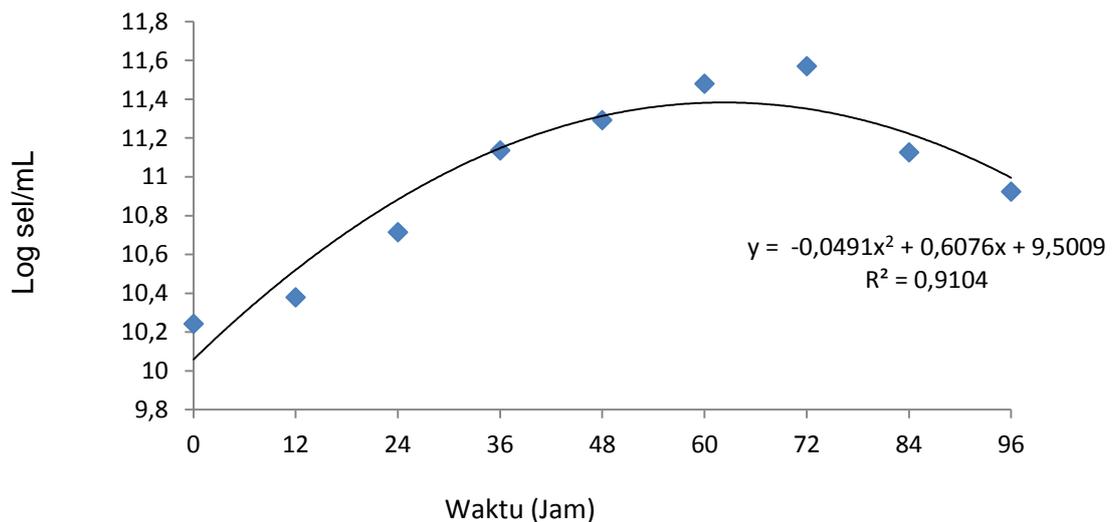


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Penetapan Fase Log Pertumbuhan Khamir Laut

Pertumbuhan khamir laut adalah bertambahnya jumlah sel khamir pada jangka waktu tertentu. Fase logaritmik merupakan fase saat sel khamir membelah dengan cepat artinya jumlah sel khamir laut yang sangat banyak dalam waktu tertentu. Penetapan fase log pertumbuhan khamir laut melalui penghitungan tingkat kepadatan sel menggunakan haemositometri pada mikroskop. Grafik hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



Gambar 6. Kepadatan Khamir Laut dengan Waktu Kultur 4 Hari

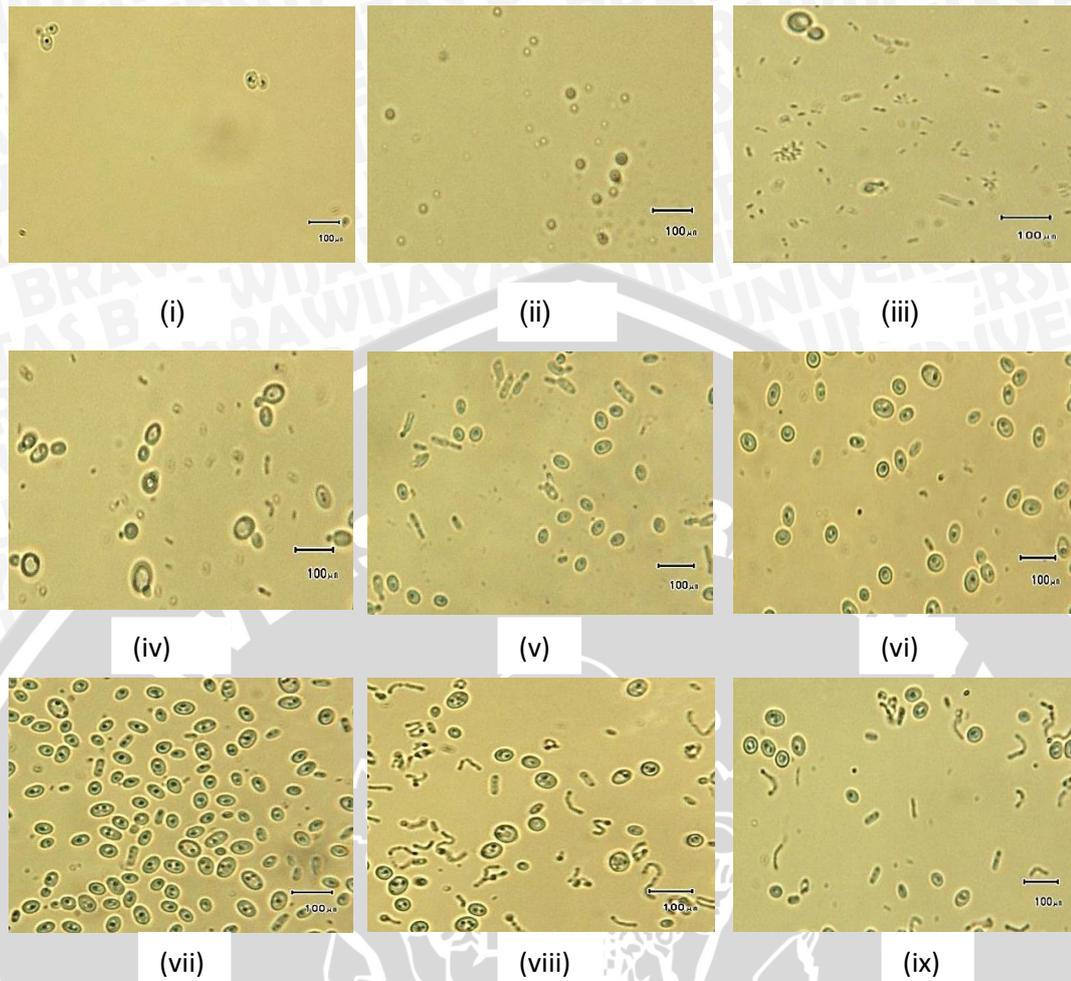
Pada Gambar 6 kepadatan sel khamir laut terbanyak terjadi pada jam ke-72. Pertumbuhan khamir laut dari jam ke-0 hingga jam ke-72 terus meningkat yang ditandai bertambah banyaknya jumlah sel khamir laut. Hal ini berarti khamir dapat beradaptasi dengan baik pada media yang diberikan. Menurut Sukoso (2012) ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan khamir laut yaitu khamir laut mempunyai batas toleransi dalam pemanfaatan gula sebagai sumber karbon, kepekatan konsentrasi media mempengaruhi penyerapan nutrisi oleh sel khamir laut, dan semakin tinggi konsentrasi gula menyebabkan pH media

semakin turun yang mengakibatkan media kurang optimal dalam mendukung pertumbuhan khamir.

Jumlah sel khamir laut terbanyak ada pada jam ke-72, dan setelah itu sampai jam ke-96 terlihat mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan laporan Jannah (2012), yaitu khamir laut membelah secara cepat pada jam ke-72. Tetelepta (2011), menambahkan bahwa nutrisi dalam media kultur adalah faktor pembatas pertumbuhan mikroorganisme. Apabila nutrisi habis digunakan oleh mikroorganisme akibatnya pertumbuhan mikroorganisme akan berhenti tetapi tidak mati dan akan aktif lagi apabila memperoleh tambahan nutrisi kembali.

Hasil pengamatan fase logaritmik yang telah ditetapkan yaitu pada jam ke-72 didukung oleh hasil pengamatan mikroskop dengan pembesaran 1000x seperti yang terlihat pada Gambar 7.





Gambar 7. Mikrograf kepadatan khamir laut pada berbagai waktu tertentu dengan perbesaran 1000x; jam ke-0 (i), jam ke-12 (ii), jam ke-24 (iii), jam ke-36 (iv), jam ke-48 (v), jam ke-60 (vi), jam ke-72 (vii), jam ke-84 (viii) dan jam ke-96 (ix).

Pada Gambar 7 tersaji kepadatan sel khamir laut dalam bentuk bulat, oval, silinder dan bulat panjang. Menurut Sukoso (2012), sel khamir laut tidak sama dengan sel bakteri atau jenis mikroorganisme lain. Sel khamir laut memiliki ukuran lebih besar daripada bakteri ($5 - 8 \mu\text{m}$ atau lebih), berbentuk oval, memanjang, elips atau bulat. Gambar 7 (g) atau jam ke-72 terlihat paling banyak jumlah sel khamir laut dibandingkan gambar lainnya akibat terjadi pembelahan sel yang cepat, dan pada jam ke-84 serta jam ke-96 jumlah sel khamir laut terus menurun karena nutrisi yang tersedia sudah menipis. Menurut Buckle *et al.*, (1987) peristiwa pembelahan sel yang cepat (fase logaritmik) merupakan fase

saat khamir laut dalam pertumbuhan yang tinggi. Pada fase ini adalah bagian yang memanfaatkan dalam pembuatan hidrolisat protein kerang hijau sebagai starter fermentasi.

4.1.2 Penetapan Volume Khamir Laut *Mix*

Penetapan volume khamir laut digunakan untuk mengoptimalkan hidrolisis substrat fermentasi oleh enzim dari khamir laut. Percobaan ini menggunakan beberapa volume khamir laut pada bahan baku kerang hijau rebus sebanyak 50 g. Volume khamir laut yang dicoba adalah 10 mL dan 20 mL. Menurut Fathony (2014) penambahan khamir laut *mix* sebanyak 10 mL ($48,1 \times 10^{10}$ sel) dalam substrat kepala udang vanname 50 g memberikan hidrolisis lebih baik daripada volume khamir laut 20 mL. Jannah (2012) menjelaskan bahwa khamir laut memiliki batas maksimum untuk pertumbuhannya, apabila jumlah sel khamir laut berlebihan akan membuat khamir laut jenuh terhadap substrat sehingga tidak dapat menghidrolisis dengan baik.

4.1.3 Penetapan Volume Molase

Penetapan volume molase dilakukan untuk mengetahui optimalisasi kerja enzim khamir laut dalam memanfaatkan molase sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya (batasan). Hasil yang didapatkan akan digunakan sebagai acuan dalam melaksanakan penelitian inti. Pada rekayasa pertama mengikuti formula Bueno-Solano *et al.*, (2008) yaitu pembuatan hidrolisat protein kepala udang dengan tidak memakai aerasi dalam sistem fermentasinya dan penambahan volume gula adalah sebanyak 10 mL, tetapi dalam penelitian ini gula diganti dengan molase. Rekayasa ini menggunakan beberapa formula dengan jumlah bahan baku kerang hijau sebanyak 50 g. Rekayasa pertama menggunakan volume molase 10 mL, 20 mL, 30 mL dan 40 mL, rekayasa kedua

menggunakan volume molase 50 mL, 75 mL, 100 mL dan rekayasa ketiga menggunakan volume molase 50 mL, 100 mL, 150 mL dan 200 mL.

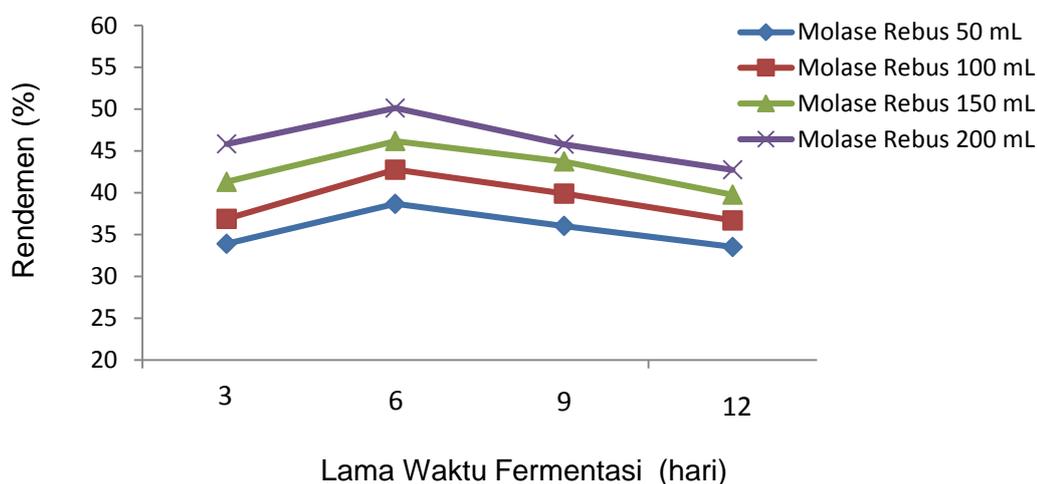
Pada rekayasa pertama memakai formula volume molase 10 mL, 20 mL, 30 mL dan 40 mL dengan sampel daging kerang hijau rebus halus sebanyak 50 gram dengan perlakuan inkubator pada suhu ruang, pemberian aerasi dan tanpa aerasi. Hasil pengamatan setelah 24 jam perlakuan tanpa aerasi fermentasi hidrolisat protein sudah mengeluarkan bau busuk menyengat, sedangkan perlakuan aerasi pembusukan terjadi setelah hari pertama kecuali volume molase 40 mL pembusukan terjadi setelah fermentasi hari kedua. Pembusukan yang cepat ini diperkirakan karena terlalu padat substrat yang akan dihidrolisis khamir laut. Menurut Sukoso (2012), untuk pertumbuhan khamir laut diperlukan sistem aerasi untuk mencukupi kebutuhan oksigen. Selain itu khamir laut juga menghasilkan berbagai enzim misalnya protease. Ditambahkan oleh Purbasari (2008) hidrolisis substrat oleh enzim protease memiliki kecepatan tertentu tergantung oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, pH, suhu yang digunakan dan konsentrasi enzim.

Rekayasa kedua menggunakan sistem aerasi pada fermentasinya. Hasil fermentasi hidrolisat protein kerang hijau bisa bertahan sampai 4 hari dengan bau khas fermentasi, cairan sedikit kental dan warna coklat kehitaman. Dari percobaan dengan volume molase 50 mL digunakan sebagai batas bawah dan landasan dalam rekayasa ketiga. Pada rekayasa ketiga hasil hidrolisat protein kerang hijau bisa bertahan selama 9 hari terlihat dari sifat organoleptiknya yaitu bau khas fermentasi, warna coklat kehitaman dan cairan hidrolisat coklat kehitaman. Cairan hidrolisat hasil dari berbagai volume molase dan bahan baku semakin berwarna kehitaman serta semakin cair saat volume molase ditingkatkan.

Dari rekayasa ketiga mengambil volume molase 50 mL, 100 mL, 150 mL dan 200 mL untuk dijadikan penelitian inti karena fermentasi bisa bertahan sampai 12 hari. Dalam penelitian inti menggunakan sampel kerang hijau rebus halus sebanyak 100 g untuk keperluan analisis, sehingga volume molase ditingkatkan dua kali lipat yaitu 100 mL, 200 mL, 300 mL dan 400 mL.

4.1.4 Penetapan Waktu Fermentasi

Pada penetapan volume molase telah didapatkan hasil rekayasa ketiga dengan menerapkan formula volume molase 50 mL, 100 mL, 150 mL dan 200 mL dalam penelitian inti karena fermentasi bisa bertahan sampai 12 hari. Titik optimal fermentasi hidrolisat protein adalah tujuan akhir dari setiap perlakuan yang diberikan dengan ditandai nilai proteinnya yang tertinggi. Untuk itu memerlukan perhitungan rendemen pada setiap pengamatan penelitian pendahuluan dalam memperkuat formula tersebut. Berikut ini adalah grafik rendemen terlihat pada Gambar 7.



Gambar 8. Rendemen Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Dengan Waktu Fermentasi Yang Berbeda

Pada Gambar 8 menunjukkan titik optimal hidrolisis pada hari ke-6. Perhitungan rendemen hidrolisat protein kerang hijau rebus dapat dilihat pada

Lampiran 5. Penurunan grafik rendemen hidrolisat protein kerang hijau terjadi pada hari ke-9 dan hari ke-12 yang disebabkan jumlah enzim protease khamir laut penghidrolisis substrat sudah menjadi semakin banyak seiring bertambahnya waktu fermentasi. Kejadian seperti ini adalah penyebab enzim penghidrolisis jenuh terhadap substrat dan tidak dapat menghidrolisis secara sempurna. Rosdianti (2008) memaparkan bahwa turunnya kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi enzim yang tinggi. Apabila enzim yang digunakan terlalu banyak maka tidak semua enzim dapat berpasangan dengan substrat, akibatnya kecepatan hidrolisis secara maksimum tidak dapat terlaksana dan kurang efisien.

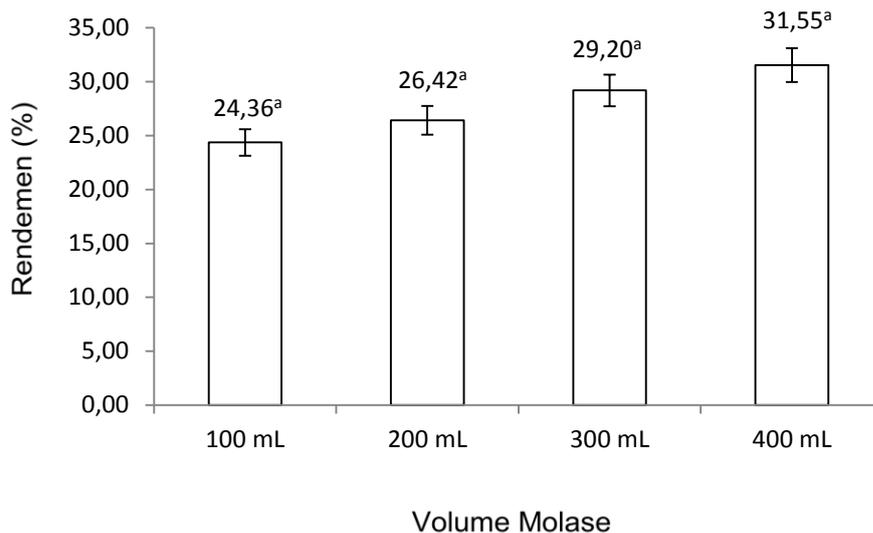
4.2 Penelitian Inti

Mengacu hasil dari penelitian pendahuluan maka diperoleh formula dalam pembuatan hidrolisat protein kerang hijau rebus yang akan digunakan sebagai penelitian inti yaitu menggunakan inokulan khamir laut *mix* sebanyak 20 mL dengan kepadatan $37,25 \times 10^{10}$ sel/mL, volume molase 100 mL, 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan waktu fermentasi 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari. Analisa yang dilakukan terhadap produk hidrolisat yang meliputi analisa proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), uji total asam amino, uji pH, emulsi dan daya buih.

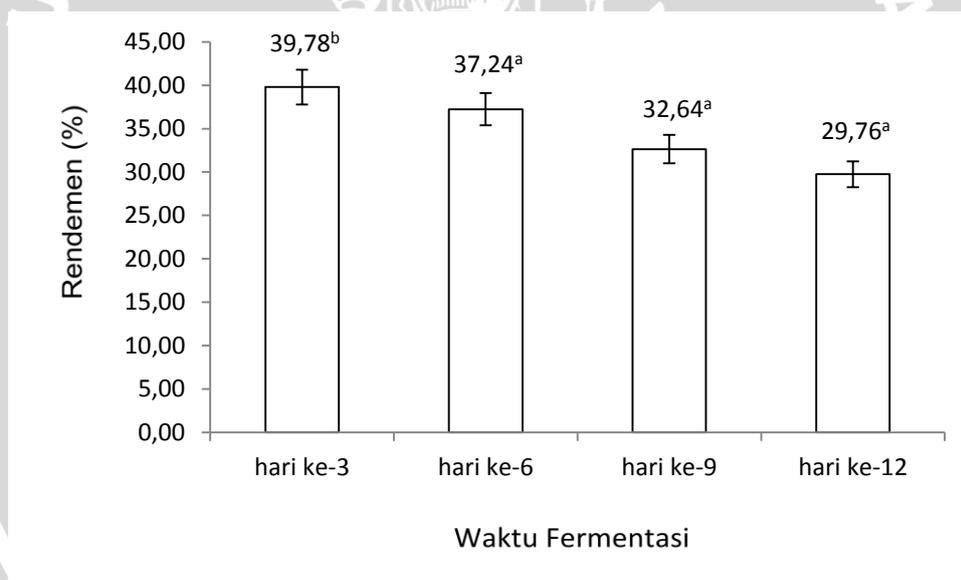
4.2.1 Rendemen Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus

4.2.1.1 Rendemen Pasta

Volume molase dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap rendemen pasta hidrolisat protein kerang hijau rebus ($P < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data ada pada (Lampiran 6). Rendemen pasta hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan perlakuan waktu fermentasi dan volume yang berbeda ada pada Gambar 9 dan Gambar 10.



Gambar 9. Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase



Gambar 10. Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

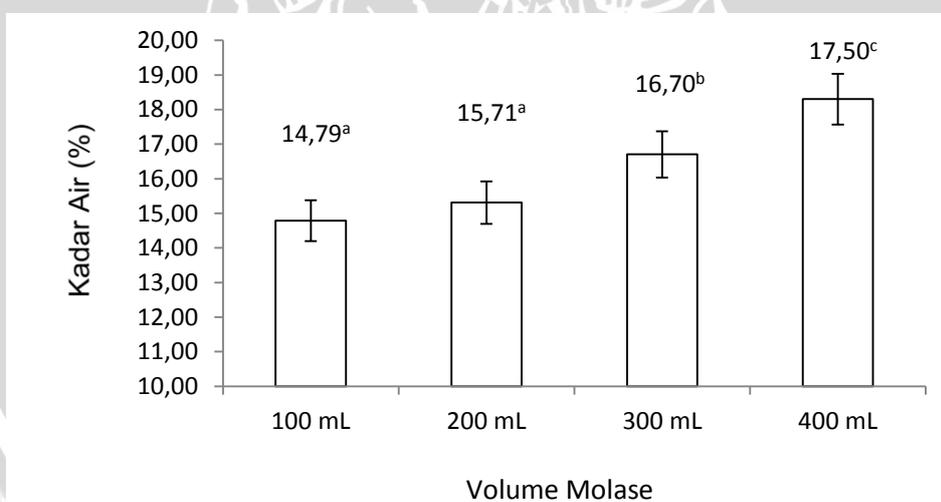
Gambar 9 dan Gambar 10 menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari waktu fermentasi dan volume molase yang berbeda. Pada kontrol, substrat belum terhidrolisis karena khamir tidak mempunyai waktu untuk menghidrolisis. Hidrolisat protein kerang hijau rebus tertinggi pada hari ke-3 dan penggunaan volume molase 400 mL. Sampai pada hari ke-12, rendemen pasta hidrolisat

protein mengalami penurunan. Hal ini disebabkan enzim protease dari khamir laut telah semakin banyak sehingga substrat bisa terurai sempurna dikarenakan enzim. Rosdianti (2008) mengatakan penggunaan volume enzim yang tinggi bisa menyebabkan aktivitas hidrolisis semakin menurun. Hal tersebut dapat terlihat dari berkurangnya laju hidrolisis.

4.2.2 Analisa Proksimat Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus

4.2.2.1 Kadar Air

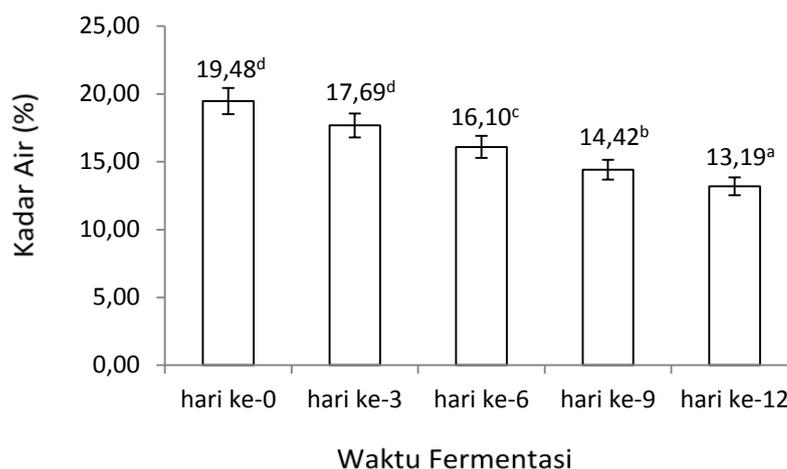
Volume molase dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar air hidrolisat protein kerang hijau rebus ($P < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data ada pada (Lampiran 7). Kadar air kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda ada pada Gambar 11 dan Gambar 12.



Gambar 11. Kadar Air Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 11 menunjukkan kadar air tertinggi berdasarkan volume molase terdapat pada perlakuan volume molase 400 mL. Sedangkan kadar air terendah ada pada perlakuan volume molase 100 mL. Hal ini disebabkan oleh kandungan air dari bahan baku dan molase yang tinggi. Penelitian Amalia (2007)

memaparkan kandungan air dalam daging kerang hijau mencapai 84,44%. Menurut Sari (2011) kandungan air molase bersifat tidak bisa dikristalkan yaitu sekitar 17 – 25%. Apabila penambahan volume molase semakin banyak, maka kadar air hidrolisat akan meningkat.

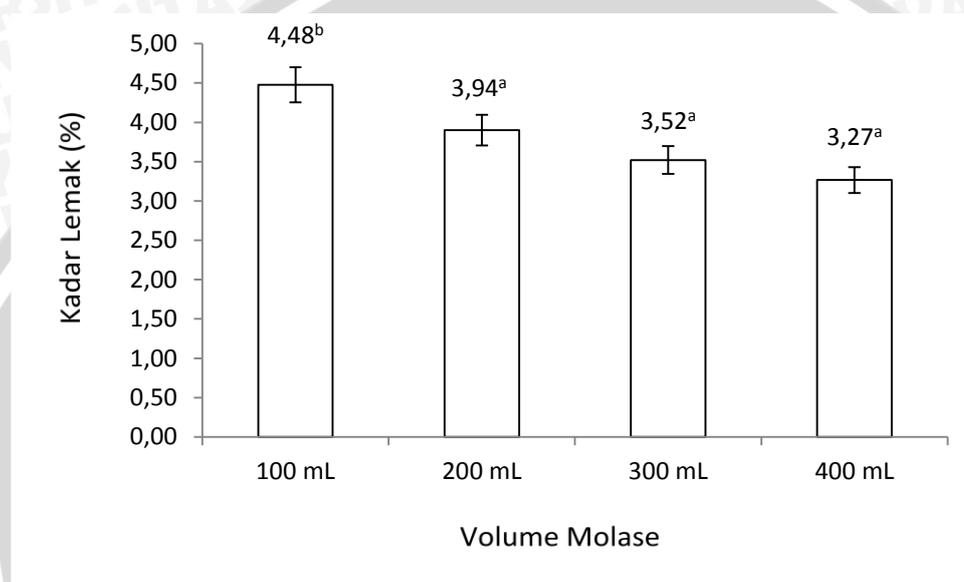


Gambar 12. Kadar Air Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 12 menunjukkan kadar air kontrol lebih tinggi daripada kadar air hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan perlakuan waktu fermentasi. Penurunan kadar air hidrolisat protein kerang hijau rebus terus terjadi sampai waktu fermentasi hari ke-12. Hal ini dimungkinkan selama hidrolisis oleh khamir laut terjadi pemecahan ikatan hidrogen dari protein kerang hijau yang akan menyebabkan molekul-molekul air yang dibebaskan semakin banyak. Menurut Hidayat (2005) enzim protease adalah enzim yang paling sering digunakan untuk mengkatalis reaksi hidrolisis protein. Ditambahkan oleh Widyasaputra dan Yuwono (2013) semakin lama perlakuan fermentasi maka kadar air produk akan semakin turun. Pada saat fermentasi akan terjadi hidrolisis daging kerang hijau rebus oleh khamir laut menjadi senyawa yang lebih sederhana disertai dengan pelepasan air.

4.2.2.2 Kadar Lemak

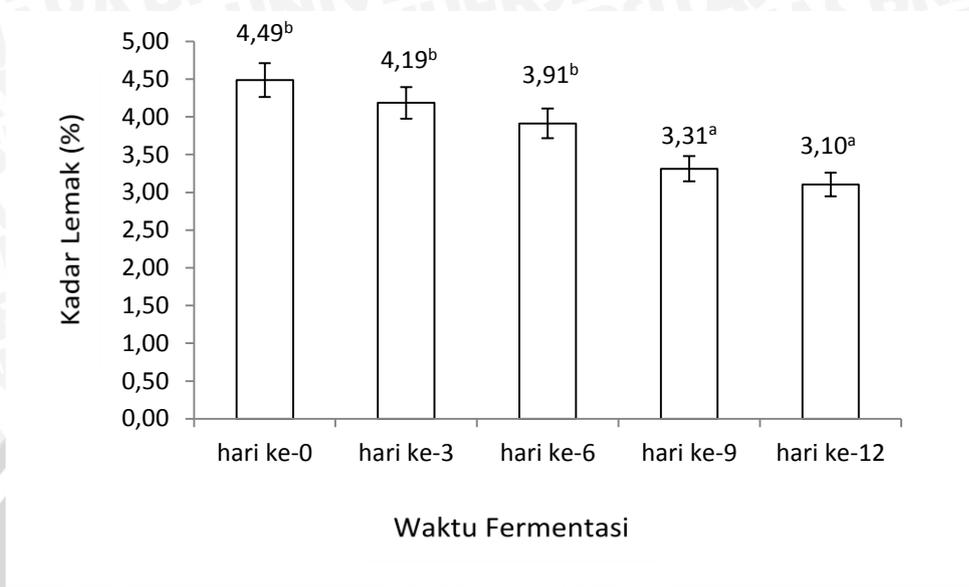
Volume molase dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar lemak hidrolisat protein kerang hijau rebus ($P < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data ada pada (Lampiran 8). Kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda ada pada Gambar 13 dan Gambar 14.



Gambar 13. Kadar Lemak Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 13 menunjukkan bahwa kadar lemak dengan volume yang berbeda mengalami penurunan pada molase 200 mL sampai 400 mL. Hal ini dimungkinkan karena sumber lemak yang berasal dari bahan baku kerang hijau rebus dan molase memiliki kandungan lemak yang sedikit. Sari (2014) melaporkan bahwa kandungan kadar lemak dari molase yaitu 0,05%. Ditambahkan oleh Amalia (2007) bahwa kandungan kadar lemak dari kerang hijau yaitu 2,56 %. Peningkatan volume molase berpengaruh terhadap penurunan kadar lemak. Hal ini dimungkinkan karena volume molase yang banyak maka khamir laut yang dapat tumbuh semakin banyak sehingga kemampuannya untuk menghidrolisis lemak juga tinggi. Khamir laut juga

mengandung enzim lipase yang berperan sebagai pendegradasi lemak menjadi gliserol dan asam lemak (Bharati, 2011).

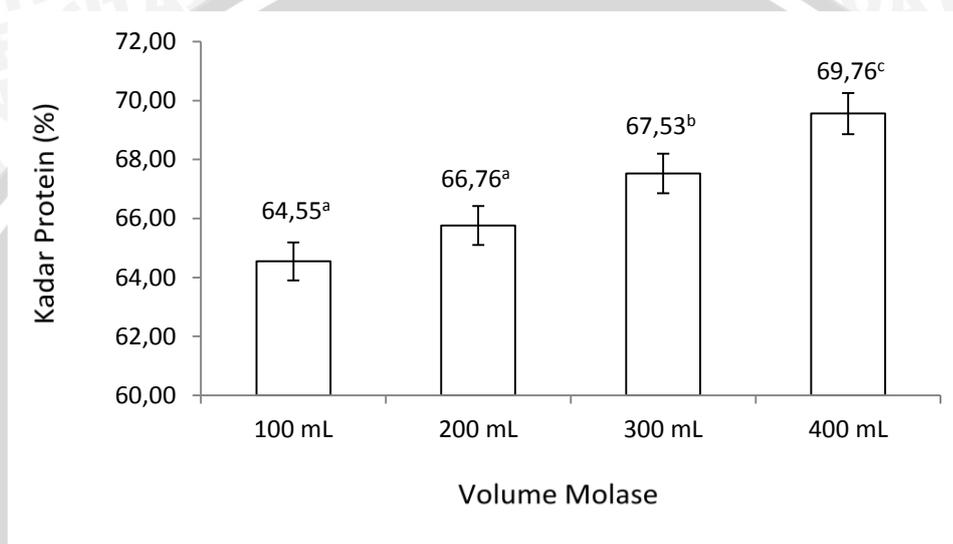


Gambar 14. Kadar Lemak Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 14 menunjukkan waktu fermentasi yang berbeda menyebabkan kadar lemak mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan peningkatan volume molase maka semakin banyak khamir laut yang dapat tumbuh sehingga kemampuan dalam menghidrolisis lemak juga tinggi. Kadar lemak tertinggi pada perlakuan volume molase 100 mL dengan lama fermentasi 3 hari. Sedangkan untuk kadar lemak terendah pada perlakuan volume molase 400 mL dengan lama fermentasi 12 hari. Pada khamir laut terdapat enzim lipase yang berfungsi untuk mengdegradasi lemak menjadi gliserol dan asam lemak (Bharati, 2011). Herawati (2004) menambahkan yaitu pada saat waktu fermentasi yang diberikan semakin lama, akan terjadi penurunan kandungan lemak. Hal ini disebabkan karena pada waktu fermentasi berlangsung, terjadi sintesa protein dari lemak.

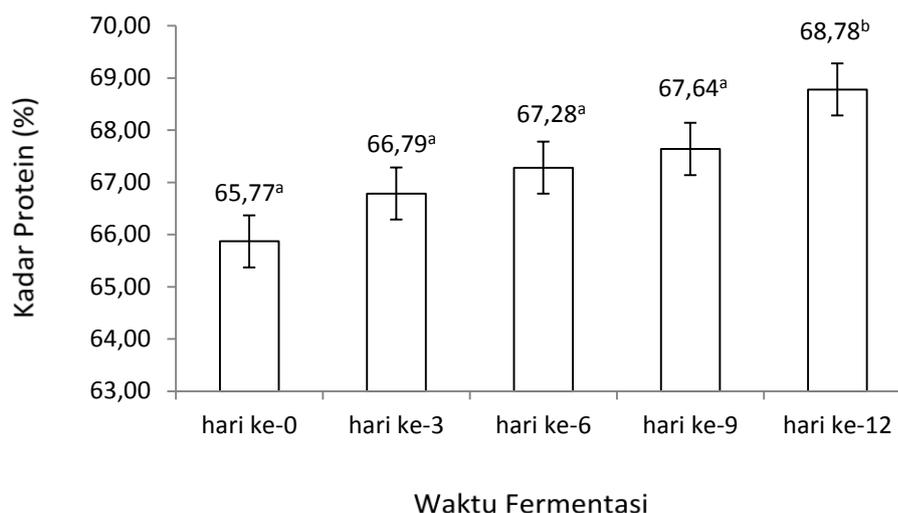
4.2.2.3 Kadar Protein

Volume molase dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar protein hidrolisat protein kerang hijau rebus ($P < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data ada pada (Lampiran 9). Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda ada pada Gambar 15 dan Gambar 16.



Gambar 15. Kadar Protein Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 15 menunjukkan bahwa kadar protein hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase 100 mL lebih rendah bila dibandingkan dengan volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL. Hal ini dimungkinkan karena kadar protein pada hidrolisat protein diperoleh dari kerang hijau, molase, dan khamir laut. Kandungan protein kerang hijau 11,75 % (Amalia, 2007), molase rebus 24,64% (Sari, 2014), dan khamir laut 28,29% (Sukoso, 2012).



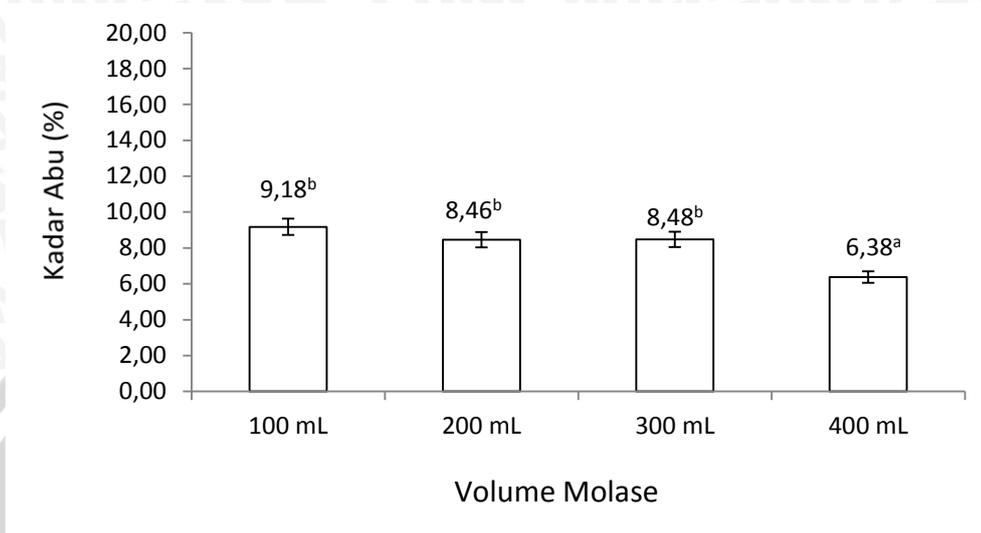
Gambar 16. Kadar Protein Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 16 menunjukkan waktu fermentasi yang berbeda menyebabkan peningkatan kadar protein hidrolisat protein kerang hijau rebus tiap perlakuan. Kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) lebih rendah bila dibandingkan kadar protein hidrolisat protein kerang hijau dengan waktu fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut pada substrat kerang hijau segar. Novianti (2007) menambahkan bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk pembelahan sel dan metabolismenya. Semakin lama fermentasi maka semakin tinggi protein, ini disebabkan terjadinya hidrolisis oleh enzim dari metabolit khamir laut. Bueno *et al.*, (2008) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar protein yang dihasilkan.

4.2.2.4 Kadar Abu

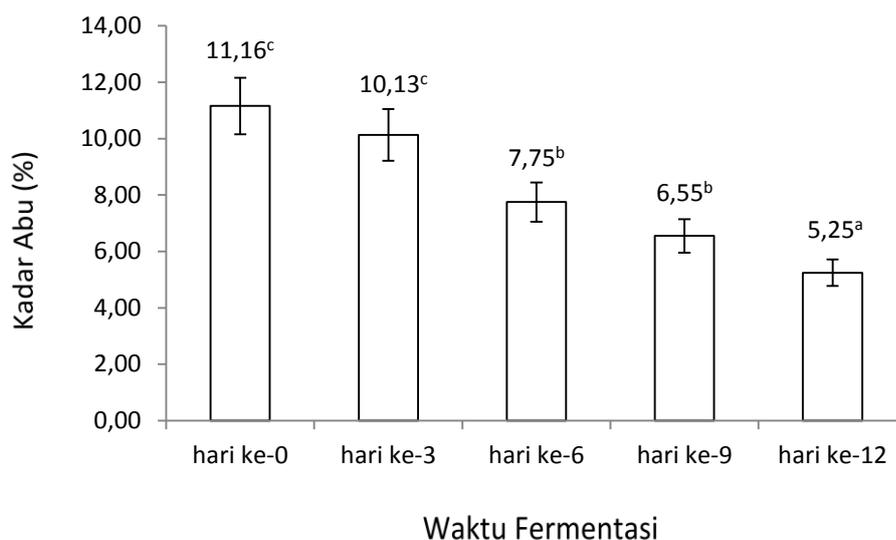
Volume molase dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar abu hidrolisat protein kerang hijau rebus ($P < 0,05$). Data pengamatan dan

analisis data ada pada (Lampiran 10). Kadar abu kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda ada pada Gambar 17 dan Gambar 18.



Gambar 17. Kadar Abu Hidrolisat Protein Kerang Hijau rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 17 menunjukkan bahwa kadar abu hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan perlakuan volume molase yang berbeda menunjukkan penurunan kadar abu. Rendahnya kadar abu pada hidrolisat protein kerang hijau rebus diperoleh dari kandungan abu bahan baku atau penunjang dari pembuatan hidrolisat protein kerang hijau seperti kerang hijau dan molase. Kandungan abu kerang hijau 1,25% (Amalia, 2007), kadar abu molase 4, 95% (Sari, 2014). Adanya penurunan kadar abu hidrolisat protein kerang hijau rebus antar perlakuan dimungkinkan sudah terjadi proses hidrolisis pada saat fermentasi berlangsung. Ditambahkan oleh Savitri (2011) bahwa semakin lama fermentasi menyebabkan kadar abu mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya penggunaan komponen mineral dari hidrolisat protein kerang hijau rebus oleh khamir laut sehingga kadar abu cenderung berkurang.

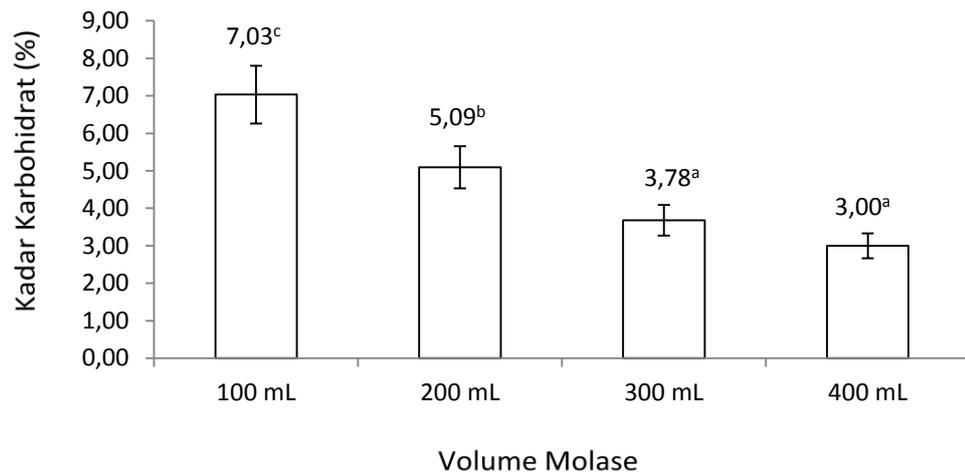


Gambar 18. Kadar Abu Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 18 menunjukkan waktu fermentasi yang berbeda menyebabkan kadar abu turun. Kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan kadar abu hidrolisat protein kerang hijau dengan perlakuan waktu fermentasi. Adanya penurunan kadar abu hidrolisat protein kerang hijau antar perlakuan dimungkinkan telah terjadi proses hidrolisis pada saat fermentasi berlangsung. Sebagian besar kadar abu termasuk zat anorganik atau unsur mineral (Arifin, 2008). Bueno *et al.*, (2008) melaporkan bahwa semakin lama fermentasi kadar abunya juga semakin rendah.

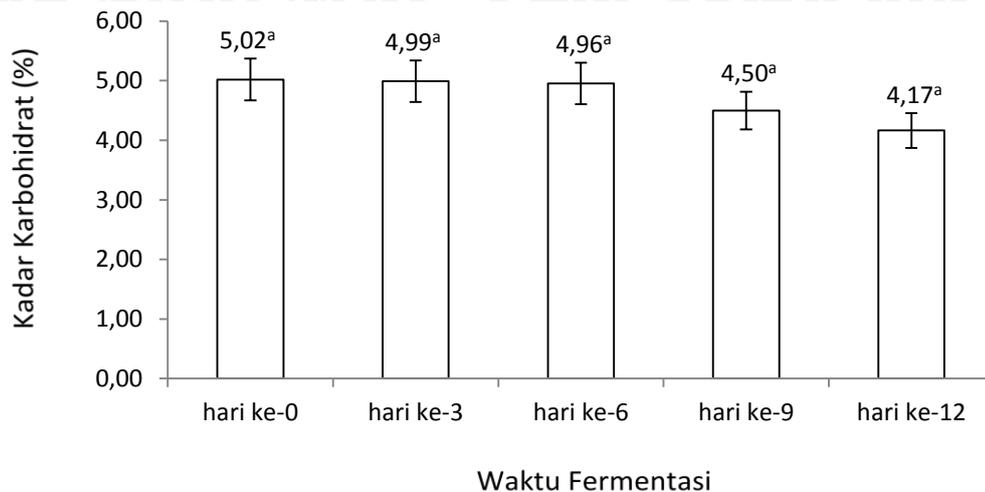
4.2.2.5 Kadar Karbohidrat

Volume molase dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus ($P < 0,05$). Data pengamatan dan analisis data ada pada (Lampiran 11). Kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda ada pada Gambar 19 dan Gambar 20.



Gambar 19. Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 19 menunjukkan bahwa kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase yang berbeda mengalami penurunan. Penurunan kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus antar perlakuan karena proses hidrolisis oleh khamir laut. Septiani *et al.*, (2004) menyatakan bahwa karbohidrat merupakan gula reduksi dari hasil fiksasi CO₂ (reaksi gelap) oleh tanaman. Contoh bahan yang mengandung gula reduksi menurut Sari (2011) yaitu molase. Molase mengandung gula reduksi total yaitu 10-25%. Kurniati (2012) menyatakan bahan organik seperti pati / gula reduksi digunakan untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan mikroorganisme. Sehingga kandungan bahan organik mengalami penurunan selama fermentasi.

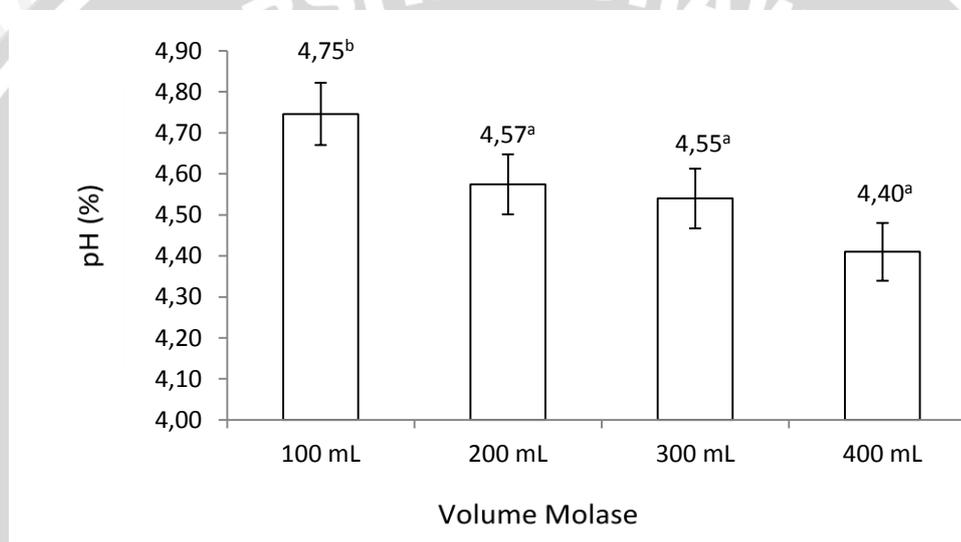


Gambar 20. Kadar Karbohidrat Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 20 menunjukkan bahwa kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan perlakuan waktu fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis atau degradasi terhadap gula-gula reduksi pada bahan baku kerang hijau rebus sehingga kadar karbohidrat masih tinggi. Adanya penurunan kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan waktu yang berbeda karena proses hidrolisis oleh khamir laut, dimungkinkan turunnya kadar karbohidrat ini akan meningkatkan bahan organik lain seperti protein. Savitri (2011) menjelaskan bahwa kadar karbohidrat condiment kupang putih menurun seiring lama fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa selama fermentasi terjadi pemecahan gula dari molase oleh khamir laut sebagai sumber energi dalam menghidrolisis hidrolisat protein kerang hijau rebus.

4.2.3 Analisis Derajat Keasaman (pH)

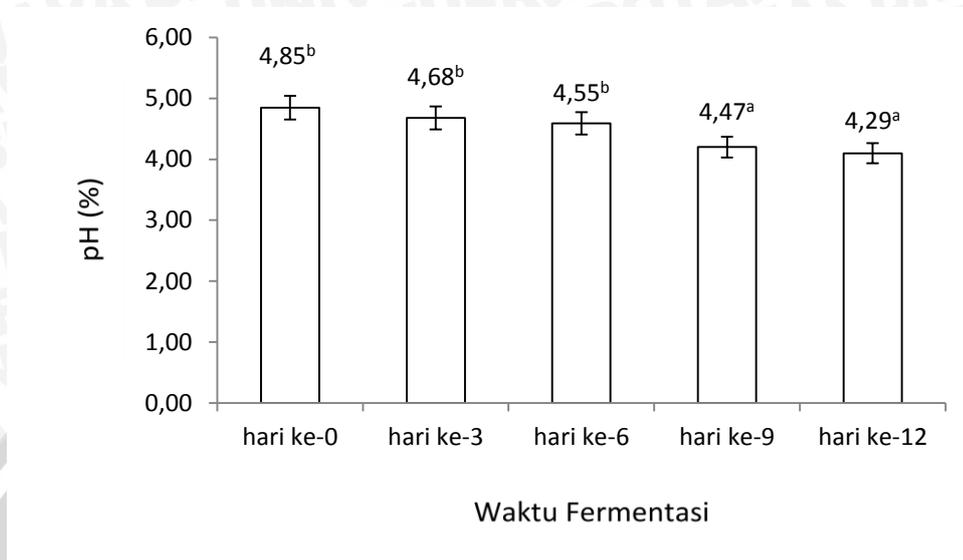
Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda (Lampiran 12) menunjukkan bahwa interaksi antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap pH hidrolisat protein kerang hijau rebus. pH kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 21 dan Gambar 22.



Gambar 21. pH Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 21 menunjukkan bahwa pH hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase yang berbeda mengalami penurunan. Adanya penurunan pH antar perlakuan menunjukkan bahwa hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan perlakuan mengalami pemecahan protein menjadi senyawa volatile, seperti NH_3 . Fidianty *et al.*, (2014) menjelaskan bahwa penurunan pH dapat disebabkan oleh pembentukan produk CO_2 selama fermentasi. Semakin banyak CO_2 yang dihasilkan, maka hidrokarbon yang terbentuk juga semakin tinggi sehingga dapat membentuk asam bikarbonat dan melepas ion H^+ . Tingginya ion H^+ yang dihasilkan dapat mempengaruhi

keasaman selama proses fermentasi. Hal ini ditandai dengan penurunan pH selama proses fermentasi.

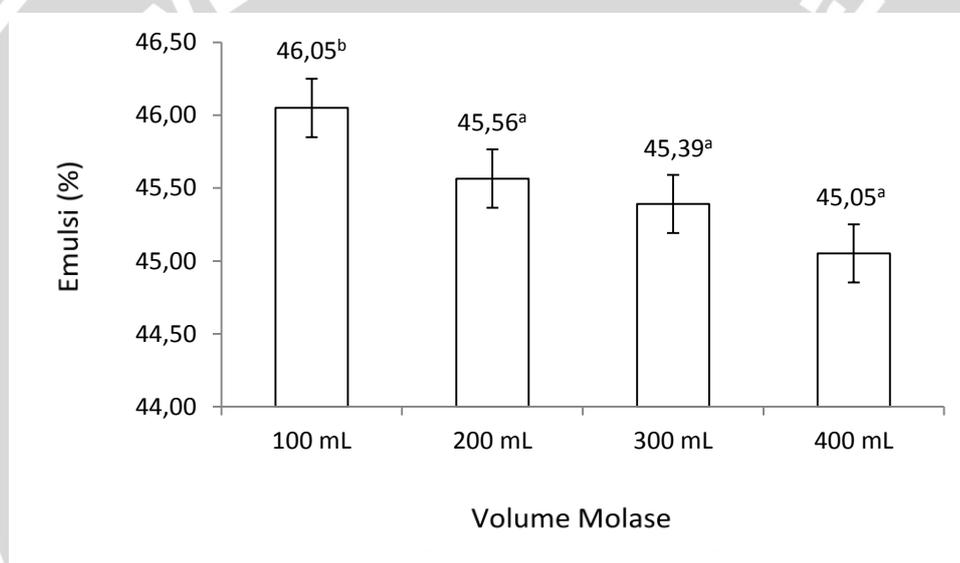


Gambar 22. pH Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 22 menunjukkan bahwa pH kontrol (fermentasi 0 hari) bila dibandingkan pH hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan lama waktu yang berbeda tidak terlalu berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi fermentasi yang menghasilkan asam-asam atau alkohol hasil dari degradasi/hidrolisis sehingga pH masih tinggi atau medekat netral. Simbolon (2008) menyatakan bahwa asam atau alkohol terbentuk akibat degradasi dari karbohidrat oleh khamir. Semakin tinggi presentase khamir yang ditambahkan saat fermentasi memicu tingginya asam yang terbentuk. Selain itu Hidayat (2005) menambahkan nilai pH dan waktu optimum didasarkan atas dengan sifat atau keadaan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam proses hidrolisis. Sukoso (2012) menjelaskan 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.

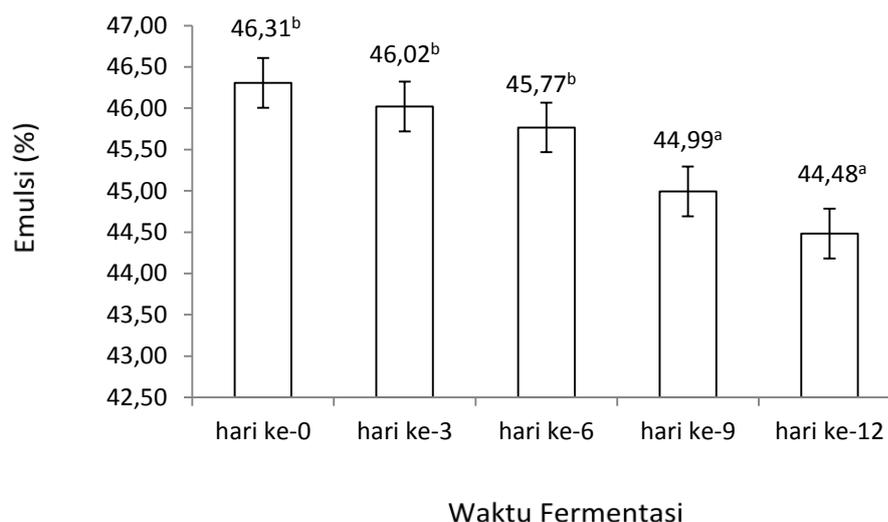
4.2.4 Analisis Emulsi

Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap emulsi hidrolisat protein kerang hijau rebus. Emulsi kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 23 dan Gambar 24.



Gambar 23. Emulsi Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 23 memperlihatkan bahwa emulsi hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase yang berbeda mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan karena belum mengalami hidrolisis yang akan menghasilkan asam-asam amino. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa asam amino hasil hidrolisis sebagian akan terserap oleh minyak yang memicu kestabilan emulsi pada jangka waktu fermentasi.



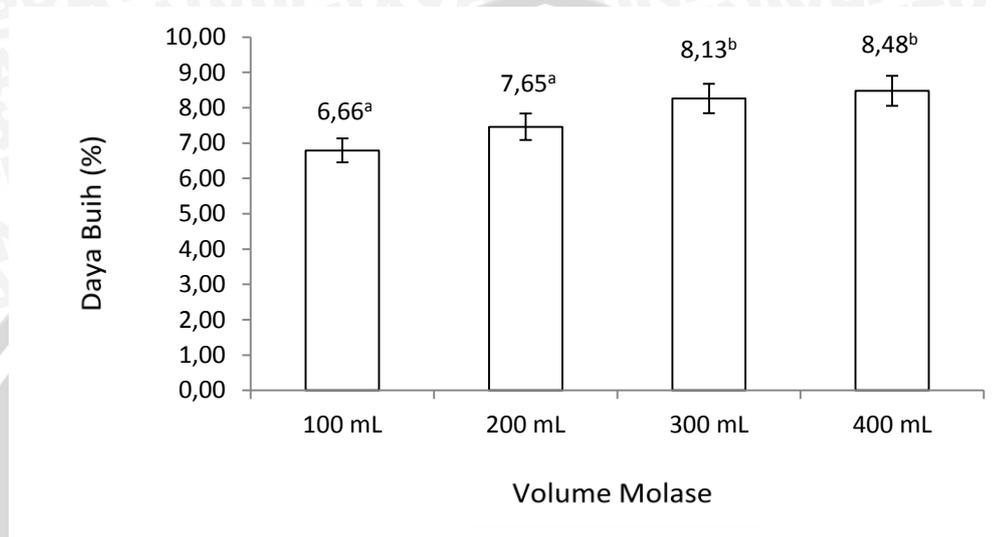
Gambar 24. Emulsi Kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 24 memperlihatkan bahwa emulsi kontrol lebih tinggi bila dibandingkan emulsi hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan perlakuan waktu fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena hidrolisat protein kontrol memiliki asam-asam amino yang lebih banyak. Asam amino ini memiliki gugus polar (hidrofilik) dan gugus non polar (hidrofobik). Oleh karena itu, gugus polar asam amino akan berikatan dengan gugus non polar dari minyak, sehingga terbentuknya emulsi. Rieuwpassa *et al.* (2013) dan Chalamaiah *at al.* (2011) menyatakan bahwa kapasitas emulsi disebabkan oleh kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak yang berikatan dengan keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik asam amino. Tingginya asam amino kontrol akan berpengaruh pada tingginya asam amino yang terbentuk.

4.2.5 Analisis Daya Buih

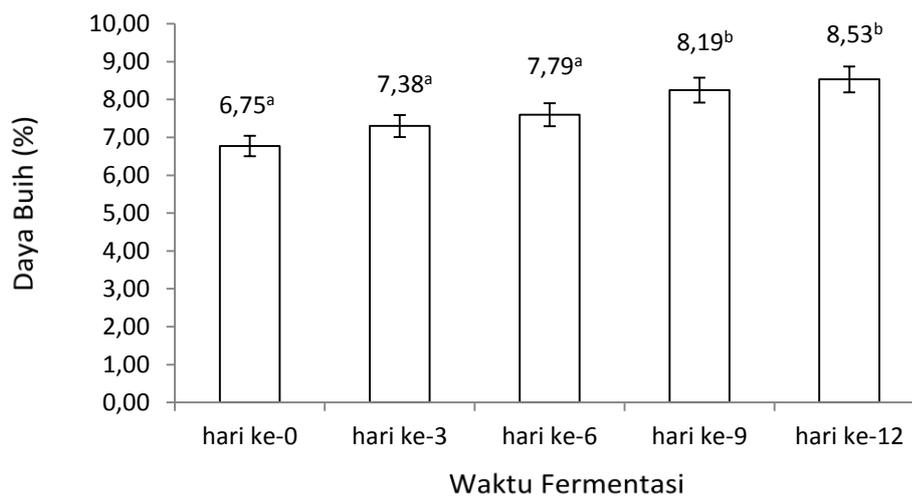
Data pengamatan dan analisis data daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda (Lampiran 14) menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$)

terhadap daya buih hidrolisat protein kerang hijau rebus. Daya buih kontrol dan hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 25 dan Gambar 26.



Gambar 25. Buih Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 25 menunjukkan bahwa daya buih hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan penambahan volume molase yang berbeda mengalami peningkatan. Hal ini dimungkinkan karena terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi.



Gambar 26. Buih kontrol dan Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Pada Berbagai Waktu Fermentasi

Gambar 26 memperlihatkan buih tertinggi pada perlakuan waktu fermentasi 12 hari. Sedangkan untuk buih terendah pada perlakuan waktu fermentasi 3 hari. 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. Purbasari (2008) menambahkan bahwa kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi, tekstur substrat, enzim, pH dan suhu.

4.2.6 Analisa Kimia Produk

Mengacu dari hasil penelitian inti diperoleh kandungan protein tertinggi yaitu 72,16% pada volume molase 400 mL dan lama fermentasi 12 hari. Perbandingan komposisi kimia hidrolisat protein kerang hijau rebus tertinggi dengan bahan baku dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus Tertinggi dan Kerang Hijau Rebus

Komposisi Kimia	Nilai rata-rata (%)	
	Kerang hijau Rebus	Pasta Hidrolisat Protein Kerang hijau Rebus
Kadar air	79,95	14,09
Kadar abu	1,14	9,52
Kadar protein	12,18	72,16
Lemak	2,83	2,31
Karbohidrat	3,9	1,92

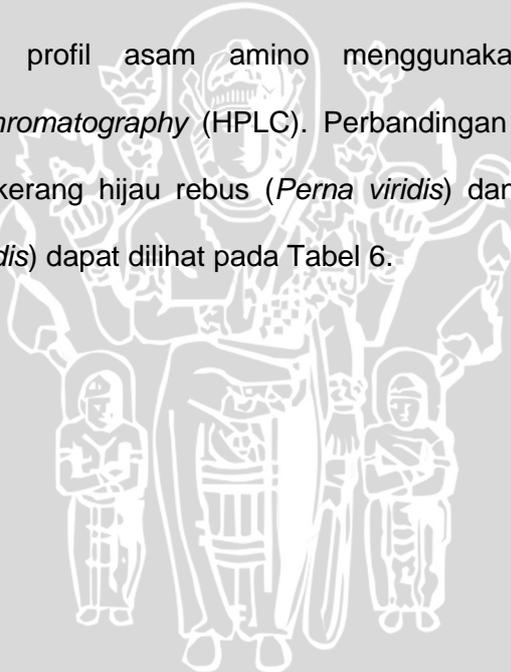
Pada Tabel 5 terlihat adanya penurunan kadar air hidrolisat protein kerang hijau rebus dari kadar air bahan baku awalnya. Hal ini dimungkinkan karena bahan baku telah mengalami proses hidrolisis saat fermentasi berlangsung dan adanya proses pengeringan menggunakan *vacum drayer* sehingga kadar air hidrolisat turun. Kadar abu hidrolisat protein kerang hijau rebus mengalami peningkatan dibandingkan bahan baku. Hal ini dimungkinkan karena adanya bahan tambahan dari molase yang digunakan. Menurut Pangesti *et al.*, (2012), kandungan abu dalam molase sebesar 8%.

Pada kadar protein terjadi peningkatan setelah menjadi hidrolisat protein kerang rebus. Hal ini dimungkinkan karena perombakan substrat (hidrolisis) oleh protease khamir laut dan kandungan protein tambahan dari khamir laut sendiri yang merupakan protein sel tunggal. Menurut Purbasari (2008) hidrolisis protein oleh enzim adalah proses pembebasan asam amino oleh protease. Sukoso (2012) memaparkan bahwa kandungan protein dalam khamir laut sekitar 28,29%

dan khamir laut memiliki beberapa enzim antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Pada kadar lemak dan karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus mengalami penurunan yang dimungkinkan karena dimanfaatkan khamir laut untuk metabolisme tubuhnya dan sumber energi dalam menghidrolisis kerang hijau rebus.

4.2.7 Profil Total Asam Amino Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus

Hasil analisis kandungan protein tertinggi hidrolisat protein kerang hijau rebus terdapat pada formula molase 400 mL dan waktu fermentasi 12 hari selanjutnya dianalisis profil asam amino menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Perbandingan kandungan asam amino hasil hidrolisat kerang hijau rebus (*Perna viridis*) dan hidrolisat kerang hijau rebus (*Mytilus viridis*) dapat dilihat pada Tabel 6.



Tabel 6. Perbandingan Kandungan Asam Amino Hidrolisat Protein Kerang Hijau Rebus (*Perna viridis*) dan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*)

Jenis Asam Amino	Kandungan Asam Amino Hidrolisat Protein (%)	
	Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i>)	Kerang Hijau (<i>Mytilus viridis</i>) ¹
Esensial		
Lisin	0,18	1,234
Arginin	0,13	1,118
Leusin	0,21	1,876
Valin	0,17	1,600
Isoleusin	0,15	0,925
Treonin	0,10	0,790
Phenilialanin	0,14	0,687
Histidin	0,08	1,600
Methionin	0,07	0,764
Triptofan	-	-
Non Esensial		
As. Aspartat	0,90	1,889
As. Glutamat	4,27	5,546
Serin	0,13	1,021
Glisin	0,50	1,079
Alanin	0,58	0,976
Prolin	0,40	0,610
Tirosin	0,08	0,938
Sistin	-	-
Total	8,09	22,653

Sumber : ¹ Amalia (2007).

Pada Tabel 8 memperlihatkan bahwa hidrolisat protein kerang hijau rebus memiliki 16 jenis asam amino. Hal tersebut menunjukkan bahwa asam amino pada hidrolisat protein kerang hijau rebus diperoleh hampir semua jenis kecuali sistin dan triptofan. Menurut hasil penelitian Nurjanah *et al.*, (2008) bahwa asam amino triptofan akan mengalami kerusakan selama proses hidrolisis asam berlangsung. Asam amino ini hanya dapat dianalisis dengan menggunakan proses hidrolisis basa. Asam amino yang tidak teridentifikasi (seperti: sistin) dimungkinkan karena kandungan asam amino tersebut sangat rendah sehingga tidak terdeteksi atau telah terjadi kerusakan pada saat hidrolisis, pengeringan.

Asam amino jenis glutamat mempunyai jumlah lebih tinggi daripada asam amino lainnya pada hidrolisat protein kerang hijau rebus. Hal ini dimungkinkan asam glutamat adalah jenis asam amino hidrofilik (polar) sehingga adanya perebusan akan meningkatkan jumlahnya. Selain itu juga dimungkinkan karena hidrolisat kerang hijau telah mengalami hidrolisis oleh khamir laut yang akan menambah jumlahnya. Hidayat (2005), menjelaskan bahwa pada umumnya kandungan asam amino non esensial yang paling banyak ditemukan adalah asam glutamat, asam aspartat, alanin, dan taurin. Asam glutamat merupakan komponen penting dalam pembentukan cita rasa pada makanan hasil laut sehingga makanan terasa lebih gurih.

Hidrolisat protein kerang hijau (*Perna viridis*) rebus memiliki kandungan asam amino yang lebih rendah daripada hidrolisat protein kerang hijau (*Mytilus viridis*). Hal ini dimungkinkan enzim dari khamir laut yang digunakan memiliki kemurnian yang masih rendah sehingga kemampuan dalam menghidrolisis substrat menjadi asam amino menjadi terhambat, sedangkan pada penelitian Amalia (2007) menggunakan enzim papain yang memiliki kemurnian yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan enzim khamir laut yang digunakan pada pembuatan hidrolisat protein kerang hijau (*Perna viridis*) rebus. Menurut Akili (2012) enzim dari khamir laut masih memiliki tingkat kemurnian yang rendah dan adanya inhibitor pada enzim tersebut menyebabkan rendahnya kemampuan dalam menghidrolisis bahan. Selain itu, perbedaan bahan baku juga dimungkinkan dapat menyebabkan berbedanya asam amino yang dihasilkan.

4.2.8 Analisis Derajat Hidrolisis

Pada proses hidrolisis berlangsung pemisahan gugus-gugus amida yang terdapat didalam 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. Gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat didalam substrat. Akibatnya, gugus amin pada substrat terdifusi dan kedudukannya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim kedalam 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) menambahkan bahwa pada tahap awal proses hidrolisis, enzim akan diserap kedalam suspensi partikel substrat kemudian didalamnya 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 α -amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN) maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai

pendek termasuk senyawa α -amino nitrogen, derajat hidrolisisnya akan menjadi semakin tinggi. Derajat hidrolisis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi enzim, waktu hidrolisis, dan jenis enzim yang digunakan.

Proses hidrolisis hidrolisat protein kerang hijau rebus menghasilkan derajat hidrolisis antara 5,14 % – 5,88 %. Nilai derajat hidrolisis terkecil terdapat pada perlakuan hari ke 0 sebesar 5,14% dan nilai derajat hidrolisis tertinggi terdapat pada perlakuan hari ke-12 yaitu sebesar 5,88%. Dari hasil pengujian derajat hidrolisi hidrolisat protein kerang hijau rebus mengalami peningkatan, hal ini dimungkinkan dari jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Karena derajat hidrolisis diukur dari perbandingan α -amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN) maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek termasuk senyawa α -amino nitrogen, derajat hidrolisisnya menjadi semakin tinggi.

