

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein adalah hasil hidrolisis protein oleh enzim yang mengandung peptida dengan berat molekul lebih rendah dan asam amino bebas. Pembuatan hidrolisat protein merupakan salah satu cara untuk menambah sumber protein yang kaya dengan asam amino (Purbasari, 2008). Menurut Haslaniza, (2010), hidrolisis protein adalah protein yang mengalami degradasi hidrolitik (larut) dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida.

Dipaparkan oleh Koesoemawardaniet *al.*, (2011), mengenai hidrolisat protein ikan rucah menggunakan enzim papain perlakuan awal bahan baku ikan rucah dipanaskan pada suhu 60 °C selama 15 menit. Konsentrasi enzim yang dipakai untuk menghasilkan hidrolisat protein ikan rucah terbaik adalah 5%, T = 60 °C, pH = 6,5. Selanjutnya diinkubasi setengah jam memperoleh nilai protein terlarut dan daya buih yang lebih tinggi yaitu sebesar 24,97% dan 9,63%, sedangkan pada waktu inkubasi satu jam menghasilkan kapasitas pengikatan lemak yang lebih tinggi yaitu sebesar 5,03%. Sedangkan dari penelitian Amalia (2007), mengenai hidrolisat protein kerang hijau menguraikan bahwasannya konsentrasi enzim papain 5 %, pH 6, dan waktu hidrolisis 24 jam adalah kondisi optimum untuk hidrolisis protein kerang hijau (*Mytilus viridis*). Komposisi kimia hidrolisat protein ikan *Sardinella* dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Komposisi kimia hidrolisat protein ikan *Sardinella*

No	Parameter	Jumlah (%)
1.	Kadar protein	75,01
2.	Kadar Lemak	8,53
3.	Kadar Abu	12,10
4.	Kelembaban	1,35
5.	DH ( <i>Degree of hydrolysis</i> )	10,16
6.	Total nitrogen	6,25
7.	pH	3.0-10.0
8.	Daya larut	50,00
9.	Buih	6,62
10.	Absorpsi lemak	9,31
11.	Kapasitas emulsi	5,20
12.	Daya hambat dari asam linolik peroksida	80,00
13.	Aktivitas antioksidatif	59,00

Sumber: Souissi *et al.*, (2007).

Hidrolisat protein masih berpotensi dikembangkan oleh para peneliti dari tahun ketahun melihat nilai gizi produk hasil hidrolisat yang tinggi. Hidrolisat telah sering dimanfaatkan untuk penyedap makanan seperti kaldu, keju, biskuit dan lain-lain (Widyasari, 2000). Ditambahkan oleh Haslina (2012), yaitu pengkayaan patilo (makanan jajanan) dengan hidrolisat protein ikan mujair telah terjadi peningkatan kadar protein patilo hingga mencapai 6 kali lipat dan daya cerna makanan tinggi. Menurut Hidayat (2005), hidrolisis protein akan menambah kepolaran protein sehingga molekul protein yang tidak larut dalam air akan larut dengan adanya proses hidrolisis. Hal ini akan menyebabkan kadar  $\alpha$ -amino nitrogen bebas naik. Semakin tinggi nilai  $\alpha$ -amino nitrogen bebas pada hidrolisis berarti proses hidrolisis berjalan dengan baik.

## 2.2 Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Kerang hijau biasa hidup di laut tropis seperti Indonesia terutama di perairan pantai, perairan teluk, estuaria, mangrove dan muara-muara sungai yang perairannya lumpur berpasir dengan cahaya cukup serta kadar garam yang tidak terlalu tinggi (Setyobudiandi, 2000). Kerang hijau hidup menempel secara

bergerombol pada substrat keras seperti kayu, bambu, batu, tanggul-tanggul pelabuhan, karang dengan menggunakan *byssus* (Prasetyo, 2009).

Klasifikasi *Perna viridis* menurut Cappenberg (2008) adalah sebagai berikut:

Kerajaan (Kingdom)	: Animalia
Filum (Phylum)	: Moluska
Kelas (Class)	: Bivalvia
Sub kelas (Sub Class)	: Lamellibranchiata
Bangsa (Ordo)	: Anisomyria
Induk suku(Superfamily)	: Mytilacea
Suku (Family)	: Mytilidae
Anak suku (Sub family)	: Mytilinae
Marga (Genus)	: <i>Perna</i>
Jenis (species)	: <i>Perna viridis</i>



Gambar 1. Kerang Hijau

Kerang hijau termasuk dalam jenis hewan penyaring (*filter feeder*), dilihat dari cara mendapatkan makanannya adalah dengan memompa air melalui rongga mantel sehingga mendapatkan partikel-partikel yang ada dalam air. Mikroalgae merupakan makanan utama dari kerang hijau (*Perna viridis*) sedangkan makanan tambahannya berupa zat organik terlarut dan bakteri (Liliandari dan Aunurohim, 2013).

Jenis kerang hijau telah disukai masyarakat untuk dikonsumsi sehari-hari karena memiliki rasa daging yang enak dan nilai gizinya yang baik. Dilaporkan oleh Amalia (2007), dalam daging kerang hijau (*Mytilus viridis*) mengandung air 84,44%, protein 11,75%, lemak 2,56%, abu 1,25% dan total nitrogen 1,87%.

Dalam penelitian ini dilakukan proses pemanasan (perebusan) terhadap kerang hijau. Menurut Koesoemawardani *et al.*, (2011), pemanasan dengan aquadest dan ikan pada suhu 60 °C selama 15 menit bertujuan untuk menginaktifkan enzim ikan (pasteurisasi). Ditambahkan oleh Bartono dan Buffino (2006), perebusan adalah pemanasan bahan kedalam panci yang berisi air mendidih dengan suhu 100 °C.

Suhu perebusan kerang hijau yaitu 100 °C selama 15 menit. Menurut Irma *et al.*, (1997), perebusan bertujuan untuk mendapatkan tekstur kerang hijau yang lunak sehingga mempermudah penghalusan akan tetapi tidak menghilangkan kandungan gizi kerang hijau.

### 2.3 Fermentasi

Fermentasi bahan pangan adalah hasil aktifitas beberapa jenis mikroorganisme dari bakteri, khamir dan kapang. Mikroorganisme fermentasi bahan pangan dapat menghasilkan perubahan yang diinginkan (produk-produk fermentasi) dan perubahan yang tidak diinginkan (kerusakan bahan pangan). Bakteri asam laktat, asam asetat, dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol adalah starter (komponen terpenting) dalam proses fermentasi (Suprihatin, 2010). Ditambahkan Desrosier (1988), khamir merupakan salah satu organisme bersel tunggal dengan bentuk kehidupan yang lengkap sehingga khamir memiliki produktivitas enzim dan kapasitas fermentatif yang lebih tinggi dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya (bakteri dan cendawan).

Teknologi fermentasi merupakan salah satu cara pengolahan dan pengawetan makanan, baik secara konvensional maupun modern dengan memanfaatkan mikroba. Pada proses fermentasi, mikroba maupun enzim yang dihasilkan menciptakan cita rasa (flavor) yang spesifik (khas fermentasi), meningkatkan nilai cerna bahan pangan, menurunkan kandungan senyawa anti gizi atau bahan lain yang tidak dikehendaki dan dapat menghasilkan produk atau senyawa turunan yang bermanfaat bagi manusia (Misgiyarta dan Widowati, 2003).

Khamir telah sering dipergunakan dalam suatu proses industri pangan seperti produk fermentasi karena khamir merupakan salah satu mikroorganisme yang memiliki protein sel tunggal. Khamir laut memproduksi enzim protease yaitu

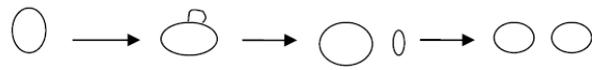
untuk menghidrolisis substrat fermentasi. Menurut Winarno (2007), khamir mempunyai protein cukup tinggi yaitu ( $N \times 6.25$ ) atau sebesar 40 – 48% protein kasar. Disamping itu khamir juga mampu menghasilkan enzim protease yang dapat digunakan untuk mendegradasi protein pada substrat saat proses fermentasi berlangsung.

Khamir dapat memanfaatkan heksosa monosakarida seperti glukosa, fruktosa, mannose dan galaktosa sebagai substrat pertumbuhan. Senyawa karbon dari jenis-jenis monosakarida seperti glukosa, galaktosa dan fruktosa dapat diasimilasi lebih cepat dibandingkan dengan disakarida yang lebih kompleks dari monosakarida. Akibat perbedaan susunan kimiawinya akan berpengaruh terhadap kecepatan proses katabolisme senyawa karbon untuk segera bias dimanfaatkan khamir (Sukoso, 2012).

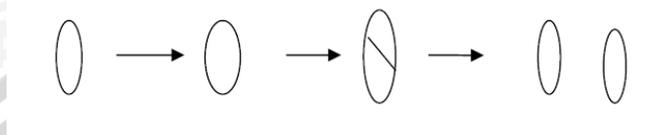
#### 2.4 Khamir Laut

Khamir laut bereproduksi secara vegetatif yaitu dengan cara pertunasan. Khamir laut adalah mikroorganisme bersel tunggal tumbuh dan berkembang biak lebih cepat dibandingkan kapang yang tumbuh dengan membentuk filamen. Khamir lebih efektif dalam menguraikan komponen kimia dibandingkan kapang karena memiliki luas permukaan dan volume yang lebih besar. Khamir mudah dibedakan dari bakteri karena ukurannya yang lebih besar dan morfologinya yang berbeda (Fardiaz, 1992). Dijelaskan oleh Suprihatin (2010), khamir tidak membentuk spora aseksual seperti kapang, siklus pertumbuhannya secara vegetatif dan khamir pada umumnya memiliki bentuk sel tunggal. Khamir tumbuh dengan cara membentuk tunas (*budding*) atau membelah (*fission*), atau campuran dari pertunasan dan pembelahan (*bud-fission*).

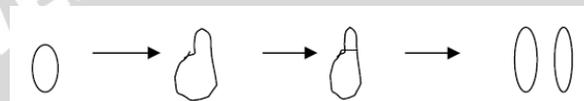
Pertunasan



Pembelahan



Pertunasan dan Pembelahan



Gambar 2. Perkembangbiakan Khamir Laut

Khamir memiliki ukuran tubuh yang beragam yaitu antara 1 sampai 5  $\mu\text{m}$ , lebar dan panjang 5 sampai 30  $\mu\text{m}$ , bentuk oval tetapi ada beberapa yang memanjang atau berbentuk bola (Pelczar, 1986). Khamir menyukai kondisi untuk tumbuh pada keadaan asam yaitu pH 4-4,5 akan tetapi tidak dapat tumbuh baik dalam media alkali, kecuali telah beradaptasi. Beberapa khamir dapat tumbuh suhu 0  $^{\circ}\text{C}$  atau kurang, suhu optimum pertumbuhan khamir 25 $^{\circ}\text{C}$ -30 $^{\circ}\text{C}$  dan suhu maksimum 35  $^{\circ}\text{C}$  – 47  $^{\circ}\text{C}$  (Sukoso, 2012). Dijelaskan oleh Fardiaz (1992) dinding sel khamir mengandung beberapa komponen antara lain:

- Glukan khamir atau selulosa khamir. Komponen ini terdiri dari polimer glukosa dengan ikatan beta-1,3 dan beta-1,6 (selulosa memiliki ikatan beta-1,4 dan beta-1,6). Gluka adalah komponen terbesar dari dinding sel khamir. Pada *Saccharomyces cerevisiae* terdapat 30-35% dari berat kering dinding sel.
- Mannan, adalah polisakarida yang terdiri atas unit D-mannosa dengan ikatan alfa-1,6, alfa-1,2 dan alfa-1,3. Pada *Saccharomyces cerevisiae*

polimer ini adalah komponen terbanyak kedua setelah glukana, yaitu sekitar 30% dari berat kering dinding sel.

- Protein, adalah komponen dinding sel khamir dengan jumlah relatif konstan yaitu 6-8% dari berat kering dinding sel. Protein yang terdapat pada dinding sel termasuk juga enzim yang memecah substrat yang akan diserap. Misalnya invertase dan hidrolase.
- Khitin, adalah suatu polimer linear dari N-asetilglukosamin dengan ikatan beta-1,4. Khitin yang terdapat pada dinding sel khamir mirip khitin yang ada pada skeleton luar serangga, tetapi derajat polimerisasinya lebih kecil sehingga mudah larut. Jumlah khitin dalam sel khamir bervariasi tergantung jenis khamir, misalnya 1-2% pada *Saccharomyces cerevisiae*, lebih dari 2% pada *Nadsonia*, *Rhodotorulla*, *Sporobolomyces*, dan khamir berfilamen yaitu *Endomyces*, sedangkan *Schizosaccharomyces* tidak mengandung khitin.
- Lipid hanya ada dalam jumlah 8,5-13,5% yang mungkin lebih rendah pada beberapa spesies.

Fase-fase pertumbuhan mikroorganisme meliputi fase adaptasi, fase pertumbuhan awal (lag), fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan cepat (logaritmik), fase stasioner, fase menuju kematian dan fase kematian. Dalam memaksimalkan hidrolisis protein kerang hijau banyaknya khamir laut akan sangat berpengaruh terhadap produk, sehingga pada proses kultur khamir ditetapkan waktu fase logaritmik untuk diambil khamir digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein. Berdasarkan penelitian Singh (2006), fase lag terjadi sebelum menit ke-90, kemudian populasi khamir mulai meningkat cepat dan akan memasuki fase eksponensial. Fase eksponensial adalah fase pertumbuhan cepat sel yang disebabkan sel telah mensintesis enzim-enzim yang

dibutuhkan untuk pertumbuhan selnya. Awal fase eksponensial terjadi pada saat jumlah sel telah melebihi 2x lipat dari jumlah awalnya dan terus meningkat selama nutrisi pada medium masih tersedia.

## 2.5 Molase

Karbohidrat merupakan sumber energi tradisional pada industri fermentasi. Glukosa dan Sukrosa jarang dimanfaatkan sebagai sumber karbon karena harganya mahal, sedangkan diketahui limbah industri gula yaitu molase adalah sumber karbohidrat yang perlu dimanfaatkan. Molase selain mengandung gulajuga terdapat senyawa bernitrogen, vitamin dan elemen yang cukup. Komposisi kimia molase bervariasi tergantung bahan mentah yang digunakan saat produksi gula. Adanya perbedaan mutu molase juga bisadipengaruhi oleh lokasi, iklim dan proses produksisetiap pabrik (Suprihatin, 2010).

Molase merupakan produk hasil samping yang berasal dari pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum* L). Molases berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula, 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 antara lain sukrosa 30-40%, glukosa 4-9% dan fruktosa 5-12%. Tetes tebu telah digunakan secara luas sebagai sumber karbon untuk denitrifikasi, fermentasi anaerobik, pengolahan limbah aerobik, dan diaplikasikan pada budidaya perairan. Karbohidrat yang terkandung dalam tetes tebu telah siap digunakan untuk fermentasi tanpa perlakuan pendahuluan karena sudah berbentuk gula (Hidayat dan Suhartini. 2006).

Gula yang umumnya dapat difermentasi oleh khamir adalah glukosa, galaktosa, maltosa, sukrosa, laktosa, tetrahalosa, melibiosa dan raffinosa ((Fardiaz, 1992). Disampaikan oleh Pangesti *et al.*, (2012), bahwa molase masih

mengandung senyawa gula sehingga molase bisa dimanfaatkan sebagai sumber energi yang dibutuhkan untuk metabolisme didalam sel sehingga pertumbuhan fungi dapat optimal. Molase mengandung gula 62%, air 20%, non-gula 10% dan garam-garam anorganik (abu) 8%. Ditambahkan oleh Kusumawardhani (2003), kandungan nutrisi molase adalah sebagai berikut:

**Tabel 1.** Kandungan Nutrisi Molase

Nutrien	Prosentase (%)
Agar	15 - 24
Sukrosa	30 - 40
Gula tereduksi (invert)	15 - 32
Protein kasar	2 - 4,6
K <sub>2</sub> O	3 - 6,5
Na <sub>2</sub> O	0,5 - 3
Ca	0,5 - 4,7
Mg	0,5 - 1,7
Cu	0 - 0,4
Zn	0,1 - 1,5
P <sub>2</sub> O	0,01 - 0,3

