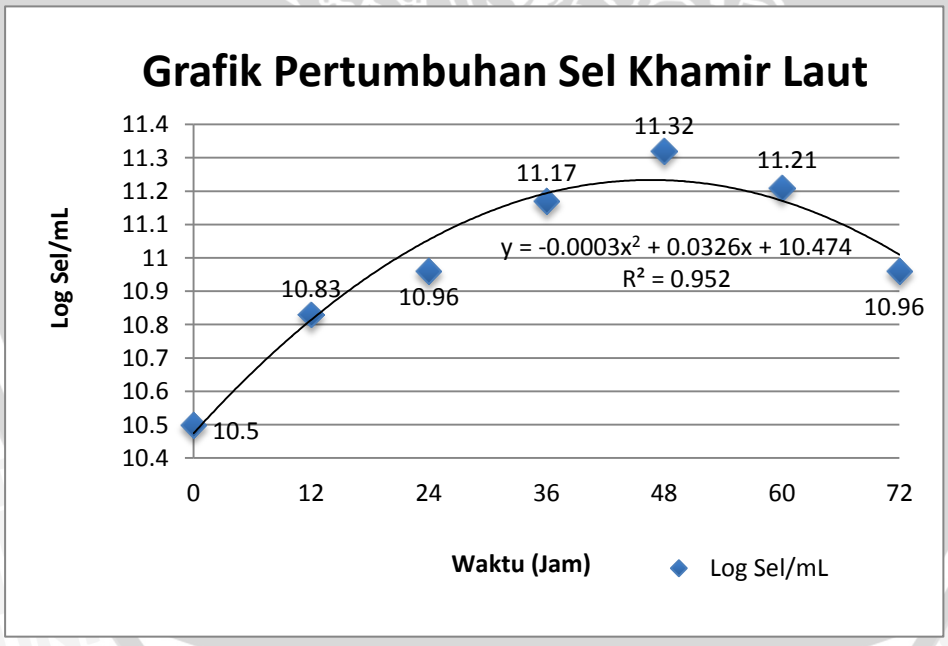
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penelitian Pendahuluan

4.1.1. Penentuan Fase Logaritmik Khamir Laut

Fase logaritmik sel yaitu fase dimana sel khamir membelah dengan cepat dan konstan. Pertumbuhan khamir laut ini ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pertumbuhan sel yang dilihat dari pengamatan melalui hemositometri pada mikroskop.

Pertumbuhan khamir laut dapat dilihat berdasarkan tingkat kepadatan pertumbuhan sel yang dilihat dari pengamatan melalui hemositometri pada mikroskop. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 9. Pertumbuhan sel khamir laut terlihat pada gambar 6 berikut:



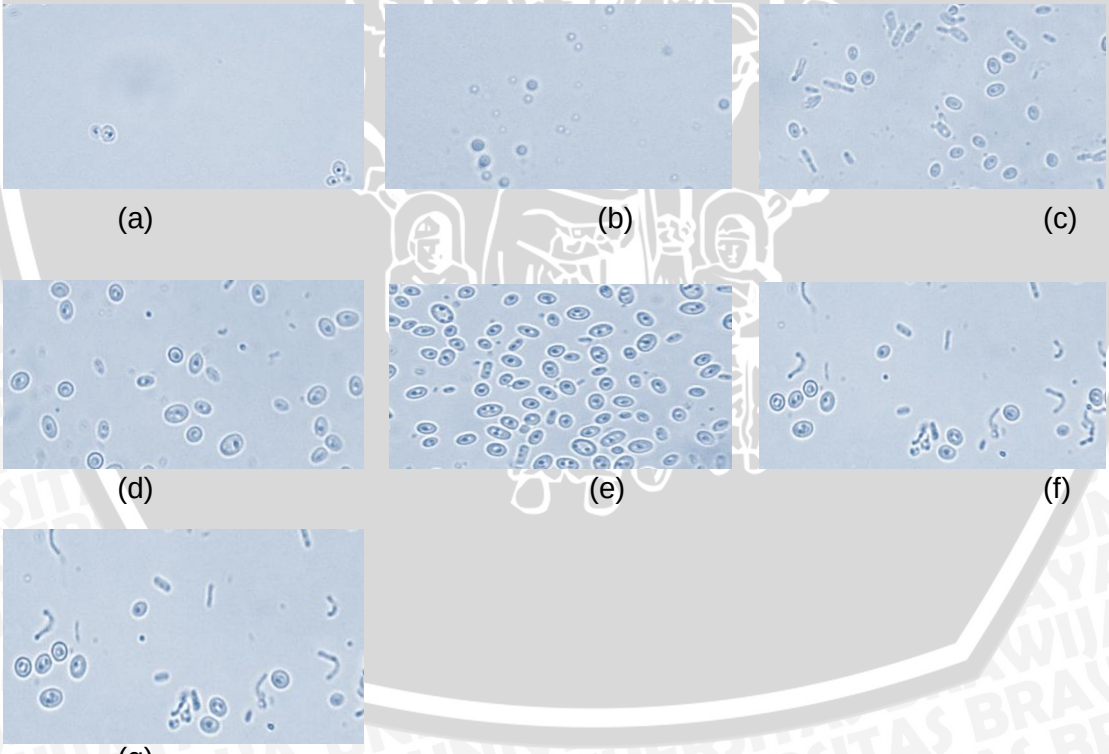
Gambar 3. Pertumbuhan sel khamir laut dengan pengamatan setiap 12 jam selama 72 jam

Kondisi pertumbuhan khamir laut saat kultur dapat dilihat pada tabel 6 berikut.

Tabel 6. Kondisi pertumbuhan khamir laut

Jam	Kondisi pertumbuhan khamir laut
Ke- 0	Fase adaptasi dengan lingkungan
Ke- 12	Telah beradaptasi terhadap lingkungan dengan memanfaatkan gula pasir dan urea sebagai nutrisi
Ke-24	Mengalami peningkatan ditandai dengan sedikit kekeruhan
Ke-36	Khamir laut terus meningkat dengan adanya warna keputih-putihan khas khamir laut dan bau alkohol khas khamir laut.
Ke-48	Fase log khamir laut yaitu pertumbuhan tertinggi khamir laut dan tingkat kekeruhan meningkat
Ke-60	Pertumbuhan khamir laut mulai menurun
Ke-72	Fase kematian, tidak lagi terlihat adanya peningkatan jumlah khamir laut

Mikrograf kepadatan sel khamir laut terhadap lama kultur dapat dilihat pada Gambar 4 berikut:



Gambar 4. Mikrograf kepadatan khamir laut setiap 12 jam pengamatan; 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)

Gambar 4 menunjukan bahwa sel khamir laut terlihat jelas dan mempunyai bentuk yang tidak sama dan tidak beraturan. Hal ini 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 konidia. Munculnya konidia pada sel khamir laut tersebut menunjukan bahwa sel khamir laut tersebut akan terjadi pembelahan melalui pertunasan *(budding)*. Konidia mulai terlihat pada Gambar 4 (b) atau jam ke-12 dan pada Gambar 4 (e) atau jam ke-48 sel khamir mulai terlihat tumbuh banyak. Kondisi tersebut menunjukan pembelahan sel dengan cepat atau disebut dengan fase logaritmik.

Gambar 4 (f) menunjukan bahwa pada jam ke- 60 mulai terjadi penurunan sel. Hal tersebut dikarenakan ketersediaan nutrien mulai berkurang karena sel khamir yang membelah terlampau banyak sehingga nutrient tidak mencukupi dan pada akhirnya dapat menyebabkan kematian atau penurunan sel. Fase ini bisa disebut fase stasioner atau menuju kematian. Gambar 4 (g) terlihat kepadatan sel khamir laut sudah menurun, hal tersebut kadena sudah banyak sel khamir laut yang mengalami kematian.

4.1.2. Penentuan Lama Fermentasi dan Volume Molase yang Berbeda

Dalam penelitian ini mencari volume molase yang baik untuk hasil fermentasi, dimana menggunakan volume molase segar yaitu 100 mL, 200 mL 300 mL, 400mL, dan 500mL, 600 mL, 700mL dengan lama waktu fermentasi 12 hari dan analisa kualitas hidrolisat protein dilakukan tiap tiga hari sekali sehingga diperoleh lima waktu pengamatan yaitu hari ke-0 sebagai kontrol, hari ke-3, ke-6, ke-9, dan ke-12.

Berdasarkan hal di atas maka dilakukan penelitian pendahuluan dengan tujuh konsentrasi molase yang tertera pada Tabel 3. Fermentasi dilakukan selama 12 hari dan pengamatan tiap tiga hari. Pengamatan yang dilakukan adalah menghitung rendemen dan penampakan fisik. Tabel hasil perhitungan rendemen penelitian pendahuluan hidrolisat protein kepala ikan lele dapat dilihat pada Lampiran 13.

Pengamatan selanjutnya yang dilakukan adalah pengamatan fisik, hasil pengamatan fisik hidrolisat protein dapat dilihat pada tabel 7 berikut:

Tabel 7. Pengamatan Fisik Penelitian Pendahuluan Pembuatan Hidrolisat Protein

Perbandingan	**Perubahan yang terjadi**			
	Hari ke 3	Hari ke 6	Hari ke 9	Hari ke 12
100:100:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau sedikit busuk, sedikit jamur	Bau busuk, berjamur	Bau busuk dan terdapat banyak jamur
100:200:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau khas molase, sedikit jamur	Terdapat sedikit jamur, bau khas molase	Bau khas molase dan terdapat sedikit jamur
100:300:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau khas molase, tidak berjamur	Tidak ada jamur, bau khas molase	Tidak ada jamur, bau khas molase
100:400:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau khas molase, tidak berjamur	Tidak ada jamur, bau khas molase	Tidak ada jamur, bau khas molase
100:500:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau khas molase, tidak berjamur	Tidak ada jamur, bau khas molase	Tidak ada jamur, bau khas molase
100:600:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau khas molase, tidak berjamur	Sedikit jamur, bau khas molase	Sedikit jamur, bau khas molase
100:700:20	Bau khas molase, tidak berjamur	Bau khas molase, tidak berjamur	Sedikit jamur, bau khas molase	Sedikit jamur, bau khas molase

Berdasarkan tabel 7 dapat diketahui bahwa perbandingan kepala ikan lele segar, molase, dan inokulan khamir laut yang terbaik yaitu pada perbandingan 100:300:20, 100:400:20, dan 100:500:20. Penentuan perbandingan terbaik dilihat dari bau dan penampakan fisik serta nilai rendemen yang konsisten.

4.1.3 Komposisi Kimia Kepala Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Sampel utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kepala ikan lele (*Clarias sp.).* Sampel dalam penelitian ini merupakan limbah pasar tradisional di pasar krempyeng Wage, Taman, Sidoarjo. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi kepala ikan lele tersebut. Hasil analisis kandungan kimia kepala ikan lele dapat dilihat pada Tabel 6 berikut.

Tabel 8. Komposisi kimia kepala lele

Parameter	Nilai rata-rata (%) Kepala Ikan Lele*)
Kadar Air	79,83
Kadar Protein	6,77
Kadar Lemak	0,30
Kadar Abu	1,05
Kadar Karbohidrat	11,36

Sumber: *) Laboratorium Lingkungan Jurusan Kimia, (2015).

4.2. Penelitian Utama

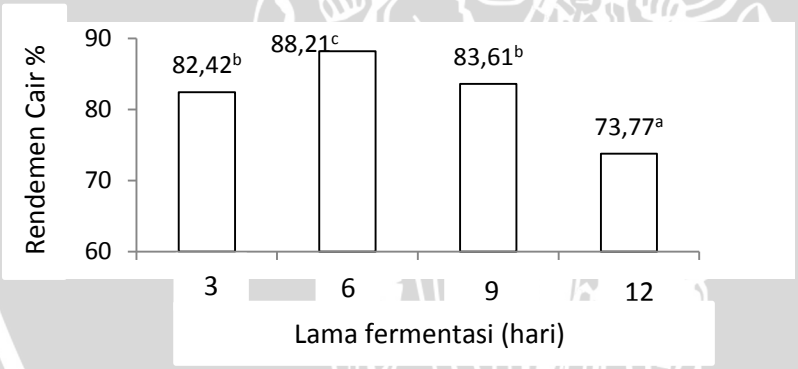
Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, volume molase yang baik untuk digunakan sebagai penelitian utama yaitu 300 mL, 400 mL, 500 mL. Sedangkan untuk khamir laut yang digunakan yaitu 20 mL dengan Lama fermentasi yang digunakan adalah 0 hari sebagai kontrol, 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari. Dengan hasil tersebut dapat ditentukan bahwa perbandingan formula terbaik kepala ikan lele segar, molase segar, dan inokulan khamir laut pada hidrolisat protein kepala lele *(Clarias sp.)* segar adalah perbandingan 100:300:20, 100:400:20, dan 100:500:20. Pada penelitian ini yang merupakan variabel bebas adalah lama fermentasi dan volume molase yang berbeda, untuk variabel terkontrol adalah inokulan khamir laut sebanyak 20 mL. Produk dalam bentuk cair akan dimasukkan dalam *Vacum Driying* untuk menjadikan produk ke bentuk pasta. Dalam penelitian ini variabel terikat yang menjadi parameter kualitas hidrolisat protein adalah rendemen cairan, rendemen pasta, analisa proksimat

(kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), pH, emulsifikasi, daya buih.

4.3. Hasil Analisa Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Lele *(Clarias sp.)* Segar

4.3.1 Rendemen Hidrolisat Protein Kepala Lele *(Clarias sp.)* Segar

Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen cair hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data rendemen cair hidrolisat protein kepala ikan lele segar dengan lama fermentasi dan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Grafik pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap rendemen cairan hidrolisat protein kepala ikan lele segar dapat dilihat pada gambar 6 berikut:



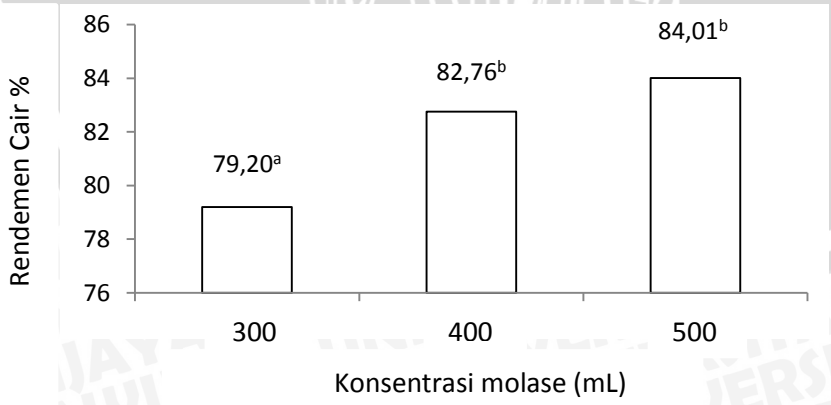
Gambar 5. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Rendemen Cairan Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 5 menunjukan terjadi peningkatan rendemen cairan pada hari ke-6 fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena telah terjadi hidrolisis oleh enzim protease hasil dari metabolit khamir laut yang digunakan untuk menghidrolisis protein pada kepala ikan lele terus bertambah. Berdasarkan Penelitian Purbasari (2008) yang membahas tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur, rendemen dalam penelitian ini memiliki *trend* yang sama bila dibandingkan dengan penelitiannya yaitu semakin lama waktu fermentasi maka

semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Waktu optimal hidrolisis akan menghasilkan rendemen paling tinggi.

Gambar 5 juga menunjukan adanya penurunan rendemen pada fermentasi hari ke-9 dan hari ke-12, Hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil metabolit khamir laut tidak bekerja dengan maksimal dalam menghidrolisis protein yang ada pada kepala ikan lele segar tersebut. Rosdianti (2008) menjelaskan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat, sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien.

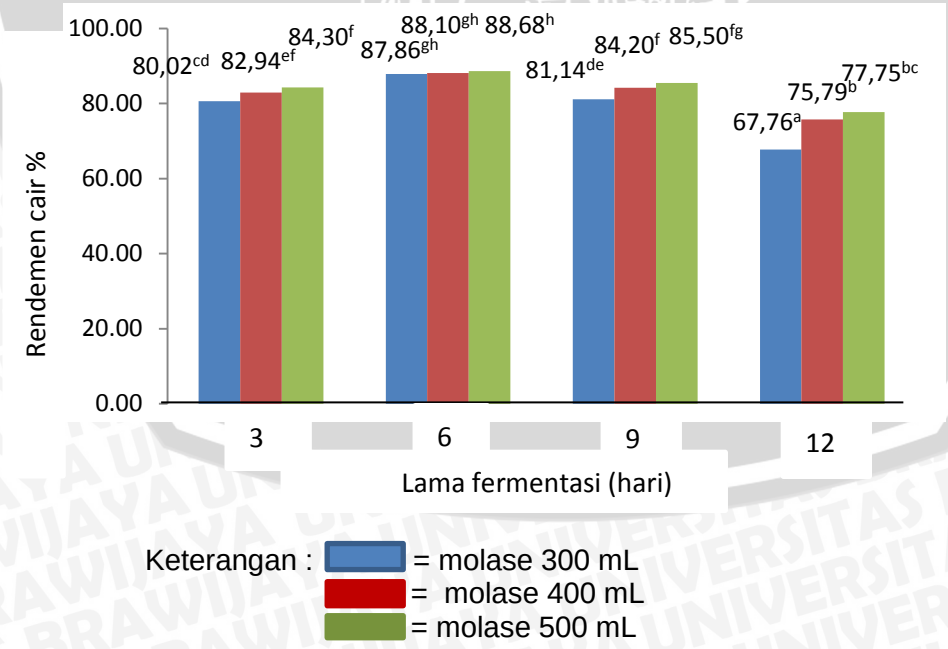
Berdasarkan analisis data penambahan volume molase segar yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen cair hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data rendemen cair hidrolisat protein kepala ikan lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Grafik pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap rendemen cairan hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 7 berikut.



Gambar 6. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Rendemen Cairan Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 6 menunjukan rendemen cair mengalami peningkatan pada penambahan volume molase yang semakin tinggi. Hal ini dimungkinkan semakin banyaknya volume molase yang tambahkan maka pertumbuhan khamir laut akan meningkat juga dikarenakan molase merupakan sumber nutriennya. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu oleh Fathony (2014) yang menyatakan bahwa semakin banyak substrat yang dihidrolisis maka cairan yang dihasilkan juga semakin banyak.

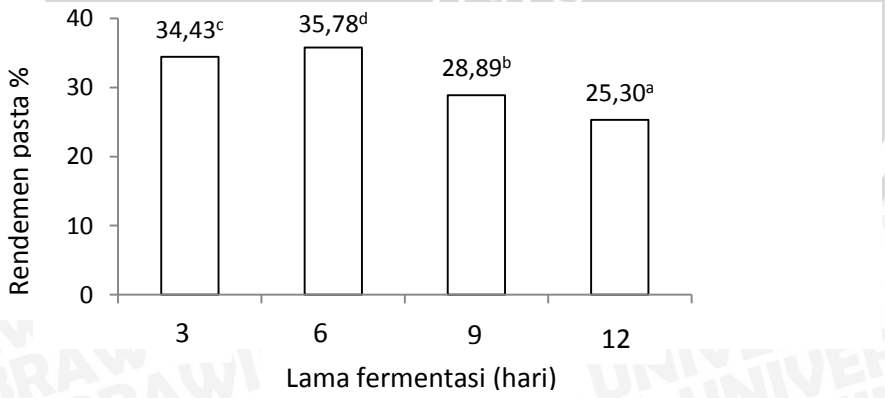
Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen cair hidrolisat protein kepala ikan lele segar. Data pengamatan dan analisis data rendemen cair hidrolisat protein kepala ikan lele segar dengan lama fermentasi dan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Grafik hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda terhadap rendemen cair pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 7 berikut:



Gambar 7. Pengaruh Hubungan Lama Fermentasi dan Penambahan Volume Molase yang Berbeda terhadap Rendemen Cairan Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 7 menunjukan rendemen cair yang tertinggi adalah 88,68% pada hari ke-3 dengan penambahan molase sebanyak 500 mL. Sedangkan untuk rendemen yang terendah adalah 67,76% yaitu pada hari ke-12 dengan penambahan molase sebanyak 300 mL. Rendemen hidrolisat protein dari hari ke-3 fermentasi hingga hari ke-6 fermentasi terjadi penurunan rendemen yang ditandai dengan semakin berkurangnya hasil akhir cairan hidrolisat protein setelah dilakukan peyaringan. Hal ini terjadi karena adanya proses hidrolisis yang baik pada pembuatan hidrolisat protein sehingga terjadi kenaikan rendemen cairan dari fermentasi hari ke-3 hingga fermentasi hari ke-6, sedangkan terjadinya penurunan pada fermentasi hari ke-9 hingga fermentasi hari ke-12. Setelah dilakukan pengamatan tentang rendemen cairan hidrolisat protein kepala ikan lele segar maka dilakukan pengamatan terhadap rendemen pasta hidrolisat protein ikan lele segar.

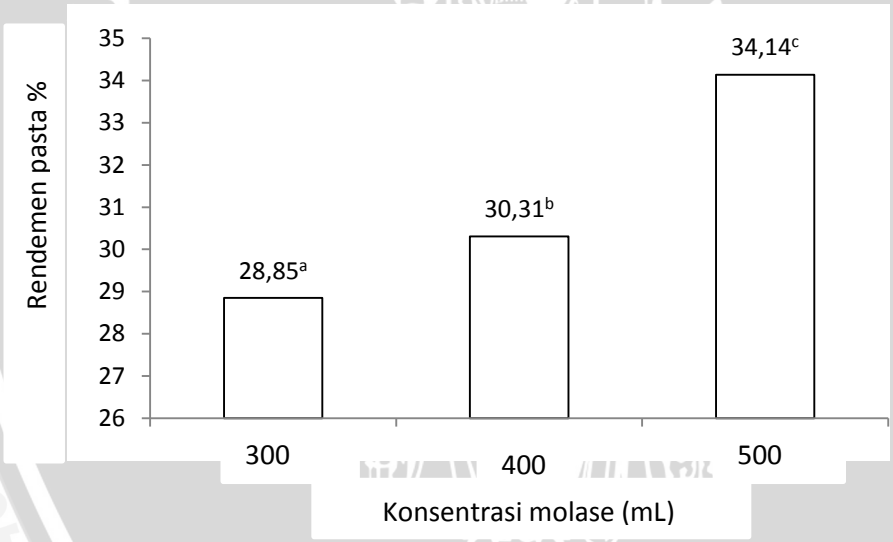
Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen pasta hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data rendemen pasta hidrolisat protein kepala ikan lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap rendemen pasta hidrolisat protein kepala ikan lele dapat dilihat pada gambar 8 berikut:



Gambar 8. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 8 menunjukan adanya peningkatan rendemen pada hari ke-6 fermentasi. Selain itu adanya penurunan nilai rendemen pasta pada fermentasi hari ke-9, dan ke-12. Hal ini menunjukan adanya hidrolisis yang terjadi pada bahan baku kepala ikan lele segar.

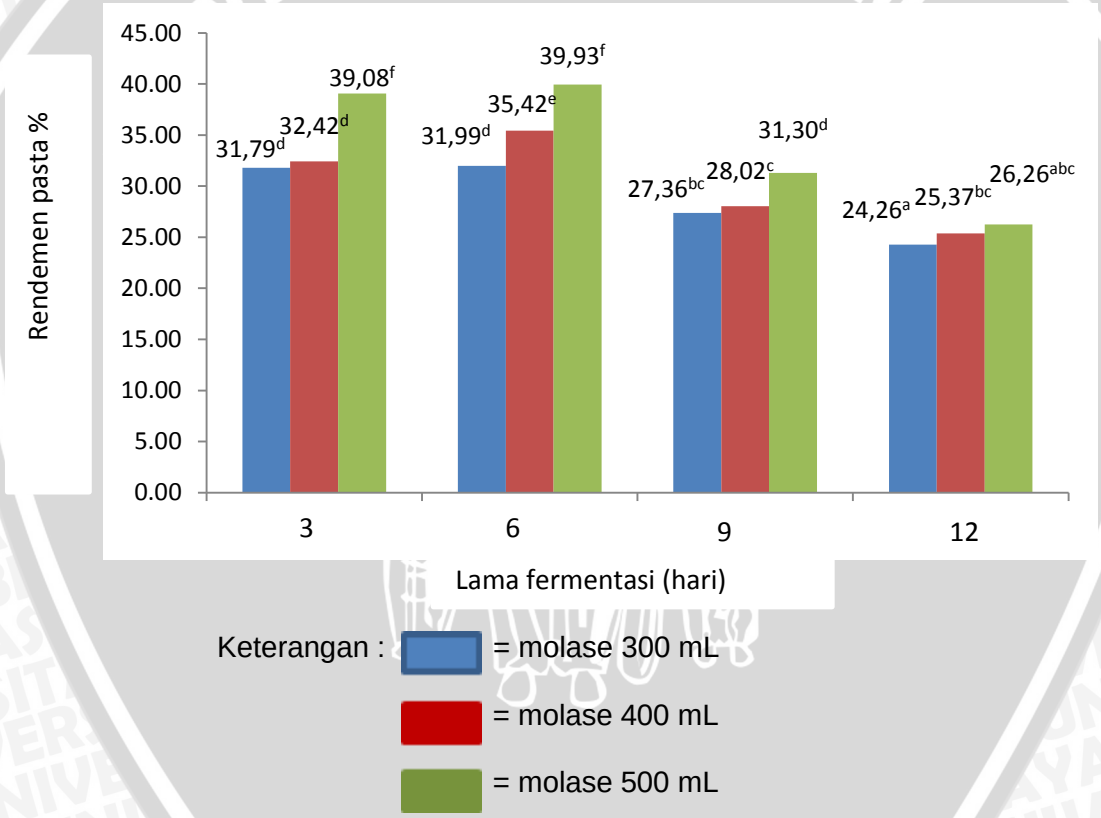
Berdasarkan analisis data penambahan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data rendemen pasta hidrolisat protein kepala ikan lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Grafik pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap rendemen pasta hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 9 berikut:



Gambar 9. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 9 menunjukan semakin meningkatnya rendemen pasta dari volume 300 mL hingga 500 mL. Hal ini dikarenakan penambahan molase yang semakin banyak mampu memberikan nutrisi yang baik terhadap pertumbuhan khamir laut dalam menghidrolisis substrat yang ditandai dengan penambahan volume rendemen cairan hidrolisat protein yang diikuti dengan kenaikan rendemen pasta hidrolisat protein.

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen pasta hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data rendemen pasta hidrolisat proten kepala ikan lele segar antara lama fermentasi dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Grafik hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda terhadap rendemen pasta pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 10 berikut:



Gambar 10. Pengaruh Hubungan Lama Fermentasi dan Penambahan Volume Molase yang Berbeda terhadap Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 10 menunjukan rendemen pasta yang tertinggi adalah 39,93% pada hari ke-6 dengan penambahan molase sebanyak 500 mL. Sedangkan

untuk rendemen yang terendah adalah 24,26% yaitu pada hari ke-12 dengan penambahan molase sebanyak 300 mL. Grafik diatas menunjukkan bahwa rendemen pasta hidrolisat protein kepala ikan lele segar dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda mengalami kenaikan hingga lama fermentasi 6 hari selanjutnya mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil dari metabolit khamir laut yang digunakan untuk menghidrolisis protein pada kepala ikan lele terus bertambah. Perwitasari dan Cahyo (2009) menyatakan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, waktu, katalisator, pH, dan suhu yang digunakan.

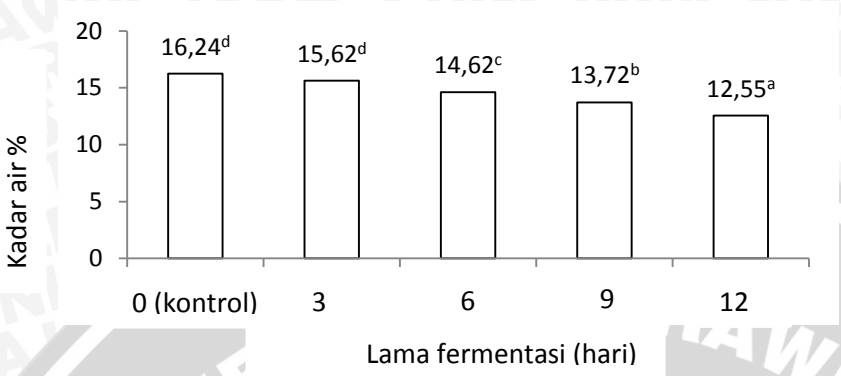
Gambar 10 juga menunjukan adanya penurunan rendemen pasta hidrolisat protein kepala ikan lele segar. Hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil metabolit khamir laut tidak bekerja dengan maksimal dalam menghidrolisis protein yang ada pada kepala lele segar tersebut. Rosdianti (2008) menjelaskan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat, sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien.

4.3.2. Analisa Proksimat Hidrolisat Protein Kepala Lele *(Clarias sp.)* Segar

4.3.2.1 Kadar Air

Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar air hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar air hidrolisat protein kepala lele segar

dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 16. Grafik Pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan air pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 12 berikut:



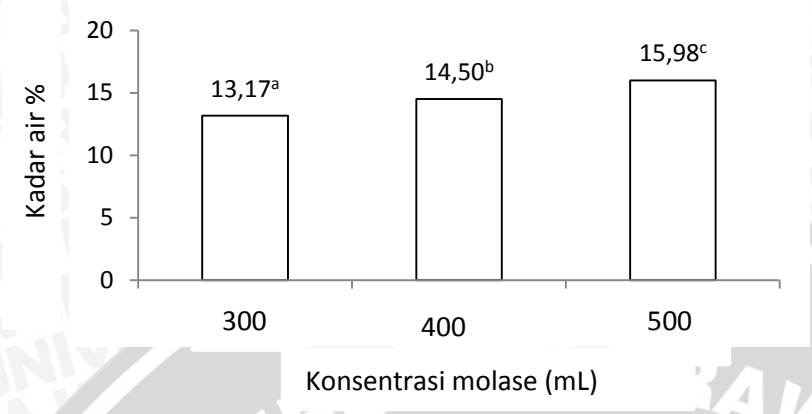
Gambar 11. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Air Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 11 menunjukan adanya penurunan kadar air selama fermentasi 12 hari, dimungkinkan pada perlakuan kontrol belum terjadi proses hidrolisis sehingga kandungan yang terdapat pada produk adalah seperti kandungan yan terdapat pada bahan awal sebelum pencampuran menjadi substrat. Sedangkan untuk sampel hari ke-3 sampai hari ke-12 fermentasi terjadi penurunan kadar air karena pada saat fermentasi dari hari ke hari terjadi proses metabolisme oleh khamir laut yang menimbulkan energi panas yang memicu air pada bahan menguap sehingga kandungan air yang ada pada bahan semakin menurun.

Anggraeni dan Yuwono (2014), menyatakan bahwa saat hidrolisis berlangsung menyebabkan turunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air.

Berdasarkan analisis data penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar air hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar air hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase yang berbeda dapat dilihat pada

Lampiran 16. Grafik Pengaruh penambahan molase terhadap kandungan air pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 12 berikut:



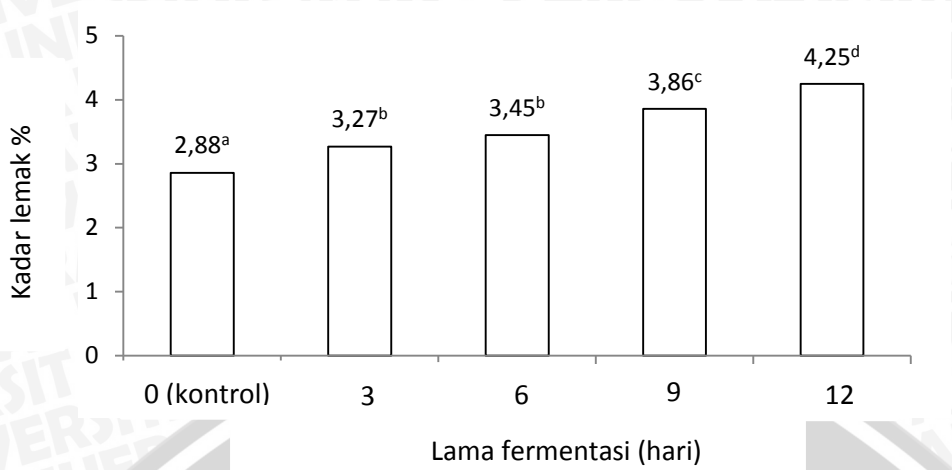
Gambar 12. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Kadar Air Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 12 yang menunjukan semakin tinggi penambahan molase maka semakin tinggi pula kadar air yang dihasilkan hal ini karena kandungan air pada molase mencapai 20% (Hariyum,1986) sehingga dengan penambahan volume molase yang semakin banyak maka kandungan air pada produk akhir hidrolisat protein juga semakin meningkat.

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar air hidrolisat protein kepala lele segar, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

4.3.2.2. Kadar Lemak

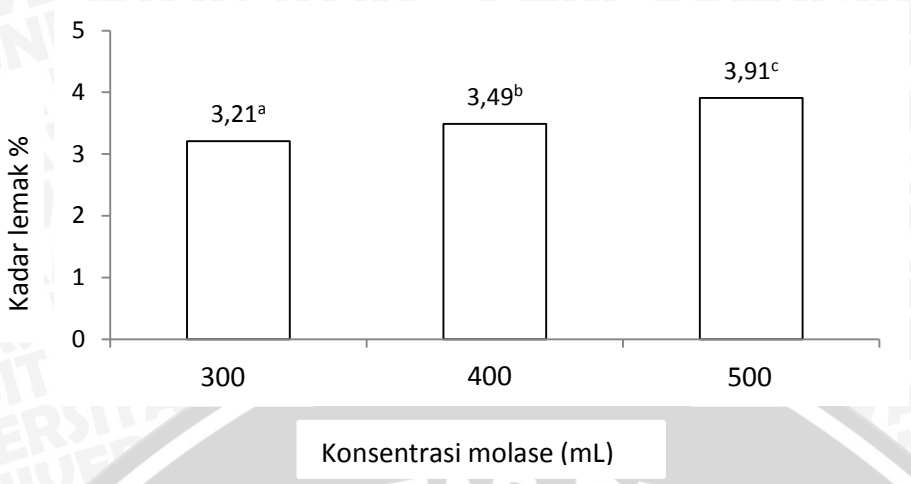
Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar lemak hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar lemak hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar lemak pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 13 berikut:



Gambar 13. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Lemak Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 13 menunjukan terjadinya penurunan kadar lemak selama fermentasi 12 hari jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini menunjukan adanya hidrolisis lemak kepala lele segar oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Fauziah *et al.,* (2014) menyatakan bahwa fermentasi dalam jangka waktu tertentu menyebabkan enzim hasil metabolit dapat memecah ikatan trigliserida yang ada pada substrat dan membentuk gliserol dan asam lemak bebas sehingga kadar lemak hasil hidrolisis semakin tinggi.

Berdasarkan analisis data penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar lemak hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar lemak hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Grafik Pengaruh penambahan molase segar terhadap kadar lemak pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 14 berikut



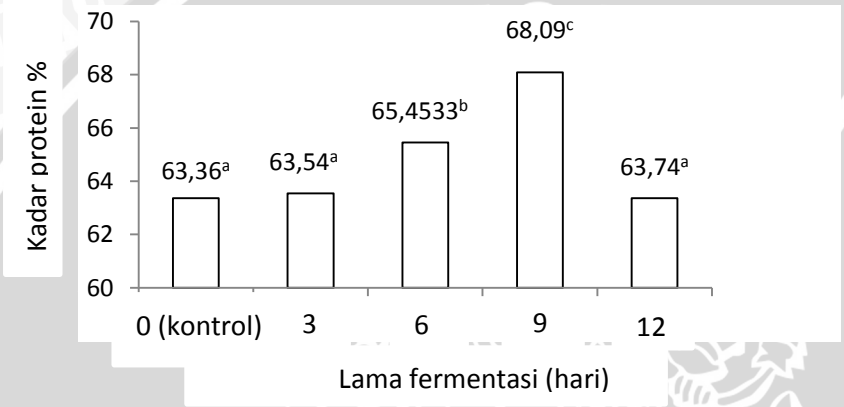
Gambar 14. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Kadar Lemak Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 14 menunjukan semakin banyakny penambahan volume molase maka semakin tinggi kandungan lemak pada produk, Hal ini dimungkinkan karena sumber lemak berasal dari bahan baku kepala lele dan adanya penambahan bahan lain yang mengandung kadar lemak seperti molase. Sari (2014) menyampaikan hasil analisis komposisi kimia molase segar antara lain 23,23% kadar protein, 0,08% kadar lemak, 66,20% kadar air, 4,13% kadar abu, dan 6,36% kadar karbohidrat. Dimana, bahan akan dihidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut yang menyebabkan meningkatnya kadar lemak selama proses fermentasi berlangsung. Sukoso (2012) menyatakan enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar lemak hidrolisat protein kepala lele segar, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

4.3.2.3. Kadar Protein

Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar protein hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar protein hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Grafik Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 15 berikut:

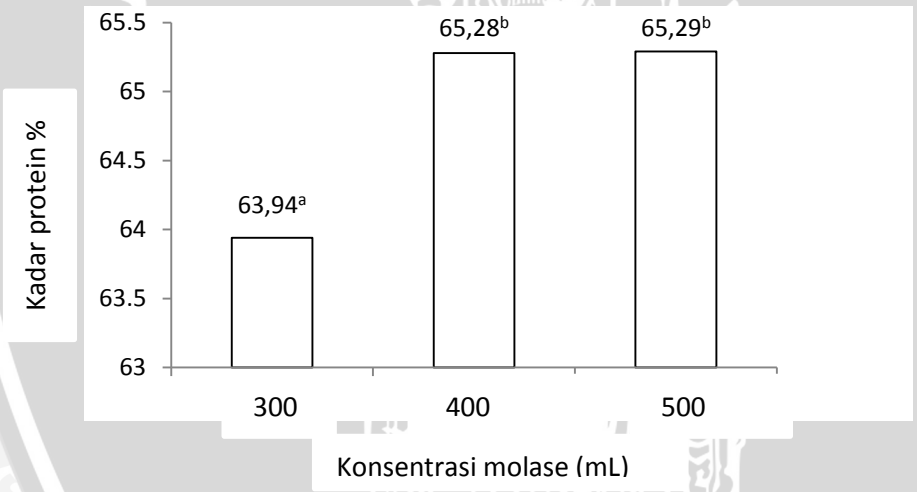


Gambar 15. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Protein Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 15 menunjukan terjadi peningkatan kadar protein dari fermentasi hari ke- 3 hingga fermentasi hari ke- 9 jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dikarenakan hari ke-0 belum terjadi proses hidrolisis oleh enzim protease yang berasal dari hasil metabolit khamir laut. Pada dari hari ke-3 sampai hari ke-9 terlihat kandungan protein meningkat dikarenakan telah terjadi hidrolisis oleh protease yang mengurai protein pada bahan. Hal ini sesuai dengan pendapat Kirk dan Othmer (1985) menyatakan, selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida-peptida, asam amino dan amonia.

Sedangkan untuk perlakuan lama fermentasi hari ke-12 mengalami penurunan kandungan protein. Hal ini dimungkinkan fermentasi hari ke-9 merupakan batas optimal lama fermentasi dan enzim yang digunakan hidrolisis hanya mampu menghidrolisis sampai batas tersebut.

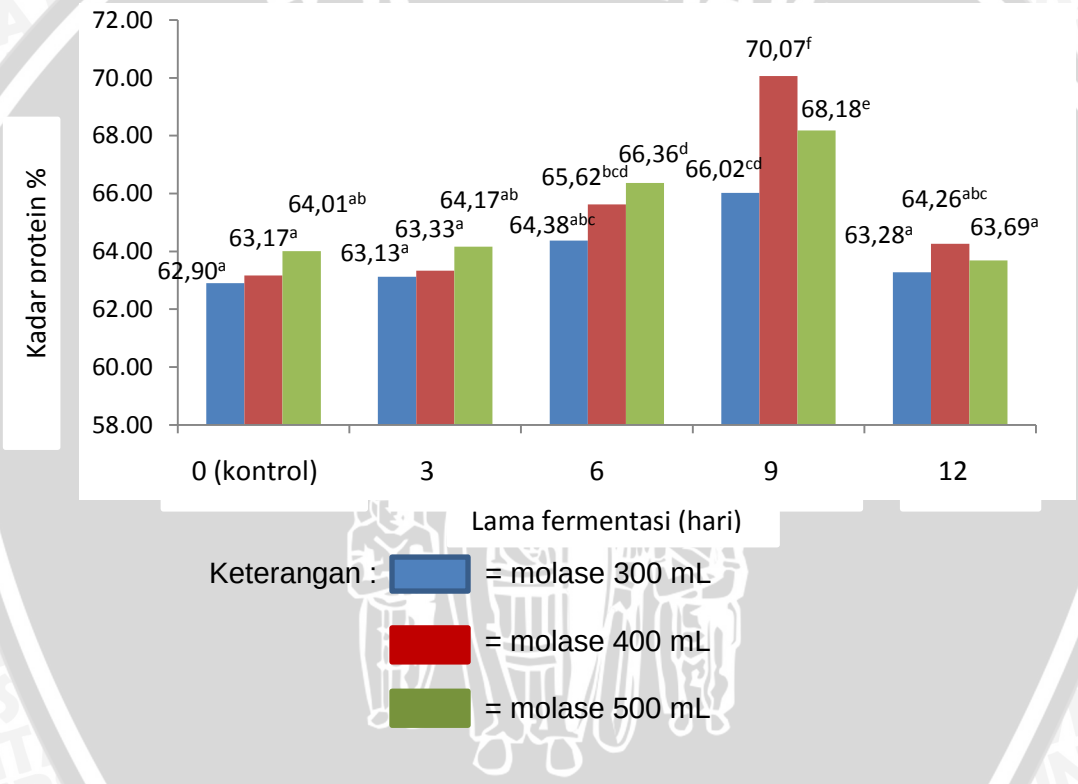
Berdasarkan analisis data penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data kadar protein hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. terhadap kadar protein hidrolisat protein. Grafik pengaruh penambahan molase segar terhadap kadar protein pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 16 berikut:



Gambar 16. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Kadar Protein Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 16 menunjukan banyaknya volume molase yang ditambahkan sebagai substrat diikuti semakin tingginya kandungan protein pada hasil hidrolisat. Purbasari (2008) menyatakan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, tekstur substrat, dan konsentrasi enzim.

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase segar yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kandungan protein hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar protein hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi dan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Grafik Pengaruh hubungan lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda terhadap kadar protein hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 17 berikut:



Gambar 17. Pengaruh Hubungan Lama Fermentasi dan Penambahan Volume Molase yang Berbeda terhadap Kadar Protein Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

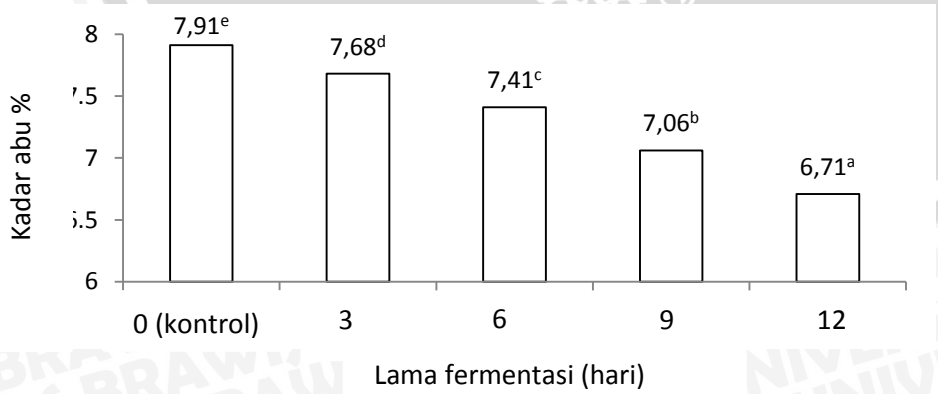
Gambar 17 menunjukan adanya peningkatan kadar protein hidrolisat protein kepala ikan lele segar antar perlakuan. Hal ini dikarenakan telah terjadi hidrolisis protein pada bahan baku kepala ikan lele segar oleh enzim hasil metabolit khamir laut selama waktu fermentasi. Sukoso (2012) menyatakan kadar protein dalam tubuh khamir laut yaitu 28,29% dan enzim yang dihasilkan

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

Gambar 17 juga menunjukan bahwa kadar protein tertinggi pada fermentasi 9 hari dengan volume molase 400 mL. Hal ini dimungkinkan fermentasi hari ke-9 merupakan batas optimal lama fermentasi dan enzim yang digunakan hidrolisis hanya mampu menghidrolisis sampai batas tersebut. Rosdianti (2008) menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat, sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien.

4.3.2.4 Kadar Abu

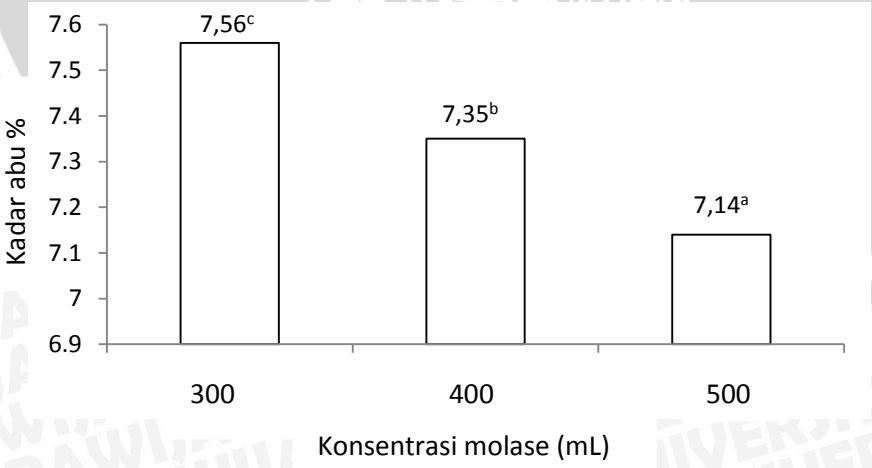
Data analisis kadar abu menunjukan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar abu pada hidrolisat protein. Data pengamatan dan analisis data kadar abu hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 19. Grafik Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar abu pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 18 berikut:



Gambar 18. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Abu Hidrolisat Protein Kepala lele Segar

Gambar 18 menunjukan adanya penurunan kadar abu hidrolisat protein kepala ikan lele segar antar perlakuan. Hal ini dimungkinkan karena garam-garam mineral yang ada pada molase digunakan untuk nutrisi pertumbuhan khamir laut. Komponen mineral dalam molase antara lain bentuk anion seperti magnesium, kalsium, aluminium, kalium, dan nitrogen, serta bentuk kation berupa silikat, fosfat, sulfit, dan klorida (Holihah, 2005). Selain itu, kemampuan khamir laut dalam mengabsorbsi logam atau mineral berbeda selama selang waktu fermentasi. Purwaningsih (2012) menyatakan adanya perbedaan kadar abu diduga bahwa setiap organisme mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mengabsorpsi dan meregulasi logam.

Data analisis kadar abu menunjukan bahwa penambahan molase segar yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar abu pada hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar abu hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 19. Grafik pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap kadar abu pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 19 berikut:



Gambar 19. Pengaruh Penambahan Molase Terhadap Kadar Abu Hidrolisat Protein Kepala lele Segar

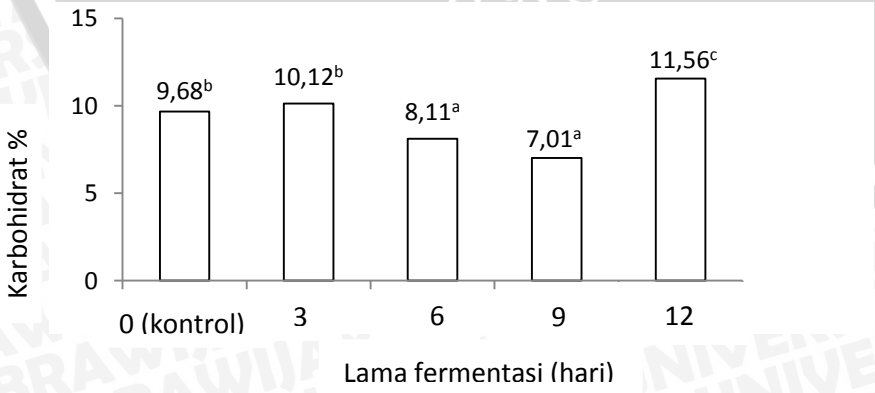
Gambar 19 menunjukan bahwa semakin banyak penambahan volume molase semakin rendah kadar abu yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan molase merupakan sumber nutrisi bagi khamir laut untuk mendegradasi garam mineral yang ada pada bahan . Kadar abu menunjukan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam suatu bahan pangan, adapun komponen didalamnya yaitu kalsium, fosfor, natrium, dan tembanga (Winarno, 1997).

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar abu hidrolisat protein kepala lele segar, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

4.3.2.5 Kadar Karbohidrat

Data analisis kadar karbohidrat menunjukan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar karbohidrat pada hidrolisat protein. Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 20.

Grafik Pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan karbohidrat pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 20 berikut:

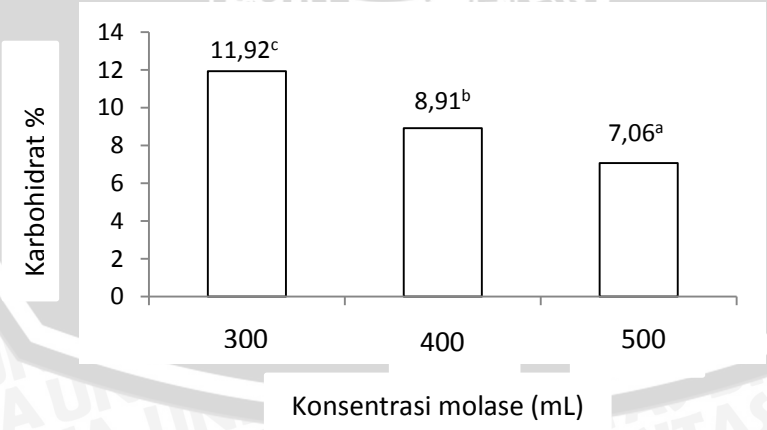


Gambar 20. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 20 menunjukan kadar karbohidrat yang dihasilkan berkisar antara 7,01 – 11,56. karbohidrat yang dihasilkan merupakan hasil akhir dari produk setelah diketahui kandungan-kandungan lainnya seperti kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak. Kadar karbohidrat terendah yaitu pada lama fermentasi selama 9 hari, sedangkan untuk kadar karbohidrat tertinggi yaitu pada fermentasi 12 hari.

Gambar 20 juga menunjukan terjadinya penurunan kadar karboohidrat pada fermentasi ke-9 hari, kemudian mengalami peningkatan kembali pada fermentasi ke-12.

Data analisis kadar karbohidrat menunjukan bahwa penambahan molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar karbohidrat pada hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 20. Grafik pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap kadar karbohidrat pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 21 berikut:



Gambar 21. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 21 menunjukan terjadi penurunan kadar karbohidrat seiring dengan jumlah molase yang ditambahkan. Hal ini dimungkinkan karena bahan

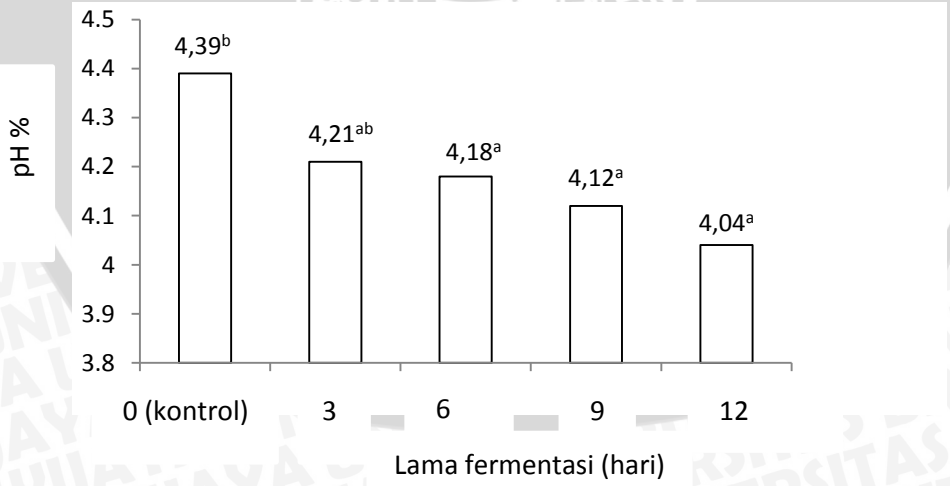
organik yang berasal dari molase seperti karbon atau nitrogen digunakan sebagai nutrisi atau memenuhi kebutuhan energi untuk kebutuhan metabolisme khamir laut sehingga memicu penurunan kadar karbohidrat (Fathony,2014). Contoh bahan yang mengandung gula reduksi menurut Sari (2011) yatitu molase, dimana molase mengandung gula reduksi total yaitu 10-25%.

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar abu hidrolisat protein kepala lele segar, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

4.3.3. Analisa Derajad Keasaman (pH)

Data analisis pH menunjukan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap pH pada hidrolisat protein. Data pengamatan dan analisis data pH hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 21.

Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 22 berikut:

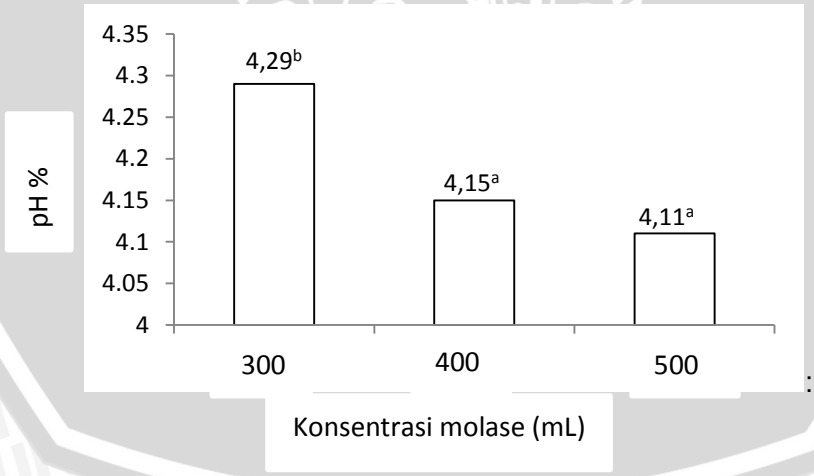


Gambar 22. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Nilai pH Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 22 menunjukan bahwa pH hidrolisat protein kepala ikan lele segar mengalami penurunan selama fermentasi 12 hari dengan nilai rata-rata berkisar antara 4,39 – 4,04.

Gambar 22 juga menunjukan bahwa pH tertinggi pada lama fermentasi 0 hari, sedangkan untuk pH terendah pada lama fermentasi 12 hari. Hal ini dimungkinkan karena banyaknya asam yang terbentuk saat proses fermentasi. Simbolon (2008) menyatakan bahwa asam atau alkohol terbentuk akibat degradasi dari karbohidrat oleh khamir. Semakin tinggi presentase khamir yang ditambahkan saat fermentasi memicu tingginya asam yang terbentuk.

Data analisis pH menunjukan bahwa penambahan molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap pH hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data pH hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 21. Grafik pengaruh penambahan molase yang berbeda terhadap nilai pH Hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 24 berikut:



:

Gambar 23. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Nilai pH Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 23 menunjukan bahwa terjadi penurunan pH pada penambahan volume molase yang semakin banyak. Terlihat, bahwa pH terendah pada volume molase 500mL. Hal ini dimungkinkan karena telah terjadi degradasi oleh enzim

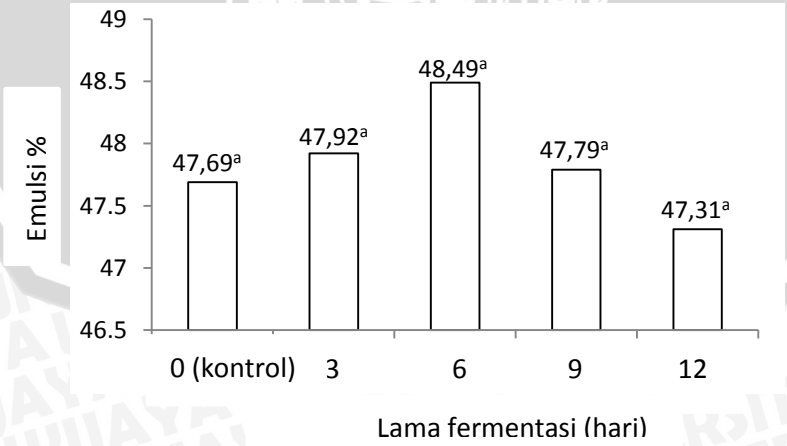
yang dihasilkan oleh khamir laut, dimana khamir laut memanfaatkan jumlah molase yang ada sebagai sumber nutrien dalam pertumbuhannya. Hidayat (2005) menyatakan nilai pH dan waktu optimum didasarkan atas dengan sifat atau keadaan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam proses hidrolisis.

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap pH hidrolisat protein kepala lele segar, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

4.3.4 Analisis Emulsi

Data analisis kapasitas emulsi menunjukan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kapasitas emulsi pada hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis emulsi hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 22.

Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap emulsi pada hidrolisat protein kepala lele dapat dilihat pada gambar 24 berikut:



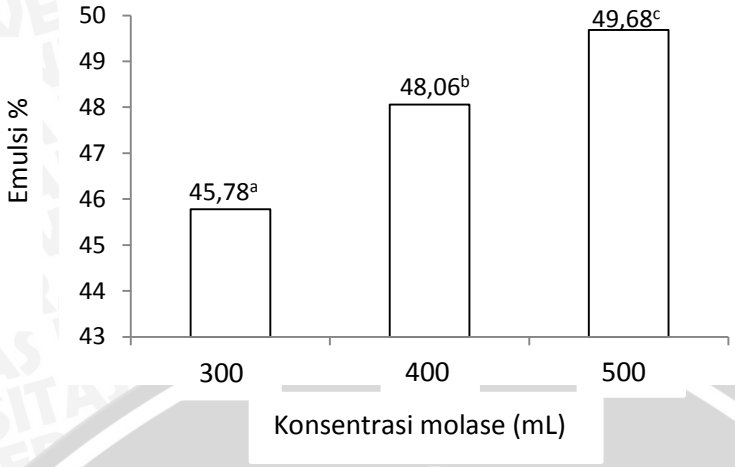
Gambar 24. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kandungan Emulsi Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 24menunjukan terjadi peningkatan kapasitas emulsi dari kontrol hingga fermentasi selama tiga dan enam hari. Koesoemawardani *et al.,* (2011). Menyatakan bahwa perbedaan stabilitas emulsi pada hidrolisat yang dihasilkan oleh masing-masing enzim yang digunakan bergantung pada sifat spesifik enzim dalam memecah protein dan gugus aktifnya.

Pada hari ke-9 dan hari ke-12 fermentasi terjadi penurunan kapasitas emulsi yang dimungkinkan karena semakin menurunnya nutrisi gula pada substrat yang diikuti dengan menurunnya jumlah sel khamir laut selain itu dimungkinkan sel khamir laut telah mengalami fase kematian sehingga kandungan protein dalam substrat tidak terurai secara optimal.

Gambar 24 juga menunjukkan bahwa kapasitas emulsi dari fermentasi 0 hari atau kontrol mengalami peningkatan sampai pada fermentasi hari ke-9. Kapasitas emulsi tertinggi yaitu pada fermentasi selama 6 hari dengan nilai rata-rata kapasitas emulsi 48,49%. Sedangkan kapasitas emulsi terendah yaitu pada lama fermentasi 12 hari dengan nilai rata-rata 47,31%. Kapasitas emulsi pada hidrolisat protein erat kaitannya dengan kandungan asam amino yang terbentuk pada bahan.

Data analisis kapasitas emulsi menunjukan bahwa penambahan molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kapasitas emulsi hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis emulsi hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase segar yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 22. Grafik pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap kandungan emulsi pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 25 berikut:



Gambar 25. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Kandungan Emulsi Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

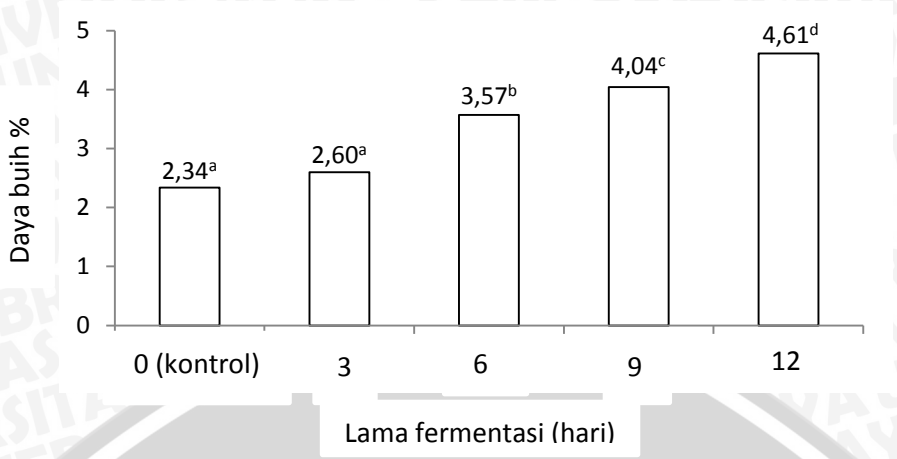
Gambar 25 menunjukan semakin banyaknya penambahan molase yang diikuti semakin meningkatnya kapasitas emulsi. Hal ini dimungkinkan karena adanya kemampuan hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan sejumlah peptida yang panjang sehingga memicu untuk menurunkan kadar emulsi pada hidrolisat protein (Fachtony 2014).

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase segar yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kandungan emulsi hidrolisat protein kepala lele segar, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

4.3.5 Daya Buih

Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap daya buih hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data daya buih hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 23.

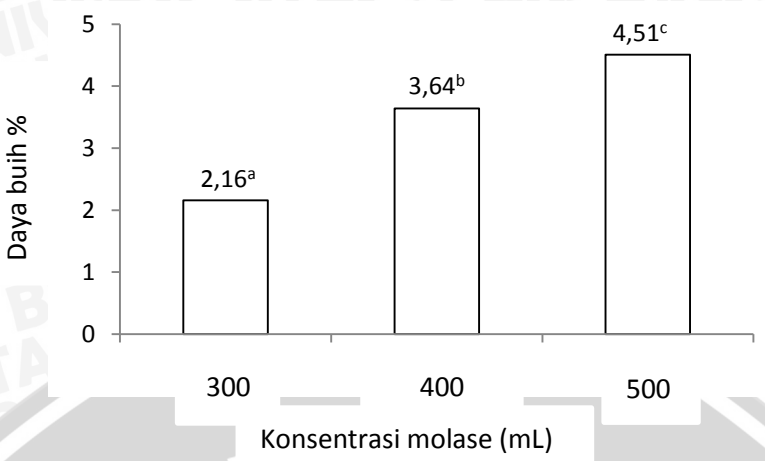
Grafik Pengaruh lama fermentasi terhadap daya buih pada hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 26 berikut:



Gambar 26. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Daya Buih Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 26 menunjukan adanya peningkatan daya buih selama 12 hari fermentasi bila di bandingkan dengan hari ke-0 (kontrol). Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Noviati (2007) melaporkan bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk pembelahan sel dan metabolismenya.

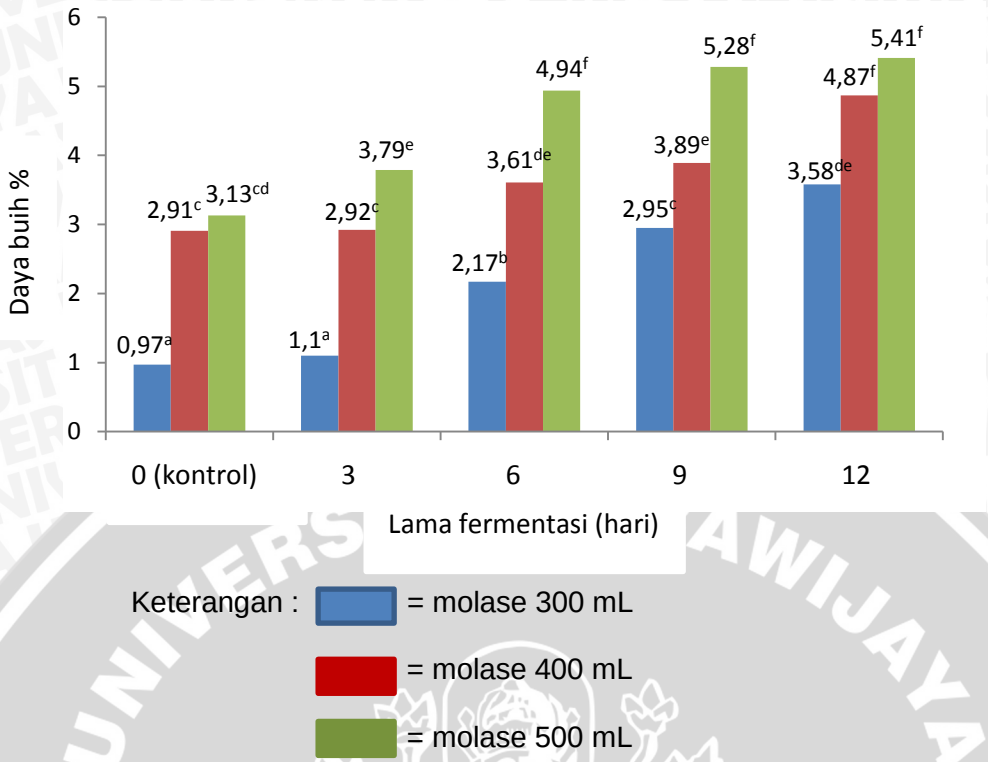
Berdasarkan analisis data penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap daya buih hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data daya buih hidrolisat protein kepala lele segar dengan penambahan molase yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 23. Grafik pengaruh penambahan molase segar yang berbeda terhadap daya buih hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 27 berikut:



Gambar 27. Pengaruh Penambahan Volume Molase terhadap Daya Buih Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 27 menunjukan semakin bertambahnya volume molase yang diikuti dengan meningkatnya daya buih. Dimana seiring dengan bertambahnya sumber nutrien yang diberikan pada enzim hasil metabolit khamir laut maka derajat hidrolisis akan meningkat. Purbasari (2008) menyatakan bahwa kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi, tekstur substrat, enzim, pH dan suhu.

Berdasarkan analisis data hubungan antara lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap daya buih hidrolisat protein kepala lele segar. Data pengamatan dan analisis data daya buih hidrolisat protein kepala lele segar dengan lama fermentasi dan penambahan molase yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 23. Grafik pengaruh lama fermentasi dan penambahan molase yang berbeda terhadap daya buih hidrolisat protein kepala lele segar dapat dilihat pada gambar 28 berikut:



Gambar 28. Pengaruh Hubungan Lama Fermentasi dan Penambahan Volume Molase yang Berbeda terhadap Daya Buih Hidrolisat Protein Kepala Lele Segar

Gambar 28 menunjukan terjadi peningkatan dari fermentasi 0 hari (kontrol) sampai fermentasi selama 12 hari. daya buih pada hidrolisat protein kepala lele segar berkisar antara 1,1 % hingga 5,41 %.

Gambar 28 juga menunjukan bahwa daya buih tertinggi pada hidrolisat protein kepala lele segar pada fermentasi 9 hari. Hal ini dimungkinkan pada hari ke-9 protein terhidrolisis sudah mencapai titik optimum sehingga memicu penurunan daya buih pula pada selang lama waktu fermentasi berikutnya. Rosdianti (2008) menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. 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.

4.2.2. Total Asam Amino

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein, dan dibagi dalam dua kelompok yaitu asam amino essensial dan non-essensial. Asam amino essensial tidak dapat diproduksi dalam tubuh sehingga sering harus ditambahkan dalam bentuk makanan, sedangkan asam amino non-essensial dapat diproduksi dalam tubuh (Sitompul, 2004). Analisis asam amino bertujuan untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino esensial yang terkandung dalam suatu protein bahan pangan (Muchtadi 1989).

Analisa total asam amino didasarkan pada kandungan protein tertinggi. Berdasarkan hasil protein tertinggi selanjutnya dilakukan analisa asam amino dengan metode HPLC *(High Performance Liquid Chromatography).* Adapun kandungan asam amino yang dihasilkan oleh hidrolisat kepala ikan lele segar dapat dilihat pada tabel 9 berikut.

Tabel 9. Kandungan Asam amino Hidrolisat protein kepala Lele Segar

No.	Jenis Asam amino	Hasil	Satuan
	Esensial		
1.	Histidin	*	g/100g
2.	Arginin	1,19	g/100g
3.	Treonin	0,58	g/100g
4.	Valin	1,07	g/100g
5.	Metionin	0,20	g/100g
6.	Isoleusin	0,85	g/100g
7.	Leusin	0,92	g/100g
8.	Phenilalanin	0,70	g/100g
9.	Lisin	0,72	g/100g
	Non Esensial		
10.	As. Aspartat	1,72	g/100g
11.	As. Glutamat	6,58	g/100g
12.	Serin	2,26	g/100g
13.	Glisin	1,04	g/100g
14.	Alanin	2,01	g/100g
15.	Prolin	1,12	g/100g
16.	Tirosin	0,32	g/100g
17.	Sistein	0,36	g/100g
	Total	21,64	g/100g

Ket: * tidak terdeteksi
Laboratorium Balai Penelitian Ternak Bogor (2015)

Tabel 9 menunjukkan bahwa asam amino yang terkandung pada hidrolisat protein kepala lele segar yaitu 16 jenis asam amino, sehingga dapat dikatakan bahwa proses hidrolisis yang berlangsung pada substrat oleh khamir laut mendekati sempurna. Hidayat (2011) menyatakan bahwa hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan 18-20 macam asam amino. Asam amino yang tertinggi yaitu asam glutamat dengan persentase 6,58 % dari total asam amino. Sedangkan untuk asam amino terendah yaitu metionin dengan hasil 0,36 % dari total asam amino. 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 (*The International Glutamate Information Service*, 2006).

Asam amino yang baik pada protein yaitu asam amino esensial. Selain itu, mutu protein juga dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut. Pada prinsipnya suatu protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam suatu komposisi yang hampir menyamai kebutuhan manusia, mempunyai mutu yang tinggi. Terdapat 9 asam amino esensial pada produk hidrolisat protein yang dihasilkan, yaitu histidin, arginin, treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin dan lisin serta 8 asam amino non esensial yang meliputi asam aspartat, asam glutamat, tirosin, sistin, serin, glisin, alanin, dan prolin.