak Metode *Goldfisch* (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Metode *goldfisch* merupakan metode yang digunakan untuk ekstraksi lemak, dimana labu ekstraksinya dirancang agar pelarut hanya melewati sampel tanpa merendam sampel. Prinsip dari metode ini adalah sampel yang telah dihaluskan, dimasukkan ke dalam *thimble* dan di pasang dalam tabung penyangga yang berlubang pada bagian bawah. Pelarut diletakkan dalam *beaker glass* yang berada di bawah tabung penyangga. Pada saat dipanaskan, pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga akan mengembun dan menetes pada sampel, sehingga bahan akan dibasahi oleh pelarut dan lemak akan terekstraksi yang selanjutnya tertampung pada *beaker glass* kembali. Prosedur analisis kadar lemak dapat dilihat pada Lampiran 10.

### 3.5.2.4 Analisis Kadar Protein Metode Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Analisis kadar protein dengan menggunakan metode kjeldahl terbagi menjadi tiga yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Prinsip dari metode ini adalah sampel didestruksi dengan penambahan asam kuat pekat (asam sulfat) serta proses pemanasan pada suhu tinggi, sehingga dihasilkan larutan berwarna jernih mengandung ammonium sulfat. Setelah itu, dinetralkan dengan menggunakan alkali pekat dan didestilasi. Destilat yang diperoleh kemudian ditampung ke dalam beaker yang berisi larutan asam borat. Prosedur analisis kadar air dapat dilihat pada Lampiran 11.

#### 3.5.2.5 Analisis Kadar Karbohidrat *by Difference* (Liputo *et al.*, 2013)

Perhitungan kadar karbohidrat dilakukan menggunakan metode *by difference*, yaitu pengurangan 100 % dengan jumlah dari hasil analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak. Perhitungannya adalah sebagai berikut:

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

#### 3.5.3 Nilai pH (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Penetapan nilai pH dilakukan setelah pH meter dikalibrasi terlebih dahulu. Sampel sebanyak 1 mL ditambahkan dengan aquades perbandingan 1:10 (v:v), lalu dihomogenkan. Setelah itu, elektoda dibilas dengan menggunakan aquades dan dikeringkan. Elektroda dicelupkan ke dalam larutan sampel dan pengukuran pH dapat di set. Elektroda dibiarkan tercelup beberapa saat sampai diperoleh nilai Ph yang stabil dan kemudian dicatat nilai pH sampel yang didapat.

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

Kapasitas emulsi yang baik bila bahan dapat menyerap air dan minyak secara seimbang. Prinsip dari kapasitas emulsi protein bergantung pada keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik. Kapasitas emulsi diukur dengan cara 5 gram sampel ditambahkan dengan 20 mL akuades dan 20 mL minyak jagung, kemudian dihomogenkan selama 1 menit. Lalu disentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit. Kapasitas emulsi dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

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

Buih merupakan bentuk dispersi koloida gas dalam cairan. Prinsip dari daya buih yaitu kekuatan protein dalam memerangkap gas, dimana kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia protein. Sampel

sebanyak 1 gram ditambahkan dengan 10 mL akuades dan dihomogenkan selama 1 menit. Kapasitas busa dilihat dari busa yang terbentuk dibandingkan dengan kapasitas volume awal. Stabilitas busa merupakan rasio dari kapasitas busa selama waktu observasi dibandingkan dengan kapasitas busa awal.

### 3.5.6 Analisis Profil Asam Amino

Prinsip dari HPLC (High Performance Liquid Chromatography) yaitu menggunakan kromatografi. Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan yang berdasarkan pada perbedaan perbedaan migrasi komponen-komponen antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Skema kerja pengujian HPLC dapat dilihat dibawah ini :

#### a. Larutan standar / Larutan Baku

- Dipipet 40  $\mu$ l Std Mix asam amino
- Dtambahkan 40 $\mu$ l internal standar AABA (Alpha amino butyric acid)
- Ditambahkan 920  $\mu$ l aquabidest
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Diambil 10  $\mu$ l standar
- Ditambahkan 70  $\mu$ l AccQ-Fluor Borate
- Dihomogenkan dengan vortex mixer
- Ditambahkan 20 $\mu$ l reagent fluor A
- Dihomogenkan dengan vortex mixer dan didiamkan selama 1 menit
- Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55<sup>o</sup>C
- Disuntikkan pada HPLC

#### b. Larutan Sampel

- Ditimbang 0,1 gram sampel
- Ditambahkan 5 ml HCL 6N dan dihomogenkan dengan vortex mixer
- Dihidrolisis selama 22 jam pada suhu 110<sup>o</sup>C

- Didinginkan dan pindahkan ke labu ukur 50 ml dan tambahkan aquabidest sampai tanda batas
- Disaring dengan filter 0,45µm
- Dipipet 500µl filtrate, 40 µm AABA ±460 µL aquabidest
- Dipipet 10µl larutan
- Ditambahkan 70 µl AccQ-Fluor Borate dan dihomongenkan dengan Vortex mixer
- Ditambahkan 20µl reagent fluor A, dihomogenkan dengan vortex mixer dan didiamkan selama 1 menit
- Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C
- Disuntikkan pada HPLC

❖ *Perhitungan*

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

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

Kondisi alat HPLC saat berlangsungnya analisis asam amino sebagai berikut

Kolom : AccQtag column (4,9×150 mm)

Temperature : 37°C

Fase gerak : Acetonitril 60%-Accq Tag Eluent A, sistem gradient komposisi

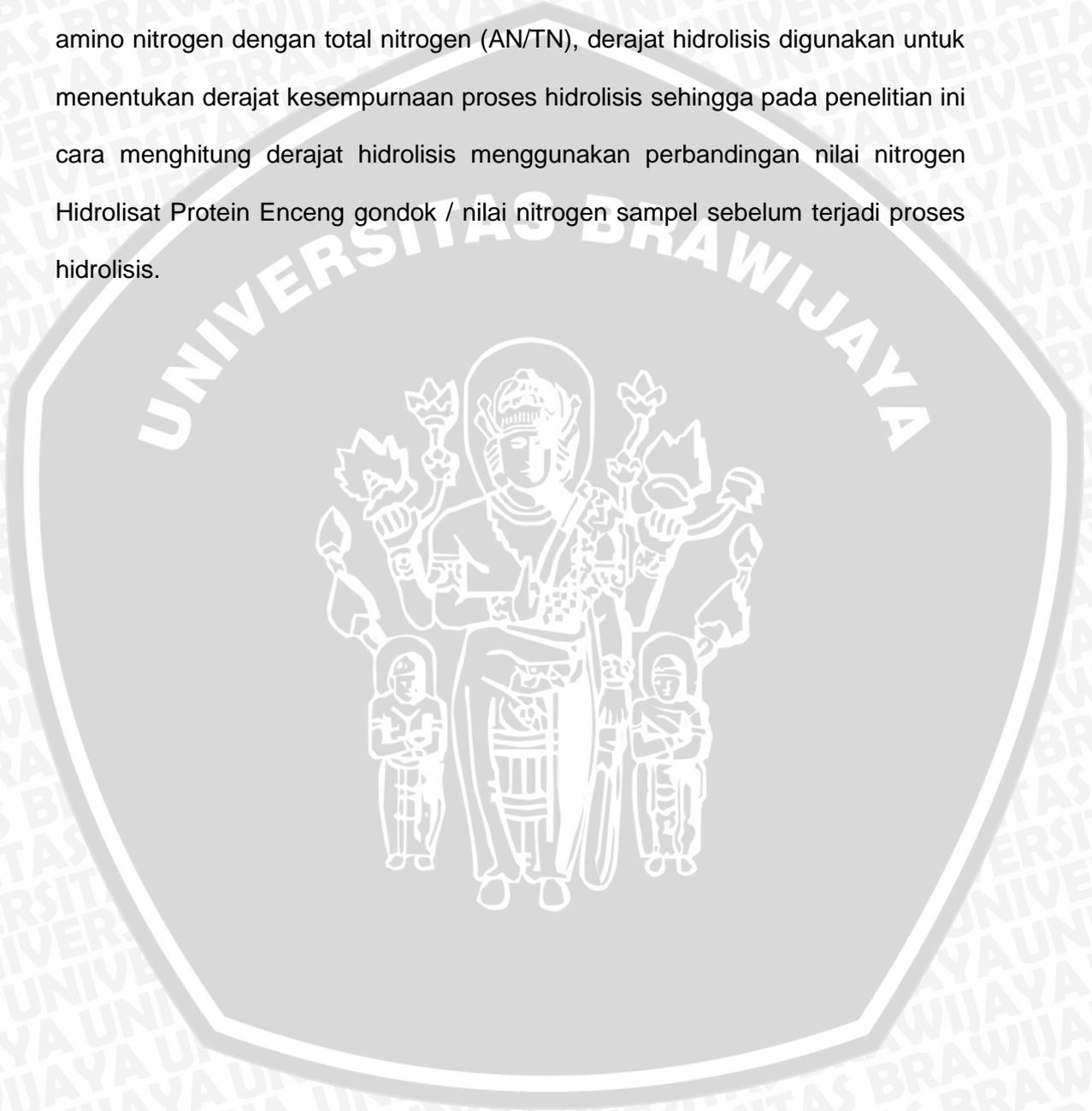
Laju alir : 1,0 ml per menit

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

Volume penyuntikan : 5µL

### 3.5.7 Derajat Hidrolisis ( Kurniawan et al, 2012)

Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN), derajat hidrolisis digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis sehingga pada penelitian ini cara menghitung derajat hidrolisis menggunakan perbandingan nilai nitrogen Hidrolisat Protein Enceng gondok / nilai nitrogen sampel sebelum terjadi proses hidrolisis.

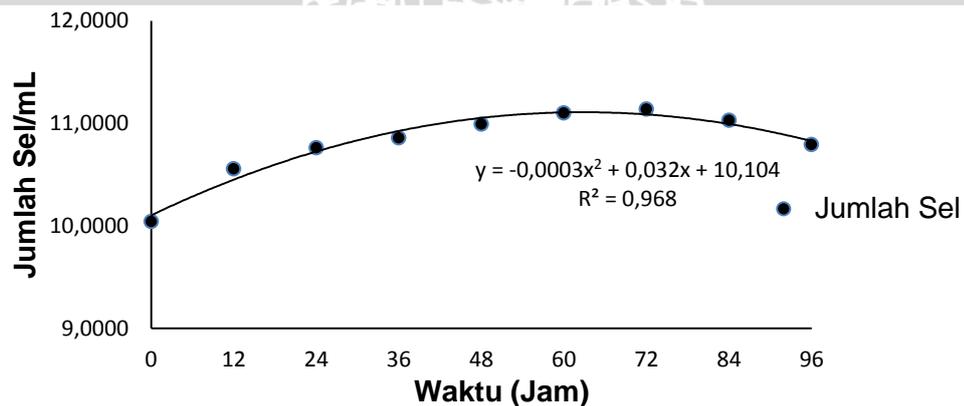


## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Pendahuluan

#### 4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Pertumbuhan khamir laut ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pada suatu kultur dan lama waktu kultur. Dalam masa pertumbuhan khamir laut terdapat 4 fase yaitu fase adaptasi, fase logaritmik, fase stasioner, fase kematian. 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 nutrient yang dibutuhkan oleh khamir tumbuh. Pertumbuhan dan kepadatan khamir laut dapat diamati dari pengamatan melalui hemositometri pada mikroskop. Penggunaan hemositometer ini digunakan untuk menghitung jumlah sel khamir laut yang hidup, sehingga sel khamir laut yang mati tidak ikut terhitung. Data pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 5 dan analisis data, perhitungan kepadatan dapat dilihat pada Lampiran 7. Hasil pengamatan pertumbuhan khamir laut dapat dilihat pada Gambar 4.



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

Gambar 4 menunjukkan bahwa titik optimasi pertumbuhan khamir laut terdapat pada jam ke-72. Hal ini dimungkinkan karena pada masa kultur tersebut

jumlah sel khamir laut yang tumbuh sangat banyak sehingga menyebabkan tingginya kepadatan sel khamir laut. Budy (2014) menyatakan khamir laut tumbuh optimum dan mengalami pembelahan secara cepat pada hari ke-3 atau jam ke-72.

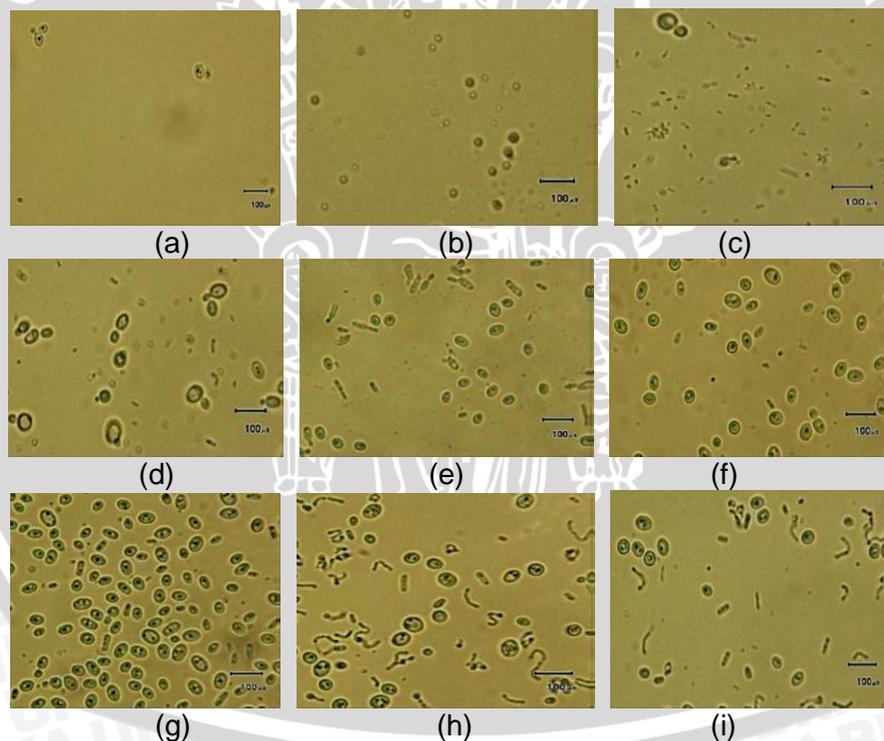
Gambar 4 menunjukkan pertumbuhan khamir laut yang mengalami peningkatan jumlah sel khamir. Terlihat bahwa pertumbuhan pada fase adaptasi/lag jam ke-0 sampai jam ke-12 mengalami peningkatan pertumbuhan sel khamir. Fase ini merupakan fase dimana sel khamir laut mulai berkembang biak namun terjadi secara lambat. Hal tersebut dikarenakan sel masih mempersiapkan diri untuk menghadapi pembelahan diri (Rahim, 2009).

Pada jam ke-12 hingga jam ke-72 pertumbuhan sel khamir laut semakin mengalami peningkatan yang cepat. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat khamir laut mampu beradaptasi dan memanfaatkan pupuk daun atau urea sebagai sumber nitrogen secara efisien sehingga tidak memerlukan waktu yang lama untuk tumbuh dan bereproduksi (Sugoro, 2006). Akibat dari peningkatan jumlah sel khamir laut dalam kultur mengakibatkan adanya perubahan pada kultur khamir laut yang dibiakkan. Perubahan yang terjadi yaitu adanya kekeruhan yang menunjukkan bahwa khamir laut mulai mengalami pertumbuhan dan warna, bau khas fermentasi khamir laut yaitu seperti bau asam.

Titik optimasi pertumbuhan sel khamir laut yang diamati menggunakan hemositometer menunjukkan hasil bahwa pertumbuhan khamir laut tertinggi pada jam ke-72. Pada saat jam ke-72 khamir laut mengalami pembelahan secara cepat sehingga memiliki jumlah sel yang banyak dan tingkat kekeruhan yang meningkat. Pada kondisi seperti ini yang biasa dikenal dengan fase logaritmik. Menurut Suprihatin (2010) mengatakan bahwa pada fase ini mikroba

membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih banyak daripada fase lainnya. Pada fase ini kultur paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.

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. Mikrograf yang dihasilkan dari kepadatan khamir laut terhadap lama waktu kultur dengan pembesaran 1000 $\times$  dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Mikrograf kepadatan khamir laut dalam berbagai lama kultur dengan perbesaran 1000 $\times$ ; 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 5 (d) atau jam ke-42 menunjukkan bahwa sel khamir laut terlihat jelas dan berbentuk bulat dan gambar 5 (g) atau jam ke-72 menunjukkan terjadinya pembelahan sel khamir. Hal ini terjadi karena pada masa kultur sel khamir laut tumbuh dengan cara membelah dengan cepat dan banyak sehingga menyebabkan tingginya kepadatan sel khamir laut. Fase ini disebut fase log. Pada saat fase ini jam ke-72 waktu yang tetap untuk dilakukannya proses pemanenan kultur. 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 um atau lebih), berbentuk oval, memanjang, elips atau bulat. Disamping itu terlihat bahwa sel khamir laut terlihat mempunyai bulatan kecil yang menempel atau disebut konodia. Munculnya konodia pada sel khamir laut tersebut menunjukkan bahwa sel khamir laut tersebut akan terjadi pembelahan melalui pertunasan.

Gambar 5 (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 nutrient tidak mencukupi dan pada akhirnya dapat menyebabkan kematian atau penurunan sel. Fase ini bisa disebut fase stasioner atau menuju kematian. Gambar 5 (i) terlihat kepadatan sel khamir laut sudah menurun, hal tersebut kadena sudah banyak sel khamir laut yang mengalami kematian. Didukung oleh penjelasan Tetelepa (2011) menyatakan bahwa ketersediaan nutrisi dalam media kultur akan menjadi faktor pembatas bila nutrisi tersebut mengalami penurunan dan telah habis digunakan oleh mikroorganisme kultur. Hal ini mengakibatkan mikroorganisme kultur akan berhenti tumbuh tetapi tidak mati dan akan aktif lagi jika memperoleh tambahan

nutrisi kembali. Pertumbuhan mikroorganisme kultur khamir terhenti karena nutrisi yang terkandung pada media khamir laut sudah tidak memadai lagi sehingga terjadi kompetisi nutrisi antara mikroorganisme yang satu dengan yang lain dan akhirnya terjadi kemerosotan jumlah sel akibat banyak sel yang sudah tidak mendapatkan nutrisi lagi.

#### 4.1.2 Penentuan volume Molase dan Lama Waktu Fermentasi

Penentuan volume molase dan lama waktu fermentasi dengan percobaan awal pada pembuatan hidrolisat protein ini bertujuan untuk menentukan volume molase dan lama waktu yang optimal dalam menentukan range volume molase dan lama waktu fermentasi yang akan digunakan sebagai landasan untuk melakukan penelitian utama. Percobaan pertama berdasarkan penelitian Laboratorium Ilmu Makanan Ternak (2005) dan Mangisah *et al.*, (2009) yang melakukan penelitian fermentasi eceng gondok dengan menggunakan *Aspergillus niger* sebanyak 2,5% dari berat bahan dan molase sebanyak 5 % dari berat bahan. Pada penelitian pendahuluan, untuk menentukan volume molase dilakukan dalam beberapa kali percobaan dengan jumlah bahan baku eceng gondok segar sebanyak 50 gram. Volume molase rebus dalam penelitian pendahuluan 1 dilakukan dengan menggunakan formulasi molase rebus sebanyak 1, 25 ml dan 2, 5 ml, penelitian pendahuluan kedua sebanyak 25 ml dan 50 ml dan percobaan penelitian ketiga sebanyak 75 ml, 100 ml, 125 ml, 150 ml. Skema kerja Penelitian Pendahuluan dalam pembuatan eceng gondok segar dengan molase rebus dapat dilihat pada lampiran 12. Data hasil pengamatan pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 13.

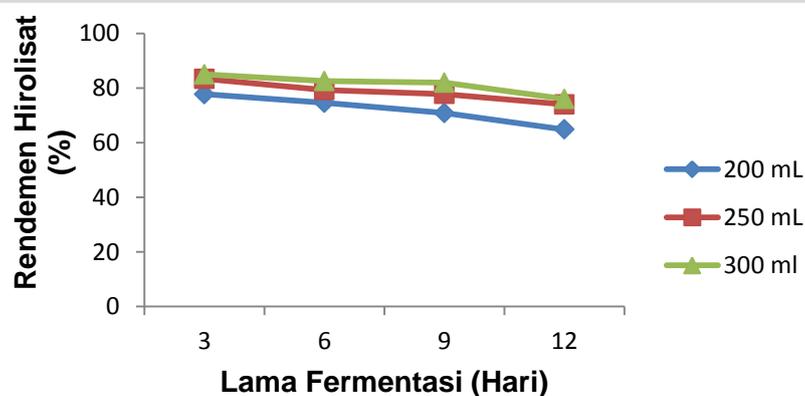
Hasil dari penelitian pertama menggunakan volume molase 2,5 ml dan 5 ml mengalami kegagalan karena sampel tidak bisa halus hanya berbentuk serpihan kecil setelah mengalami proses pemblenderan dan hasil dari substrat

berbau tidak sedap dan berwarna coklat kehijauan seperti daun yang layu setelah mengalami fermentasi 2 hari sehingga dilanjutkan penelitian pendahuluan kedua. Penelitian pendahuluan kedua mengunkan volume 25 ml dan 50 ml dan didapat hasil pada fermentasi selama 3 hari yaitu berwarna coklat molase, berbau tidak sedap atau pesing dan tumbuh jamur. Hal ini disebabkan karena kekurangan cairan pada sampel yang menyebabkan sampel terlalu padat dan kesulitan pada saat aerasi sehingga pada saat agitasi tidak berjalan sempurna. Sehingga tumbuh jamur yang mengkontaminasi hidrolisat protein. Silalahi dan Ikhsan (2014), menyatakan bahwa kebanyakan fermentasi berlangsung secara aerobik, sehingga membutuhkan sejumlah oksigen. Kebutuhan oksigen tersebut dipenuhi dengan cara aerasi. Selama fermentasi berlangsung, terjadi transfer oksigen melalui beberapa langkah, yaitu transfer oksigen dari udara ke larutannya transfer dari larutan fermentasi medium ke sel mikroba dan penyerapan oksigen dalam sel. Dari hasil percobaan tersebut maka dilakukan penelitian pendahuluan ketiga.

Pada penelitian ketiga menggunakan volume molase yaitu 75 ml, 100 ml, 125 ml, 150 ml. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan ketiga dengan pada hari ke-5 volume molase 75 ml tumbuh jamur dan berbau busuk, tetapi pada volume 100 ml, 125 ml bertahan samapai 6 hari dan 150 ml dapat bertahan sampai fermentasi 7 hari dengan keadaan cairan habis dan tumbuh jamur. Dimungkinkan karena selama fermentasi nutrisi yang di dalam hidrolisat mengalami penurunan sehingga khamir tidak bisa tumbuh dan mati sebab nutrisi untuk pertumhan tidak ada sehingga hidrolisis yang dilakukan khamir tidak maksimal. Hal tersebut disebabkan selama proses fermentasi menghasilkan hasil metabolit seperti asam-asam dan CO<sub>2</sub> yang bersifat mudah menguap sehingga dapat keluar melalui selang pembuangan dan cairan yang terdapat pada sampel

akan berkurang. Rahmadi (2003) menyatakan bahwa selama proses fermentasi akan menghasilkan metabolit, alkohol, asam (asam laktat, asam butirat, dan asam asetat), CO<sub>2</sub>, dan air.

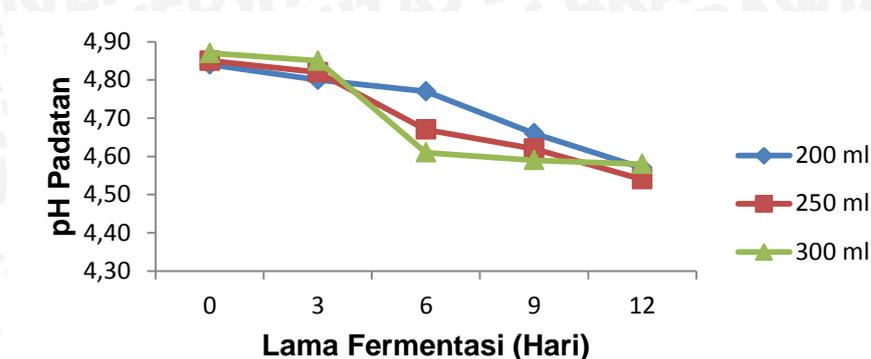
Dari percobaan pendahuluan ketiga dilakukan penelitian keempat dengan penambahan volume molase 200 ml, 250 ml, 300 ml dan banyak enceng gondok jadi 100 gram sebagai sumber nutrisi. Hasil yang didapat dalam penelitian pendahuluan ini yaitu setelah pada fermentasi selama 6 hari menunjukkan hidrolisat protein enceng gondok mengalami proses fermentasi dengan baik ditandai dengan bau khas fermentasi yang berbau asam. Volume 200 ml, 250 ml dan 300 ml bisa bertahan samapi 12 hari dan masih terdapat cairan disana. Hal tersebut disebabkan oleh perbandingan antara bahan baku lebih sedikit dibandingkan dengan volume molase rebus, sehingga proses aerasi berjalan dan sumber karbon dan oksigen dapat dimanfaatkan oleh khamir tumbuh. Sari (2014) menyatakan bahwa Kecepatan aserasi dalam fermentasi menggunakan medium molase rebus dan kontrol (gula) sangat dibutuhkan khamir laut dalam pertumbuhan sel dan untuk mengatur jumlah oksigen terlarut pada medium fermentasi. Hasil dan data hasil rendemen dari penelitian pendahuluan dari hidrolisat enceng gondok rebus dengan penambahan molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6 dan Lampiran 14.



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

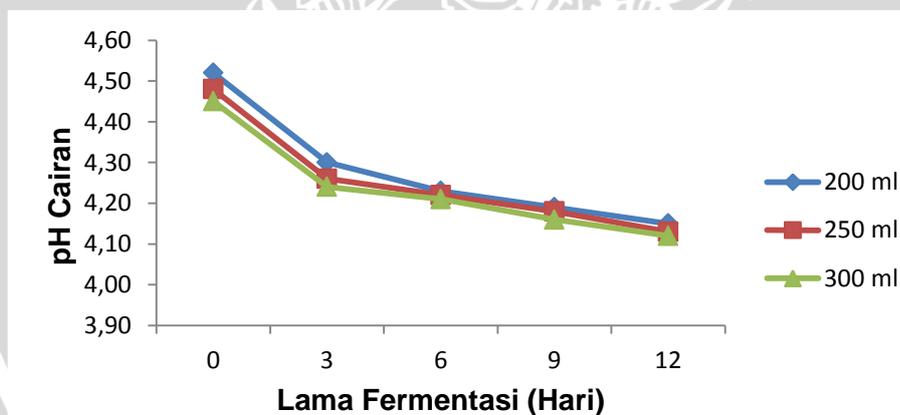
Gambar 6 diatas menunjukan bahwa lama fermentasi dapat menurunkan rendemen hidrolisat protein enceng gondok. Hal ini dikarenakan pada saat proses fermentasi khamir merombak substrat yaitu enceng gondok dan molase menjadai senyawa yang lebih sederhana sehingga menghasilkan senyawa yang mudah menguap ( $\text{CO}_2$ )  $\text{NH}_3$  dari hasil perombakan protein sedangkan karbohidrat dari substrat menghasilkan gas – gas fermentasi ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$  dan  $\text{NO}_2$ ), air dan panas sehingga dapat mengurangi cairan yang terdapat pada hidrolisat protein enceng gondok. Menurut Liawati (1992) menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis dapat menguraikan protein menjadi asam amino kemudian berubah menjadi  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ , dan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen ( $\text{NH}_3$ , skatol, indol, kadaverin, dan putresin). Akibatnya lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil sehingga nilai rendemen cairan menurun.

Langkah selanjutnya hidrolisat protein enceg gondok dengan volume 200 ml, 250 ml, dan 300 ml dilakukan pengukuran pH setelah prose fermentasi dan pada saat proses penyaringan dengan kain blancu untuk memisahkan ampas dengan cairan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui bahwa sampel sudah terhidrolisis. Hasil nilai pH yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat enceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 7, Gambar 8 , Gambar 9 dan data dari hasil pH dapat di lihat pada Lampiran 15.



**Gambar 7.** Nilai pH Padatan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

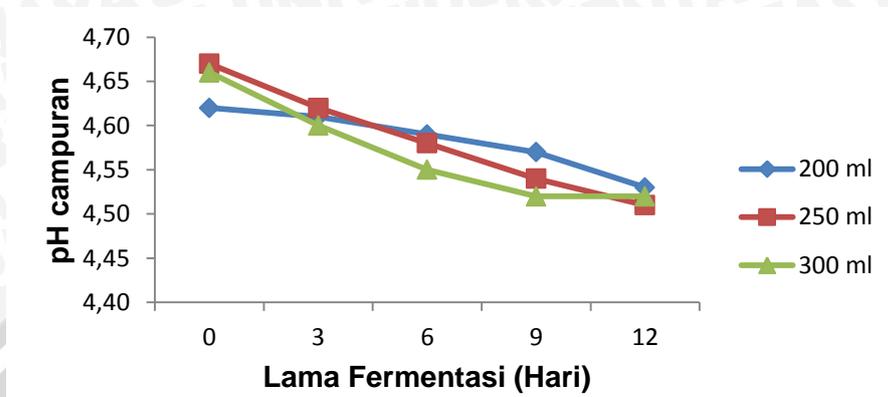
Gambar 7 menunjukkan bahwa pH Padatan dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun namun penurunan pH residu untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,84 – 4,57. pH residu untuk volume molase 250 mL berkisar antara 4,85 – 4,54. pH residu untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,87 – 4,58.



**Gambar 8.** Nilai pH Cairan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 11 menunjukkan bahwa pH Cairan dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH filtrat untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,52 – 4,15. pH filtrat untuk volume molase 250 mL berkisar antara 4,48 – 4,13. pH filtrat untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,45 – 4,12. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi maka khamir akan berkembang

semakin banyak sehingga menghasilkan produk sampingan metabolisme yang dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi.



**Gambar 9.** Nilai pH Campuran Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 9 menunjukkan bahwa pH campuran filtrat dan residu dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun namun penurunan tidak terlalu banyak. pH campuran filtrat dan residu untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,62 – 4,53 dan 250 mL berkisar antara 4,67 – 4,51. pH campuran filtrat dan residu untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,66 – 4,52. pH yang didapatkan menunjukkan bahwa fermentasi dapat berjalan dengan baik.

Gambar 7, 8, 9 diatas menunjukkan data analisa beberapa pH dari proses hidrolisat protein eceng gondok segar yang menyatakan bahwa pH yang mengalami nilai yang konstan yaitu pH cairan. Semua pH mengalami penurunan selama proses fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena khamir laut mampu menghidrolisis senyawa dari molase dan substrat yang menghasilkan senyawa yang asam. Hasil dari pH cairan yang berkisar 4,52 - 4,12 yang cocok digunakan khamir untuk tumbuh dalam menghidrolisi substrat, akibatnya dari hasil perombakan tersebut hasil hidrolisat bersifat asam.

Hasil dari proses hidrolisis yang sempurna dari menghidrolisis substrat biasanya dalam bentuk filtrat. Semakin lama proses fermentasi akan

menghidrolisis substrat sehingga protein yang telah terhidrolisis, menyebabkan protein yang awalnya tidak larut menjadi protein terlarut. Kemudian protein tersebut dipecah menjadi asam amino sehingga terlarut dalam cairan. Semakin lama waktu hidrolisis menyebabkan meningkatkan kadar N-amino. Menurut Anggraini (2015), menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis yang dilakukan menyebabkan penurunan kadar protein terlarut pada sari edamame. Hidrolisis protein yang terjadi dapat menyebabkan protein yang awalnya tidak larut menjadi protein terlarut. Menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis yang dilakukan menyebabkan meningkatnya kadar N-amino. Semakin lama waktu inkubasi akan memberikan kesempatan enzim melakukan hidrolisis protein semakin lama sehingga akan semakin banyak protein yang terhidrolisis menjadi asam amino. Nitrogen amino akan meningkat karena semakin tingginya protein yang terlarut dan tidak terhambatnya aktivitas proteolitik kemudian protein terlarut diubah menjadi asam amino.

Dari hal tersebut saya mengambil cairannya untuk dijadikan uji lanjut untuk dijadikan pasta dan diuji lanjut untuk proses analisa gizi dan asam amino. Fardiaz (1992), menyatakan bahwa kebanyakan khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam, yaitu pada pH 4 - 4,5. Dari gambar 7 didapat hasil semakin lama fermentasi mengalami penurunan tetapi tidak konstan seperti pH cairan, sehingga padatan tidak digunakan dalam proses selanjutnya sebab padatan ini berupa substrat dari khamir tumbuh yang nutrisi dalam substrat akan habis digunakan sehingga akan mengurangi nutrisi didalam substrat. Hasil penguraian dari aktifitas ini akan bercampur dalam larutan atau cairan yang terdapat dalam fermentasi. Menurut Azizah et al (2012) menyatakan substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrient-nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk

fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi yaitu karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energy bagi mikroba, sedangkan nutrient lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah lebih sedikit daripada karbohidrat.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan didapatkan perlakuan terbaik yaitu dengan penambahan volume molase 200 ml, 250 ml, 300 ml dan volume khamir laut 2,5 ml. Dari percobaan IV pada penelitian pendahuluan dapat menjadi landasan untuk penelitian utama yaitu dengan lama fermentasi 3, 6, 9 dan 12 hari. Hasil dari hidrolisat protein enceng gondok segar dengan penambahan volume rebus yang diambil cairannya yang disaring menggunakan kain blacu sehingga terpisah dari ampasnya. Setelah itu cairan tersebut dijadikan pasta hidrolisat protein enceng gondok dengan dioven vakum menggunakan suhu 50°C.

#### **4.1.3 Penentuan Volume Khamir Laut yang Optimal**

Penentuan volume khamir laut yang optimal digunakan sebagai landasan untuk melakukan penelitian utama dalam menambahkan khamir laut untuk menghidrolisis eceng gondok segar. Volume khamir laut yang ditambahkan merupakan hasil kultur pada fase logaritmik. Pada penentuan ini dilakukan percobaan dengan menggunakan volume khamir laut sebanyak 1, 25 mL dan 2, 5 mL berdasarkan penelitian dari Mangisah *et al.*, (2006), yang menggunakan *Aspergillus niger* dalam fermentasi eceng gondok dengan jumlah 2,5% dari berat sampel. Hasil yang didapat dari penelitian pendahuluan yaitu volume khamir 1, 25 ml dapat bertahan hingga 6 hari sedangkan volume 2,5 ml dapat bertahan hingga 16 hari dengan ditandai dengan bau khas fermentasi dan semakin lama

fermentasi cairan dalam hidrolisat protein berkurang. Hal tersebut dimungkinkan volume khamir laut yang sedikit tidak dapat menghidrolisis substrat dengan baik.

#### 4.1.4 Komposisi Kimia Eceng Gondok Rebus

Sampel utama untuk penelitian ini yaitu Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) yang didapatkan dari Waduk Selorejo Pandansari, Ngantang, Malang, Jawa Timur. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia Eceng Gondok Segar tersebut. Hasil analisis komposisi kimia eceng gondok segar dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Komposisi kimia eceng gondok

| Komposisi Kimia (%) | Eceng Gondok Segar <sub>1</sub> | Eceng gondok Segar |
|---------------------|---------------------------------|--------------------|
| Bahan Kering        | 7,00                            | 5,72               |
| Kadar Abu           | 12,60                           | 22,90              |
| Protein Kasar       | 11,20                           | 12,78              |
| Serat Kasar         | 18,30                           | 22,40              |
| Lemak Kasar         | 0,90                            | 1,05               |

\* Berdasarkan 100% bahan kering  
Sumber: <sup>1</sup> Mangisah *et al.*, (2006)

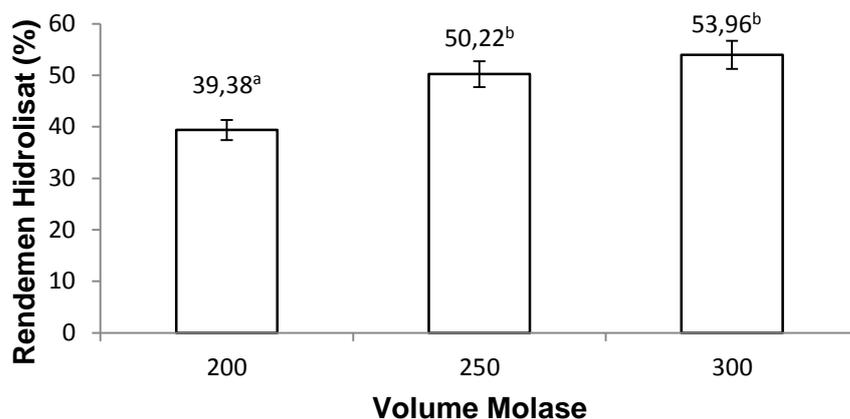
Tabel di atas menunjukkan komposisi kimia eceng gondok segar. Secara keseluruhan, komposisi kimia eceng gondok segar yang digunakan dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Mangisah *et al.*, (2006). Hal ini dimungkinkan habitat dan komponen dalam perairan yang digunakan eceng gondok tumbuh berbeda – beda kadungan yang terdapat di perairan tersebut sehingga dapat mempengaruhi morfologi dan komposisi tumbuhan eceng gondok tersebut. Keragaman komposisi kimia eceng gondok dipengaruhi oleh unsur hara tempat eceng gondok tumbuh dan sifat daya serap tanaman (Tangio, 2013).

## 4.2 Penelitian Utama

Penelitian utama yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat enceng gondok adalah lanjutan perlakuan yang terbaik dari penelitian pedahuluan yaitu menggunakan formulasi molase 200 ml, 250 ml, 300 ml dengan menggunakan khamir 2,5 ml dengan kepadatan  $13,8 \times 10^{10}$  sel/mL dan lama fermentasi yang berbeda yaitu 3, 6, 9, 12 hari. Produk hidrolisat protein enceng gondok segar pada penelitian ini dalam bentuk pasta. Untuk melihat kemungkinan pemakaian hidrolisat protein enceng gondok ini sebagai suplemen pakan, maka akan dilakukan analisa terhadap produk hidrolisat yang meliputi analisa proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), rendemen, uji pH, emulsi dan daya buih. Hasil analisis nilai rendemen dan kandungan nutrisi hidrolisat protein eceng gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 16.

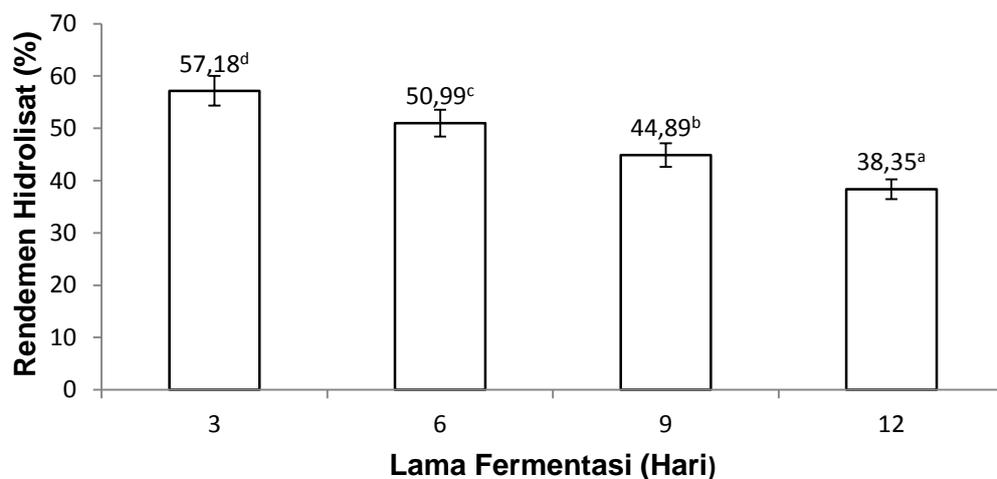
### 4.2.1 Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Rebus

Data hasil pengamatan dan analisa rendemen pada hidrolisat protein eceng gondok segar dengan perlakuan lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil analisis data menunjukkan bahwa rata – rata rendemen hidrolisat protein eceng gondok pada tiap perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap rendemen enceng gondok. Rendemen hidrolisat protein eceng gondok dengan perlakuan fermentasi dan penambahan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 10 dan Gambar 11.



**Gambar 10.** Rata – Rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda

Gambar 10 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar rendemen hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus yang berbeda mengalami peningkatan. Hal ini dimungkinkan semakin banyak substrat yang dapat dihidrolisis sehingga cairan yang didapatkan juga semakin banyak sebab substrat yang tersedia semakin banyak. Shahidi *et al.*, (1994) menyatakan bahwa selama proses hidrolisis akan menyebabkan terlarutnya komponen gizi seperti protein, lemak, dan mineral yang dapat mempengaruhi besarnya rendemen produk hidrolisat yang dihasilkan



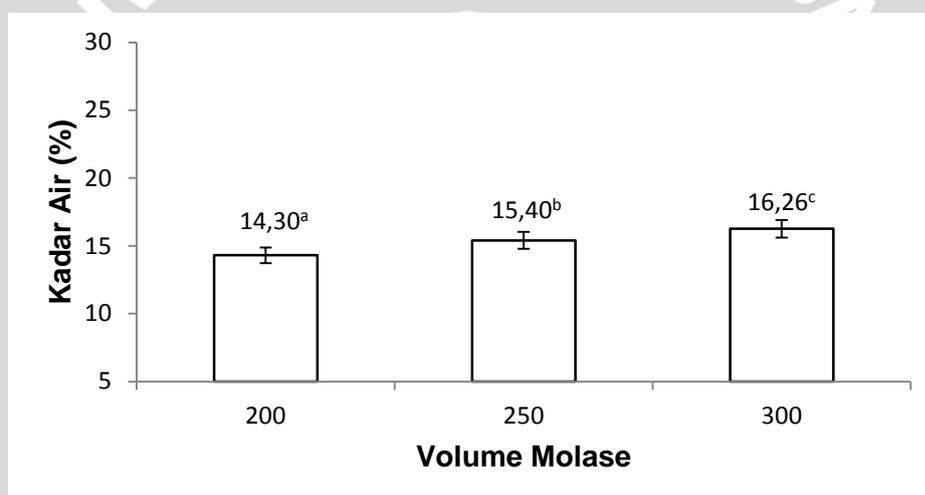
**Gambar 11.** Rata – Rata Kadar Rendemen Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 11 di atas menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, nilai rata – rata kadar rendemen hidrolisat protein eceng gondok semakin mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan semakin lama fermentasi, semakin banyak senyawa volatil yang terbentuk dan dibebaskan. Selain itu, hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil metabolit khamir tidak berkerja maksimal dalam menghidrolisis protein eceng gondok. 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). 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. Liawati (1992) menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis yang tinggi menyebabkan terurainya protein menjadi asam amino yang kemudian berubah menjadi H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, dan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen (NH<sub>3</sub>, skatol, indol, kadaverin, dan putresin). Semakin lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil sehingga nilai rendemen cairan akan mengalami penurunan.

Menurut Arief (2012), penurunan rendemen bisa disebabkan oleh aktifitas mikroba menguraikan karbohidrat atau pati untuk menghasilkan glukosa, sehingga glukosa meningkat dan kadar karbohidrat atau pati menurun. Glukosa dimetabolisme oleh mikroba menghasilkan air dan energi untuk pertumbuhan, dan aktivitas mikroorganisme yang memecah senyawa karbohidrat menjadi senyawa sederhana dalam bentuk air, karbondioksida dan asam organik.

#### 4.2.2 Kadar Air

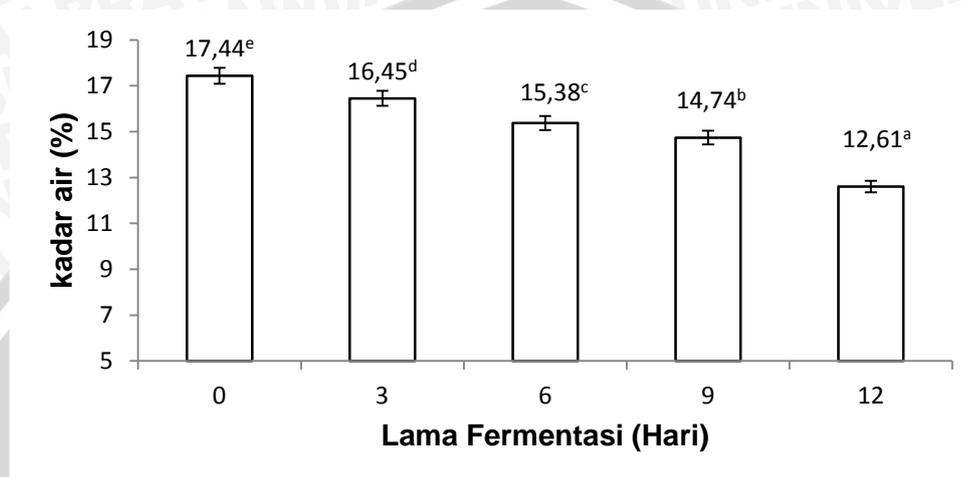
Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok. Kadar air kontrol dan pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13.



**Gambar 12.** Rata – Rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda

Gambar 12 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar air dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus yang berbeda semakin meningkat. Peningkatan nilai kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok dipengaruhi oleh aktifitas khamir merombak substrat yang digunakan untuk proses pertumbuhannya. Menurut rahmadi (2003), peningkatan kadar air selama proses fermentasi disebabkan oleh mikroorganisme yang memanfaatkan karbohidrat yang mudah terfermentasi dalam substrat sebagai sumber energi untuk tumbuh dan berkembang. Hasil

perombakan karbohidrat berupa gula- gula sederhana yang kemudian diubah menjadi energi dengan hasil sampingan berupa metabolit, alkohol, asam, CO<sub>2</sub> dan air. Hasil fermentasi juga bisa berupa asam laktat, asam asetat, asam butirat, etanol, gas – gas fermentasi (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO, NO dan NO<sub>2</sub>), air dan panas.



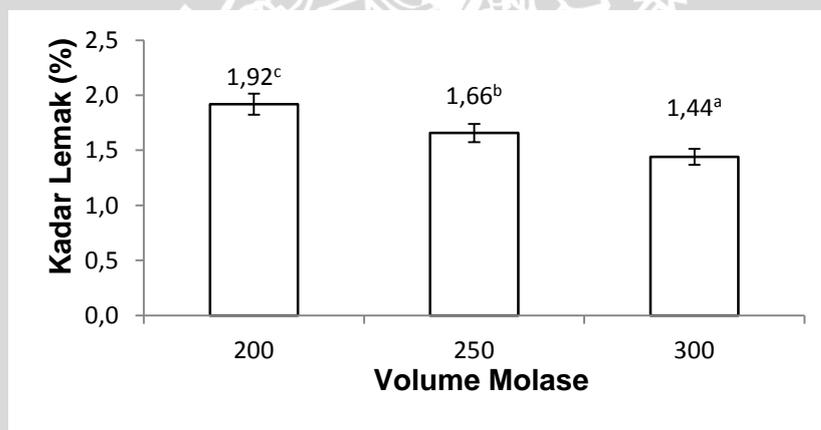
**Gambar 13.** Rata – Rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 13 di atas menunjukkan nilai rata – rata kadar air kontrol lebih tinggi bila dibandingkan dengan rata – rata kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok setelah mengalami perlakuan lama fermentasi. Penurunan nilai kadar air pasta hidrolisat protein eceng gondok antar perlakuan, disebabkan adanya pelepasan ion (H<sup>+</sup>) dan (OH<sup>-</sup>) saat terjadi proses hidrolisis protein pada eceng gondok. Penurunan kadar air dari hari ke 0 sampai ke 12 dikarenakan air terikat dipecah oleh mikroba menjadi air bebas yang mudah menguap didukung oleh Syahputri dan Wardani (2015) menyatakan penurunan kadar air disebabkan adanya perlakuan fermentasi dimana selama fermentasi terjadi perubahan air terikat menjadi air bebas yang mudah menguap. Sebelum fermentasi sebagian molekul air membentuk hidrat dengan molekul lain yang mengandung atom oksigen, nitrogen, karbohidrat, protein, garam, dan senyawa organik lainnya sehingga air sukar diuapkan, sedangkan saat fermentasi berlangsung, enzim-

enzim mikroba memecah karbohidrat, protein, garam, dan senyawa organik lainnya sehingga air yang terikat berubah menjadi air bebas .

#### 4.2.3 Kadar Lemak

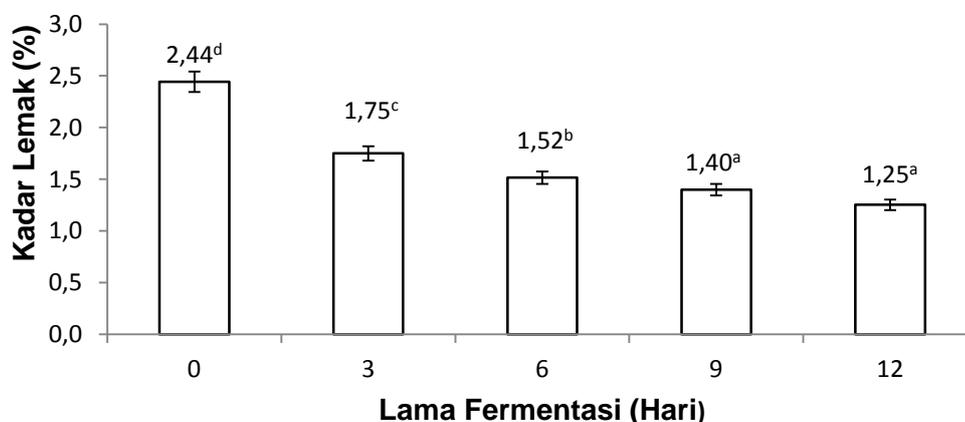
Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 19. Hasil analisis data menunjukkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $F>0,05$ ) terhadap kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok. Kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14 dan Gambar 15.



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

Gambar 14 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar lemak dengan volume yang molase rebus yang berbeda mengalami penurunan. Penurunan nilai kadar lemak dari penambahan molase disebabkan oleh aktifitas khamir merombak lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana berupa gliserol dan asam lemak bebas sehingga menurunkan kadar lemak. Menurut Septiani *et al.* (2004), menyatakan bahwa pada fermentasi menggunakan mikroorganisme,

lemak (trigliserida) terhidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol oleh enzim lipase.



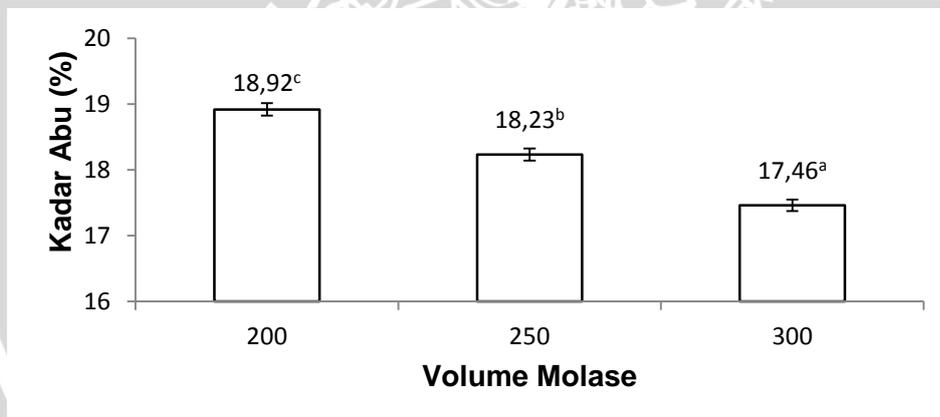
**Gambar 15.** Rata – rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Waktu Fermentasi yang Berbeda

Gambar 15 di atas memperlihatkan adanya penurunan nilai rata – rata kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan perlakuan lama fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari. Penurunan nilai kadar lemak pasta hidrolisat protein eceng gondok disebabkan oleh aktifitas khamir yang optimal untuk merombak lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana asam lemak gliserol dan asam lemak bebas sehingga menurunkan kadar lemak. Menurut Septiani et al (2004), menyatakan bahwa pada fermentasi menggunakan mikroorganisme, lemak (trigliserida) terhidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol oleh enzim lipase. Sudarmadji (1989) menyatakan bahwa hasil hidrolisis lemak berupa asam lemak dan gliserol. Reaksi hidrolisis mengakibatkan kerusakan lemak, hal ini terjadi karena terdapat sejumlah air dalam lemak tersebut. Noviana et al (2012) menambahkan bahwa turunnya kadar lemak disebabkan karena lemak terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini akan mudah mengalami kerusakan sehingga mengakibatkan kadar lemak menurun. selain itu, disebabkan karena asam yang ditambahkan memecah

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

#### 4.2.4 Kadar Abu

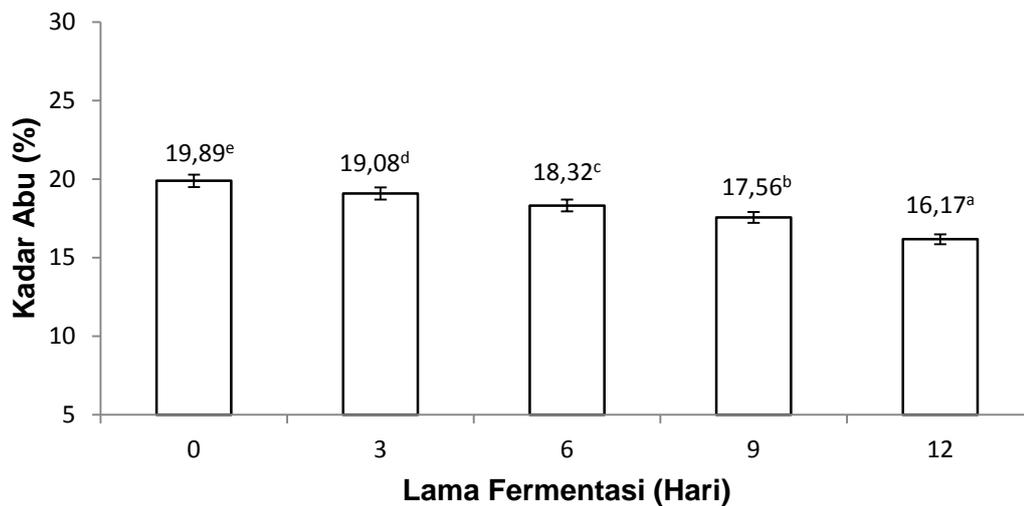
Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 20. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok yang dihasilkan. Kadar abu pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 16 dan Gambar 17.



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

Gambar 16 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar abu dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan volume molase rebus yang berbeda mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan meningkatnya volume molase rebus yang ditambahkan menyebabkan bertambahnya jumlah khamir laut sehingga selama fermentasi berlangsung semakin banyak khamir laut yang menggunakan mineral untuk tumbuh sebab sumber carbon dan nitrogen yang

tersedia. Komponen mineral dalam molase antara lain bentuk anion (magnesium, kalsium, aluminium, kalium, dan nitrogen) dan bentuk kation (silikat, fosfat, sulfat, sulfid, dan klorida) (Holilah, 2005), sehingga dapat digunakan khamir laut untuk pertumbuhannya dan kadar abu semakin berkurang.



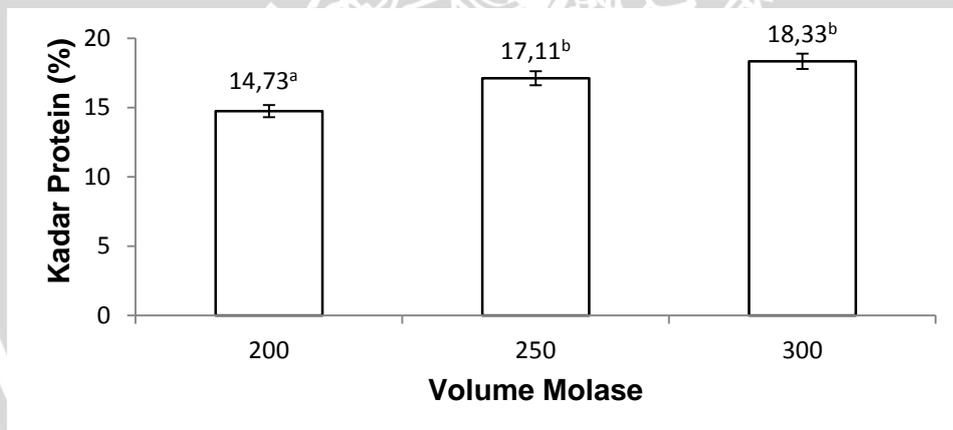
**Gambar 17.** Rata – rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 17 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar abu pasta hidrolisat protein dengan lama waktu fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari mengalami penurunan. Penurunan nilai kadar abu dipengaruhi oleh peningkatan bahan organik. Menurut Rahmadi (2003), penurunan kadar abu disebabkan adanya peningkatan bahan organik yang terbentuk dari hasil fermentasi. Hasil fermentasi BETN (bahan ekstrak tanpa nitrogen) diubah untuk membentuk komponen organik. Peningkatan bahan organik tersebut menurunkan persentase bahan anorganik (kadar abu). Menurut Purwaningsih (2012) menyatakan adanya perbedaan kadar abu diduga bahwa setiap organisme mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mengabsorpsi dan meregulasi logam. Didapatkan bahwa kemungkinan setiap khamir bisa juga memiliki kemampuan yang berbeda

dalam mengabsorpsi dan mengatur logam sehingga dapat berpengaruh dalam kadar abu.

#### 4.2.5 Kadar Protein

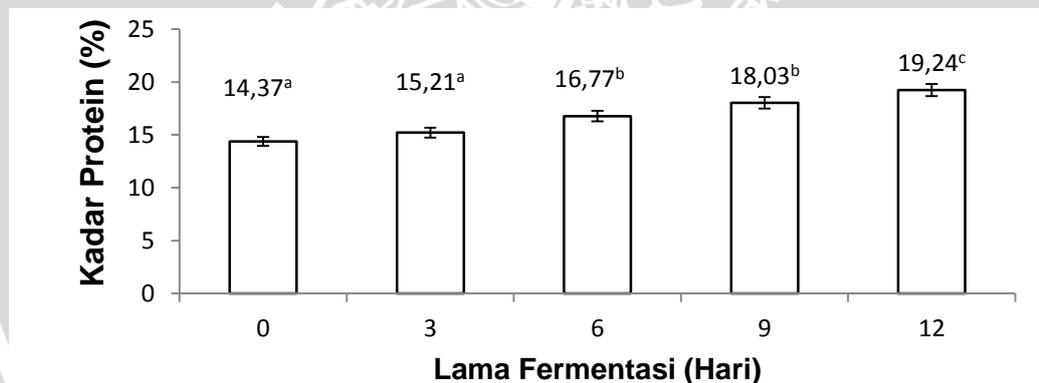
Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 21. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan volume molase rebus memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok yang dihasilkan. Kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 18 dan Gambar 19.



**Gambar 18.** Rata – rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 18 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar protein dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan volume molase rebus yang berbeda mengalami peningkatan. Peningkatan kadar protein seiring dengan penambahan molase disebabkan oleh adanya aktivitas khamir laut memecah protein menjadi asam-asam amino menggunakan enzim yang dihasilkan oleh khamir. Protein yang dikonsumsi sebagai sumber N tidak semuanya digunakan

untuk sintesa ATP yang langsung digunakan untuk aktifitas metabolisme khamir. Menurut novianti (2007) menyatakan bahwa peningkatan kadar protein disebabkan oleh adanya sekresi enzim-enzim oleh khamir. Pada umumnya khamir mensekresikan sedikit protein. Beberapa jenis enzim yang disekresikan invertase dan enzim hidrolase seperti protease. 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), sucrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Menurut Septiani et al (2004), menyatakan bahwa tingginya kadar protein dipengaruhi aktifitas proteolitik untuk menghidrolisis protein sehingga jika memiliki aktifitas proteolitik yang tinggi proses hidrolisis protein menjadi peptide dan asam amino menjadi lebih tinggi.



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

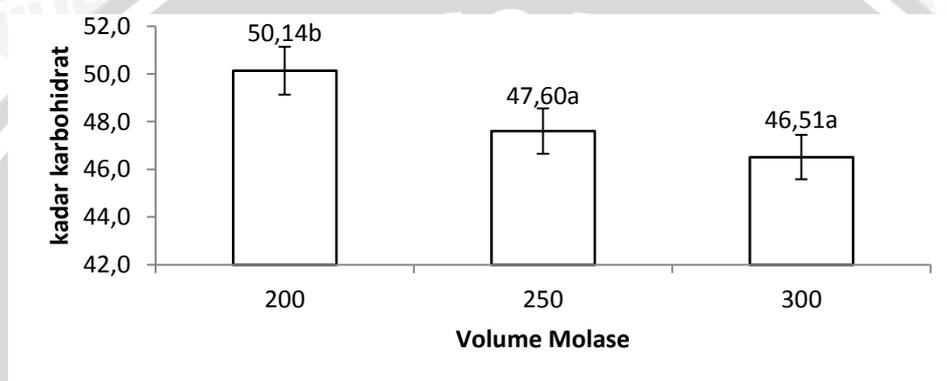
Gambar 19 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami peningkatan seiring dengan semakin bertambahnya lama waktu fermentasi. Peningkatan nilai kadar protein pasta hidrolisat protein eceng gondok disebabkan oleh aktifitas khamir memecah protein, dengan lama fermentasi terbukti semakin lama fermentasi nilai kadar protein meningkat hal ini dimungkinkan aktifitas enzim maksimal pada waktu

tersebut dan konsentrasi khamir yang digunakan sesuai sehingga aktifitas khamir berjalan sempurna mengubah protein menjadi peptida dan asam amino. Prasetyo *et al* (2012), menyatakan bahwa lama waktu hidrolisis menyebabkan konsentrasi konsentrasi protein hasil hidrolisat meningkat. Hal ini disebabkan lamanya waktu kerja enzim mempengaruhi keaktifannya sedangkan kecepatan katalis enzim akan meningkat dengan lamanya waktu reaksi. Waktu hidrolisis merupakan faktor yang berpengaruh terhadap banyaknya jaringan ikat yang terhidrolisis, waktu yang lebih lama menyebabkan jaringan ikat yang terhidrolisis lebih banyak. Menurut Widjastutik *et al* (2007), peningkatan protein sejalan dengan bertambahnya lama waktu fermentasi. Peningkatan protein yang terjadi selama proses fermentasi berlangsung di akibatkan adanya kerja dari mikroba tersebut dan adanya protein yang disumbangkan oleh tubuh mikrobia akibat dari pertumbuhannya. Menurut Agustono *et al* (2010), menyatakan bahwa peningkatan kadar protein disebabkan khamir menghasilkan enzim proteolitik yaitu protease yang mampu mengubah protein menjadi polipeptida, selanjutnya menjadi peptide sederhana, kemudian dirombak menjadi asam - asam amino. Asam – asam amino ini digunakan untuk memperbanyak diri peningaktan koloni dapat menyumbang kadar protein itu sendiri karena khamir merupakan protein sel tunggal. Enzim selulase dapat mendegradasi selulosa menjadi senyawa oligosakarida, disakarida, dan monosakarida yang bersifat larut, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk berkembang biak sehingga dapat meningkatkan kandungan protein yang berasal dari khamir.

#### 4.2.6 Kadar Karbohidrat

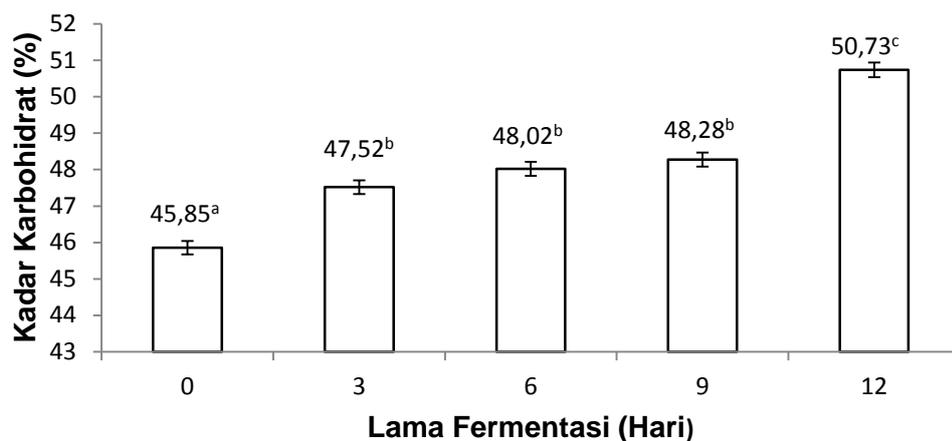
Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat

dilihat pada Lampiran 22. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume molase rebus dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok yang dihasilkan. Kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 20 dan Gambar 21.



**Gambar 20.** Rata – rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda.

Gambar 20 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami penurunan dengan semakin banyaknya volume molase rebus yang ditambahkan. 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. Menurut Yuniasari (2009), mengatakan bahwa kadar karbohidrat molase sekitar 48 – 56% sehingga terpenuhi unsur karbon atau nitrogen untuk metabolisme. Wahyuni (1997), mengatakan bahwa molase mengandung unsur nitrogen 4,5%, sukrosa 35%, dektrosa (glukosa) 7%, laevulose (fruktosa) 9%.



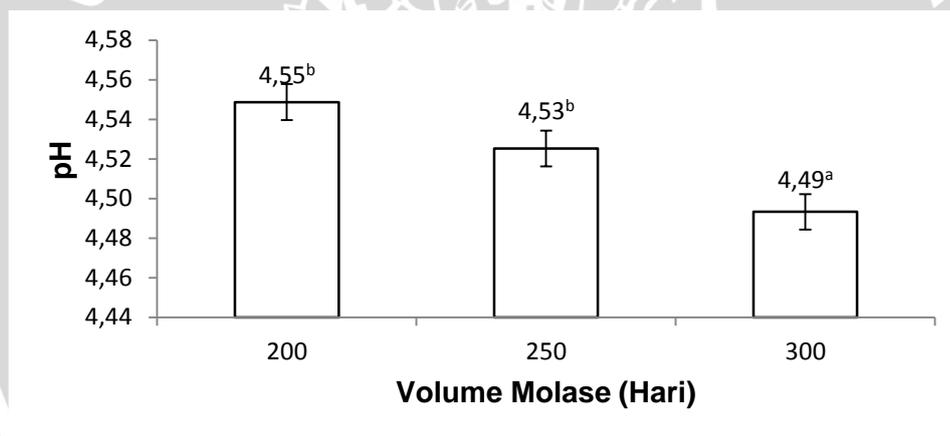
**Gambar 21.** Rata – rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Eceng Segar Gondok dengan Lama Waktu Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 21 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kadar karbohidrat kontrol pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan lama waktu fermentasi yang berbeda mengalami peningkatan. Peningkatan nilai kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein dimungkinkan karena peningkatan komposisi kimia lainnya pada produk hidrolisat eceng gondok dan perhitungan karbohidrat berdasarkan metode *by difference*. Nurhayati et al., (2014) mengatakan bahwa penurunan kadar abu dan kadar lemak akibat dari proses fermentasi dapat meningkatkan proporsi jumlah kadar karbohidrat. Hal ini juga diperkuat karena perhitungan kadar karbohidrat berdasarkan metode *by difference*. Peningkatan kadar karbohidrat dimungkinkan khamir laut menghasilkan enzim yang amylase sehingga dapat menghidrolisis karbohidrat menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu polysakarida, disakarida, monosakarida sehingga dapat meningkatkan jumlah kadar karbohidrat. Menurut Nasrulloh, (2009), mengatakan bahwa enzim amylase dapat merombak pati (amilum) menjadi glukosa. Enzim amilase  $\alpha$  dapat bekerja menghidrolisis ikatan  $\alpha$  amilase bekerja menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 secara acak dibagian dalam molekul baik pada amilosa maupun amilopektin. Hasil hidrolisis  $\alpha$ -amilase mula – mula akan menghasilkan dekstrin,

dekstrin tersebut kemudian dipotong- potong lagi menjadi campuran antara glukosa, maltose, maltotriosa dan ikatan lain yang lebih panjang.

#### 4.2.7 Analisis Derajat Keasaman (pH)

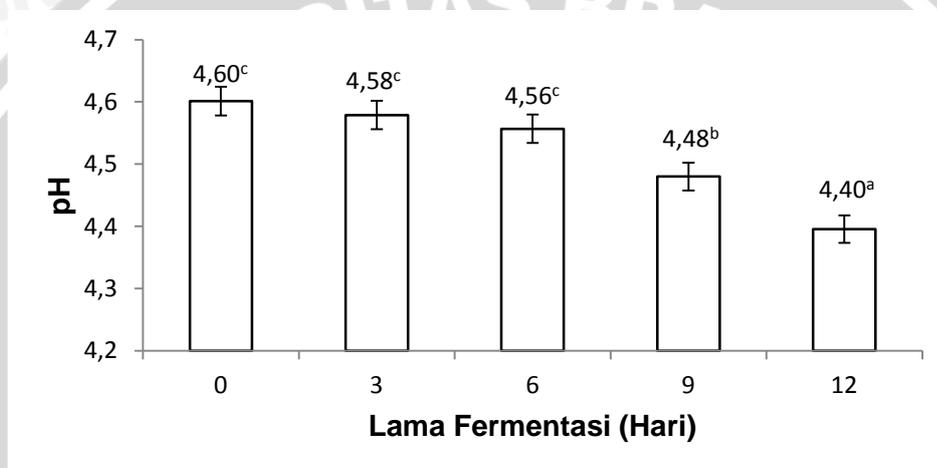
Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 23. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase rebus memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap pH pasta hidrolisat protein eceng gondok. pH pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 22 dan Gambar 23.



**Gambar 22.** Rata – rata Kadar pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda.

Gambar 22 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata pH pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami penurunan dengan semakin meningkatnya volume molase rebus yang ditambahkan. Penurunan nilai pH pasta hidrolisat protein eceng gondok disebabkan aktifitas khamir menghasilkan asam ( $H^+$ ) dari hasil perombakan nutrisi yang ada dalam substrat. Menurut Noviati (2007) penurunan pH disebabkan hasil fermentasi gula oleh khamir menghasilkan produk asam – asam seperti asam laktat dan asam piruvat.

VFA (*volatile fatty acids*) yang dihasilkan khamir juga dapat menurunkan pH medium. Penurunan pH juga karena terbentuknya asam dengan dihasilkannya  $\text{CO}_2$  yang terbentuk dari perombakkan glukosa yang tersedia melalui proses respirasi. Terlarutnya  $\text{CO}_2$  dalam air akan menghasilkan ion bikarbonat dan ion hidrogen. Tambahan ion hidrogen dihasilkan dan konsentrasi total  $\text{H}^+$  menjadi lebih besar dari konsentrasi  $\text{OH}^-$ . Larutan menjadi asam karena asam karbonat ( $\text{H}_2\text{CO}_3 = \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ ) dibentuk oleh reaksi karbondioksida dengan air.



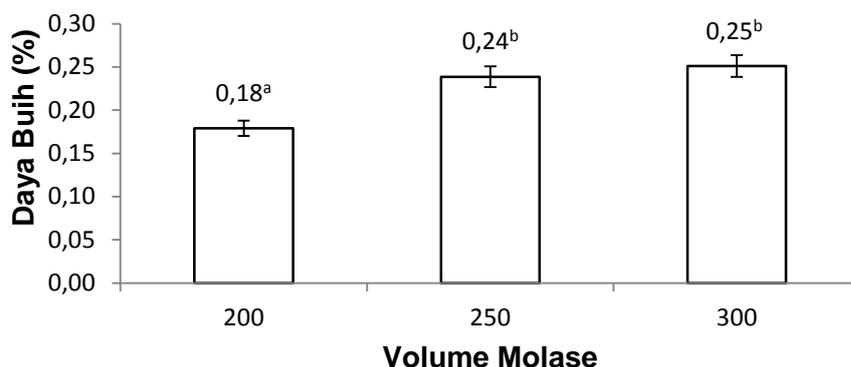
**Gambar 23.** Rata – rata Kadar pH Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 23 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata pH pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Penurunan nilai pH pasta hidrolisat protein eceng gondok terhadap lama fermentasi disebabkan oleh aktifitas khamir merombak substrat menghasilkan senyawa asam yang dapat menurunkan pH. Menurut Wahyuni (1997) menyatakan penurunan pH disebabkan oleh perombakan khamir menghasilkan asam - asam yang terbentuk seperti asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat dapat menurunkan pH, sedangkan asam-asam lainnya seperti asam butirat dan asam lemak lainnya hanya sedikit berpengaruh dalam penurunan pH cairan. Hasil penguraian khamir juga menghasilkan

senyawa nitrit dan nitrat dari perombakan senyawa nitrogen dan amino organik. Khamir mengkonsumsi senyawa ini untuk membentuk massa sel dalam bentuk  $R - NH_3^+$  dimana R adalah rantai karbon. Pengikatan  $NH_3^+$  akan melepaskan  $H^+$  ke lingkungannya, sehingga selama fermentasi, ion  $H^+$  pada larutan akan semakin banyak dan mengakibatkan penurunan pH fermentasi. Simanjorang (2012) menambahkan penguraian asam amino lebih lanjut yang pada akhir reaksinya menunjukkan terbentuknya senyawa-senyawa folatil, diantaranya ammonia ( $NH_3$ ). Adanya pembentukan senyawa folatil akan menaikkan pH karena senyawa folatilmemberikan reaksi basa. Hal tersebut menjadi salah satu penyebab ada perbedaan pH yang dihasilkan. Sukoso (2012) menyatakan 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.

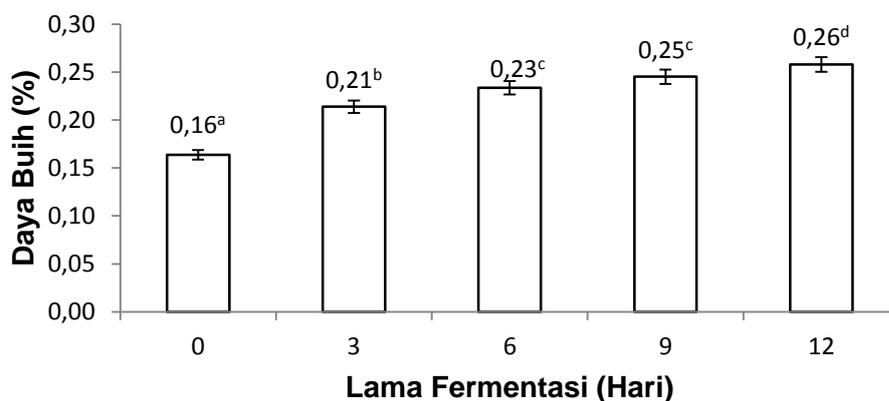
#### 4.2.8 Analisis Daya Buih

Data pengamatan dan analisis daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 24. Hasil analisis data menunjukkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok. Nilai daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 24 dan Gambar 25.



**Gambar 24.** Rata – rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 24 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata daya buih dari pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan volume molase rebus yang berbeda mengalami peningkatan dengan semakin bertambahnya volume molasse rebus. Peningkatan nilai daya buih pasta hidrolisat protein eceng gondok dimungkinkan jumlah protein yang dihasilkan selama proses fermentasi oleh khamir. Menurut 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.

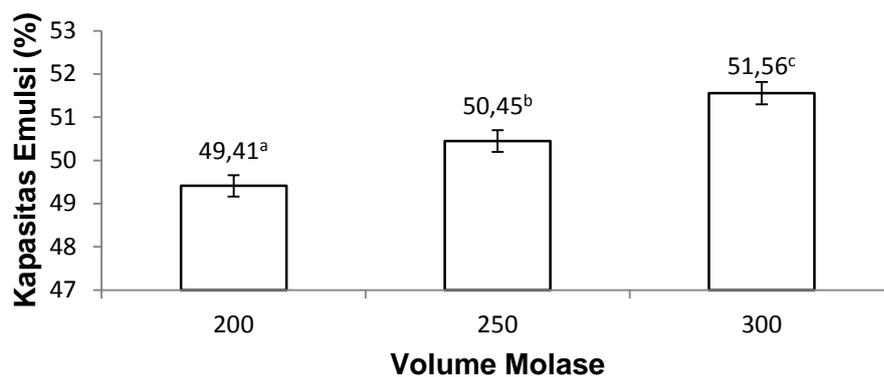


**Gambar 25.** Rata – rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Rebus yang Berbeda

Gambar 25 di atas menunjukkan bahwa rata – rata daya buih hidrolisat protein eceng gondok mengalami peningkatan seiring dengan semakin bertambahnya lama waktu fermentasi. Peningkatan nilai kadar buih pasta hidrolisat protein disebabkan karena banyaknya jumlah protein dalam hidrolisat tersebut yang bersifat hidrofilik dan hidropobik. Selain itu, Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama proses tetapi tidak dapat untuk menentukan stabilitas buih atau sebaliknya. Tingginya daya buih dipengaruhi oleh selama proses fermentasi terbentuk peptida hidropobik yang dapat mengabsorpsi antara fase udara dan air, sehingga dapat membentuk buih yang banyak. Menurut Amza *et al* (2013), peptida yang memiliki sifat hidropobik dan hidrofilik memiliki kemampuan memasukkan udara ke dalam larutan sehingga dapat memberikan buih sehingga semakin banyak hasil hidrolisat protein memecah protein dimungkinkan juga banyak asam-asam amino yang bersifat hidrofilik dan hidropobik akibatnya akan berpengaruh terhadap buih yang dihasilkan.

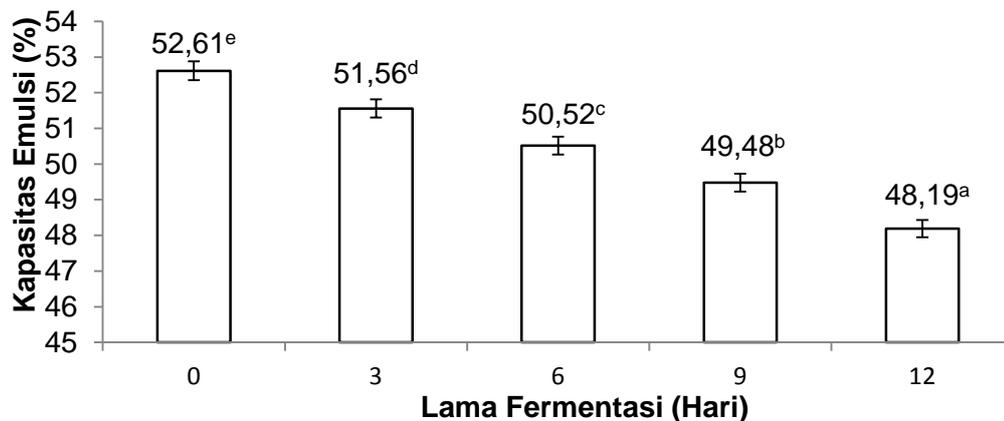
#### 4.2.9 Analisis Kapasitas Emulsi

Data pengamatan dan analisis kapasitas emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan kapasitas emulsi hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 25. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ( $F > 0,05$ ) terhadap nilai kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok. Nilai kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 26 dan Gambar 27.



**Gambar 26.** Rata – rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase yang Berbeda.

Gambar 26 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami peningkatan dengan semakin meningkatnya volume molase rebus yang ditambahkan. Naiknya nilai kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng dimungkinkan perlakuan penambahan molase memiliki asam-asam amino yang lebih banyak. Asam amino ini memiliki gugus polar (hidrofilik) mudah larut air dan gugus non polar (hidrofobik). Oleh karena itu, gugus polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus polar pada air dan gugus non polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus non polar pada minyak, sehingga terbentuklah emulsi. Rieuwpassa *et al.*, (2013) dan Chalamaiah *et al.*, (2011) menyatakan bahwa kapasitas emulsi disebabkan oleh kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak yang berkaitan dengan keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik asam amino. Tingginya asam amino pada perlakuan kontrol berpengaruh pada semakin banyak emulsi yang terbentuk.



**Gambar 27.** Rata – rata Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 27 di atas menunjukkan bahwa nilai rata – rata kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein eceng gondok mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Turunya kapasitas emulsi dimungkinkan hidrolisat tidak dapat menyerap air dan minyak secara seimbang. Menurut Rieuwpassa (2013), menyatakan bahwa Kapasitas emulsi yang baik bila bahan dapat menyerap air dan minyak secara seimbang. Kekuatan protein dalam memerangkap gas merupakan faktor utama yang menentukan karakteristik dari buih protein. Ditambahkan oleh Chalamaiah *et al* (2011), menyatakan bahwa kapasitas emulsi protein bergantung pada keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik. menyatakan bahwa kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia protein.

Menurut koesoemawardani *et al.* (2008), semakin banyak protein yang terhidrolisi maka semakin rendah kestabilan emulsi. Hal ini disebabkan karena ikatan peptida yang panjang dapat menyerap lapisan minyak dan memicu terbentuknya tetesan minyak yang kecil sehingga kestabilan emulsi tinggi. Jika banyak protein yang terhidrolisi menghasilkan protein yang terlarut

banyak mengakibatkan kapasitas pengikat lemak menurun sebab didalam protein terlarut terdapat peptide yang hidropobik dan hidropilik. Peptida hidropilik dan hidropobik bisa mengikat lemak sehingga jika semakin tinggi protein yang terhidrolisi dapat merusak sifat yang dimiliki oleh peptida tersebut sebab terjadi pemecahan peptida menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu polipeptida dan asam-asam amino. Kadar emulsi ini dapat digunakan dalam substitusi untuk pakan sehingga dapat menyatukan fase terlarut air dan fase tidak terlarut yaitu lemak sehingga produk memiliki sifat dan terstur yang lebih baik.

#### **4.3 Hidrolisat Protein Eceng Gondok Tertinggi**

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein eceng gondok rebus diperoleh hasil tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase rebus 300 mL. Hal ini dilihat dari kandungan protein tertinggi yang dihasilkan dari hidrolisat protein eceng gondok dengan berbagai perlakuan. Purbasari (2008) melaporkan hidrolisat terbaik dilihat dari hasil kadar protein yang tertinggi. Selain itu, pemilihan hidrolisat protein terbaik dapat ditinjau dari parameter atau properti dari hidrolisat tersebut seperti pH, emulsi, dan daya buih. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan dari penelitiannya bahwa kualitas produk hidrolisat protein tertinggi ditandai dengan daya buih dan emulsi yang tinggi. Komposisi kimia dari pasta hidrolisat protein eceng gondok segar dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Komposisi kimia pasta hidrolisat protein enceng gondok segar tertinggi dan bahan baku enceng gondok segar

| Komposisi Kimia (%) | Pasta Hidrolisat protein enceng gondok segar | Fermentasi Eceng Gondok Segar * | Enceng gondok Segar |
|---------------------|--|---------------------------------|---------------------|
| Bahan Kering        | -  | -                               | 5,72                |
| Kadar Abu           | 15,42  | -                               | 22,90               |
| Protein Kasar       | 21,11  | 13,55                           | 12,78               |
| Serat Kasar         | -  | -                               | 22,40               |
| Lemak Kasar         | 1,14   | -                               | 1,05                |
| pH                  | 4,35   | -                               | -                   |
| Emulsi              | 49,22  | -                               | -                   |
| Daya buih           | 0,281  | -                               | -                   |
| Kadar karbohidrat   | 48,81  | -                               | -                   |
| Kadar air           | 13,53  | -                               | -                   |

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

Tabel 6 tersebut menunjukkan pasta Hidrolisat protein enceng gondok segar menunjukkan kandungan protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal tersebut disebabkan karena adanya aktifitas khamir yang merobak substrat yaitu enceng gondok dan molase yang dijadikan nutrisi untuk tumbuh sehingga dapat merobak nutrisi yang terkandung dalam hidrolisat enceng gondok dengan menggunakan enzim yang dimiliki khamir dan adanya penambahan kadar protein dari khamir laut itu sendiri dan aktivitasnya yang memanfaatkan karbon yang ada pada molase sehingga memicu tumbuh semakin pesat. Menurut 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).

Emulsi dan daya buih hanya ada pada pasta hidrolisat protein enceng gondok. Hal ini dikarenakan 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.

Menurunnya kadar abu pasta hidrolisat protein dibandingkan dengan bahan baku enceng gondok segar. Hal ini dimungkinkan karena bertambahnya jumlah khamir laut sehingga selama fermentasi berlangsung semakin banyak khamir laut yang menggunakan mineral untuk tumbuh sebab sumber carbon dan nitrogen yang tersedia. Komponen mineral dalam molase antara lain bentuk anion (magnesium, kalsium, aluminium, kalium, dan nitrogen) dan bentuk kation (silikat, fosfat, sulfat, sulfit, dan klorida) (Holilah, 2005), sehingga dapat digunakan khamir laut untuk pertumbuhannya dan kadar abu semakin berkurang.

Kadar lemak kasar hidrolisat protein meningkat dibandingkan dengan bahan baku enceng gondok segar. hal ini dimungkinkan karena jumlah mikroorganismenya meningkat sehingga menyebabkan aktifitas dalam mendegradasi bahan organik menjadi asam lemak meningkat yang dijadikan sebagai pemasok energi untuk meningkatkan sintesis lemak kasar (Rahmadi, 2003).

#### **4.4 Analisis Total Asam Amino**

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein enceng gondok segar diperoleh hasil terbaik yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume 300 mL. Hasil terbaik hidrolisat protein enceng gondok segar ini dianalisis total asam amino untuk mengetahui asam-asam amino yang terkandung dalam produk hidrolisat protein enceng gondok segar dengan molase rebus tersebut. Analisis data total asam amino hidrolisat protein enceng gondok segar dapat dilihat pada Lampiran 157. Kandungan asam amino daun enceng gondok, kedelai, tepung ikan dan telur ayam ras yang dibandingkan

dengan asam amino enceng segar dengan penambahan molase rebus dapat dilihat pada Tabel 7 berikut.

**Tabel 7.** Kandungan Asam Amino Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar, Daun Enceng Gondok, kedelai, Tepung Ikan dan Telur Ayam Ras.

| No                  | Jenis Asam Amino | Kandungan asam amino (%)                                 |   |                      |                          |                             |
|---------------------|------------------|--|---|----------------------|--------------------------|-----------------------------|
|                     |                  | Hidrolisat Enceng gondok ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) | Daun ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) <sup>1</sup> | Kedelai <sup>2</sup> | Tepung Ikan <sup>3</sup> | Telur Ayam Ras <sup>4</sup> |
| <b>Esensial</b>     |                  |  |   |                      |                          |                             |
| 1                   | Lisin            | 0,30   | 2,69  | 2,10                 | 2,82                     | 0,42                        |
| 2                   | Histidin         | 0,10   | 1,10  | 0,97                 | 0,78                     | 0,14                        |
| 3                   | Arginin          | 0,25   | 3,56  | 2,47                 | 3,75                     | 0,47                        |
| 4                   | Leusin           | 0,35   | 5,06  | 2,56                 | 3,99                     | 0,60                        |
| 5                   | Isoleusin        | 0,22   | 2,31  | 1,60                 | 2,37                     | 0,26                        |
| 6                   | Threonin         | 0,26   | 2,63  | 1,31                 | 2,34                     | 0,30                        |
| 7                   | Methionin        | 0,08   | 1,27  | 0,47                 | 0,99                     | 0,12                        |
| 8                   | Valin            | 0,30   | 2,79  | 1,61                 | 3,27                     | 0,27                        |
| 9                   | Triptofan        | -  | -   | 0,46                 | -                        | -                           |
| 10                  | Phenilalanin     | 0,22   | 3,39  | 1,70                 | 2,37                     | 0,40                        |
| <b>Non esensial</b> |                  |  |   |                      |                          |                             |
| 11                  | Glutamat         | 5,71   | 5,90  | 6,41                 | 7,05                     | 1,05                        |
| 12                  | Sistin           | -  | 0,84  | 0,60                 | 0,63                     | -                           |
| 13                  | Aspartat         | 0,93   | 5,05  | 3,88                 | 4,41                     | 0,87                        |
| 14                  | Alanin           | 0,94   | 3,40  | 1,53                 | 3,12                     | 0,47                        |
| 15                  | Serin            | 0,24   | 2,51  | 1,73                 | 3,75                     | 0,48                        |
| 16                  | Glisin           | 0,30   | 3,02  | 1,52                 | 3,83                     | 0,27                        |
| 17                  | Prolin           | 0,41   | 2,72  | 1,42                 | 3,93                     | 0,28                        |
| 18                  | Tirosin          | 0,15   | 2,16  | 1,18                 | 1,59                     | 0,23                        |
|                     | Total            | 10,68  | 50,4  | 33,52                | 50,99                    | 6,63                        |

Sumber: Viralalin et al.,<sup>1</sup> (1993)  
 Kricka et al.,<sup>2</sup> (2009)  
 Sitompul<sup>3</sup> (2004)  
 Heny<sup>4</sup> (2002)(diuji dengan *High Speed Amino Acid Analyzer*)

Tabel 7 menunjukkan bahwa asam amino yang diperoleh hidrolisat protein enceng gondok segar dan asam amino daun enceng gondok, tepung ikan, kedelai, telur ayam ras pada umumnya mengandung 16-18 macam asam amino. Hal ini dimungkinkan hidrolisis yang terjadi pada produk hidrolisat protein enceng gondok 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 dan bisa juga dimungkinkan karena protein yang dihidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana kurang maksimal sehingga tidak terurai menjadi asam amino. Purbasari (2008), mengatakan bahwa semua protein yang dihidrolisis akan menjadi asam – asam amino, tetapi ada beberapa protein yang disamping menghasilkan asam amino juga menghasilkan molekul-molekul protein yang berikatan sehingga dapat menghasilkan hasil hidrolisat yang kurang sempurna, sehingga dapat menurunkan kadar asam amino. Jika dibandingkan kadar asam amino hidrolisat enceng gondok dengan asam amino daun enceng gondok, tepung ikan, kedelai hidrolisat protein enceng gondok memiliki kadar asam amino yang sedikit dibandingkan dengan yang lain. Hal ini dimungkinkan dari bahan baku enceng gondok sendiri kadar protein tertinggi terdapat pada daunnya sedangkan bahan baku enceng gondok yang kita buat memakai seluruh dari enceng gondok sehingga dapat mempengaruhi jumlah kadar protein yang ada dalam bahan baku yang dipakai.

Hal ini juga dapat dikarenakan adanya hidrolisis yang kurang optimal menurut Anggraini *et al* (2015), semakin lama waktu hidrolisis dapat meningkatkan asam amino sebab selama proses hidrolisis semakin lama enzim yang menghidrolisis dapat berkerja optimal untuk memecah protein menjadi asam amino yang terlarut. Semakin lama proses hidrolisis dapat menurunkan pH menjadi lebih asam, larutan protein yang terhidrolisis akan mengalami penurunan pH, karena pada saat enzim protease memecah ikatan peptida, gugus karboksilat dilepaskan dan akan dibebaskan sejumlah ion hydrogen.

Menurut abun (2009), menyatakan bahwa semua protein bersifat koloidal dan daya larutnya dalam air berbeda, berkisar dari tidak larutnya keratin sampai larutnya albumin. Protein-protein yang larut dapat diendapkan dari larutan dengan penambahan garam seperti NaCl, dan prosesnya disebut *salting out* (penggaraman untuk mengeluarkan). Asam-asam amino dalam ikatan peptida tidak tanggap terhadap reaksi asam-basa. Namun, terdapat beberapa gugus amino dan karboksil bebas dalam sistem protein, sehingga protein bersifat amphoterik. Tiap sistem protein mempunyai titik isoelektrik karakteristik dan tiap protein dapat bertindak sebagai buffer. Semua protein dapat mengalami denaturasi dengan berbagai jalan dan sebagai contohnya adalah koagulasi protein oleh pemanasan misalnya: putih telur. Banyak zat penyebab denaturasi selain panas, yaitu asam kuat, basa kuat, alkohol.

Hal ini juga dapat mempengaruhi total kadar protein dan asam amino hidrolisat enceng gondok. 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. 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 enceng gondok segar dan asam amino yang lain, 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. Tingginya asam glutamat dimungkinkan karena hasil dari metabolisme dari khamir yang mengubah sumber nutrisi dari hidrolisat protein menjadi asam glutamate di dalam siklus krebs. Hidayat (2011) meyakini 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.

Menurut Purbasari (2008), menyatakan Asam glutamat merupakan asam amino nonesensial, berperan dalam menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan. Selain itu, asam glutamat juga bermanfaat untuk membantu dalam meningkatkan massa otot (memperbesar otot). Asupan asam glutamat yang berlebihan (lebih dari 120 mg per kg berat badan) dapat menyebabkan kerusakan sistem syaraf sehingga dapat menimbulkan penyakit *alzheimer* dan *amyotrophic lateral sclerosis*.

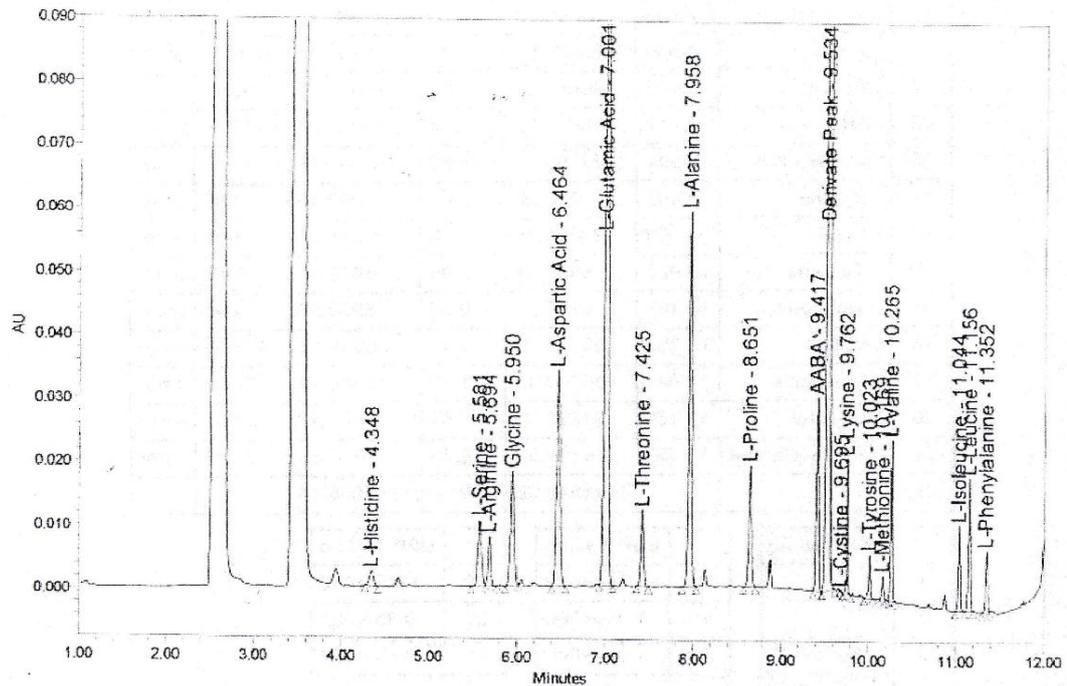
#### **4.5 Analisis HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Salah satu analisa asam amino adalah dengan kromatografi partisi cair (HPLC). Metode ini menggunakan metode yang modern, menggunakan kolom yang efisien dibawah tekanan besar sehingga dilakukan dalam waktu yang singkat dan untuk mendeteksi asam amino dapat menggunakan detektor UV, sinar

tampak dan fluoresensi. HPLC (high Performance Liquid Chromatography) sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa- senyawa tertentu seperti asam amino, asam nukleat, protein dalam cairan fisiologis. Dalam hal ini asam amino harus diderivatisasi terlebih dahulu supaya dapat membentuk derivat yang dapat menyerap cahaya UV. Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat – zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut ini diatur oleh distribusi solut oleh fase gerak dan fase diam (Aprina, 2012).

Tujuan utama dari proses derivatisasi asam amino adalah diperolehnya suatu senyawa baru yang mempunyai gugus kromofor sehingga diharapkan dapat menaikkan sensitivitas deteksi dengan demikian senyawa baru tersebut dapat terdeteksi dengan detektor UV-Vis. Reaksi yang terjadi pada derivatisasi asam amino adalah reaksi adisi nukleofilik yaitu gugus  $\text{NH}_2$  dari asam amino menyerang atom C dari PITC, terjadi siklisasi menghasilkan suatu derivat N-feniltiourea, kemudian dengan lepasnya air maka akan terbentuk derivat *phenylthiohydantoin* (PTH). PTH-asam amino ialah yang dapat diidentifikasi secara kromatografi. Waktu retensi dari derivat PTH-asam amino ini kemudian dibandingkan dengan waktu retensi dari Soam amino standar yang ada, sehingga asam amino dalam sampel dapat diketahui (Prabawati, 2005).

Prinsip kerja HPLC adalah didalam prinsipnya terdapat 2 fase yaitu Fase gerak dan diam yang akan disuntikan ke dalam kolom didalam kolom terdapat interaksi antara solut-solut terhadap fase diam. Solute yang kuat interaksinya akan keluar dari kolom setelah itu cairan yang keluar akan dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Kadar asam amino hidrolisat protein enceng segar dengan analisis asam amino megunakan HPLC dapat dilihat pada Gambar 28 Kromatogram di bawah ini.



**Gambar 28.** Hasil Dari Kromatografimetri Asam Amino Hidrolisat Enceng Gondok Segar Dengan Molae Rebus

Gambar 28 menunjukkan profil asam amino yang terbentuk di kromatogram yaitu 16 asam amino yang terdiri dari asam amino esensial dan non esensial. Amino esensial lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonine, methionine, valin, dan phenilalanin. Asam amino non esensial non esensial antara lain glutamat, sistin, aspartate, alanine, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Menurut Dewi (2013), menyatakan bahwa asam amino merupakan unit dasar struktur protein. Suatu asam amino  $\alpha$  terdiri dari gugus amino gugus karboksil atom H dan Gugus R tertentu yang semuanya terikat pada atom karbon  $\alpha$ . Atom karbon ini disebut  $\alpha$  karena bersebelahan dengan gugus karboksil (asam). Berdasarkan polaritas gugus R, asam amino dibedakan menjadi 4 golongan yaitu

- 1). Asam amino dengan gugus-R yang bersifat non polar, seperti alanine, leusin, isoleusin, valin, prolin, fenilalanin, triptopan, dan metionin.
- 2). Asam amino dengan gugus-R polar tidak bermuatan, seperti serin, treonin, tirosin, aspargin,

glutamin, sistein dan glisin, 3). Asam amino dengan gugus-R bermuatan positif, seperti lisin, arginine, histidin dan 4). Asam amino dengan gugus-R bermuatan negative seperti asam aspartate dan asam glutamate.

Perinsip kerja di dalam HPLC terdapat 2 fase yang diam dan bergerak. Fase diam dalam penelitian yang digunakan yaitu oktadesil silika (C18) silika ini dapat memisahkan senyawa – senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Fase gerak dalam analisis HPLC yaitu acetonitril 60%. Detektor yang digunakan Fluorescence, eksitasi 250 nm dan emisi 395 nm. Analisis asam amino enceng gondok segar diawali dengan hidrolisis asam menggunakan HCL 6 N pada suhu 110 °C selama 22 jam. Hidrolisis asam dengan HCL dapat memecah ikatan peptide secara sempurna dan dapat dengan mudah hilang dari hidrolisat dengan adanya penguapan. Sampel asam amino ditambahkan AABA (Alpha amino butyric acid) yang berfungsi sebagai internal standar. Larutan standar bertujuan untuk mengoreksi hilangnya residu asam amino selama proses hidrolisis. Fase gerak yang berupa zat cair (pelarut) yang berfungsi membawa komponen- komponen campuran menuju detektor, fase gerak ini dapat berinteraksi dengan solut pada fase diam. HPLC fase terbalik menggunakan fase diam yang bersifat non polar dan fase gerak bersifat polar. Solut yang kurang kuat interaksinya antara solut dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih dahulu dan sebaliknya. Setiap komponen campuran yang keluar dari kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram.

Menurut Syafiqoh (2014), pada kromatografi fase terbalik, silika non polar dimodifikasi melalui perlekatan rantai-rantai hidrokarbon panjang berupa atom karbon 8 atau 18 dan menggunakan pelarut polar berupa campuran air dan alkohol seperti methanol. Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan cenderung membentuk interaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya

disperse gaya van der Waals. Senyawa ini juga kurang larut dalam pelarut karena membutuhkan waktu untuk pemutusan hidrogen, sehingga senyawa non polar akan tertahan lebih lama di dalam kolom, sedangkan molekul-molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom. Menurut Lestari (2014), metode pemisahan kromatografi didasarkan pada molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fasa gerak dan fasa diam) yang kepolarannya berbeda. Apabila molekul-molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fasa diam.

#### 4.6. Analisa Derajat Hidrolisis

Protein merupakan makromolekul yang disusun oleh asam amino yang berikatan secara kovalen. Apabila protein dihidrolisis dengan asam, alkali atau enzim akan dihasilkan campuran asam-asam amino. Sebuah asam amino terdiri dari gugus R (rantai cabang), sebuah gugus asam amino, sebuah gugus karboksil, dan sebuah atom hidrogen (Winarno 1997). Setelah protein diubah menjadi asam-asam amino, maka melalui proses absorpsi melalui dinding usus, asam amino tersebut sampai ke dalam pembuluh darah. Asam amino umumnya berbentuk serbuk dan mudah larut dalam air, namun tidak larut dalam pelarut organik nonpolar.

Hidrolisis diartikan sebagai pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana (Kirk dan Othmer 1953). Pada hidrolisis, sebuah ikatan antara dua atom dipecah. Reaksi hidrolisis protein dapat dibagi dalam beberapa tipe, yaitu :

- hidrolisis murni, hanya air yang digunakan untuk proses hidrolisis;
- hidrolisis dengan larutan asam;
- hidrolisis dengan larutan alkali;

- hidrolisis dengan peleburan alkali yang menggunakan air atau tanpa air pada temperatur tinggi;
- hidrolisis dengan enzim sebagai katalisator.

Pada proses hidrolisis berlangsung pemisahan gugus-gugus amida yang terdapat di dalam protein melalui pemutusan ikatan peptida. Selama proses hidrolisis gugus amida, pertama gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif berikatan dengan substrat pada sisi aktif enzim sehingga dihasilkan ikatan kovalen substrat dengan enzim yang berbentuk tetrahedral. Kemudian, gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat di dalam substrat. Akibatnya, gugus amin pada substrat terdifusi dan kedudukannya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim ke dalam bentuk dan fungsinya seperti semula. Berdasarkan mekanisme pengikatan enzim terhadap substrat, proses hidrolisis tersusun atas dua tahap reaksi. Reaksi pertama adalah reaksi asilasi untuk membentuk ikatan kompleks enzim substrat, sedangkan reaksi kedua adalah reaksi deasilasi yang ditandai dengan hidrolisis ikatan kompleks enzim substrat menjadi produk dan enzim (Purbasari, 2008).

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

terjadi pemutusan ikatan peptida yang terjadi secara simultan. Pada konsentrasi tertentu, kecepatan hidrolisis akan mengalami penurunan dan memasuki tahap stasioner.

Nilai derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Karena derajat hidrolisis diukur dari perbandingan  $\alpha$ -amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN) maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek termasuk senyawa  $\alpha$ -amino nitrogen, derajat hidrolisisnya menjadi semakin tinggi. Derajat hidrolisis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi enzim, waktu hidrolisis, dan jenis enzim yang digunakan (Kurniawan *et al.*, 2012).

Proses hidrolisis protein enceng gondok menghasilkan derajat hidrolisis antara 1,02% – 1,65%, dengan nilai derajat hidrolisis terkecil terdapat pada perlakuan hari ke 0 sebesar 1,02% dan nilai derajat hidrolisis tertinggi terdapat pada perlakuan ke 12 yaitu sebesar 1,65%. Dari hasil pengujian derajat hidrolisis hidrolisat protein enceng gondok mengalami peningkatan hal ini dimungkinkan dari jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Karena derajat hidrolisis diukur dari perbandingan  $\alpha$ -amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN) maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek termasuk senyawa  $\alpha$ -amino nitrogen, derajat hidrolisisnya menjadi semakin tinggi.

## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah volume molase rebus yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein enceng gondok yaitu 300 ml dengan kandungan nutrisi sebesar 16,26% kadar air, 1,44% kadar lemak, 17,64% kadar abu, 18,33% kadar protein, 50,14% kadar karbohidrat, 4,49 pH, 0,25% daya buih, 51,56% kapasitas emulsi, sedangkan lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat enceng gondok yaitu pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 19,24% kadar protein, 16,17% abu, 1,25% lemak kasar, 48,19% kapasitas emulsi, 50,73% kadar karbohidrat, 12,61% kadar air, 4,40 pH, 0,26% daya buih. Profil asam amino terbaik pada perlakuan lama fermentasi selama 12 hari dan volume molase rebus sebanyak 300 ml yaitu sebesar 10,68%.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan proses pemisahan pada hidrolisat protein yang dihasilkan untuk memisahkan produk hidrolisat protein dengan substrat, sehingga produk yang dihasilkan adalah produk hidrolisat protein murni dan untuk pengujianya menggunakan hasil cairan hidrolisat protein.

## DAPFTAR PUSTAKA

- Abun. 2009. Pengolahan Limbah Udang Windu Secara Kimiawi Dengan NaOH dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Terhadap Protein dan Mineral Terlarut. Makalah Ilmiah. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Jatinangor.
- Aditya., S. D. 2013. Variabel Penelitian & Definisi Operasional. Hand out Mata kuliah "Metodologi Research". hal 1 -17.
- Aeni, R.N., P. Setyono, dan L.B. Utami. 2011. Pengaruh Limbah Lumpur Minyak Mentah Terhadap Pertumbuhan Eceng Gondok ((*Eichhornia Crassipes* (*Mart. Solms.*)). *Jurnal Ekosains*. **3** (2): 88- 104.
- Agustono., S. Hidayat, dan W. Paramita. 2010. Pengaruh Penggunaan Kombucha Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Pada Fermentasi Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **2** (2):179-183.
- Ahmad N.F., M. Junus, dan M. Nasich. 2015. *The Effects Of Molasses Addition On Crude Protein And Crude Fibre Content Of Biogas Sludge Solids*. Hal 1-8.
- Ahmad, R.Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces Cerevisiae* Untuk Ternak. *Wartazoa*. **15** (1): 49 – 55.
- Akili, Y. R. R. 2012. Karakteristik Ekstrakseluler Khamir Laut yang dipanen pada Fase Log dan Aktivitas Hidrolisisnya terhadap Kualitas Protein Ikan Peperek (*Leiognathus* sp.). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 97 hlm.
- Amza, T., Balla, A., Tounkara, F., Man, L. And Zhou, H. M.2013. Effect Of Hydrolysis Time On Nutritional, Functional And Antioxidant Properties Of Protein Hydrolysates Prepared From Gingerbread Plum (*Neocarya Macrophylla*) Seeds. *International Food Research Journal*. **20** (5): 2081-2090.
- Anggraini, A Dan Yunianta. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Hidrolisis Enzim Papain Terhadap Sifat Kimia, Fisik dan Organoleptik Sari *Edamame*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* .**3** (3): 1015-1025.
- Aprina., H.P.2012. Analisis Komposisi Asam Amino Gelatin Sapi dan Gelati Babi Pada *Marshmallow* Menggunakan Teknik Kombinasi HPLC (High Performance Liquid Chromatography) dan PCA (Principal Component Analysis). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Jakarta.
- Arief, R. W, Irawati, I dan Yusmasari. 2011. Penurunan Kadar Asam Fitat Tepung Jagung Selama Proses Fermentasi Menggunakan Ragi Tape. *Seminar Nasional Serealia*. Hal 590-597.

- Asngad, A dan Suparti. 2009. Lama Fermentasi dan Dosis Ragi Yang Berbeda Pada Fermentasi Gaplek Ketela Pohon (Manihot Utilissima, Pohl) Varietas Mukibat Terhadap Kadar Glukosa dan Bioetanol. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. **10** (1): 1 – 9.
- Azizah, N., A.N. Al- Baarri dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan Produksi Gas pada proses fermentasi bioetanol dari Whey dengan Substitusi kulit nanas.aplikasi teknologi pangan. **1** (2) : 72-77.
- Bernadeta., P. Ardiningsih, dan I.H. Silalahi. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein Dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio Cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. **1** (1): 26-30.
- Brlingga, L.A .2011. Karakteristik Protein dan Asam Amino Daging Rajungan (*Portunus Pelagicus*) Akibat Pengukusan.Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Budy., D. 2014.Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi Yang Berbeda Dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) Rebus .Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.
- Chalamaiah, M., K. Balaswamy, G. N. Galla,P. G. Prabhakara Galla, and T. Jyothirmayi. 2011. Chemical composition and functional proper-ties of Mrigal (*Cirrhinus mrigala*) egg protein concentrates and their application in pasta. *Jurnal. Food Sciences Technology*. DOI 10.1007/s13197-011-0357-5.
- Dewi., N. Y. 2013. Penetapan Kadar Dan Analisis Profil Protein dan Asam Amino Ekstrak Ampas Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa Linn.*) dengan Metode Sds-Page dan KCKT. Skripsi. Faklkutas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Jakarta. Uin Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Falahudin, D. 2008. Penghambatan Peroksidasi Lipid Sel Khamir *Candida* Sp. Y390 Oleh Ekstrak Daging Buah Salak Bongkok (*Salacca Edulis* Reinw.). Skripsi. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia: Jakarta
- Fathony, A. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi Yang Berbeda Dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Hal 1-155.
- Fauzi, M. 2009. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat (Bal) Biji Kopi Luwak Pada Beberapa Media. Laporan Penelitian. Jurusan Teknologi

Hasilpertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Hal 1 – 41.

Febriani, M. 2010. Penggunaan Khamir Laut Sebagai Biokatalisator Dalam Pembuatan Silase Daun Mengkudu ( *Morinda Citrifolia*) Sebagai Salah Satu Bahan Alternative Pakan Ikan. *Prosiding Forum Inovasi Akuakultur*. Hal 775 – 780.

Haryanti, S., R.B. Hastusti., E.D. Hastuti, dan Y. Nurchayati. 2015. Adaptasi Morfologi Fisiologi dan Anatomi Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart) Solm) di Berbagai Perairan Tercemar. *Adaptasi Morfologi Fisiologi dan Anatomi Sri H, Rini BH, Endah DH, Yulita N*, 39-46.

Hasan, F. 2002. Pengaruh Konsentrasi Garam Terhadap Mutu Produk Fermentasi Gonad Bulu Babi Jenis *Tripneustes Gratilla* (L). *Skripsi*. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institute Pertanian Bogor.

Hasanah. A.M. 2007. Pengaruh Total Mikroba Pada Merk Ragi dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Ketan Putih (*Oryza Sativa* L. Var. Forma *Glutinosa*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang Malang.

Haslaniza, H., Maskat, M. Y., Wan Aida, W. M. and Mamot, S. 2010. The Effects Of Enzyme Concentration, Temperature And Incubation Time On Nitrogen Content And Degree Of Hydrolysis Of Protein Precipitate From Cockle (*Anadara Granosa*) Meat Wash Water. *International Food Research Journal* .17: 147-152.

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 (*Oreochromis Mossambicus*). *Jurnal Gizi Indonesia*. 1 (2):34-40.

Haslina. 2004. Nilai Gizi Dan Daya Cerna Protein Patilo Sebagai Makanan Jajanan Yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis Mossambicus*). *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Heny. 2002. Perbandingan Kadar Asam Amino dalam Telur Ayam Ras dan Telur Bebek dengan *High Speed Amino Acid Analyzer*. *Thesis*. Fakultas Farmasi. Universitas Surabaya. Surabaya.

Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 70 hlm.

Hidayat, T. 2011. Profil Asam Amino Kerang Bulu. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor 2005.

- Ho Thanh Tham. 2012. Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) – Biomass Production, Ensilability and Feeding Value to Growing Cattle. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- Holilah. 2005. Pengaruh Penambahan Molase terhadap Keefektifan Ekstrak Kompos untuk Pengendalian *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butter dan Bisby Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Jannah, A. K. 2012. Pengaruh Khamir Laut Jenis Campuran yang Dipanen Pada Fase Log dalam Menghidrolisis Protein Kerang Darah (*Anadara granosa*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Juwita, R. 2012. Studi Produksi Alkohol Dari Tetes Tebu (*Saccharum Officinarum* L) Selama Proses Fermentasi. Skripsi. Program Studi Keteknikan Pertanian Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar.
- Koesoemawardani, D., F. Nuraini, dan Hidayati. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat protein ikan Rucah. *Jurnal. Natural Indonesia*. **13** (3): 256 – 261.
- Kricka. T., V. Jurisic ., N. Voca ., D. Curic., T. B. Savic dan A. Matin. 2009. Amino Acid Composition, Urease Activity And Trypsin Inhibitor Activity Aft Er Toasting Of Soybean In Th Ick And Th In Layer. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. **74** (3): 209-213.
- Laboratorium Ilmu Makanan Ternak. 2005. Pemanfaatan Daun Eceng Gondok Sebagai Bahan Pakan Unggas. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang.
- Lestari., S.W. 2014. Validasi Metode Penetapan Kadar Aliskiren Dalam Plasma Darah Secara In Vitro Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Jakarta.
- Liawati. 1992. Mempelajari Pengaruh Perbedaan Perendaman dengan Mumbu Ekstrak dan Larutan Garam terhadap Daya Awet Cumi-Cumi (*Loligo edulis*) Asap. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Liputo, S. A., S. Berhimpon dan F. Fatimah. 2013. Analisa Nilai Gizi Serta Komponen Asam Amino dan Asam Lemak Dari Nugget Ikan Nike (*Awaous Melanocephalus*) dengan Penambahan Tempe. *Chemistri. Program*. **6** (1): 38-44.
- Mangisah, B. Sukamto dan M. H. Nasution. 2009. Implementasi Daun Eceng Gondok Fermentasi Dalam Ransum Itik. *Jurnal. Indonesia. Tropis. Animalia. Agric*. **34** [2]:127 -133.
- Nasrulloh. 2009. Hidrolisat Asam dan Enzimmatis Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L) menjadi glukosa sebagai substrat fermentasi etanol. Skripsi.

Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Nazir, M. 2005. Metode Penelitian. PT Ghalia Indonesia. Jakarta.

Noviana N, Y., S. Lestari, Dan S Hanggita Rj.2012. Karakteristik Kimia dan Mikrobiologi Silase Keong Mas (*Pomacea Canaliculata*) dengan Penambahan Asam Format dan Bakteri Asam Laktat 3b104. *Fishtech*. 1.(01): 55 – 68.

Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase Dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar Untuk Pertumbuhan Isolate Khamir R1 dan R2 Pada Fermentor Air-Lift 18 Liter. Skripsi. Program Studi Biologi Falkutas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Hal 1 – 47.

Novita W., K. Arief , F.C. Nisa, dan U. Murdiyatmo. 2006. Karakterisasi Parsial Ekstrak Kasar Enzim Protease dari *Bacillus Amyloliquefaciens* Nrrl B-14396. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7 (2):96-105.

Noviyanti, T., P., Ardiningsih, dan W. Rahmalia. 2012. Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena Cauliflora* Diels). *Jkk*, Tahun 2012. 1 (1): 45-48.

Nurhayati, Betty, S. L., Sri, W., dan Harsi, D. K. 2014. Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Jurnal Agritech*. 34 (2): 146-150.

Pangesti, N.W.I., A. Pangastuti, dan E. Retnaningtyas. 2012. Pengaruh Penambahan Molase Pada Produksi Enzim Xilanase Oleh Fungi *Aspergillus Niger* dengan Substrat Jerami Padi. *Bioteknologi*. 9 (2): 41-48.

Prabawati., S.Y. 2005. Intisari Analisis Asam Amino Dalam Cumi –Cumi (*Todarodes Pasificus*). *Kaunia*. 1(2):170-179.

Prasetyo, M. N., N. Sari dan C.S.Budiyati. 2012. Pembuatan Kecap dari Ikan Gabus Secara Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Sari Nanas. *Jurnal teknologi kimia dan industri*. 1(1): 270-276.

Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea Striata*). Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*C. obtusa*). *Jurnal. Ilmu Kelautan*. 17 (1): 39-48.

Purwati, S., R. S. Soetopo dan T. Idiyanti. 2011. Aplikasi Protease Dan Pengaruh Suhu Pada Asidifikasi Digestasi Anaerobik Dua-Tahap Lumpur Ipal Biologi Industri Kertas. *Jurnal Selulos*.1 (1): 20 – 30.

- Putra., E.D.L.2004.Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi. Digitized By Usu Digital Library.
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi Dengan Kultur Mikroorganism Campuran Terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *Jurnal. Indonesia. Tropis. Animalia. Agric.* **28** (2): 90- 94.
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganism Campuran terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *Jurnal. Indonesia. Tropis. Animalia. Agric.* **28** (2): 90-94.
- Rediatning., W dan N. Kartini. 1987. Analisis Asam Amino dengan Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi Secara Derivatisasi Prakolom dan Pascakolom. *Proceedings Itb.* **20** (2): 41-59.
- Rieuwpassa, F. J., J. Santoso, dan W. Trilaksana. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Konsentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *Jurnal. Ilmu dan Teknik. Kelautan. Tropis.* **5** (2): 299:309.
- Riswandi. 2014. Kualitas Silase Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) dengan Penambahan Dedak Halus dan Ubi Kayu. *Jurnal Peternakan Sriwijaya.* **3** (1): 1-6.
- Rohim, A. 2014. Pengaruh Perbedaan Penambahan Kadar Molase Rebus pada Medium Gula Terhadap Biomassa Sel Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rohim, 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.
- Sari, N. K. 2009. Pembuatan Bioetanol dari Rumput Gajah Dengan Distilasi Batch. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia.* **8** (3): 94-103.
- Sari, S. P. 2014. Substitusi Molase Rebus dengan Kadar yang Berbeda pada Medium Fermentasi Khamir Laut. Laporan Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Sartika, D., E. Harpeni, dan R. Diantari. 2012. Pemberian Molase Pada Aplikasi Probiotik Terhadap Kualitas Air, Pertumbuhan dan Tingkat Kelangsungan Hidup Benih Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan.* **1** (1):53 -64.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis. Kanisius: Yogyakarta.
- Septiani, Y., T. Purwoko, dan A. Pangastuti. 2004. Kadar Karbohidrat, Lemak, dan Protein Pada Kecap dari Tempe. *Bioteknologi.* **1** (2): 48-53.
- Shahidi, F. B. J. R. 1994. *Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality.* Blackie Academic and Professional. Glasgow.

- Silalahi F.Y Dan Ikhsan F. 2014. Fermentasi Fruitghurt dengan Variasi Kulit Buah Upaya dalam Pemanfaatan Limbah Cair Buah. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Simanjourang, E., N. Kurniawati, dan Z. Hasan. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. *Jurnal. Perikanan dan Kelautan*. **3** (4): 209-220.
- Sitompul., S.2004. Analisis asam amino dalam tepung ikan dan bungkil kedelai. *Buletin teknik pertanian*. **9** (1): 33 - 37.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta Bekerjasama dengan Pusat Antar Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sugoro, I. Gobel Dan N. Lelaningtyas. 2006. Optimasi Sumber Nitrogen Probiotik Khamir R1 dan R110 dalam Medium Ekstrak Singkong. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. hlm. 905-911.
- Sukoso. 2010. Khamir Laut Sebagai Pengganti Kedelai Dalam Industri Pakan. Artikel. Dikirim Oleh Humas Pada 26 Januari 2010.
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB. Malang. 72 hlm.
- Sumarsih, S. 2003. Mikrobiologi Dasar. Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Upn"Veteran" Yogyakarta. Hal. 1-110.
- Suprihatin. 2010. Teknologi Fermentasi. Unesa University Press. Hal 1- 43.
- Suri, W.L ., S. Syukur dan Jamsari. .2013. Optimization Of Protease Activity From Lactic Acid Bacteria (Lab) *Pediococcus Pentosaceus* Isolated From Soursop Fermentation (*Annona Muricata L.*). *Jurnal Kimia Unand*. **2** (1):18-25.
- Surthikanthi, D., Suranto, Dan A. Susilowati. 2005. Biokonversi Kompleks Lignoselulosa Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes* (Martz) Solms) Menjadi Gula Pereduksi Oleh *Phanerochaete Chrysosporium*. *Bio Smart*. **7** (1): 17-22.
- Syafiqoh., F. 2014. Analisis Gelatin Sapid an Gelatin Babi pada Produk Cangkang Kapsul Keras Obat dan Vitamin Menggunakan FTIR dan KCKT.UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Syahputri, D. A dan A. K. Wardani. 2015. Pengaruh Fermentasi Jali (*Coix Lacryma Jobi-L*) Pada Proses Pembuatan Tepung Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Cookies Dan Roti Tawar. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3** (3): 984-995.
- Tangio, J.S. 2012. Adsorpsi Logam Timbal (Pb) Dengan Menggunakan Biomassa Eceng Gondok (*Eichornia Crassipes*). Laporan Penelitian. Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ipa Universitas Negeri Gorontalo. Hal 1- 27.

- Tetelepta L.D. 2011. Pertumbuhan Kultur *Chlorella Spp* Skala Laboratorium pada Beberapa Tingkat Kepadatan Inokulum. Prosiding Seminar Nasional: Pengembangan Pulau-Pulau Kecil.
- Virabalin, R., Kositsup, B Dan Punnapayak, H. 19993. Leaf Protein Concentrate From Water Hyacinth. *Journal Of Aquatic Plant Management*. 31, 207-209.
- Wahyudi. 1997. Produksi Alkohol Oleh *Saccharomyces ellipsoideus* Dengan Tetes Tebu (MOLASE) Sebagai Bahan Baku Utama. Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Waluyo, L. 2007. Mikrobiologi Umum. Umm Press. Malang. 372 Hlm.
- Widadi, I. R. 2011. Pembuatan Dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Widjastuti, T, Abun., W. Tanwiriah, I. Y. Asmara. 2007. Pengolahan Bungkil Inti Sawit Melalui Fermentasi Oleh Jamur *Marasmius Sp* Guna Menunjang Bahan Pakan Alternatif Untuk Ransum Ayam Broiler. Makalah Ilmiah. Program Hibah Kompetisi A3 Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Widyanti, E.M. 2010. Produksi Asam Sitrat Dari Substrat Molase Pada Pengaruh Penambahan *Vco (Virgin Coconut Oil)* Terhadap Produktivitas *Aspergillus Niger Itbcc L74* Terimobilisasi. Tesis. Magister Teknik Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro Semarang.
- Yuniasari, D. 2009. Pengaruh Pemberian Bakteri Nitrifikasi dan Denitrifikasi serta Molase dengan C/N Rasio Berbeda terhadap Profil Kualitas Air, Kelangsungan Hidup, dan Pertumbuhan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Perhitungan dalam Kultur Khamir Laut**Air laut = 1000 mL****Gula pasir 0,5%**

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

Jadi, gula pasir yang digunakan dalam kultur khamir laut sebanyak 5 gram.

**Pupuk daun 0,2%**

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

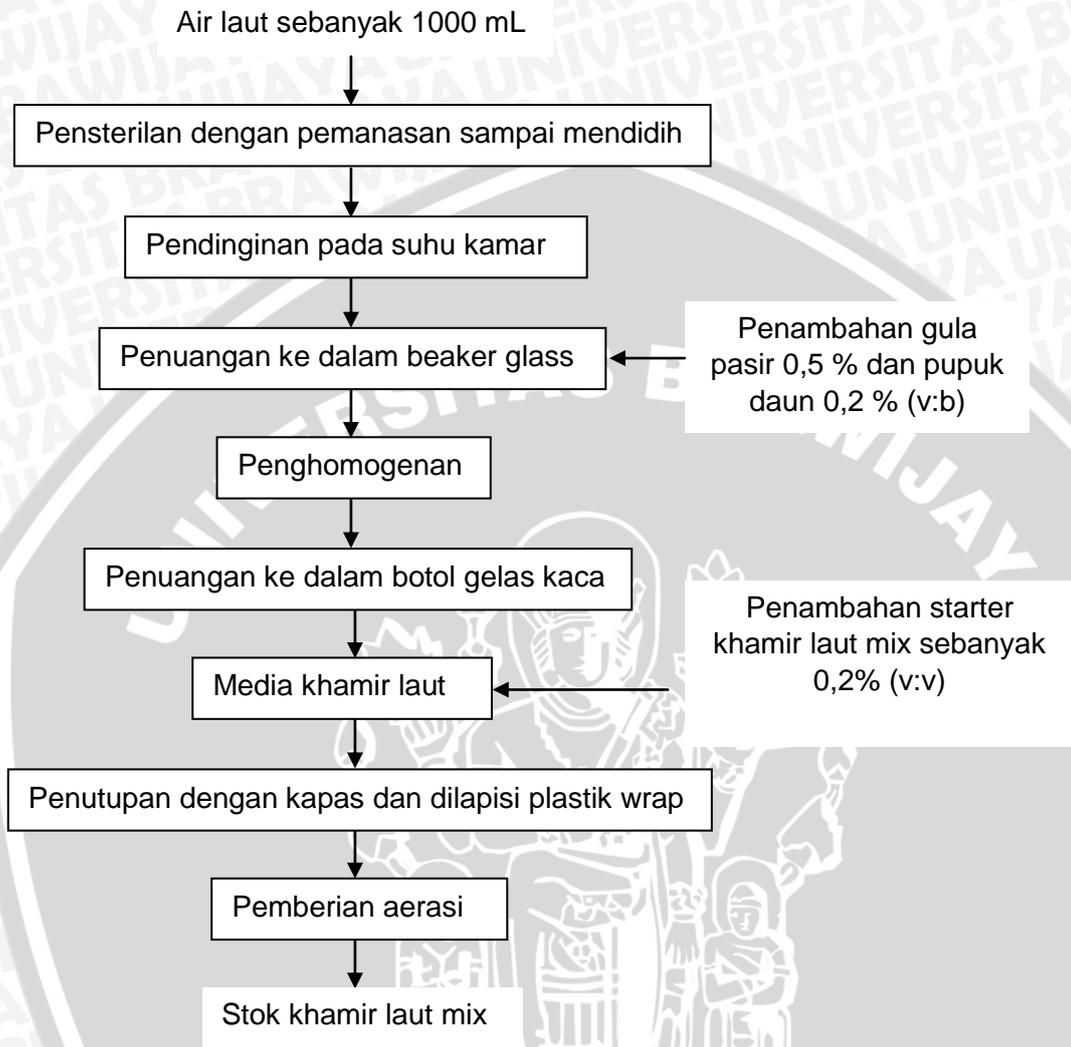
Jadi, pupuk daun yang digunakan dalam kultur khamir laut sebanyak 2 gram.

**Eceng gondok = 100 gram****Starter khamir laut 0,2 %**

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

Jadi, starter khamir laut yang digunakan dalam kultur khamir laut sebanyak 2 mL

Lampiran 2. Diagram Alir Kultur Khamir Laut



**Lampiran 3.** Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir Laut**Air Laut = 50 mL****Gula pasir 0,25%**

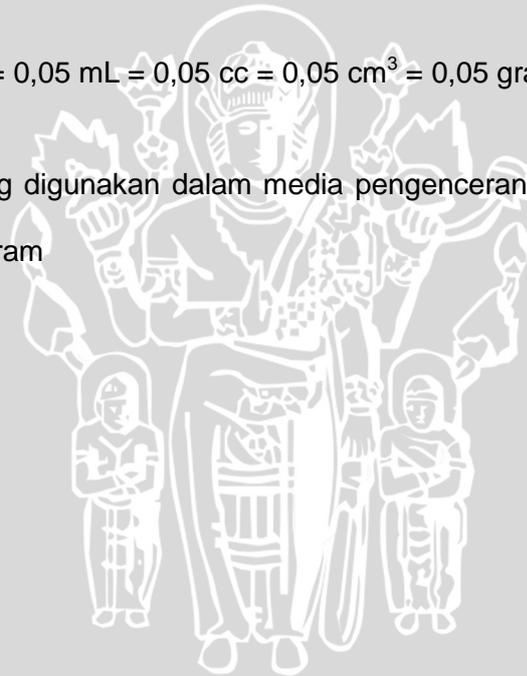
$$= \frac{0,25}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

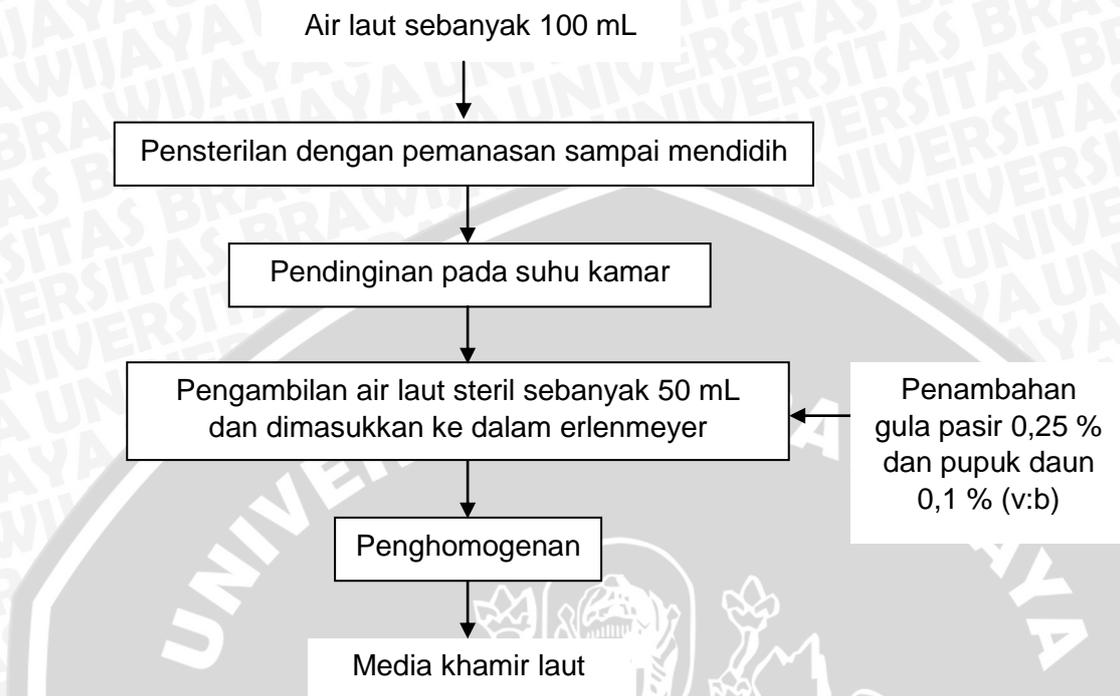
Jadi, gula pasir yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut yaitu sebanyak 0,125 gram

**Pupuk daun 0,1%**

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

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



**Lampiran 4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut**

**Lampiran 5. Data Kepadatan Sel Khamir Laut**

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

**Lampiran 6.** Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Saat Dilakukan Pengenceran

Pengamatan Jam ke-0

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

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

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

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

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

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

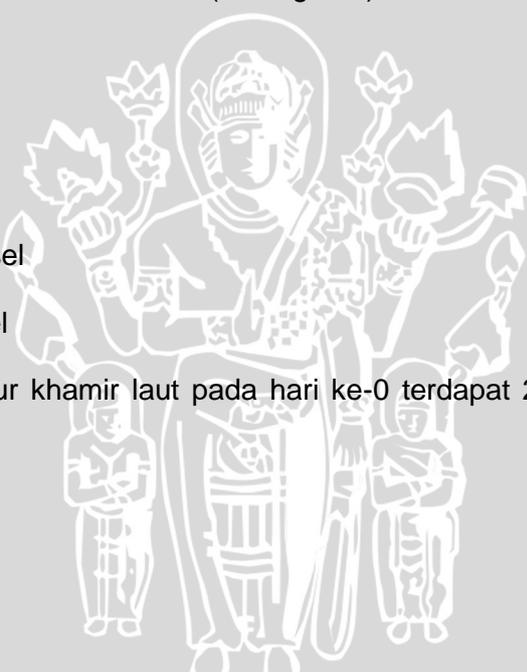
$10^{-2} = 200828 \text{ sel}$

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

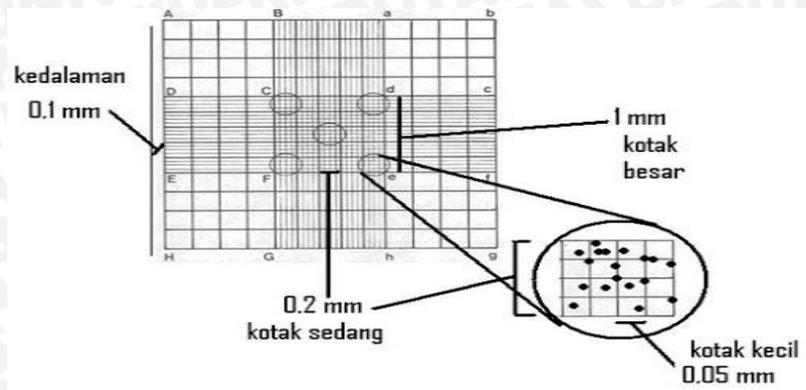
$1 \text{ mL} = 2,00828 \times 10^6 \text{ sel}$

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

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



**Lampiran 7. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut**



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

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

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

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

Jadi, formula dalam menentukan jumlah sel yaitu:

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

Atau



Jumlah sel/mL= jumlah sel x ¼ x 10<sup>6</sup> x 10<sup>4</sup>

**Pengamatan jam ke- 0**

Log sel/mL = 10,9934

Jumlah sel/mL= 4,4 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

**Pengamatan jam ke-60**

= 1,1 x 10<sup>10</sup> sel/mL

Jumlah sel/mL= 50,6 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

Log sel/mL =10,0414

= 12,65 x 10<sup>10</sup>sel/mL

**Pengamatan jam ke-12**

Log sel/mL = 11,1021

Jumlah sel/mL= 14,4 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

**Pengamatan jam ke-72**

= 3,6 x 10<sup>10</sup>sel/mL

Jumlah sel/mL= 55,2 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

Log sel/mL = 10,5563

= 13,8 x 10<sup>10</sup>sel/mL

**Pengamatan jam ke- 24**

Log sel/mL = 11,1399

Jumlah sel/mL=23,2 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

**Pengamatan jam ke-84**

= 5,8 x 10<sup>10</sup>sel/mL

Jumlah sel/mL= 42,8 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

Log sel/mL = 10,7634

= 10,7 x 10<sup>10</sup>sel/mL

**Pengamatan jam ke-36**

Log sel/mL =11,0294

Jumlah sel/mL= 28,8 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

**Pengamatan jam ke-96**

= 7,2 x 10<sup>10</sup>sel/mL

Jumlah sel/mL= 24,8 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

Log sel/mL = 10,8573

= 6,2 x 10<sup>10</sup>sel/mL

**Pengamatan jam ke-48**

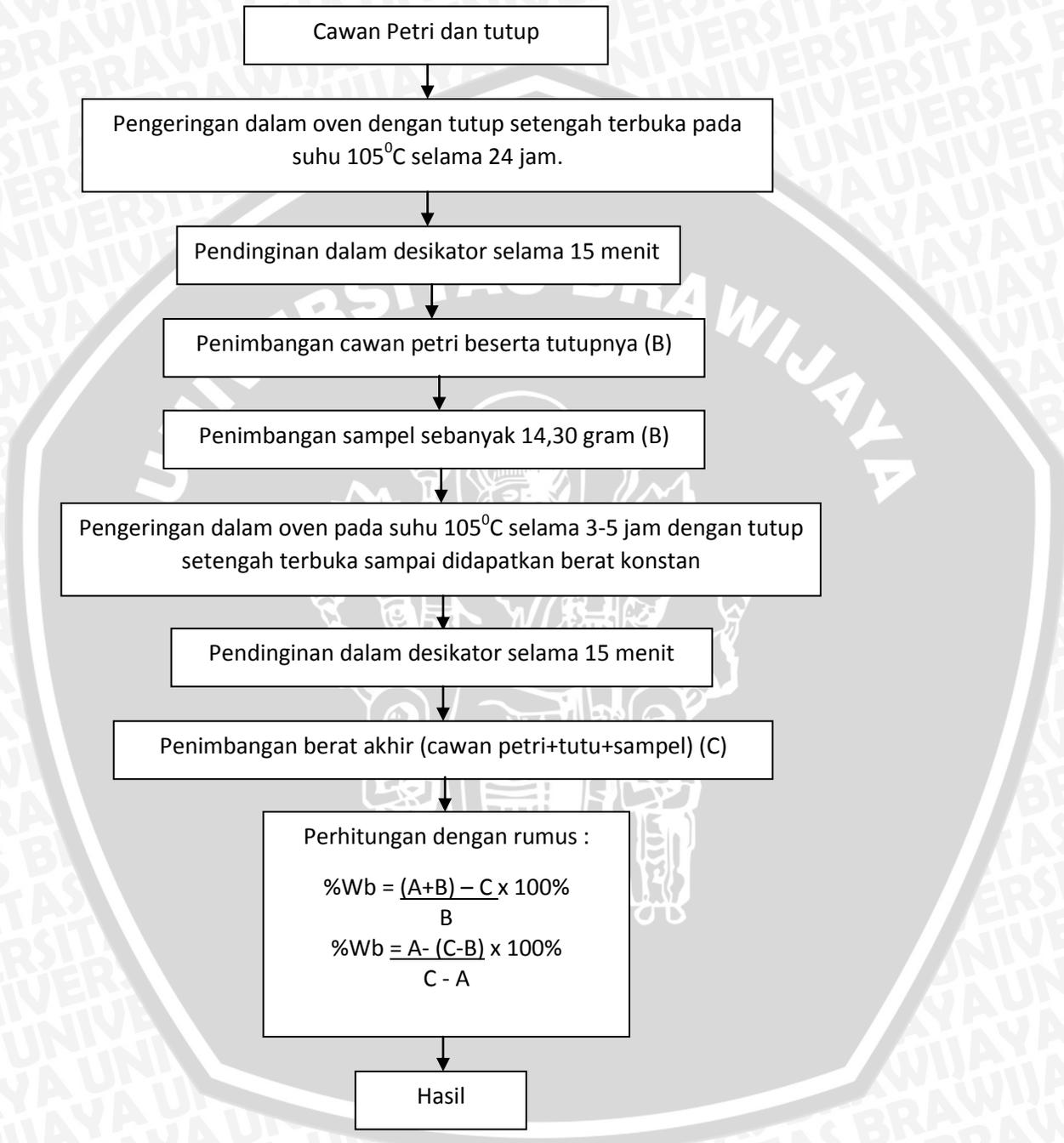
Log sel/mL = 10,7924

Jumlah sel/mL= 39,4 x (1/4) x 10<sup>6</sup>x 10<sup>4</sup>

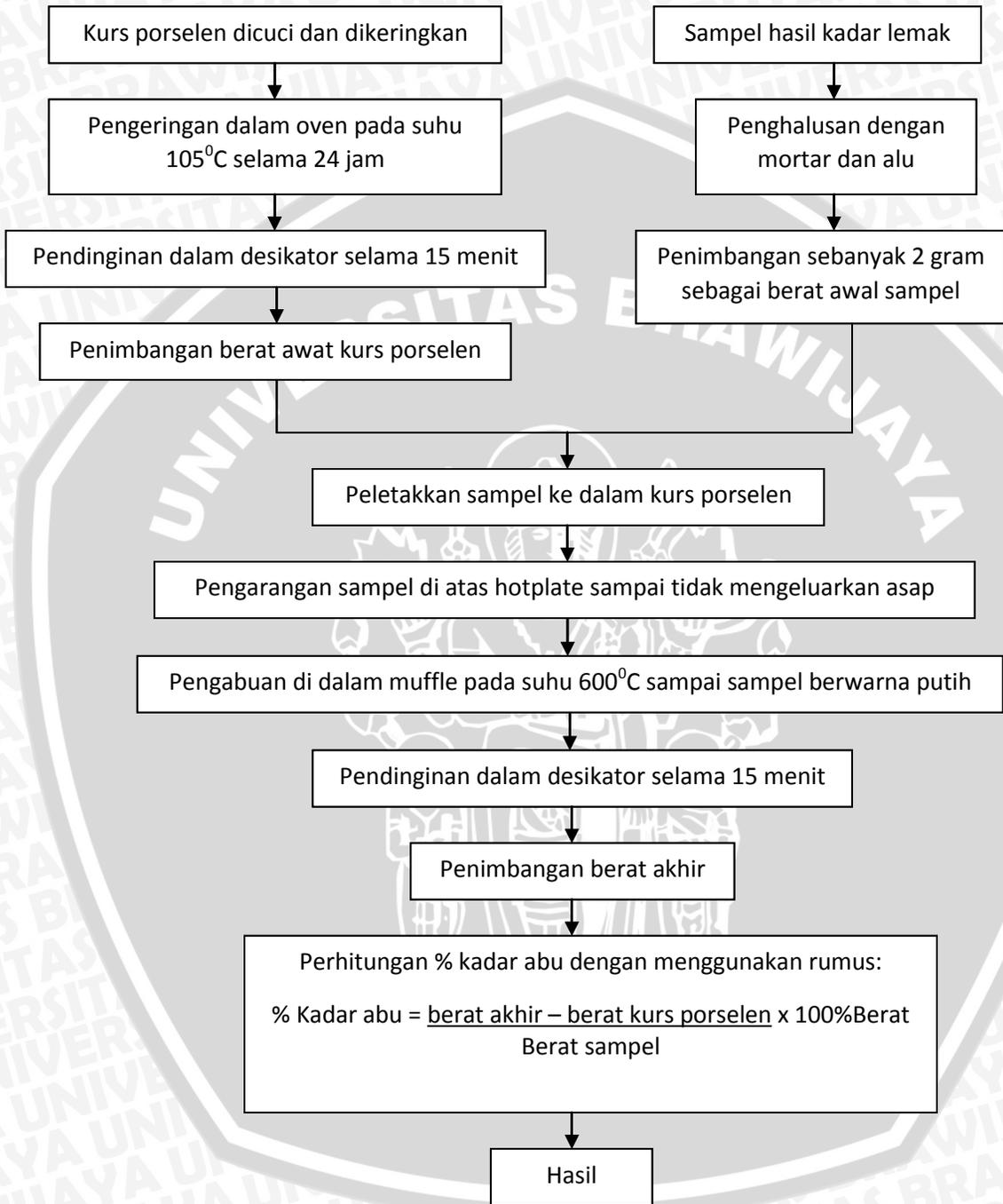
= 9,85 x 10<sup>10</sup>sel/mL

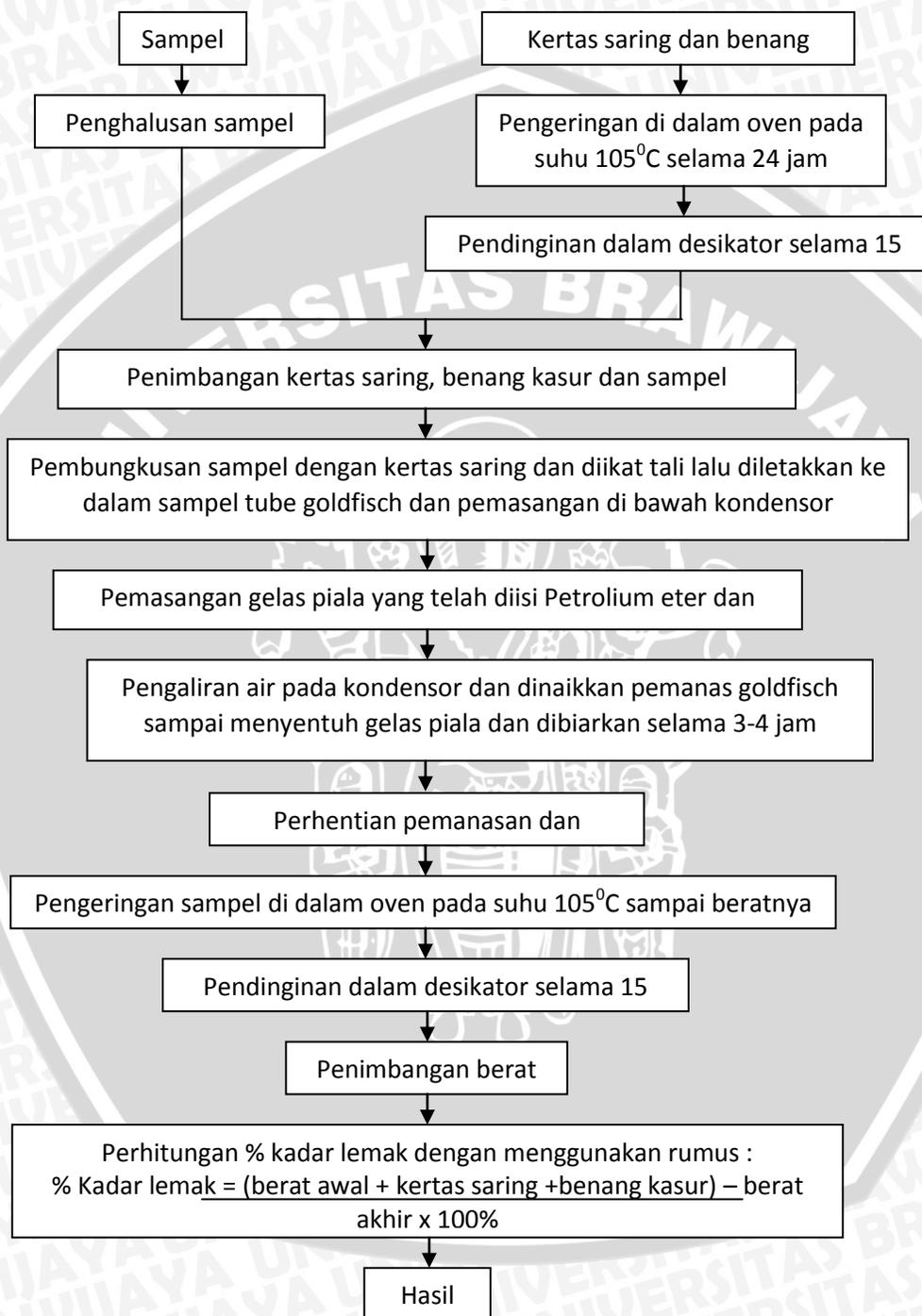


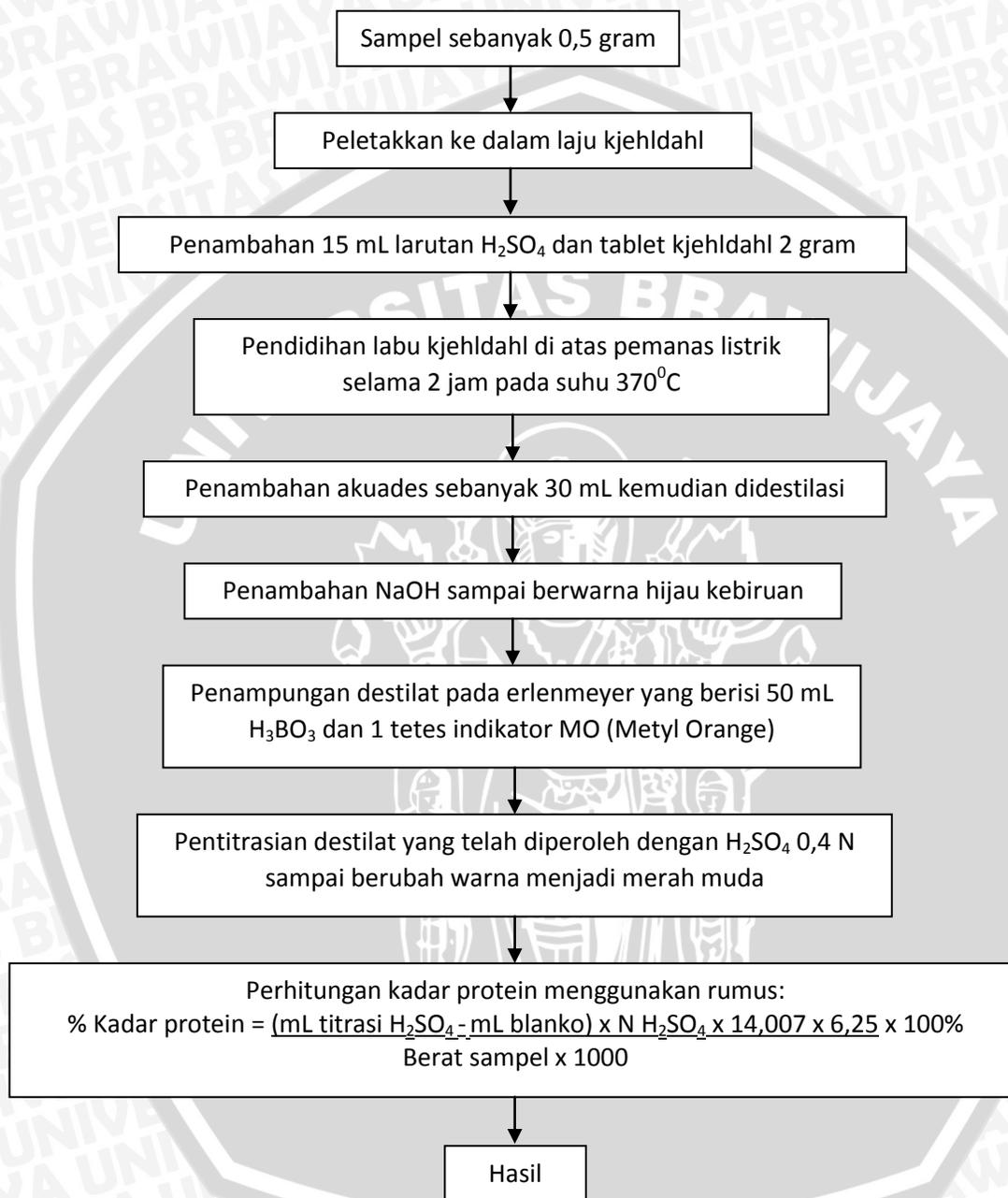
**Lampiran 8.** Diagram Alir Analisis Kadar Air



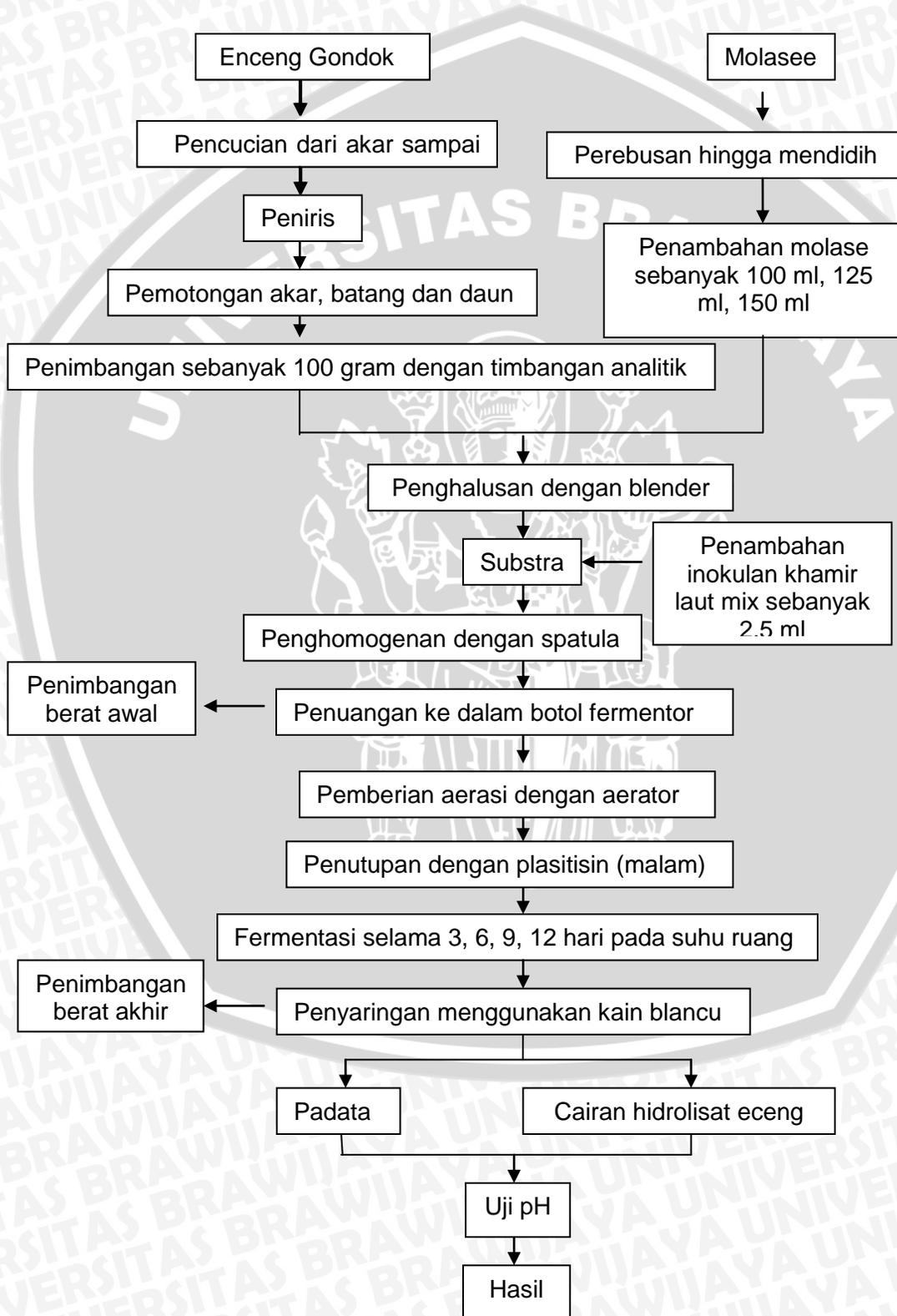
**Lampiran 9. Diagram Alir Ananlis Kadar Abu**



**Lampiran 10.** Diagram Alir Analisis Kadar Lemak

**Lampiran 11. Diagram Alir Analisis Kadar Protein**

**Lampiran 12.** Diagram Alir Pembuatan Hidorizat Protein Enceng Segar Dengan Penambahan Molase Rebus Dan Lama Fermentasi Yang Berbeda.



**Lampiran 13. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan**

- Penelitian Pendahuluan Pertama

| <b>Formulasi hidrolisat Protein</b>   | <b>Keterangan</b>  | <b>Foto Penelitian</b>  |
|---|--|---|
| <b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 2,5 mL dan 1,25 mL khamir laut</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan berbentuk serpihan</li> <li>• Berbau busuk tidak sedap</li> </ul> |    |
| <b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 2,5 mL dan 2,5 mL khamir laut</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau busuk</li> </ul>                                |   |
| <b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 5 mL dan 1,25 mL khamir laut</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau busuk</li> </ul>                                |  |
| <b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase rebus 5 mL dan 2,5 mL khamir laut</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 2 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau busuk</li> </ul>                                |  |

- Penelitian Pendahuluan Kedua

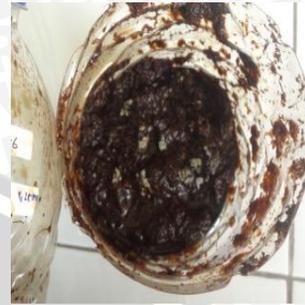
| Formulasi eceng gondok  | Keterangan   | Foto Penelitian   |
|---|--|---|
| <p><b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 25 mL dan 1,25 mL khamir laut</b></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 3 hari</li> <li>• Berwarna hijau kecoklatan</li> <li>• Berbau tidak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

- Penelitian Pendahuluan Ketiga

| Formulasi hidrolisat   | Keterangan   | Foto Penelitian   |
|--|--|---|
| Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 75 mL dan 1,25 mL khamir laut  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 5 hari</li> <li>• Berwarna coklat tua</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase Rebus</li> <li>• Setelah 5 hari berbau busuk</li> </ul> |    |
| Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 75 mL dan 2,5 mL khamir laut   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 5 hari</li> <li>• Berwarna coklat tua</li> <li>• Berbau khas fermentasi atau molase Rebus</li> <li>• Setelah 5 hari berbau busuk</li> </ul> |    |
| Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 100 mL dan 1,25 mL khamir laut | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Cairan habis</li> <li>• Dan tumbuh jamur</li> </ul>   |   |
| Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 100 mL dan 2,5 mL khamir laut  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Cairan habis</li> </ul>   |  |
| Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 125 mL dan 1,25 mL khamir laut | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bertahan selama 6 hari</li> <li>• Cairan habis</li> <li>• Berjamur</li> </ul>   |  |

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

- Bertahan selama 6 hari
- Cairan habis
- Berjamur



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

- Bertahan selama 7 hari
- Cairan habis
- Berjamur



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

- Bertahan selama 7 hari
- Cairan habis
- Berjamur



- Penelitian Pendahuluan Keempat

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

|  |  |   |
|--|--|---|
|  | molase rebus                               |   |
|  | • Cairan habis                             |   |
| <b>Hidrolisat protein eceng gondok dengan molase Rebus 300 mL dan 2,5 mL khamir laut</b> | • Bertahan selama 12 hari                  |  |
|  | • Berwarna coklat kehitaman                |   |
|  | • Berbau khas fermentasi atau molase rebus |   |
|  |  |   |

**Lampiran 14.** Hasil Analisa Nilai Rendemen Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar Dengan Volume Molase Rebus Dan Lama Fermentasi Yang Berbeda.

| Lama fermentasi | Volume molase | Berat Awal (gram) | Berat akhir (gram) | Rendemen (%) |
|-----------------|---------------|-------------------|--------------------|--------------|
| 3 hari          | 200 ml        | 310,13            | 240,96             | 77,70        |
|                 | 250 ml        | 360,42            | 300,29             | 83,32        |
|                 | 300 ml        | 412,15            | 350,21             | 84,97        |
| 6 hari          | 200 ml        | 311,42            | 232,15             | 74,55        |
|                 | 250 ml        | 362,54            | 287,27             | 79,24        |
|                 | 300 ml        | 411,09            | 339,23             | 82,52        |
| 9 hari          | 200 ml        | 310,64            | 219,92             | 70,80        |
|                 | 250 ml        | 360,17            | 280,12             | 77,77        |
|                 | 300 ml        | 412,21            | 337,73             | 81,93        |
| 12 hari         | 200 ml        | 310,14            | 200,92             | 64,78        |
|                 | 250 ml        | 362,21            | 267,95             | 73,98        |
|                 | 300 ml        | 413,16            | 313,83             | 75,96        |

**Lampiran 15.** Hasil Analisa Nilai Ph Campuran, Ph Cairan, Ph Padatan, Penelitian Pendahuluan Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar Dengan Volume Molase Rebus Dan Lama Fermentasi Yang Berbeda.

| Lama fermentasi | Volume Molase | pH Campuran | pH Cairan | pH Padatan |
|-----------------|---------------|-------------|-----------|------------|
| 0 hari          | 200 ml        | 4,62        | 4,52      | 4,84       |
|                 | 250 ml        | 4,67        | 4,48      | 4,85       |
|                 | 300 ml        | 4,66        | 4,45      | 4,87       |
| 3 hari          | 200 ml        | 4,61        | 4,30      | 4,80       |
|                 | 250 ml        | 4,62        | 4,26      | 4,82       |
|                 | 300 ml        | 4,6         | 4,24      | 4,85       |
| 6 hari          | 200 ml        | 4,59        | 4,23      | 4,77       |
|                 | 250 ml        | 4,58        | 4,22      | 4,67       |
|                 | 300 ml        | 4,55        | 4,21      | 4,61       |
| 9 hari          | 200 ml        | 4,57        | 4,19      | 4,66       |
|                 | 250 ml        | 4,54        | 4,18      | 4,62       |
|                 | 300 ml        | 4,52        | 4,16      | 4,59       |
| 12 hari         | 200 mL        | 4,53        | 4,15      | 4,57       |
|                 | 250 mL        | 4,51        | 4,13      | 4,54       |
|                 | 300 mL        | 4,52        | 4,12      | 4,58       |

**Lampiran 16.** Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda

| Perlakuan           |                     | Hasil Analisis |               |                 |               |                   |                       |      |                      |                |
|---------------------|---------------------|----------------|---------------|-----------------|---------------|-------------------|-----------------------|------|----------------------|----------------|
| Lama Fermentasi     | Volume Molase Rebus | Rendemen (%)   | Kadar Air (%) | Kadar Lemak (%) | Kadar Abu (%) | Kadar Protein (%) | Kadar Karbohidrat (%) | pH   | Kapasitas Emulsi (%) | Daya Buih (ml) |
| 0 hari<br>(Kontrol) | 200 ml              | -              | 16,29         | 2,96            | 20,67         | 13,04             | 47,05                 | 4,62 | 51,71                | 0,12           |
|                     | 250 ml              | -              | 17,68         | 2,47            | 19,89         | 14,36             | 45,60                 | 4,60 | 52,70                | 0,18           |
|                     | 300 ml              | -              | 18,35         | 1,90            | 19,11         | 15,73             | 44,91                 | 4,58 | 53,44                | 0,19           |
| 3 hari              | 200 ml              | 48,86          | 15,61         | 1,94            | 19,81         | 13,91             | 48,75                 | 4,60 | 50,63                | 0,16           |
|                     | 250 ml              | 59,40          | 16,26         | 1,75            | 19,08         | 15,08             | 47,83                 | 4,58 | 51,54                | 0,23           |
|                     | 300 ml              | 63,26          | 17,48         | 1,56            | 18,35         | 16,63             | 45,98                 | 4,56 | 52,50                | 0,25           |
| 6 hari              | 200 ml              | 41,41          | 14,47         | 1,75            | 18,95         | 14,34             | 50,49                 | 4,58 | 49,23                | 0,19           |
|                     | 250 ml              | 53,34          | 15,34         | 1,45            | 18,39         | 17,41             | 47,40                 | 4,56 | 50,47                | 0,25           |
|                     | 300 ml              | 58,23          | 16,32         | 1,35            | 17,62         | 18,56             | 46,16                 | 4,53 | 51,85                | 0,26           |
| 9 hari              | 200 ml              | 35,55          | 13,47         | 1,57            | 18,35         | 15,69             | 50,93                 | 4,50 | 48,45                | 0,20           |
|                     | 250 ml              | 47,23          | 15,12         | 1,36            | 17,52         | 18,76             | 47,24                 | 4,49 | 49,21                | 0,26           |
|                     | 300 ml              | 51,88          | 15,62         | 1,26            | 16,80         | 19,65             | 46,66                 | 4,45 | 50,78                | 0,27           |
| 12 hari             | 200 ml              | 31,68          | 11,66         | 1,37            | 16,81         | 16,68             | 53,47                 | 4,44 | 47,05                | 0,22           |
|                     | 250 ml              | 40,90          | 12,63         | 1,24            | 16,28         | 19,94             | 49,92                 | 4,40 | 48,30                | 0,27           |
|                     | 300 ml              | 42,46          | 13,53         | 1,14            | 15,42         | 21,10             | 48,81                 | 4,35 | 49,22                | 0,28           |

**Lampiran 17.** Hasil analisa Rendemen Hidrolisat Protein Enceng Gondok segar hidrolisat protein enceng gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

| Perlakuan       |               | Ulangan |        |        | Total   | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------------|---------------|---------|--------|--------|---------|-----------|-----------------|
| Lama Fermentasi | Volume Molase | I       | II     | III    |         |           |                 |
| 3 Hari          | 200 mL        | 48,35   | 48,99  | 49,27  | 146,61  | 48,87     | 0,47            |
|                 | 250 mL        | 59,79   | 59,80  | 58,61  | 178,21  | 59,40     | 0,69            |
|                 | 300 mL        | 63,48   | 63,54  | 62,77  | 189,79  | 63,26     | 0,43            |
| 6 Hari          | 200 mL        | 41,66   | 41,65  | 40,93  | 124,24  | 41,41     | 0,42            |
|                 | 250 mL        | 53,62   | 53,62  | 52,77  | 160,01  | 53,34     | 0,49            |
|                 | 300 mL        | 58,30   | 58,26  | 58,13  | 174,69  | 58,23     | 0,09            |
| 9 Hari          | 200 mL        | 35,54   | 35,49  | 35,62  | 106,65  | 35,55     | 0,06            |
|                 | 250 mL        | 47,41   | 47,10  | 47,18  | 141,69  | 47,23     | 0,16            |
|                 | 300 mL        | 51,93   | 51,93  | 51,78  | 155,64  | 51,88     | 0,09            |
| 12 Hari         | 200 mL        | 31,59   | 31,83  | 31,61  | 95,04   | 31,68     | 0,13            |
|                 | 250 mL        | 41,38   | 40,70  | 40,62  | 122,71  | 40,90     | 0,42            |
|                 | 300 mL        | 42,76   | 42,49  | 42,14  | 127,38  | 42,46     | 0,31            |
| Total           |               | 575,84  | 575,40 | 571,42 | 1722,66 | 574,22    | 3,75            |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |        | Total   |
|-----------|----------|--------|--------|--------|---------|
|           | 3        | 6      | 9      | 12     |         |
| 200 mL    | 146,61   | 124,24 | 106,65 | 95,04  | 472,54  |
| 250 mL    | 178,21   | 160,01 | 141,69 | 122,71 | 602,61  |
| 300 mL    | 189,79   | 174,69 | 155,64 | 127,38 | 647,51  |
| Total     | 514,61   | 458,94 | 403,98 | 345,12 | 1722,66 |

|              |          |
|--------------|----------|
| FK           | 65945,54 |
| JK Total     | 19663,96 |
| JK Perlakuan | 67046,65 |
| JK Kelompok  | 84195,81 |
| JK Galat     | 312,56   |
|              | 1101,12  |
|              | 18250,28 |

| SK        | db | JK       | KT      | Fhit   | F5%  | F1%  |
|-----------|----|----------|---------|--------|------|------|
| KELOMPOK  | 3  | 18250,28 | 6083,43 | 583,89 | 2,92 | 4,51 |
| PERLAKUAN | 2  | 1101,12  | 550,56  | 52,84  | 3,32 | 5,39 |
| GALAT     | 30 | 312,56   | 10,42   |        |      |      |
| TOTAL     | 35 | 19663,96 |         |        |      |      |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |         | Total  | Rerata | Std.Dev |
|-----------|----------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|
|           | 3        | 6      | 9      | 12      |        |        |         |
| 200 mL    | 48,87    | 41,41  | 35,55  | 31,68   | 157,51 | 39,38  | 7,49    |
| 250 mL    | 59,40    | 53,34  | 47,23  | 40,90   | 200,87 | 50,22  | 7,95    |
| 300 mL    | 63,26    | 58,23  | 51,88  | 42,46   | 215,84 | 53,96  | 8,97    |
| Total     | 171,54   | 152,98 | 134,66 | 115,04  | 574,22 |        |         |
| Rerata    | 57,18    | 50,99  | 44,89  | 38,3472 |        |        |         |
| Std.Dev   | 7,45     | 8,65   | 8,41   | 5,83    |        |        |         |

|         |      |
|---------|------|
| Nilai t |      |
| Tabel   | 1,70 |
| BNT 5%  | 4,47 |

| Perlakuan | Rataan | 200 mL | 250 mL | 300 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           |        | 39,38  | 50,22  | 53,96  |        |
| 200 mL    | 39,38  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 50,22  | 10,84  | 0,00   | 0,00   | b      |
| 300 mL    | 53,96  | 14,58  | 3,74   | 0,0000 | b      |

| Kelompok | Rataan | 12 hari | 9 hari | 6 hari | 3 hari | Notasi |
|----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|
|          |        | 38,35   | 44,89  | 50,99  | 57,18  |        |
| 12 hari  | 38,35  | 0,00    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 9 hari   | 44,89  | 6,54    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 6 hari   | 50,99  | 12,65   | 6,11   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 3 hari   | 57,18  | 18,83   | 12,29  | 6,18   | 0,00   | d      |

**Lampiran 18.** Hasil analisa Kadar Air Protein Enceng Gondok segar hidrolisat protein enceng gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A0        | 16,55   | 16,15 | 16,17 | 48,87  | 16,29  |
| B0        | 17,88   | 17,36 | 17,79 | 53,03  | 17,68  |
| C0        | 18,45   | 18,02 | 18,59 | 55,06  | 18,35  |
| Total     | 52,89   | 51,53 | 52,54 | 156,96 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A3        | 15,47   | 15,44 | 15,90 | 46,82  | 15,61  |
| B3        | 16,67   | 16,02 | 16,10 | 48,79  | 16,26  |
| C3        | 17,17   | 17,50 | 17,77 | 52,43  | 17,48  |
| Total     | 49,31   | 48,95 | 49,77 | 148,04 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A6        | 14,23   | 14,59 | 14,60 | 43,42  | 14,47  |
| B6        | 15,28   | 15,10 | 15,63 | 46,01  | 15,34  |
| C6        | 16,54   | 16,05 | 16,35 | 48,95  | 16,32  |
| Total     | 46,06   | 45,74 | 46,58 | 138,38 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A9        | 13,44   | 13,47 | 13,50 | 40,42  | 13,47  |
| B9        | 15,16   | 14,94 | 15,25 | 45,35  | 15,12  |
| C9        | 15,62   | 15,52 | 15,73 | 46,87  | 15,62  |
| Total     | 44,23   | 43,94 | 44,48 | 132,65 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A12       | 12,32   | 11,66 | 11,01 | 34,99  | 11,66  |
| B12       | 12,95   | 12,59 | 12,34 | 37,88  | 12,63  |
| C12       | 13,55   | 13,54 | 13,49 | 40,58  | 13,53  |
| Total     | 38,82   | 37,79 | 36,84 | 113,45 |        |

| Perlakuan      | Hari  |       |       |       |       | Total  | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|----------------|
|                | 0     | 3     | 6     | 9     | 12    |        |        |                |
| A              | 16,29 | 15,61 | 14,47 | 13,47 | 11,66 | 71,51  | 14,30  | 1,83           |
| B              | 17,68 | 16,26 | 15,34 | 15,12 | 11,63 | 77,02  | 15,40  | 1,85           |
| C              | 18,35 | 17,48 | 16,32 | 15,62 | 13,53 | 81,30  | 16,26  | 1,85           |
| Total          | 52,32 | 49,35 | 46,13 | 44,22 | 37,82 | 229,83 |        |                |
| Rerata         | 17,44 | 16,45 | 15,38 | 14,74 | 12,61 |        |        |                |
| Simpangan Baku | 1,05  | 0,95  | 0,92  | 1,12  | 0,93  |        |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |        |        | Total  |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           | 0        | 3      | 6      | 9      | 12     |        |
| A         | 48,87    | 46,82  | 43,42  | 40,42  | 34,99  | 214,52 |
| B         | 53,03    | 48,79  | 46,01  | 45,35  | 37,88  | 231,07 |
| C         | 55,06    | 52,43  | 48,95  | 46,87  | 40,58  | 243,90 |
| Total     | 156,96   | 148,04 | 138,38 | 132,65 | 113,45 | 689,49 |

|             |          |
|-------------|----------|
| FK          | 10564,37 |
| JK Total    | 153,75   |
| JK          |          |
| Perlakuan   | 10593,31 |
| JK Kelompok | 10685,67 |
| JK Galat    | 3,50     |

| SK        | db | JK     | KT    | Fhit   | F5%  | F1%  |
|-----------|----|--------|-------|--------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 121,30 | 30,32 | 328,99 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 28,94  | 14,47 | 157,01 | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 3,50   | 0,09  |        |      |      |
| TOTAL     | 44 | 153,75 |       |        |      |      |

|               |      |
|---------------|------|
| Nilai t Tabel | 1,69 |
| BNT 5%        | 0,42 |

| Perlakuan | Rataan | 200 mL | 250 mL | 300 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 200 mL    | 14,30  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 15,40  | 1,10   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 300 mL    | 16,26  | 1,96   | 0,86   | 0,00   | c      |

| Kelompok | Rataan | 12 hari | 9 hari | 6 hari | 3 hari | 0 hari | Notasi |
|----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 12 hari  | 12,61  | 0,00    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 9 hari   | 14,74  | 2,13    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 6 hari   | 15,38  | 2,77    | 0,64   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 3 hari   | 16,45  | 3,84    | 1,71   | 1,07   | 0,00   | 0,00   | d      |
| 0 hari   | 17,44  | 4,83    | 2,70   | 2,06   | 0,99   | 0,00   | e      |

**Lampiran 19.** Hasil Analisa Kadar Lemak Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar Dengan Volume Molase Rebus Dan Lama Fermentasi Yang Berbeda

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A0        | 2,98    | 3,01 | 2,88 | 8,87  | 2,96   |
| B0        | 2,53    | 2,51 | 2,38 | 7,42  | 2,47   |
| C0        | 1,96    | 1,89 | 1,84 | 5,69  | 1,90   |
| Total     | 7,48    | 7,41 | 7,10 | 21,99 |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A3        | 1,99    | 1,96 | 1,88 | 5,83  | 1,94   |
| B3        | 1,78    | 1,76 | 1,72 | 5,26  | 1,75   |
| C3        | 1,55    | 1,57 | 1,54 | 4,67  | 1,56   |
| Total     | 5,33    | 5,29 | 5,13 | 15,75 |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A6        | 1,78    | 1,79 | 1,67 | 5,23  | 1,75   |
| B6        | 1,44    | 1,46 | 1,47 | 4,36  | 1,45   |
| C6        | 1,37    | 1,35 | 1,32 | 4,05  | 1,35   |
| Total     | 4,59    | 4,60 | 4,45 | 13,64 |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A9        | 1,58    | 1,57 | 1,55 | 4,70  | 1,57   |
| B9        | 1,38    | 1,37 | 1,34 | 4,09  | 1,36   |
| C9        | 1,26    | 1,24 | 1,29 | 3,79  | 1,26   |
| Total     | 4,22    | 4,18 | 4,18 | 12,58 |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A12       | 1,38    | 1,40 | 1,35 | 4,12  | 1,37   |
| B12       | 1,21    | 1,27 | 1,25 | 3,73  | 1,24   |
| C12       | 1,12    | 1,16 | 1,14 | 3,42  | 1,14   |
| Total     | 3,71    | 3,83 | 3,73 | 11,27 |        |

| Perlakuan      | Hari |      |      |      |      | Total | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|------|------|------|------|------|-------|--------|----------------|
|                | 0    | 3    | 6    | 9    | 12   |       |        |                |
| A              | 2,96 | 1,94 | 1,75 | 1,57 | 1,37 | 9,59  | 1,92   | 0,62           |
| B              | 2,47 | 1,75 | 1,45 | 1,36 | 1,24 | 8,29  | 1,66   | 0,49           |
| C              | 1,90 | 1,56 | 1,35 | 1,26 | 1,14 | 7,20  | 1,44   | 0,30           |
| Total          | 7,33 | 5,25 | 4,55 | 4,19 | 3,76 | 25,08 |        |                |
| Rerata         | 2,44 | 1,75 | 1,52 | 1,40 | 1,25 |       |        |                |
| Simpangan Baku | 0,53 | 0,19 | 0,21 | 0,16 | 0,12 |       |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |       |       |       |       | Total |
|-----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
|           | 0        | 3     | 6     | 9     | 12    |       |
| A         | 8,87     | 5,83  | 5,23  | 4,70  | 4,12  | 28,76 |
| B         | 7,42     | 5,26  | 4,36  | 4,09  | 3,73  | 24,86 |
| C         | 5,69     | 4,67  | 4,05  | 3,79  | 3,42  | 21,61 |
| Total     | 21,99    | 15,75 | 13,64 | 12,58 | 11,27 | 75,24 |

|              |        |      |
|--------------|--------|------|
| FK           | 125,79 |      |
| JK Total     | 10,33  |      |
| JK Perlakuan | 127,50 | 1,71 |
| JK Kelompok  | 133,67 | 7,88 |
| JK Galat     | 0,74   |      |

| SK        | db | JK    | KT   | Fhit   | F5%  | F1%  |
|-----------|----|-------|------|--------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 7,88  | 1,97 | 100,72 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 1,71  | 0,85 | 43,67  | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 0,74  | 0,02 |        |      |      |
| TOTAL     | 44 | 10,33 |      |        |      |      |

|               |      |
|---------------|------|
| Nilai t Tabel | 1,69 |
| BNT 5%        | 0,19 |

| Perlakuan | Rataan | 300 mL | 250 mL | 200 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           |        | 1,44   | 1,66   | 19,18  |        |
| 300 mL    | 1,44   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 1,66   | 0,22   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 200 mL    | 1,92   | 0,48   | 0,26   | 0,00   | c      |

| Kelompok | Rataan | 12 hari | 9 hari | 6 hari | 3 hari | 0 hari | Notasi |
|----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
|          |        | 1,25    | 1,40   | 1,52   | 1,75   | 2,44   |        |
| 12 hari  | 1,25   | 0,00    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 9 hari   | 1,40   | 0,15    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 6 hari   | 1,52   | 0,26    | 0,12   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 3 hari   | 1,75   | 0,50    | 0,35   | 0,23   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 0 hari   | 2,44   | 1,19    | 1,04   | 0,93   | 0,69   | 0,00   | d      |

**Lampiran 20.** Hasil analisa Kadar Abu Hidrolisat Protein Enceng Gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A0        | 20,71   | 20,56 | 20,74 | 62,02  | 20,67  |
| B0        | 19,74   | 19,85 | 20,07 | 59,65  | 19,89  |
| C0        | 18,90   | 19,03 | 19,41 | 57,34  | 19,11  |
| Total     | 59,35   | 59,45 | 60,22 | 179,01 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A3        | 19,70   | 19,84 | 19,87 | 59,42  | 19,81  |
| B3        | 19,02   | 18,81 | 19,40 | 57,24  | 19,08  |
| C3        | 18,02   | 18,34 | 18,69 | 55,05  | 18,35  |
| Total     | 56,74   | 57,00 | 57,96 | 171,71 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A9        | 18,70   | 18,22 | 18,12 | 55,04  | 18,35  |
| B9        | 18,06   | 16,90 | 17,60 | 52,56  | 17,52  |
| C9        | 17,27   | 16,57 | 16,58 | 50,41  | 16,80  |
| Total     | 54,03   | 51,69 | 52,29 | 158,01 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A12       | 16,97   | 16,76 | 16,70 | 50,43  | 16,81  |
| B12       | 16,23   | 16,28 | 16,32 | 48,84  | 16,28  |
| C12       | 15,35   | 15,36 | 15,55 | 46,26  | 15,42  |
| Total     | 48,55   | 48,40 | 48,57 | 145,52 |        |

| Perlakuan      | Hari  |       |       |       |       | Total  | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|----------------|
|                | 0     | 3     | 6     | 9     | 12    |        |        |                |
| A              | 20,67 | 19,81 | 18,95 | 18,35 | 16,81 | 94,58  | 18,92  | 1,47           |
| B              | 19,89 | 19,08 | 18,39 | 17,52 | 16,28 | 91,15  | 18,23  | 1,40           |
| C              | 19,11 | 18,35 | 17,62 | 16,80 | 15,42 | 87,31  | 17,46  | 1,43           |
| Total          | 59,67 | 57,24 | 54,96 | 52,67 | 48,51 | 273,05 |        |                |
| Rerata         | 19,89 | 19,08 | 18,32 | 17,56 | 16,17 |        |        |                |
| Simpangan Baku | 0,78  | 0,73  | 0,67  | 0,77  | 0,70  |        |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |        |        | Total  |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           | 0        | 3      | 6      | 9      | 12     |        |
| A         | 62,02    | 59,42  | 56,86  | 55,04  | 50,43  | 283,75 |
| B         | 59,65    | 57,24  | 55,17  | 52,56  | 48,84  | 273,46 |
| C         | 57,34    | 55,05  | 52,86  | 50,41  | 46,26  | 261,92 |
| Total     | 179,01   | 171,71 | 164,89 | 158,01 | 145,52 | 819,14 |

|              |          |
|--------------|----------|
| FK           | 14910,98 |
| JK Total     | 92,99    |
| JK Perlakuan | 14926,88 |
| JK Kelompok  | 14984,61 |
| JK Galat     | 3,44     |

| SK        | db | JK    | KT    | Fhit   | F5%  | F1%  |
|-----------|----|-------|-------|--------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 73,64 | 18,41 | 203,10 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 15,91 | 7,95  | 87,74  | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 3,44  | 0,09  |        |      |      |
| TOTAL     | 44 | 92,99 |       |        |      |      |

|               |      |
|---------------|------|
| Nilai t Tabel | 1,69 |
| BNT 5%        | 0,41 |

| Perlakuan | Rataan | 300 mL | 250 mL | 200 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           |        | 17,46  | 18,23  | 18,92  |        |
| 300 mL    | 17,46  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 18,23  | 0,77   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 200 mL    | 18,92  | 1,46   | 0,69   | 0,00   | c      |

| Kelompok | Rataan | 12 hari | 9 hari | 6 hari | 3 hari | 0 hari | Notasi |
|----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 12 hari  | 16,17  | 0,00    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 9 hari   | 17,56  | 1,39    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 6 hari   | 18,32  | 2,15    | 0,76   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 3 hari   | 19,08  | 2,91    | 1,52   | 0,76   | 0,00   | 0,00   | d      |
| 0 hari   | 19,89  | 3,72    | 2,33   | 1,57   | 0,81   | 0,00   | e      |

**Lampiran 21.** Hasil analisa Protein Hidrolisat Enceng Gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A0        | 12,57   | 13,25 | 13,29 | 39,11  | 13,04  |
| B0        | 13,20   | 14,62 | 15,26 | 43,08  | 14,36  |
| C0        | 14,64   | 16,02 | 16,51 | 47,18  | 15,73  |
| Total     | 40,42   | 43,89 | 45,05 | 129,36 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A3        | 13,23   | 14,51 | 13,97 | 41,72  | 13,91  |
| B3        | 14,61   | 15,36 | 15,27 | 45,24  | 15,08  |
| C3        | 15,25   | 17,98 | 16,67 | 49,90  | 16,63  |
| Total     | 43,08   | 47,86 | 45,92 | 136,86 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A6        | 13,27   | 15,16 | 14,59 | 43,02  | 14,34  |
| B6        | 15,34   | 18,13 | 18,76 | 52,23  | 17,41  |
| C6        | 16,72   | 19,52 | 19,44 | 55,68  | 18,56  |
| Total     | 45,33   | 52,80 | 52,79 | 150,93 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A9        | 14,42   | 16,70 | 15,95 | 47,07  | 15,69  |
| B9        | 16,73   | 20,17 | 19,37 | 56,27  | 18,76  |
| C9        | 17,36   | 20,82 | 20,75 | 58,94  | 19,65  |
| Total     | 48,52   | 57,69 | 56,07 | 162,28 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|--------|--------|
|           | I       | II    | III   |        |        |
| A12       | 16,04   | 17,37 | 16,63 | 50,04  | 16,68  |
| B12       | 18,12   | 20,91 | 20,77 | 59,81  | 19,94  |
| C12       | 20,23   | 21,60 | 21,48 | 63,31  | 21,10  |
| Total     | 54,39   | 59,89 | 58,88 | 173,16 |        |

| Perlakuan      | Hari  |       |       |       |       | Total  | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|----------------|
|                | 0     | 3     | 6     | 9     | 12    |        |        |                |
| A              | 13,04 | 13,91 | 14,34 | 15,69 | 16,68 | 73,65  | 14,73  | 1,45           |
| B              | 14,36 | 15,08 | 17,41 | 18,76 | 19,94 | 85,54  | 17,11  | 2,37           |
| C              | 15,73 | 16,63 | 18,56 | 19,65 | 21,10 | 91,67  | 18,33  | 2,19           |
| Total          | 43,12 | 45,62 | 50,31 | 54,09 | 57,72 | 250,86 |        |                |
| Rerata         | 14,37 | 15,21 | 16,77 | 18,03 | 19,24 |        |        |                |
| Simpangan Baku | 1,35  | 1,37  | 2,18  | 2,08  | 2,29  |        |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |        |        | Total  |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           | 0        | 3      | 6      | 9      | 12     |        |
| A         | 39,11    | 41,72  | 43,02  | 47,07  | 50,04  | 220,96 |
| B         | 43,08    | 45,24  | 52,23  | 56,27  | 59,81  | 256,63 |
| C         | 47,18    | 49,90  | 55,68  | 58,94  | 63,31  | 275,00 |
| Total     | 129,36   | 136,86 | 150,93 | 162,28 | 173,16 | 752,59 |

|              |          |        |
|--------------|----------|--------|
| FK           | 12586,47 |        |
| JK Total     | 297,68   |        |
| JK Perlakuan | 12687,15 | 100,68 |
| JK Kelompok  | 12729,31 | 142,84 |
| JK Galat     | 54,17    |        |

| SK        | db | JK     | KT    | Fhit  | F5%  | F1%  |
|-----------|----|--------|-------|-------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 142,84 | 35,71 | 25,05 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 100,68 | 50,34 | 35,31 | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 54,17  | 1,43  |       |      |      |
| TOTAL     | 44 | 297,68 |       |       |      |      |

|               |      |
|---------------|------|
| Nilai t Tabel | 1,69 |
| BNT 5%        | 1,64 |

| Perlakuan | Rataan | 200 mL | 250 mL | 300 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 200 mL    | 14,73  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 17,11  | 2,38   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 300 mL    | 18,33  | 3,60   | 1,22   | 0,00   | b      |

| Kelompok | Rataan | 0 hari | 3 hari | 6 hari | 9 hari | 12 hari | notasi |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|
| 0 hari   | 14,37  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | a      |
| 3 hari   | 15,21  | 0,83   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | a      |
| 6 hari   | 16,77  | 2,40   | 1,56   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | b      |
| 9 hari   | 18,03  | 3,66   | 2,82   | 1,26   | 0,00   | 0,00    | b      |
| 12 hari  | 19,24  | 4,87   | 4,03   | 2,47   | 1,21   | 0,00    | c      |

**Lampiran 22.** Hasil analisa Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Enceng Gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A0        | 47,19   | 47,03  | 46,92  | 141,14 | 47,05  |
| B0        | 46,65   | 45,66  | 44,5   | 136,81 | 45,60  |
| C0        | 46,05   | 45,04  | 43,65  | 134,74 | 44,91  |
| Total     | 139,89  | 137,73 | 135,07 | 412,69 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A3        | 49,61   | 48,25  | 48,38  | 146,24 | 48,75  |
| B3        | 47,92   | 48,05  | 47,51  | 143,48 | 47,83  |
| C3        | 48,01   | 44,61  | 45,33  | 137,95 | 45,98  |
| Total     | 145,54  | 140,91 | 141,22 | 427,67 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A6        | 51,68   | 49,55  | 50,24  | 151,47 | 50,49  |
| B6        | 49,04   | 47,7   | 45,47  | 142,21 | 47,40  |
| C6        | 47,43   | 46,02  | 45,03  | 138,48 | 46,16  |
| Total     | 148,15  | 143,27 | 140,74 | 432,16 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A9        | 51,86   | 50,04  | 50,88  | 152,78 | 50,93  |
| B9        | 48,67   | 46,62  | 46,44  | 141,73 | 47,24  |
| C9        | 48,49   | 45,85  | 45,65  | 139,99 | 46,66  |
| Total     | 149,02  | 142,51 | 142,97 | 434,5  |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|
|           | I       | II    | III    |        |        |
| A12       | 53,29   | 52,81 | 54,31  | 160,41 | 53,47  |
| B12       | 51,49   | 48,95 | 49,32  | 149,76 | 49,92  |
| C12       | 49,75   | 48,34 | 48,34  | 146,43 | 48,81  |
| Total     | 154,53  | 150,1 | 151,97 | 456,6  |        |

| Perlakuan      | Hari   |        |        |        |        | Total  | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
|                | 0      | 3      | 6      | 9      | 12     |        |        |                |
| A              | 47,05  | 48,75  | 50,49  | 50,93  | 53,47  | 250,68 | 50,14  | 2,42           |
| B              | 45,60  | 47,83  | 47,40  | 47,24  | 49,92  | 238,00 | 47,60  | 1,55           |
| C              | 44,91  | 45,98  | 46,16  | 46,66  | 48,81  | 232,53 | 46,51  | 1,44           |
| Total          | 137,56 | 142,56 | 144,05 | 144,83 | 152,20 | 721,21 |        |                |
| Rerata         | 45,85  | 47,52  | 48,02  | 48,28  | 50,73  |        |        |                |
| Simpangan Baku | 1,09   | 1,41   | 2,23   | 2,31   | 2,43   |        |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |        |        | Total   |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|---------|
|           | 0        | 3      | 6      | 9      | 12     |         |
| A         | 141,14   | 146,24 | 151,47 | 152,78 | 160,41 | 752,04  |
| B         | 136,81   | 143,48 | 142,21 | 141,73 | 149,76 | 713,99  |
| C         | 134,74   | 137,95 | 138,48 | 139,99 | 146,43 | 697,59  |
| Total     | 412,69   | 427,67 | 432,16 | 434,50 | 456,60 | 2163,62 |

|              |           |        |
|--------------|-----------|--------|
| FK           | 104027,81 |        |
| JK Total     | 268,36    |        |
| JK Perlakuan | 104131,85 | 104,03 |
| JK Kelompok  | 104138,97 | 111,16 |
| JK Galat     | 53,17     |        |

| SK        | db | JK       | KT      | Fhit    | F5%  | F1%  |
|-----------|----|----------|---------|---------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 111,16   | 27,79   | 19,863  | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 104,0348 | 52,0174 | 37,1797 | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 53,165   | 1,3991  |         |      |      |
| TOTAL     | 44 | 268,3598 |         |         |      |      |

|         |        |
|---------|--------|
| Nilai t |        |
| Tabel   | 1,686  |
| BNT 5%  | 1,6282 |

| Perlakuan | Rataan  | 300 mL | 250 mL | 200 mL | Notasi |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           |         | 46,51  | 47,60  | 50,14  |        |
| 300 mL    | 46,506  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 47,5993 | 1,09   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 200 mL    | 50,136  | 3,63   | 2,54   | 0,00   | b      |

| Kelompok | Rataan  | 0 hari | 3 hari | 6 hari | 9 hari | 12 hari | Notasi |
|----------|---------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|
|          |         | 45,85  | 47,52  | 48,02  | 48,28  | 50,73   |        |
| 0 hari   | 45,8544 | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | a      |
| 3 hari   | 47,5189 | 1,66   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | b      |
| 6 hari   | 48,0178 | 2,16   | 0,50   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | b      |
| 9 hari   | 48,2778 | 2,42   | 0,76   | 0,26   | 0,00   | 0,00    | b      |
| 12 hari  | 50,7333 | 4,88   | 3,21   | 2,72   | 2,46   | 0,00    | c      |

**Lampiran 23.** Hasil analisa pH Hidrolisat Protein Enceng Gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|-------|--------|
|           | I       | II    | III   |       |        |
| A0        | 4,63    | 4,61  | 4,62  | 13,86 | 4,62   |
| B0        | 4,61    | 4,59  | 4,6   | 13,8  | 4,60   |
| C0        | 4,6     | 4,58  | 4,57  | 13,75 | 4,58   |
| Total     | 13,84   | 13,78 | 13,79 | 41,41 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|-------|--------|
|           | I       | II    | III   |       |        |
| A3        | 4,60    | 4,59  | 4,61  | 13,8  | 4,60   |
| B3        | 4,59    | 4,58  | 4,57  | 13,74 | 4,58   |
| C3        | 4,57    | 4,56  | 4,54  | 13,67 | 4,56   |
| Total     | 13,76   | 13,73 | 13,72 | 41,21 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|-------|--------|
|           | I       | II    | III   |       |        |
| A6        | 4,58    | 4,57  | 4,59  | 13,74 | 4,58   |
| B6        | 4,57    | 4,56  | 4,55  | 13,68 | 4,56   |
| C6        | 4,54    | 4,53  | 4,52  | 13,59 | 4,53   |
| Total     | 13,69   | 13,66 | 13,66 | 41,01 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|-------|--------|
|           | I       | II    | III   |       |        |
| A9        | 4,52    | 4,5   | 4,49  | 13,51 | 4,50   |
| B9        | 4,55    | 4,44  | 4,48  | 13,47 | 4,49   |
| C9        | 4,45    | 4,43  | 4,46  | 13,34 | 4,45   |
| Total     | 13,52   | 13,37 | 13,43 | 40,32 |        |

| Perlakuan | Ulangan |       |       | Total | Rerata |
|-----------|---------|-------|-------|-------|--------|
|           | I       | II    | III   |       |        |
| A12       | 4,5     | 4,4   | 4,42  | 13,32 | 4,44   |
| B12       | 4,4     | 4,38  | 4,41  | 13,19 | 4,40   |
| C12       | 4,34    | 4,33  | 4,38  | 13,05 | 4,35   |
| Total     | 13,24   | 13,11 | 13,21 | 39,56 |        |

| Perlakuan      | Hari  |       |       |       |       | Total | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|----------------|
|                | 0     | 3     | 6     | 9     | 12    |       |        |                |
| A              | 4,62  | 4,60  | 4,58  | 4,50  | 4,44  | 22,74 | 4,55   | 0,08           |
| B              | 4,60  | 4,58  | 4,56  | 4,49  | 4,40  | 22,63 | 4,53   | 0,08           |
| C              | 4,58  | 4,56  | 4,53  | 4,45  | 4,35  | 22,47 | 4,49   | 0,10           |
| Total          | 13,80 | 13,74 | 13,67 | 13,44 | 13,19 | 67,84 |        |                |
| Rerata         | 4,60  | 4,58  | 4,56  | 4,48  | 4,40  |       |        |                |
| Simpangan Baku | 0,02  | 0,02  | 0,03  | 0,03  | 0,05  |       |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |       |       |       |         | Total  |
|-----------|----------|-------|-------|-------|---------|--------|
|           | 0        | 3     | 6     | 9     | 12      |        |
| A         | 13,86    | 13,8  | 13,74 | 13,51 | 13,32   | 68,23  |
| B         | 13,8     | 13,74 | 13,68 | 13,47 | 13,19   | 67,88  |
| C         | 13,75    | 13,67 | 13,59 | 13,34 | 13,05   | 67,4   |
| Total     | 41,41    | 41,21 | 41,01 | 40,32 | 395,600 | 203,51 |

|              |        |
|--------------|--------|
| FK           | 920,36 |
| JK Total     | 0,30   |
| JK Perlakuan | 920,39 |
| JK Kelompok  | 920,62 |
| JK Galat     | 0,02   |

| SK        | db | JK   | KT   | Fhit   | F5%  | F1%  |
|-----------|----|------|------|--------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 0,26 | 0,06 | 122,54 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 0,02 | 0,01 | 22,16  | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 0,02 | 0,00 |        |      |      |
| TOTAL     | 44 | 0,30 |      |        |      |      |

|               |      |
|---------------|------|
| Nilai t Tabel | 1,69 |
| BNT 5%        | 0,03 |

| Perlakuan | Rataan | 300 mL | 250 mL | 200 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           |        | 300 mL | 4,49   | 0,00   |        |
| 250 mL    | 4,53   | 0,03   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 200 mL    | 4,55   | 0,06   | 0,02   | 0,00   | b      |

| Kelompok | Rataan | 12 hari | 9 hari | 6 hari | 3 hari | 0 hari | Notasi |
|----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
|          |        | 12 hari | 4,40   | 0,00   | 0,00   | 0,00   |        |
| 9 hari   | 4,48   | 0,08    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 6 hari   | 4,56   | 0,16    | 0,08   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 3 hari   | 4,58   | 0,18    | 0,10   | 0,02   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 0 hari   | 4,60   | 0,21    | 0,12   | 0,04   | 0,02   | 0,00   | c      |

**Lampiran 24.** Hasil analisa Daya Buih Hidrolisat Protein Enceng Gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A0        | 0,14    | 0,10 | 0,11 | 0,35  | 0,12   |
| B0        | 0,23    | 0,18 | 0,14 | 0,55  | 0,18   |
| C0        | 0,24    | 0,18 | 0,15 | 0,57  | 0,19   |
| Total     | 0,61    | 0,47 | 0,40 | 1,47  |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A3        | 0,16    | 0,14 | 0,18 | 0,48  | 0,16   |
| B3        | 0,25    | 0,23 | 0,22 | 0,69  | 0,23   |
| C3        | 0,26    | 0,24 | 0,25 | 0,75  | 0,25   |
| Total     | 0,67    | 0,61 | 0,65 | 1,92  |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A6        | 0,18    | 0,17 | 0,22 | 0,57  | 0,19   |
| B6        | 0,26    | 0,25 | 0,23 | 0,75  | 0,25   |
| C6        | 0,27    | 0,26 | 0,26 | 0,79  | 0,26   |
| Total     | 0,71    | 0,68 | 0,71 | 2,10  |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A9        | 0,19    | 0,19 | 0,23 | 0,61  | 0,20   |
| B9        | 0,26    | 0,26 | 0,26 | 0,79  | 0,26   |
| C9        | 0,28    | 0,27 | 0,27 | 0,81  | 0,27   |
| Total     | 0,73    | 0,72 | 0,75 | 2,21  |        |

| Perlakuan | Ulangan |      |      | Total | Rerata |
|-----------|---------|------|------|-------|--------|
|           | I       | II   | III  |       |        |
| A12       | 0,19    | 0,23 | 0,25 | 0,67  | 0,22   |
| B12       | 0,27    | 0,27 | 0,26 | 0,80  | 0,27   |
| C12       | 0,29    | 0,28 | 0,28 | 0,84  | 0,28   |
| Total     | 0,75    | 0,77 | 0,79 | 2,32  |        |

| Perlakuan      | Hari |      |      |      |      | Total | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|------|------|------|------|------|-------|--------|----------------|
|                | 0    | 3    | 6    | 9    | 12   |       |        |                |
| A              | 0,12 | 0,16 | 0,19 | 0,20 | 0,22 | 0,90  | 0,18   | 0,04           |
| B              | 0,18 | 0,23 | 0,25 | 0,26 | 0,27 | 1,19  | 0,24   | 0,03           |
| C              | 0,19 | 0,25 | 0,26 | 0,27 | 0,28 | 1,26  | 0,25   | 0,04           |
| Total          | 0,49 | 0,64 | 0,70 | 0,74 | 0,77 | 3,34  |        |                |
| Rerata         | 0,16 | 0,21 | 0,23 | 0,25 | 0,26 |       |        |                |
| Simpangan Baku | 0,04 | 0,05 | 0,04 | 0,04 | 0,03 |       |        |                |

| Perlakuan | Kelompok |      |      |      |      | Total |
|-----------|----------|------|------|------|------|-------|
|           | 0        | 3    | 6    | 9    | 12   |       |
| A         | 0,35     | 0,48 | 0,57 | 0,61 | 0,67 | 2,69  |
| B         | 0,55     | 0,69 | 0,75 | 0,79 | 0,80 | 3,58  |
| C         | 0,57     | 0,75 | 0,79 | 0,81 | 0,84 | 3,77  |
| Total     | 1,47     | 1,92 | 2,10 | 2,21 | 2,32 | 10,03 |

|              |      |      |
|--------------|------|------|
| FK           | 2,24 |      |
| JK Total     | 0,11 |      |
| JK Perlakuan | 2,28 | 0,04 |
| JK Kelompok  | 2,28 | 0,05 |
| JK Galat     | 0,02 |      |

| SK        | db | JK   | KT   | Fhit  | F5%  | F1%  |
|-----------|----|------|------|-------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 0,05 | 0,01 | 28,93 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 0,04 | 0,02 | 52,63 | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 0,02 | 0,00 |       |      |      |
| TOTAL     | 44 | 0,11 |      |       |      |      |

|               |        |
|---------------|--------|
| Nilai t Tabel | 1,686  |
| BNT 5%        | 0,0283 |

| Perlakuan | Rataan | 200 mL | 250 mL | 300 mL | Notasi |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|           |        |        |        |        |        |
| 200 mL    | 0,18   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 0,24   | 0,06   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 300 mL    | 0,25   | 0,07   | 0,01   | 0,00   | b      |

| Kelompok | Rataan | 0 hari | 3 hari | 6 hari | 9 hari | 12 hari | Notasi |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|
|          |        |        |        |        |        |         |        |
| 0 hari   | 0,16   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | a      |
| 3 hari   | 0,21   | 0,05   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | b      |
| 6 hari   | 0,23   | 0,07   | 0,02   | 0,00   | 0,00   | 0,00    | c      |
| 9 hari   | 0,25   | 0,08   | 0,03   | 0,01   | 0,00   | 0,00    | c      |
| 12 hari  | 0,26   | 0,09   | 0,04   | 0,02   | 0,01   | 0,00    | d      |

**Lampiran 25.** Hasil analisa Daya emulsi Hidrolisat Protein Enceng Gondok segar dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A0        | 52,29   | 51,40  | 51,43  | 155,12 | 51,71  |
| B0        | 53,33   | 52,38  | 52,38  | 158,10 | 52,70  |
| C0        | 53,70   | 53,27  | 53,33  | 160,31 | 53,44  |
| Total     | 159,33  | 157,05 | 157,14 | 473,53 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A3        | 50,94   | 50,48  | 50,47  | 151,89 | 50,63  |
| B3        | 51,40   | 51,38  | 51,85  | 154,63 | 51,54  |
| C3        | 52,29   | 52,83  | 52,38  | 157,50 | 52,50  |
| Total     | 154,64  | 154,68 | 154,70 | 464,02 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A6        | 49,06   | 49,09  | 49,53  | 147,68 | 49,23  |
| B6        | 50,47   | 50,48  | 50,48  | 151,42 | 50,47  |
| C6        | 51,89   | 51,82  | 51,85  | 155,56 | 51,85  |
| Total     | 151,41  | 151,39 | 151,86 | 454,66 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A9        | 48,15   | 48,60  | 48,60  | 145,34 | 48,45  |
| B9        | 49,52   | 49,06  | 49,06  | 147,64 | 49,21  |
| C9        | 50,91   | 50,48  | 50,94  | 152,33 | 50,78  |
| Total     | 148,58  | 148,13 | 148,60 | 445,31 |        |

| Perlakuan | Ulangan |        |        | Total  | Rerata |
|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|
|           | I       | II     | III    |        |        |
| A12       | 47,62   | 46,79  | 46,73  | 141,14 | 47,05  |
| B12       | 48,18   | 48,60  | 48,11  | 144,89 | 48,30  |
| C12       | 49,52   | 49,07  | 49,07  | 147,67 | 49,22  |
| Total     | 145,32  | 144,46 | 143,92 | 433,70 |        |

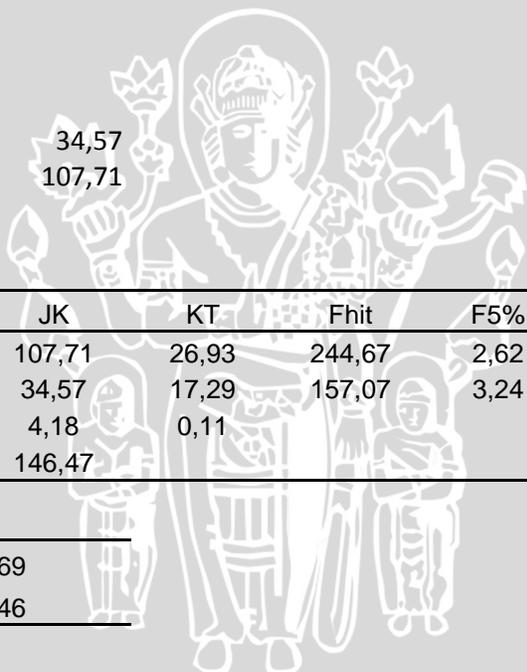
| Perlakuan      | Hari   |        |        |        |        | Total  | Rerata | Simpangan Baku |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
|                | 0      | 3      | 6      | 9      | 12     |        |        |                |
| A              | 51,71  | 50,63  | 49,23  | 48,45  | 47,05  | 247,06 | 49,41  | 1,82           |
| B              | 52,70  | 51,54  | 50,47  | 49,21  | 48,30  | 252,23 | 50,45  | 1,76           |
| C              | 53,44  | 52,50  | 51,85  | 50,78  | 49,22  | 257,79 | 51,56  | 1,63           |
| Total          | 157,84 | 154,67 | 151,55 | 148,44 | 144,57 | 757,07 |        |                |
| Rerata         | 52,61  | 51,56  | 50,52  | 49,48  | 48,19  |        |        |                |
| Simpangan Baku | 0,87   | 0,94   | 1,31   | 1,19   | 1,09   |        |        |                |



|           |        | 200 mL | 250 mL | 300 mL |        |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Perlakuan | Rataan | 49,41  | 50,45  | 51,56  | Notasi |
| 200 mL    | 49,41  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 50,45  | 1,03   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 300 mL    | 51,56  | 2,15   | 1,11   | 0,00   | c      |

| Perlakuan | Kelompok |        |        |        |        | Total   |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|---------|
|           | 0        | 3      | 6      | 9      | 12     |         |
| A         | 155,12   | 151,89 | 147,68 | 145,34 | 141,14 | 741,17  |
| B         | 158,10   | 154,63 | 151,42 | 147,64 | 144,89 | 756,68  |
| C         | 160,31   | 157,50 | 155,56 | 152,33 | 147,67 | 773,37  |
| Total     | 473,53   | 464,02 | 454,66 | 445,31 | 433,70 | 2271,22 |

|              |           |
|--------------|-----------|
| FK           | 114631,79 |
| JK Total     | 146,47    |
| JK Perlakuan | 114666,37 |
| JK Kelompok  | 114739,51 |
| JK Galat     | 4,18      |



| SK        | db | JK     | KT    | Fhit   | F5%  | F1%  |
|-----------|----|--------|-------|--------|------|------|
| KELOMPOK  | 4  | 107,71 | 26,93 | 244,67 | 2,62 | 3,86 |
| PERLAKUAN | 2  | 34,57  | 17,29 | 157,07 | 3,24 | 5,21 |
| GALAT     | 38 | 4,18   | 0,11  |        |      |      |
| TOTAL     | 44 | 146,47 |       |        |      |      |

|               |      |
|---------------|------|
| Nilai t Tabel | 1,69 |
| BNT 5%        | 0,46 |

|           |        | 200 mL | 250 mL | 300 mL |        |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Perlakuan | Rataan | 49,41  | 50,45  | 51,56  | Notasi |
| 200 mL    | 49,41  | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 250 mL    | 50,45  | 1,03   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 300 mL    | 51,56  | 2,15   | 1,11   | 0,00   | c      |

| Kelompok | Rataan | 12 hari | 9 hari | 6 hari | 3 hari | 0 hari | Notasi |
|----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 12 hari  | 48,19  | 0,00    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | a      |
| 9 hari   | 49,48  | 1,29    | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | b      |
| 6 hari   | 50,52  | 2,33    | 1,04   | 0,00   | 0,00   | 0,00   | c      |
| 3 hari   | 51,56  | 3,37    | 2,08   | 1,04   | 0,00   | 0,00   | d      |
| 0 hari   | 52,61  | 4,43    | 3,14   | 2,10   | 1,06   | 0,00   | e      |



### Lampiran 26. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut



Air laut sebanyak 1000 ml



Penimbangan gula sebanyak 5 gram



Sterilisasi peralatan



Perebusan hingga mendidih



Penimbangan pupuk daun sebanyak 2 gram



Alat – alat dan fermentol yang sudah disterilisasi



Pendinginan pada suhu kamar





Air laut 1000 ml yang sudah dingin



Penambahan gula 5 gram



Penambahan pupuk daun 2 gram



Pengambilan stater khamir laut sebanyak 2 ml



Penuangan ke dalam botol kaca



Penghomogenan



Penambahan stater khamir laut sebanyak 2 ml



Aerasi selama 3 hari



Hasil kultur aerasi selama 3 hari

Lampiran 27. Dokumentasi Pembuatan Media dan Pengenceran Khamir Laut



Perebusan air untuk sterilisasi



Strelisasi peralatan



Pengukuran volume air laut steril sebanyak 50 ml



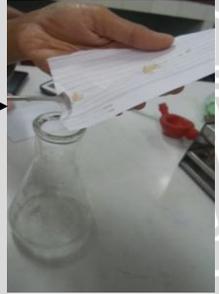
Penimbangan pupuk daun sebanyak 0,05 gram



Penimbangan gula pasir sebanyak 0,125 gram



Pengukuran volume air laut steril sebanyak 50 ml



Penambahan gula pasir dan pupuk daun



Penghomongenan



Pengambilan dan penambahan kultur khamir laut sebanyak 1 ml



Penuangan media ke tabung reaksi



Pengenceran bertingkat



Penghomongan dengan vortex mixer



Hasil pengenceran



Lampiran 28. Dokumentasi Pengamatan Kepadatan Khamir Laut



Strelisasi mikropipet dan hemositometer dengan penyemprotan alcohol 70%



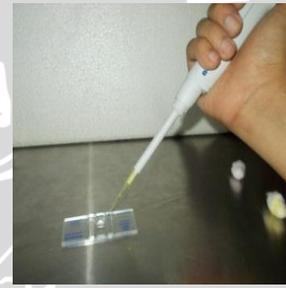
Hasil pengenceran



Pengambilan khamir laut pada pengenceran 10<sup>-4</sup> sebanyak 0,05 ml



Pengamatan kepadatan sel khamir laut di mikroskop



Penetesan pada hemositometer dan penutupan dengan cover glass

### Lampiran 29. Dokumentasi Pembuatan Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar Molase Rebus



Enceng gondok segar



Enceng gondok segar



Pencucian enceng gondok hingga bersih



Pendinginan molase



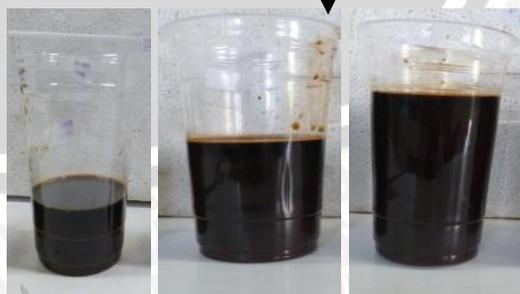
Penimbangan sebanyak 100 gram



Pengukuran volume molase



Pengecilan ukuran enceng gondok



Volume molase 200 ml, 250 ml, 300 ml



Dimasukan enceng gondok segar



Penambahan molase rebus 200 ml, 250 ml, 300 ml



Penghalusan dengan blender



Pengambilan inokulum khamir laut sebanyak 5 ml



Substrat



Penimbangan botol kosong



Penambahan inokulum khamir laut sebanyak 5 ml



Penimbangan berat awal



Pemberian aerasi dan difermentasi selama 3,6,9,dan 12 hari pada suhu ruang



Berat setelah difermentasi



Peyaringan menggunakan kain blacu



Cairan hidrolisat protein enceng gondok segar



Penimbangan cairan hidrolisat protein enceng gondok



Cairan hidrolisat protein enceng gondok segar



Penuangan ke dalam cawan petri



Pengeringan dengan oven vakum pada suhu 55°C selama 15 jam



Pasta hidrolisat protein enceng gondok segar

### Lampiran 30. Dokumentasi Analisa Kadar Air Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar



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



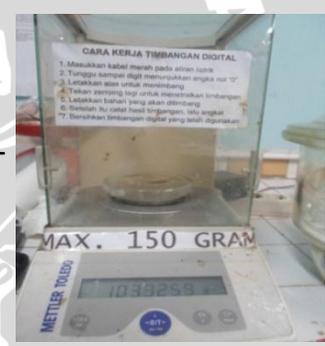
Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Pengeringan dalam oven pada suhu 105°C selamam 3 jam dengan tutup setengah terbuka



Penimbangan sampel sebanyak 14,54 gram



Penimbangan cawan petri beserta tutupnya



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat akhir

### Lampiran 31. Dokumentasi Analisa Kadar Lemak Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar



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



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat kertas saring



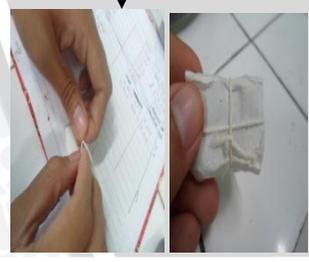
Penimbangan sampel sebanyak 5 gram



Penghalusan sampel dari kadar air



Penimbangan berat benang kasur



Pembungkusan samp



Pengekstrakan lemak pada glodfish selama 3 - 4 jam



Pengeringan sampel pada suhu 105°C



Penimbangan berat akhir



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit

### Lampiran 32. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar



Pengeringan cawan porseling pada suhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama 15



Penimbangan berat cawan porselen



Pengarangan diatas hot plate sampai tidak mengeluarkan asap



Penimbangan sampel sebanyak 2 gram



Penghalusan sampel dari kadar lemak



Pengabuan dalam muffle pada suhu 600°C

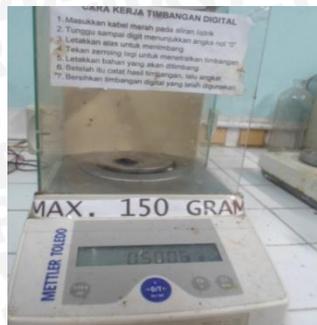


Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat akhir

### Lampiran 33. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Hidrolisat Enceng Gondok Segar



Penimbangan sampel sebanyak 0,5 gram



Pengalusan table kjeldahl



Penimbangan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> sebanyak 1.5 gram



Penuangan sampel dan table kjeldahl ke dalam labu destruksi



Penimbangan table kjeldahl sebanyak 2 gram



Pengukuran aquades 50 ml



Pengambilan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Teknis sebanyak 15 ml



Penuangan sample H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> ke dalam Erlenmeyer yang berisi aquades 50 ml



Penuangan aquades sebanyak 50 ml ke dalam Erlenmeyer



Penuangan larutan  $H_2SO_4$  Teknis sebanyak 15 ml ke dalam labu destruksi



Penghomogenan larutan  $H_3BO_3$  50 ml



Destruksi pada suhu  $370^{\circ}C$  selama 3 jam



Sampel hasil destruksi berwarna kehijauan



Pengambilan indicator *metyl orange* sebanyak 1 tetes



Penambahan aquades sebanyak 30 ml



Pengukuran aquades sebanyak 30 ml



Penambahan indicator *metyl orange* sebanyak 1 tetes ke dalam larutan  $H_3BO_3$





Penambahan NaOH hingga berubah warna



Pendestilasian selama 3 menit dan hasil destilasi ditampung pada erlenmeyer



Hasil dari destilasi



Hasil dari titrasi



Penitrasi destilasi dengan  $H_2SO_4$  0,3 N hingga berubah warna merah muda

Lampiran 34. Dokumentasi Analisis pH Hidrolisat Enceng Gondok Segar



Penimbangan sampel 1 gram



Penambahan aquades sebanyak 10 ml



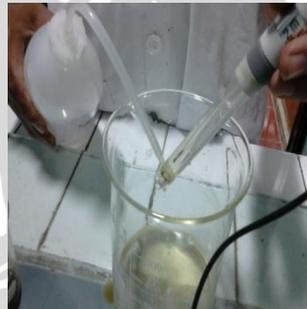
Penghomogenan



Pencelupan pada larutan *buffer*



Hidupkan pH



Pembilasan elektroda pH meter menggunakan aquades

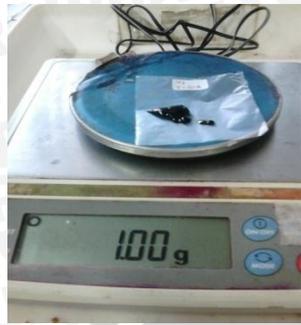


Sampel hidrolisat enceng gondok



Pengukuran nilai pH hingga nilai stabil

### Lampiran 35. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Hidrolisis Protein Enceng Gondok Segar



Penimbangan sampel sebanyak 1



Penuangan ke dalam cuvet



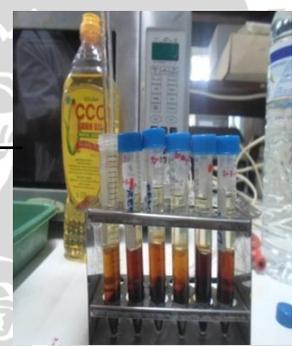
Pengambilan aquades sebanyak 5 ml



Penghomongenan dengan sentrifus dengan kecepatan 7500 rpm selama 5 menit



Peletakkan cuvet ke dalam sentrifus



Penambahan aquades sebanyak 5 ml dan penambahan minyak jangung sebanyak 5 ml



Hasil sentrifuse



Penghilangan fase minyak pada sampel



Pengukuran volume emulsi

### Lampiran 36. Dokumentasi Analisis Daya Buih Hidrolisat Protein Enceng Gondok Segar



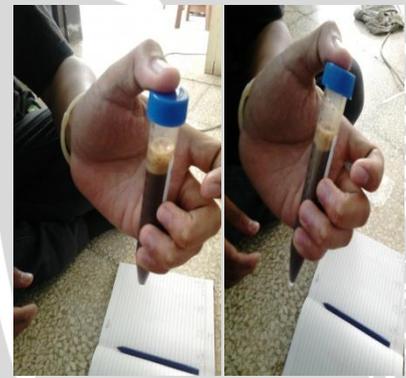
Penimbangan sampel



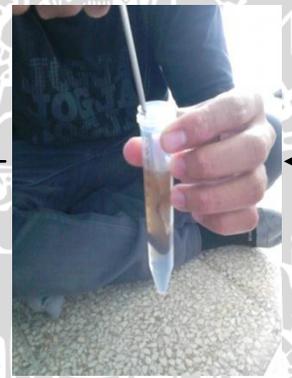
Penuangan sampel ke dalam cuvet



Pengukuran aquades sebanyak 10 ml



Pengocokan sampel selama 1 menit



Penghomogenaan sampel



Penuangan aquades ke dalam cuvet



Daya buih yang terbentuk

**Lampiran 37.** Hasil proksimat enceng gondok



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**FAKULTAS PETERNAKAN**  
**BAGIAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK**  
 Jalan Veteran Malang 65145 Telp (0341) 575853  
 E-mail : bagnmtfapet@ub.ac.id

Nomor : 099 /UN.10.5.52./Lab.-1/2015  
 Perihal : Hasil Analisa

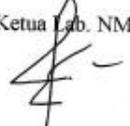
Yth. : Sdr. Reni Permatasari  
 Mhs FPIK - UB  
 Malang

Hasil analisis Laboratorium

| Tanggal Terima Sampel | No | Kode Bahan         | Kandungan Zat Makanan |          |                    |                  |                  |
|-----------------------|----|--------------------|-----------------------|----------|--------------------|------------------|------------------|
|                       |    |                    | Bahan Kering (%)      | Abu* (%) | Protein Kasar* (%) | Serat Kasar* (%) | Lemak Kasar* (%) |
| 24-2-2015             | 1. | Eceng Gondok Rebus | 6,45                  | 15,91    | 10,53              | 55,57            | 1,06             |
|                       | 2. | Eceng Gondok Segar | 5,72                  | 22,90    | 12,78              | 22,40            | 1,05             |

\*) Berdasarkan 100 % bahan kering

Mengetahui  
 Ketua Bagian NMT  
  
 Dr. Ir. Ostar Sjoftan, MSc  
 NIP 19600422-198811 1 001

Malang, 02 Februari 2015  
 Ketua Lab. NMT  
  
 Heli Fistiana, S.Pt., MP  
 NIP 19740826 200812 2 001

Lampiran 38. Hasil analisa asam amino hidrolisat protein enceng gondok



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

Jl. Veteran Malang  
 Telp./Fax. +62 341 559054  
<http://lsih.ub.ac.id> Email: [labsentralub@ub.ac.id](mailto:labsentralub@ub.ac.id) ; [labsentralub@gmail.com](mailto:labsentralub@gmail.com)

**SERTIFIKAT HASIL ANALISA**  
 (CERTIFICATE OF ANALYSIS)

No: 048/LSIH-UB/3-COA/V/2015

**Nama Pemilik** : Yudha Eko P.  
 (Name)

**Tgl. Diterima** : 18 Mei 2015  
 Date Received

**Alamat** : FPIK UB  
 (Address)

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

**Telp./ HP.** : 0877 5769 6132  
 (Phone/HP.)

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

**Hasil** :  
 (Result)

| Jenis sampel<br>(Sample Name)                          | No. Rujukan<br>(Reference Number) | Jenis Uji<br>(Analysis) | Hasil Analisa<br>(Analysis Result) | Metode Analisis<br>(Analysis Method) |
|--|-----------------------------------|-------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Hidrolisat Protein Eceng Gondok Segar dan Molase Rebus | 280/S-UJ/LSIH-UB/V/2015           | Asam amino              | Terlampir                          | HPLC                                 |



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

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



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

Lampiran No:048/LSIH-UB/3-LU/V/2015

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

Hasil Uji :

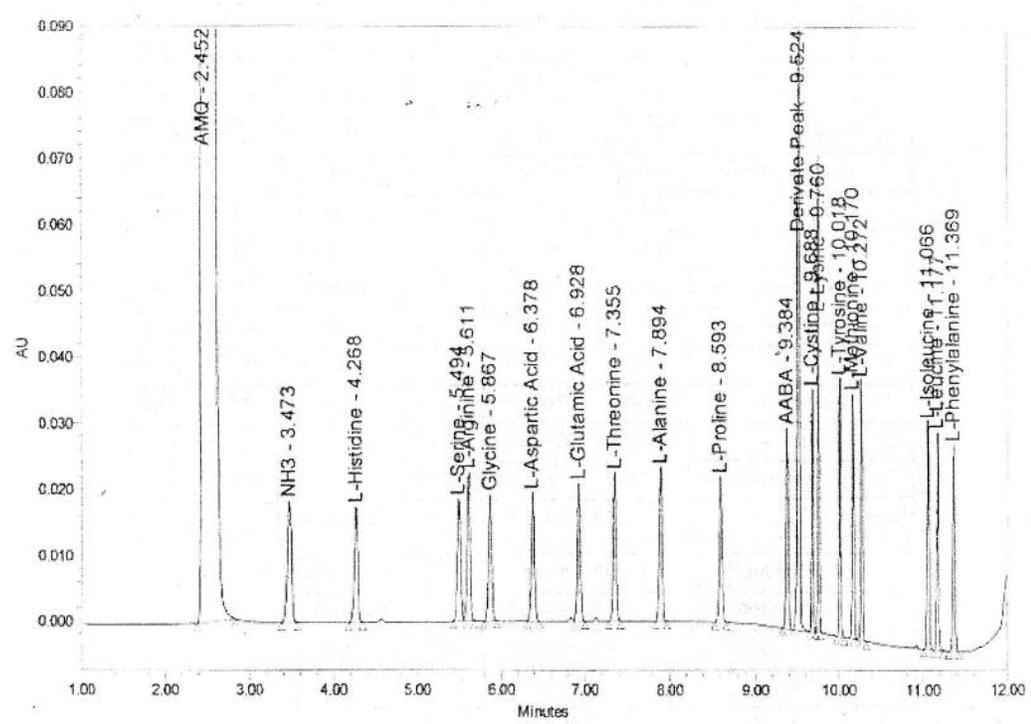
| No.          | Parameter Asam amino | Satuan       | Hasil        |
|--------------|----------------------|--------------|--------------|
| 1            | Valin                | %            | 0.30         |
|              | Threonin             | %            | 0.26         |
|              | Lisin (Lysine HCl)   | %            | 0.22         |
|              | Serin                | %            | 0.24         |
|              | Isoleusin            | %            | 0.22         |
|              | Alanin               | %            | 0.94         |
|              | Histidin             | %            | 0.10         |
|              | Phenilalanin         | %            | 0.22         |
|              | Glutamat             | %            | 5.71         |
|              | Tirosin              | %            | 0.15         |
|              | Prolin               | %            | 0.41         |
|              | Arginin              | %            | 0.25         |
|              | Glisin               | %            | 0.30         |
|              | Leusin               | %            | 0.35         |
|              | Aspartat             | %            | 0.93         |
|              | Metionin             | %            | 0.08         |
|              | Sistin               | %            | Not detected |
| <b>Total</b> | <b>%</b>             | <b>10.68</b> |              |



### Default Individual Report2

#### SAMPLE INFORMATION

|                   |                         |                     |                            |
|-------------------|-------------------------|---------------------|----------------------------|
| Sample Name:      | STD Asam Amino 100pmol  | Acquired By:        | System                     |
| Sample Type:      | Standard                | Sample Set Name:    | Asam Amino 150528          |
| Injection #:      | 1                       | Acq. Method Set:    | Asam Amino Flow 0 5 040515 |
| Injection Volume: | 1.00 ul                 | Processing Method:  | Asam Amino 150529a         |
| Run Time:         | 15.0 Minutes            | Channel Name:       | PDA Ch1 260nm@4.8nm        |
| Date Processed:   | 5/29/2015 4:52:59 PM WT | Proc. Chnl. Descr.: | PDA Ch1 260nm@4.8nm        |



Reported by User: System  
 Report Method: Default Individual Report:  
 Report Method ID 3220  
 Page: 1 of 2

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

|     | Peak Name       | RT     | Area       | % Area | Height     | Amount | Units |
|-----|-----------------|--------|------------|--------|------------|--------|-------|
| 1   | AMQ             | 2.452  | 5548137.66 | 81.87  | 880659.99  |        |       |
| 2   | NH3             | 3.473  | 61391.04   | 0.91   | 18488.01   |        |       |
| 3   | L-Histidine     | 4.268  | 51414.85   | 0.76   | 17613.19   | 100.00 | pmol  |
| 4   | L-Serine        | 5.494  | 51548.22   | 0.76   | 18611.62   | 100.00 | pmol  |
| 5   | L-Arginine      | 5.611  | 51867.33   | 0.77   | 22535.83   | 100.00 | pmol  |
| 6   | Glycine         | 5.867  | 51123.21   | 0.75   | 19188.84   | 100.00 | pmol  |
| 7   | L-Aspartic Acid | 6.378  | 50353.12   | 0.74   | 19441.62   | 100.00 | pmol  |
| 8   | L-Glutamic Acid | 6.928  | 48460.66   | 0.72   | 20990.32   | 100.00 | pmol  |
| 9   | L-Threonine     | 7.355  | 51409.70   | 0.76   | 22620.01   | 100.00 | pmol  |
| 10  | L-Alanine       | 7.894  | 52608.05   | 0.78   | 23435.91   | 100.00 | pmol  |
| 11  | L-Proline       | 8.593  | 47228.87   | 0.70   | 22029.34   | 100.00 | pmol  |
| 12  | AABA            | 9.384  | 53639.47   | 0.79   | 30506.95   | 100.00 | pmol  |
| 13  | Derivate Peak   | 9.524  | 224300.04  | 3.31   | 147907.82  |        |       |
| 14  | L-Cystine       | 9.688  | 42899.31   | 0.63   | 36923.33   | 50.00  | pmol  |
| 15  | L-Lysine        | 9.760  | 79902.44   | 1.18   | 72029.34   | 100.00 | pmol  |
| 16  | L-Tyrosine      | 10.018 | 52091.77   | 0.77   | 39239.54   | 100.00 | pmol  |
| 17  | L-Methionine    | 10.170 | 52010.35   | 0.77   | 37089.96   | 100.00 | pmol  |
| 18  | L-Valine        | 10.272 | 52708.35   | 0.78   | 39812.93   | 100.00 | pmol  |
| 19  | L-Isoleucine    | 11.066 | 51623.51   | 0.76   | 34824.30   | 100.00 | pmol  |
| 20  | L-Leucine       | 11.177 | 50738.81   | 0.75   | 33055.50   | 100.00 | pmol  |
| 21  | L-Phenylalanine | 11.369 | 51613.66   | 0.76   | 31366.11   | 100.00 | pmol  |
| Sum |                 |        | 6777070.44 | 100.00 | 1588380.45 |        |       |

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

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

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

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

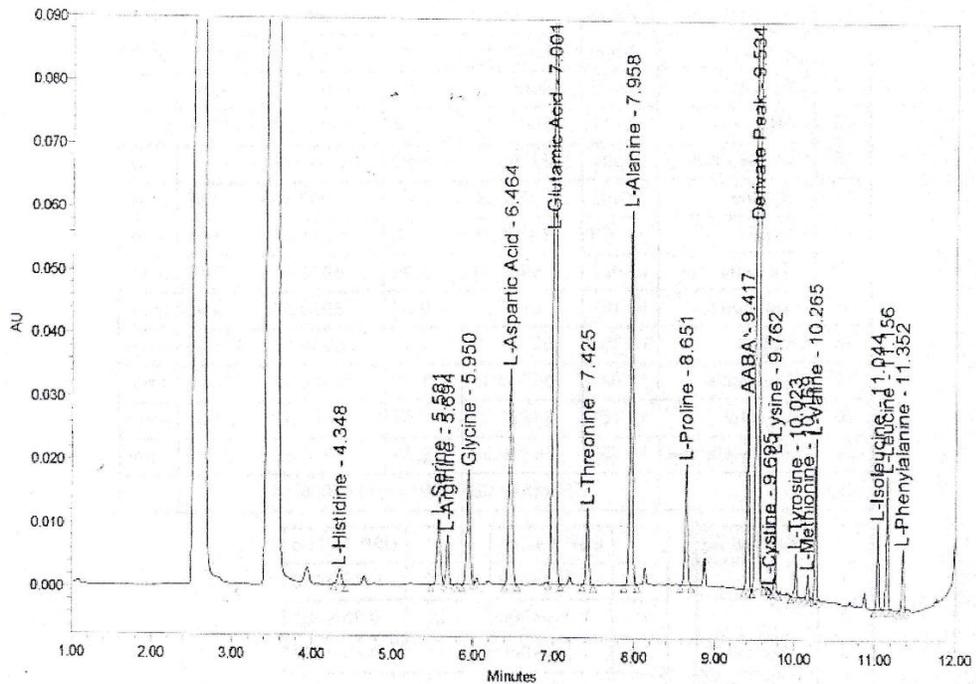
Project Name: 05 Mei 15\Asam Amino  
 Date Printed: 6/22/2015

Empower 3

Default Individual Report2

SAMPLE INFORMATION

|                   |                                   |                     |                            |
|-------------------|-----------------------------------|---------------------|----------------------------|
| Sample Name:      | 505.R2879 HP. Ericeng gondok      | Acquired By:        | System                     |
| Sample Type:      | Unknown <i>segar molase rebus</i> | Sample Set Name:    | Asam Amino 150528          |
| Injection #:      | 1                                 | Acq. Method Set:    | Asam Amino Flow 0 5 040515 |
| Injection Volume: | 1.00 ul                           | Processing Method:  | Asam Amino 150529a         |
| Run Time:         | 15.0 Minutes                      | Channel Name:       | PDA Ch1 260nm@4.8nm        |
| Date Processed:   | 5/29/2015 4:53:11 PM WIT          | Proc. Chnl. Descr.: | PDA Ch1 260nm@4.8nm        |



|                   |                            |               |                      |
|-------------------|----------------------------|---------------|----------------------|
| Reported by User: | System                     | Project Name: | 05 Mei 15\Asam Amino |
| Report Method:    | Default Individual Report; | Date Printed: | 6/22/2015            |
| Report Method ID: | 3220                       |               |                      |
| Page:             | 1 of 2                     |               |                      |

|     | Peak Name       | RT     | Area       | % Area | Height     | Amount  | Units |
|-----|-----------------|--------|------------|--------|------------|---------|-------|
| 1   | AMQ             | 2.648  |            |        |            |         |       |
| 2   | NH3             | 3.578  |            |        |            |         |       |
| 3   | L-Histidine     | 4.348  | 7754.63    | 0.38   | 2344.35    | 15.08   | pmol  |
| 4   | L-Serine        | 5.581  | 29050.42   | 1.42   | 10467.90   | 110.49  | pmol  |
| 5   | L-Arginine      | 5.694  | 18445.66   | 0.90   | 7874.80    | 35.56   | pmol  |
| 6   | Glycine         | 5.950  | 48445.55   | 2.37   | 18058.46   | 186.73  | pmol  |
| 7   | L-Aspartic Acid | 6.464  | 86058.51   | 4.21   | 34150.54   | 170.91  | pmol  |
| 8   | L-Glutamic Acid | 7.001  | 441997.82  | 21.61  | 190075.63  | 1147.33 | pmol  |
| 9   | L-Threonine     | 7.425  | 26508.66   | 1.30   | 11990.49   | 100.93  | pmol  |
| 10  | L-Alanine       | 7.958  | 129890.01  | 6.35   | 59193.11   | 460.90  | pmol  |
| 11  | L-Proline       | 8.651  | 40658.25   | 1.99   | 19031.44   | 96.61   | pmol  |
| 12  | AABA            | 9.417  | 53872.52   | 2.63   | 30532.29   | 131.59  | pmol  |
| 13  | Dervate Peak    | 9.534  | 1022569.51 | 49.99  | 650157.77  |         | pmol  |
| 14  | L-Cystine       | 9.695  | 283.00     | 0.01   | 282.40     | 0.66    | pmol  |
| 15  | L-Lysine        | 9.762  | 23000.48   | 1.12   | 21278.56   | 57.45   | pmol  |
| 16  | L-Tyrosine      | 10.023 | 9967.91    | 0.49   | 6972.30    | 37.75   | pmol  |
| 17  | L-Methionine    | 10.169 | 6157.29    | 0.30   | 3919.05    | 23.41   | pmol  |
| 18  | L-Valine        | 10.265 | 32727.53   | 1.60   | 25359.13   | 123.59  | pmol  |
| 19  | L-Isoleucine    | 11.044 | 20355.41   | 1.00   | 13644.12   | 77.30   | pmol  |
| 20  | L-Leucine       | 11.156 | 31632.38   | 1.55   | 20873.43   | 124.32  | pmol  |
| 21  | L-Phenylalanine | 11.352 | 16186.55   | 0.79   | 9800.88    | 31.32   | pmol  |
| Sum |                 |        | 2045542.08 | 100.00 | 1142006.64 |         |       |

|   | USP Tailing |
|---|-------------|
| 1 |             |
| 2 |             |
| 3 | 9.61e-001   |
| 4 | 1.08e+000   |
| 5 | 9.46e-001   |
| 6 | 1.07e+000   |
| 7 | 1.14e+000   |
| 8 | 1.12e+000   |
| 9 | 1.05e+000   |

|    | USP Tailing |
|----|-------------|
| 10 | 1.05e+000   |
| 11 | 1.01e+000   |
| 12 | 1.01e+000   |
| 13 | 9.46e-001   |
| 14 |             |
| 15 | 9.98e-001   |
| 16 | 8.05e-001   |
| 17 |             |
| 18 | 1.01e+000   |

|     | USP Tailing |
|-----|-------------|
| 19  | 1.02e+000   |
| 20  | 9.85e-001   |
| 21  | 9.84e-001   |
| Sum |             |

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

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

### Lampiran 39. Data dan Hasil analisa Derajat Hidrolisis

| Lama fermentasi  | Perlakuan<br>Volume molase rebus | Ulangan |         |         | Total   | Rata-rata | Standar deviasi | %N sampel | %N HPI | %DH  |
|------------------|----------------------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------------|-----------|--------|------|
|                  |                                  | I       | II      | III     |         |           |                 |           |        |      |
| 0 hari (kontrol) | 200ml                            | 12,5736 | 13,2484 | 13,2854 | 39,1074 | 13,0358   | 0,4007042       | 2,045     | 2,086  | 1,02 |
|                  | 250ml                            | 13,2037 | 14,6167 | 15,2551 | 43,0755 | 14,3585   | 1,0497909       | 2,045     | 2,297  | 1,12 |
|                  | 300ml                            | 14,6400 | 16,0247 | 16,5144 | 47,1791 | 15,7264   | 0,9721604       | 2,045     | 2,516  | 1,23 |
| 3 hari           | 200ml                            | 13,2299 | 14,5129 | 13,9735 | 41,7163 | 13,9054   | 0,6442026       | 2,045     | 2,225  | 1,09 |
|                  | 250ml                            | 14,6051 | 15,3647 | 15,2733 | 45,2431 | 15,0810   | 0,4146961       | 2,045     | 2,413  | 1,18 |
|                  | 300ml                            | 15,2461 | 17,9825 | 16,6684 | 49,8970 | 16,6323   | 1,3685565       | 2,045     | 2,661  | 1,30 |
| 6 hari           | 200ml                            | 13,2721 | 15,1591 | 14,5906 | 43,0218 | 14,3406   | 0,9680223       | 2,045     | 2,294  | 1,12 |
|                  | 250ml                            | 15,3402 | 18,1293 | 18,7557 | 52,2252 | 17,4084   | 1,8182911       | 2,045     | 2,785  | 1,36 |
|                  | 300ml                            | 16,7214 | 19,5161 | 19,4426 | 55,6801 | 18,5600   | 1,5927272       | 2,045     | 2,970  | 1,45 |
| 9 hari           | 200ml                            | 14,4246 | 16,6982 | 15,9486 | 47,0714 | 15,6905   | 1,1585719       | 2,045     | 2,510  | 1,23 |
|                  | 250ml                            | 16,7314 | 20,1690 | 19,3734 | 56,2738 | 18,7579   | 1,7995480       | 2,045     | 3,001  | 1,47 |
|                  | 300ml                            | 17,3629 | 20,8231 | 20,7491 | 58,9351 | 19,6450   | 1,9767318       | 2,045     | 3,143  | 1,54 |
| 12 hari          | 200ml                            | 16,0407 | 17,3698 | 16,6321 | 50,0426 | 16,6809   | 0,6658906       | 2,045     | 2,669  | 1,31 |
|                  | 250ml                            | 18,1221 | 20,9143 | 20,7737 | 59,8101 | 19,9367   | 1,5730613       | 2,045     | 3,190  | 1,56 |
|                  | 300ml                            | 20,2292 | 21,6028 | 21,4789 | 63,3109 | 21,1036   | 0,7598112       | 2,045     | 3,377  | 1,65 |

- CARA MENGITUNG % N sampel
  - Di Hitung dari jumlah % N HPI / Jumlah % N Sampel
  - % N didapat dari :
    - $\%P = \%N \times 6,25$
    - $\%N = \%P / 6,25$