

PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS PROTEIN IKAN LOUHAN (*Cichlasoma sp.*) REBUS HASIL FERMENTASI

SKRIPSI

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh:
ERISA RENDITA
11508030011123



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

PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS PROTEIN IKAN LOUHAN (*Cichlasoma sp.*) REBUS HASIL FERMENTASI

SKRIPSI

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

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

Oleh:
ERISA RENDITA
11508030011123



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

SKRIPSI

PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS PROTEIN IKAN LOUHAN (*Cichlasoma sp.*) REBUS HASIL FERMENTASI

Oleh :
ERISA RENDITA
NIM. 115080300111123

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 23 November 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Menyetujui,

Dosen Penguji 1

(Eko Waluyo, S.Pi, M.Sc)
NIP. 19800424 200501 1 001
Tanggal:

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Yahya, MP)
NIP. 19630706 199003 1 005
Tanggal:

Dosen Pembimbing 1

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

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP,

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa data skripsi yang saya tulis ini benarbenar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 23 November 2015

Mahasiswa

Erisa Rendita



UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Bapak, Ibu dan Adik serta keluarga tercinta yang selalu memberikan do'a serta dukungannya selama penelitian hingga penyusunan laporan skripsi ini.
2. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph. D selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak memberikan bimbingan selama penyusunan skripsi ini dan memberikan bantuan bahan (molase dan khamir laut) yang sangat membantu dalam penelitian saya.
3. Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan pengetahuan dan membimbing saya dengan sabar hingga saya dapat memahami materi penelitian saya.
4. Bapak Eko Waluyo, S.Pi. M.Sc dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik saran pada laporan skripsi ini.
5. Teman-teman seperjuangan *Marine Yeast*: Tim Eceng Gondok, Tim Louhan, dan Tim Keong yang selalu berjuang bersama selama penelitian.
6. Keluarga besar "*Meno's Family*" (Fita, Ani, Evi, Febri, Dias, Maya, dan Rita) serta Maleva dan dulur lanang Anam yang selalu mendampingi dan memberikan semangat di saat susah maupun senang.
7. Teman-teman ngetrip Yuyun, Ayus, Mutek, Shindy, dan Bangun yang memberikan waktu refreshing di kala jenuh.
8. Penghuni KP 45 (Mondang, Dinek, Ainun, dan Anna) serta teman seperjuangan Umi, Bebbong, kembaranku Rissa dan Tuttik yang selalu memberikan motivasi untuk cepat wisuda.

9. Teman-teman THP 2011 yang telah membantu dan memberikan motivasi selama ini.
10. Pihak lain yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan, doa dan semangat selama penulis menyelesaikan skripsi ini.

Malang, 23 November 2015

Penulis

RINGKASAN

ERISA RENDITA. Skripsi tentang Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Protein Ikan Louhan (*Cichlasoma sp.*) Rebus Hasil Fermentasi (dibawah Bimbingan Prof. Dr. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D dan Dr. Ir. M. Firdaus, MP).

Pada fermentasi terjadi penguraian senyawa dari bahan-bahan protein kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Hasil fermentasi ikan memiliki sifat fungsional lebih tinggi dan lebih baik dibandingkan dari sumber hewani lainnya karena memiliki komposisi protein cukup lengkap. Ikan louhan di waduk karangkates dianggap sebagai hama karena mengganggu dalam budidaya ikan nila yang dilakukan oleh penduduk sekitar. Ikan louhan di waduk karangkates tidak dimanfaatkan secara maksimal sehingga dibiarkan terbuang. Karena itu diperlukan pemanfaatan ikan louhan yang memiliki potensi sebagai sumber protein, dengan diolah dalam proses fermentasi ikan misalnya. Perlakuan perebusan pada ikan louhan diharapkan mampu meningkatkan kadar nutrisi terutama protein pada hidrolisat protein ikan louhan.

Pada fermentasi tentunya terdapat mikroorganisme yang berperan didalamnya, mikroorganisme yang digunakan adalah khamir laut. Khamir laut membutuhkan sumber nutrisi untuk pertumbuhannya, salah satunya dengan penambahan molase. Penggunaan molase saat ini masih sebatas dalam keadaan segar dan belum ada yang menggunakan perlakuan perebusan. Perebusan molase dapat menyebabkan molase terurai menjadi senyawa yang lebih sederhana (fruktosa dan glukosa) sehingga dapat diasimilasi khamir laut lebih cepat. Oleh karena itu, penggunaan volume molase rebus dan lama fermentasi yang tepat diharapkan dapat meningkatkan kemampuan khamir laut dalam menghidrolisis substrat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan volume molase rebus dan lama fermentasi yang tepat terhadap kualitas protein ikan louhan rebus hasil fermentasi. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen yang terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok Sederhana yaitu volume molase rebus yang terdiri dari 100 mL, 150 mL, dan 200 mL dengan lama fermentasi yang digunakan yaitu 3, 6, 9, 12 dan 15 hari serta dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Hasil penelitian diperoleh kesimpulan yaitu volume molase rebus yang tepat terhadap kualitas protein ikan louhan rebus hasil fermentasi adalah sebanyak 150 mL dengan kandungan nutrisi kadar air sebesar 17,63%, kadar lemak 2,62%, kadar abu 12,47%, kadar protein 60,07%, kadar karbohidrat 7,21%, pH 3,86, kapasitas emulsi 45,80%, dan 0,092 ml daya buih berdasarkan berat kering. Sedangkan Lama fermentasi 15 hari merupakan waktu yang paling tepat terhadap kualitas protein ikan louhan rebus hasil fermentasi, dengan total Asam Amino sebanyak 20,26 % yang terdiri dari 9 Asam Amino Essensial dan 8 Asam Amino Non Essensial.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Skripsi yang berjudul "Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Protein Ikan Louhan (*Chichlasoma sp.*) Rebus Hasil Fermentasi". Di dalam tulisan ini, disajikan beberapa pokok bahasan yang meliputi Bab 1 terdiri dari: latar belakang, rumusan masalah, tujuan, hipotesis, kegunaan, tempat dan waktu. Bab 2 terdiri dari: tinjauan pustaka ikan louhan, khamir laut, molase, fermentasi, dan hidrolisis protein. Bab 3 meliputi metode penelitian, prosedur penelitian, rancangan penelitian, dan pengamatan penelitian. Bab 4 menyajikan tentang hasil dan pembahasan dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama, dan Bab 5 menyajikan tentang kesimpulan dan saran.

Dalam penyusunan laporan skripsi ini, penulis menyadari adanya keterbatasan pengetahuan dan kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun agar laporan skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Malang, 23 November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS.....	iii
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan.....	5
1.6 Tempat dan Waktu.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Louhan (<i>Chichlasoma sp.</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Louhan.....	6
2.1.2 Komposisi Ikan Louhan.....	7
2.2 Khamir Laut.....	8
2.2.1 Karakteristik Khamir Laut.....	8
2.2.2 Komposisi Kimia Khamir Laut.....	9
2.2.3 Kondisi Pertumbuhan Khamir Laut.....	10
2.3 Molase.....	12
2.3.1 Definisi Molase.....	12
2.3.2 Molase sebagai Sumber Nutrient.....	12
2.3.3 Pengaruh Perebusan Molase.....	14
2.4 Fermentasi.....	14
2.4.1 Definisi Fermentasi.....	14
2.4.2 Mekanisme Fermentasi.....	15
2.4.3 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi.....	16
2.5 Hidrolisis Protein.....	17
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	20

3.1 Materi Penelitian	20
3.2.1 Bahan Penelitian	20
3.2.2 Alat Penelitian	21
3.2 Metode Penelitian	21
3.3.1 Variabel Penelitian.....	22
3.3.2 Rancangan Percobaan.....	22
3.4 Prosedur Penelitian.....	23
3.4.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut.....	23
3.4.2 Prosedur Fermentasi Ikan Louhan (<i>Cichlasoma sp.</i>) Rebus.....	26
3.5 Analisis	29
3.5.1 Rendemen.....	29
3.5.2 Kadar Air	29
3.5.3 Kadar Lemak.....	30
3.5.4 Kadar Abu	31
3.5.5 Kadar Protein	31
3.5.6 Kadar Karbohidrat	32
3.5.7 Nilai pH.....	32
3.5.8 Kapasitas Emulsi.....	33
3.5.9 Daya Buih.....	33
3.5.10 Analisis Profil Asam Amino.....	34
1. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penelitian Pendahuluan	37
4.1.1 Fase Logaritmik Khamir Laut.....	37
4.1.2 Penentuan Lama Fermentasi dan Volume Molase Rebus	39
4.2 Penelitian Utama.....	41
4.2.1 Hasil Analisis Fermentasi Ikan Louhan (<i>Chichlasoma sp.</i>) Rebus.....	42
4.2.1.1 Rendemen Cair.....	42
4.2.1.2 Rendemen Pasta	44
4.2.1.3 Analisa Proksimat	45
a. Kadar Air.....	45
b. Kadar Lemak.....	47
c. Kadar Abu	49
d. Kadar Protein	51
e. Kadar Karbohidrat.....	53
4.2.1.4 Nilai pH.....	56
4.2.1.5 Kapasitas Emulsi	58
4.2.1.6 Daya Buih	59
4.2.2 Total Asam Amino	61
2. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	67
5.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Gizi Ikan Louhan	7
2. Kandungan Nutrisi Khamir Laut	10
3. Komposisi Kimia Molase dan Molase Rebus.....	13
4. Model Rancangan Penelitian	23
5. Perlakuan Penelitian dengan Berbagai Variabel	27
6. Kandungan Asam Amino Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Molase Rebus	62



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Louhan	6
2. Skema Kerja Kultur Khamir Laut	25
3. Prosedur Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan Rebus	28
4. Pertumbuhan Sel Khamir Laut Pada Berbagai Lama Waktu Kultur	37
5. Hasil Pengamatan Kepadatan Khamir Laut dengan Perbesaran 1000x ...	38
6. Hasil Pengamatan pH Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	40
7. Rendemen Cairan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	42
8. Rendemen Cair Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	43
9. Rendemen Pasta Hidolizat Protein Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	44
10. Rendemen Pasta Hidolizat Protein Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	45
11. Kadar Air Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	46
12. Kadar Air Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	47
13. Kadar Lemak Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	48
14. Kadar Lemak Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	48
15. Kadar Abu Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	49
16. Kadar Abu Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	50
17. Kadar Protein Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	52
18. Kadar Protein Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	53
19. Kadar Karbohidrat Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	54
20. Kadar Karbohidrat Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	55
21. Nilai Ph Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	56
22. Nilai Ph Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	57
23. Kapasitas Emulsi Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	58
24. Kapasitas Emulsi Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	59
25. Daya Buih Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	60
26. Daya Buih Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus	61
27. Kromatogram HPLC	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan dalam Kultur Khamir Laut.....	74
2. Perhitungan Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut.....	75
3. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut.....	76
4. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut.....	77
5. Hasil analisis rendemen dan kandungan Hasil Fermentasi Ikan Louhan (<i>Chichlasoma sp.</i>) rebus dengan lamafermentasi dan volume molase rebus yang berbeda	80
6. Data Rendemen Cairan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	81
7. Data Rendemen Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	83
8. Data Kadar Air Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	85
9. Data Kadar Lemak Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	87
10. Data Kadar Abu Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	89
11. Data Kadar Protein Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	91
12. Data Kadar Karbohidrat Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda	93
13. Data pH Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda.....	95
14. Data Kapasitas Emulsi Kontrol dan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda	97
15. Data Daya buih Kontrol dan Hasil Fermentasi yang Ikan Louhan Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi Berbeda.....	99
16. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut.....	101
17. Dokumentasi Pembuatan Media dan Pengenceran Khamir Laut.....	103
18. Dokumentasi Pengamatan Kepadatan Khamir Laut.....	104
19. Dokumentasi Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan Rebus.....	105
20. Dokumentasi Analisa Kadar Air Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus.....	107
21. Dokumentasi Analisa Kadar Lemak Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus	108
22. Dokumentasi Analisa Kadar Abu Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus	109
23. Dokumentasi Analisa Kadar Protein Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus	110
24. Dokumentasi Analisa pH Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus	111
25. Dokumentasi Analisa Kapasitas Emulsi Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus.....	112
26. Dokumentasi Analisa Daya Buih Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus ...	113
27. Perhitungan Proksimat Berat Basah Ikan Louhan	114
28. Hasil Uji Profil Asam Amino	115

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada proses fermentasi ikan terjadi proses hidrolisis yang merupakan pecahan senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana. Proses fermentasi menghasilkan produk hidrolisat protein yang merupakan sebuah produk hidrolisis protein dengan bahan baku ikan. Pada proses fermentasi ikan digunakan bahan penghidrolisis asam, basa, atau enzim. Hasil fermentasi ikan memiliki sifat fungsional lebih tinggi sehingga lebih luas pemanfaatannya. Produk tersebut lebih baik dibandingkan dari sumber hewani lainnya karena memiliki komposisi protein cukup lengkap (Koesoemawardani *et al.*, 2008). Penelitian tentang proses fermentasi ikan untuk menghasilkan produk hidrolisat, sudah menggunakan bahan baku seperti ikan rucah (Koesoemawardani *et al.*, 2011), kerang mas ngur (Purbasari, 2008), ikan lemuru (Handayani *et al.*, 2007), kepala udang (Budy, 2014), ikan lele dumbo (Nurhayati *et al.*, 2013), dan sebagainya. Pada penelitian ini, proses fermentasi ikan menggunakan ikan louhan yang diambil dari waduk Karangates.

Ikan louhan di waduk karangates dianggap sebagai hama karena mengganggu dalam budidaya ikan nila yang dilakukan oleh penduduk sekitar. Ikan louhan dianggap sebagai hama karena memakan pakan yang diberikan untuk ikan nila yang merupakan komoditas utama di waduk tersebut. Ikan louhan di waduk karangates tidak dimanfaatkan secara maksimal sehingga dibiarkan terbuang. Karena itu diperlukan pemanfaatan ikan louhan yang memiliki potensi sebagai sumber protein, dengan diolah dalam proses fermentasi ikan misalnya.

Perlakuan perebusan pada ikan louhan diharapkan mampu meningkatkan kadar nutrisi terutama protein pada hidrolisat protein ikan louhan, Murniyati dan Sunarman (2004) menyatakan bahwa perebusan ikan bertujuan untuk

mengkoagulasi protein dan mempermudah pemisahan air dan minyak. Pengolahan perebusan diduga dapat mempengaruhi kandungan protein dan asam amino dalam suatu bahan, sehingga protein akan mengalami denaturasi membentuk struktur yang lebih sederhana (Nurjanah *et al.*, 2008). Pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan enzim mikroorganisme dapat dilakukan dengan proses fermentasi.

Fermentasi merupakan suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba, walaupun dalam beberapa hal dapat juga terjadi tanpa adanya sel-sel hidup (mikroba). Pada fermentasi terjadi penguraian senyawa dari bahan-bahan protein kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Machfud, 1989; Adawiyah, 2007). Dalam proses fermentasi ikan louhan rebus dibutuhkan lama waktu fermentasi yang tepat untuk menghasilkan karakteristik yang baik. Pada penelitian Budy (2014), dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang rebus fermentasi dilakukan selama 12 hari. Selama fermentasi dibutuhkan substrat yang sesuai untuk sumber energi dan makanan bagi mikroba. Penambahan sumber karbon sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroba dapat dilakukan dengan penambahan molase pada medium.

Molase merupakan medium pertumbuhan kompleks yang kaya akan sukrosa, diperoleh dari limbah pengolahan tebu yang berbentuk cairan kental, berwarna coklat tua kehitaman dan berbau manis atau memiliki aroma khas (Noviati, 2007). Selama ini molase yang digunakan adalah molase dalam keadaan segar dan belum ada yang menggunakan perlakuan perebusan. Perebusan molase dapat menyebabkan sebagian sukrosa dalam molase akan terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu gula invert (fruktosa dan glukosa) yang merupakan gula pereduksi (Budy, 2014), dimana senyawa karbon dari jenis monosakarida (glukosa, galaktosa, dan fruktosa) dapat diasimilasi lebih cepat

dibandingkan dengan disakarida (sukrosa dan maltose), sehingga dapat digunakan oleh khamir untuk pertumbuhannya (Sukoso, 2012). Pada penelitian ini digunakan berbagai volume molase rebus untuk mengetahui kebutuhan sumber karbon yang tepat bagi khamir. Pada penelitian Budy (2014), menggunakan volume molase rebus sebanyak 100 mL, 200 mL, dan 300 mL untuk pembuatan hidrolisat protein kepala udang rebus.

Kebanyakan dari hasil penelitian dalam proses fermentasi ikan dalam pembuatan hidrolisat protein hasil perikanan hanya menggunakan penambahan enzim papain. Bernadeta *et al.*, (2012) menyampaikan bahwa enzim papain merupakan enzim protease yang berada pada getah buah papaya yang berfungsi untuk menghidrolisis protein pada substrat seperti limbah ikan ekor kuning. Tetapi pada penelitian ini digunakan starter khamir laut sebagai pengganti enzim papain.

Khamir adalah mikroorganisme fakultatif yang dapat tumbuh baik pada kondisi anaerob maupun aerob apabila terdapat sumber karbohidrat, nitrogen (organik atau anorganik), mineral, termasuk *trace element*, dan vitamin. Suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 20 °C – 25 °C. Sebagian besar khamir dipengaruhi suplai oksigen, pH, dan temperature (Noviati, 2007). Khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase, amylase, deaminase, sucrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase, sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidroisat protein (Sukoso, 2012).

Sejauh ini belum ada penelitian yang memanfaatkan khamir laut sebagai starter dalam fermentasi ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus dengan penambahan sumber karbon berupa molase rebus, maka perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut. Dari paparan yang dijelaskan diatas maka diperlukan kajian yang membahas tentang pemanfaatan khamir laut pada proses fermentasi ikan louhan sehingga dapat dihasilkan mutu yang paling baik.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian mengenai fermentasi ikan telah banyak dilakukan menggunakan berbagai jenis ikan dan enzim. Sehingga rumusan masalah yang menjadikan dasar penelitian ini adalah:

- Bagaimana pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian tentang pengaruh penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus adalah:

- Untuk mendapatkan volume molase yang tepat terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi.
- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang tepat terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah :

H₀ : Diduga penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda tidak memberikan pengaruh terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi.

H₁ : Diduga penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi.

1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan ikan louhan dalam proses fermentasi. Selain itu, hasil dari penelitian ini juga dapat memberikan informasi tentang pengaruh lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, dan Laboratorium Nutrisi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Januari-Juli 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Louhan (*Cichlasoma sp.*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Louhan

Ikan louhan merupakan jenis ikan hias dengan bentuk dan corak warna yang sangat unik. Klasifikasi ikan louhan Menurut Zipcodezoo (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Cichlasoma</i>
Spesies	: <i>Cichlasoma sp.</i>



Gambar 1. Ikan Louhan

Ikan hias louhan merupakan salah satu jenis ikan hias yang terkenal dengan warna sisik dan benjolan khas dikepalanya. Ikan louhan merupakan spesies hibrid, artinya bahwa ikan hias ini bukan asli dari alam tetapi merupakan hasil perkawinan silang oleh manusia dari beberapa jenis cichlid Amerika (Yusup, 2005).

Ikan louhan memiliki famili yang sama dengan ikan nila yaitu Cichlidae yang merupakan ikan air tawar. Warna dasar tubuh louhan beragam, ada putih, kebiru-biruan, atau merah (seperti pada Gambar 1). Ikan nila memiliki bentuk tubuh memanjang, ramping, dan relative pipih. Ciri khas ikan nila adalah garis vertical yang berwarna gelap di sirip ekor sebanyak enam buah (ada 7-12 buah). Garis seperti itu juga terdapat di sirip punggung dan sirip dubur (Suyanto, 2010).

Ikan nila dapat hidup di perairan yang dalam dan luas maupun di kolam sempit yang dangkal. Ikan nila juga dapat hidup di sungai yang tidak terlalu deras

alirannya, di waduk, danau, rawa, sawah, tambak air payau atau di dalam jaring apung. Ikan nila terkenal sebagai ikan yang sangat tahan terhadap perubahan lingkungan hidup. Nila dapat hidup di lingkungan air tawar, air payau, dan air asin di laut. Kadar garam air yang disukai antara 0–35 per mil (Widyanti, 2009; Suyanto, 2010).

Ikan nila mampu tumbuh cepat hanya dengan pakan yang mengandung protein sebanyak 20-25%. Apabila induk ikan dipelihara dengan baik dan diberi pakan yang berkualitas maka ikan nila dapat memijah setiap 1,5 bulan sekali. Persediaan pakan dalam habitat ikan nila sebanding dengan jumlah ikan sehingga pertumbuhan akan semakin cepat. Ikan nila mempunyai sifat-sifat yang menguntungkan yakni lebih efisien menggunakan pakan, bersifat omnivora, cepat pertumbuhannya, berdaging tebal, dan rasa dagingnya mirip dengan kakap merah (Suyanto, 2009).

2.1.2 Komposisi Ikan Louhan

Ikan louhan merupakan jenis ikan hias, sehingga tidak banyak penelitian yang menggunakan ikan louhan. Kandungan gizi ikan louhan yang dilanalis di laboratorium Fakultas Peternakan Bagian Nutrisi dan Makanan Ternak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Ikan Louhan

No	Kode Bahan	Kandungan Zat Makanan				
		Bahan Kering (%)	Abu* (%)	Protein Kasar* (%)	Serat Kasar* (%)	Lemak Kasar* (%)
1.	Ikan Segar	28,15	24,97	57,02	0,90	10,70
2.	Ikan Rebus	26,97	25,32	62,16	0,81	8,69

*) Berdasarkan 100% bahan kering

Sumber: Laboratorium Fakultas Peternakan

Pada Tabel 1 terlihat bahwa kandungan protein ikan louhan rebus lebih besar dibandingkan dengan ikan louhan segar, serta memiliki kandungan lemak yang lebih sedikit. Hal ini disebabkan karena proses perebusan dapat memberikan

pengaruh terhadap komponen ikan louhan yang dapat menyebabkan perubahan fisik dan komposisi kimia ikan louhan. Selain itu proses perebusan mampu meminimalisir pertumbuhan mikroorganisme. Murniyati dan Sunarman (2004) menyatakan bahwa perebusan ikan bertujuan untuk mengkoagulasi protein dan mempermudah pemisahan air dan minyak.

Perebusan ikan louhan merupakan salah satu metode pengolahan pangan dengan menggunakan pemanasan. Perebusan merupakan cara memasak makanan dalam air yang sedang mendidih (suhu 100 °C). Perebusan bertujuan untuk menghentikan aktivitas enzim sehingga dapat mempertahankan mutu dari bahan pangan tersebut. Selain itu dengan adanya perlakuan perebusan dapat diperoleh bahan pangan yang aman untuk dikonsumsi karena mikroorganisme akan rusak pada suhu tinggi sehingga nilai gizi yang terdapat dalam bahan pangan dapat dimanfaatkan secara maksimal (Widyati, 2004).

2.2 Khamir Laut

2.2.1 Karakteristik Khamir Laut

Khamir laut adalah salah satu jenis khamir yang diisolasi langsung dari laut. Khamir termasuk organisme uniseluler dari golongan jamur, bersifat kemoorganotrof, bereproduksi seksual dengan spora dan aseksual dengan pertunasan atau perbelahan. Khamir merupakan fungi, tetapi dibedakan dari kapang karena bentuknya yang uniseluler. Sebagai sel tunggal, khamir tumbuh dan berkembang baik lebih cepat dibandingkan dengan kapang (Febriani, 2011).

Khamir sangat beragam ukurannya, berkisar antara 1 sampai 5 µm lebarnya dan panjangnya 5 sampai 30 µm atau lebih. Biasanya berbentuk oval, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk yang khas, namun sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang khas dalam hal ukuran dan bentuk sel-sel individu, tergantung kepada

umur dan lingkungannya. Khamir tidak dilengkapi flagellum atau organ-organ penggerak lainnya (Pelczar, *et al.*, 1986).

Pada masa kini, khamir paling banyak digunakan untuk keperluan berbagai industri dalam proses produksi minuman beralkohol, biomasa dan produksi protein rekombinan untuk menunjang kegiatan bioteknologi khususnya bidang molekuler biologi. Peranan khamir dalam bidang biologi molekuler adalah sebagai mikroba *eukariot uniseluler* yang memiliki kemampuan untuk disisipkan dengan gen mikroba lain. Khamir mampu berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Selain itu untuk menunjang kebutuhan hidup diperlukan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen. Pada uji fermentasi gula-gula mempunyai mempunyai reaksi positif pada gula dekstrosa, galaktosa, sukrosa, maltose, raffinosa, trehalosa, dan negative pad gula laktosa (Ahmad, 2005).

2.2.2 Komposisi Kimia Khamir Laut

Khamir laut dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif, seperti protein sel tunggal, asam amino, probiotik, vitamin C, glutation, β -carotenoid, glukon, amylase, phytase, pembunuh toksin, dan protease (Zhenming *et al.*, 2006). Ditambahkan oleh Bhararathi (2011) yang mengungkapkan bahwa khamir laut juga mengandung lipase dan insulinase yang memiliki aplikasi potensial dalam bidang budidaya, makanan, faramsi, kosmetik, industri kimia, dan proteksi dari lingkungan. Adapun kandungan nutrisi dari khamir laut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Khamir Laut

Kandungan		Persentase (%)	mg/100g
Analisa Proksimat :	Bahan kering oven	71,85	-
	Protein	28,29	-
	Lemak	0,34	-
	BETN	4,33	-
	Serat kasar	0,95	-
	Abu	66,09	-
	Asam amino esensial :	Arginine	0,206
Histidin		0,262	-
Isoleusin		0,310	-
Leusin		0,318	-
Lisin		0,463	-
Threonine		0,187	-
Metionin + sistin		0,773	-
Valin		0,342	-
Fenilalanin		0,274	-
Asam lemak :		Oleat	14.447
	Linoleat	7.469	-
	Linolenat	0,875	-
	Stearate	28.726	-
	Laurat	1,842	-
	Palmitat	17.437	-
Mineral :	Ca		2.161
	P		2.276
	Cl		7.452,459
	Mn		2.884
	Zn		266.241
	Mg	0,09	-

Sumber: Febriani (2010)

2.2.3 Kondisi Pertumbuhan Khamir Laut

Pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh konsentrasi komponen-komponen penyusun media pertumbuhan. Suplai karbon merupakan sumber yang paling berpengaruh pada pertumbuhan optimum. Penyusun medium harus mencakup semua unsur yang diperlukan untuk suplai energy. Kebanyakan khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam, yaitu pH 4–4,5. Batas aktivitas air terendah untuk pertumbuhan khamir berkisar antara 0,88–0,94. Banyak khamir yang bersifat osmofilik, yaitu dapat tumbuh pada medium dengan aktivitas air relative rendah, yaitu 0,62-0,65 (Noviati, 2007).

Menurut Simbolon (2008), Fermentasi diartikan untuk semua kegiatan yang menunjuk pada berbagai aksi mikrobial. Tetapi di dalam mikrobiologi, fermentasi dimaksudkan sebagai aksi mikrobial yang tertentu dan jelas. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada bahan pangan dapat bersifat fisis, kimia dan biologi. Faktor-faktor tersebut antara lain:

1. Faktor Intrinsik, merupakan sifat fisis, kimia dan struktur yang dimiliki oleh bahan pangan itu sendiri.
2. Faktor ekstrinsik, adalah kondisi lingkungan pada penganan dan penyimpanan bahan pangan, seperti suhu, kelembaban dan susunan gas di atmosfer.
3. Faktor implisit, yaitu sifat-sifat yang dimiliki mikroba itu sendiri yang sangat dipengaruhi oleh susunan biotik mikroba dalam bahan pangan.
4. Faktor pengolahan, adanya perubahan mikroba awal sebagai akibat pengolahan bahan pangan, misalnya pemanasan, pendinginan, iradiasi, pengalengan, fermentasi, penambahan pengawet, pembekuan dan pengolahan lainnya.

Toleransi khamir laut untuk hidup sangat luas, yaitu pada pH 2-11 dan suhu 20-45 °C. Selama pertumbuhannya, sel khamir menghasilkan senyawa seperti nukleotida, asam amino, faktor tubuh yang belum teridentifikasi (*unidentified growth factor*), yang menstimulir pertumbuhan dan enzim. Khamir mengandung vitamin B kompleks (tiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin). Sebagai sumber protein, khamir memiliki keunggulan, yaitu: laju pertumbuhan tinggi, dapat tumbuh pada media sederhana tanpa membutuhkan bahan-bahan tambahan yang mahal, mampu tumbuh pada kepadatan sel yang tinggi, tetap tumbuh dalam kultur secara sinambung, daya cerna tinggi, tidak bersifat racun, mudah diperoleh dan tidak berdampak negatif (Febriani, 2006).

2.3 Molase

2.3.1 Definisi Molase

Molase merupakan produk yang dihasilkan dari sisa proses produksi gula, berwarna coklat, dan berbentuk cairan kental. Bahan ini tidak dapat dihilangkan warnanya meskipun sudah mengalami pengenceran atau penambahan zat aditif. Molase merupakan sejenis sirup dari sisa proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dapat dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit untuk dikristalkan. Molase adalah produk limbah dari industri gula di mana produk ini masih banyak mengandung gula dan asam-asam organik, kandungan gula dari molase terutama sukrosa berkisar 40-55%. Biasanya pH molase berkisar antara 5,5 – 6,5 (Widyanti, 2010; Simanjuntak, 2009).

Molase termasuk hasil sampingan dari pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum* L). Tetes tebu berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula. Molase tidak dapat dibentuk lagi menjadi sukrosa namun masih mengandung gula dengan kadar yang tinggi 50-60%, asam amino dan mineral. Tingginya kandungan gula dalam molase sangat potensial dimanfaatkan untuk pembuatan bioethanol. Molase masih mengandung kadar gula yang cukup sekitar 10-18% untuk menghasilkan etanol dengan proses fermentasi pada pH 5,5-6,5 (Juwita, 2012).

2.3.2 Molase sebagai Sumber Nutrient

Dijelaskan oleh Sarlin dan Philip (2013), Molase merupakan sumber karbon yang paling disukai oleh khamir laut dibandingkan glukosa, sukrosa, dan air beras. Molase (jumlah total gula 9 mg/mL) yang ditambah dengan pepton (0,75%), ekstrak yeast (0,5%), dan $MgSO_4$ (0,25%), mendukung pertumbuhan maksimum dari strain jenis *Debaryomyces hansenii* (S8), *Debaryomyces hansenii* (S100), *Candida sake* (S165), dan *Candida tropicalis* (S186).

Berdasarkan komposisi kimia molase rebus lebih tinggi bila dibandingkan dengan molase segar, sehingga molase yang mendapat perlakuan rebus yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal dapat digunakan oleh khamir laut sebagai media pertumbuhan (Rohim, 2014). Berikut komposisi kimia molase dan molase rebus dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Kimia Molase dan Molase Rebus

Komposisi Kimia		Kandungan (%)	
		Molase	Molase Rebus
Kandungan Gula	Fruktosa	4,5652	3,9174
	Gula reduksi	1,5602	2,1615
	Sukrosa	0,5299	0,3962
Proksimat	Air	66,20	64,63
	Protein	23,23	24,64
	Karbohidrat	6,36	5,73
	Abu	4,13	4,95
	Lemak	0,08	0,05
Asam Amino	L-Asam Glutamat	2,912	3,594
	L-Prolin	0,640	0,350
	L-Alanin	0,610	0,512
	L-Asam Aspartat	0,405	0,669
	L-Serin	0,069	0,234
	L-Glisin	0,051	0,187
	L-Valin	0,046	0,124
	L-Lisin	0,035	0,966
	L-Leusin	0,027	0,121
	L-Isoleusin	0,024	0,084
	L-Treonin	0,021	0,112
	L-Tirosin	0,015	0,060
	L-Histidin	0,014	0,074
	L-Fenilalanin	0,009	0,073
	L-Metionin	0,008	0,034
L-Arginin	0,007	0,107	
L-Sistein	-	0,081	

Sumber : Rohim (2014)

Salah satu produk samping dari industri gula pasir dari tebu adalah molase. Molase mengandung gula yang tidak mengkristal, yang dapat dimanfaatkan untuk memproduksi etanol melalui proses fermentasi. Molase atau tetes tebu mengandung kurang lebih 60% selulosa dan 35,5% hemiselulosa. Kedua bahan polisakarida ini dapat dihidrolisis menjadi gula sederhana yang selanjutnya dapat difermentasi menjadi etanol (Febriani, 2006).

Faktor utama yang mempengaruhi mutu sukrosa adalah pemanasan. Penggunaan teknik konsentrasi hampa udara dalam proses penggilingan dan pemurnian mengurangi pembentukan warna gelap oleh proses karamelisasi. Invert sukrosa menyebabkan berkurangnya hasil dan kadar air yang tinggi pada produk akhir. Selain itu apabila molase dipanaskan akan memecah ikatan pada molekul kompleks menjadi bentuk molekul yang lebih sederhana sehingga lebih memudahkan khamir laut untuk memanfaatkan molase sebagai nutrient untuk pertumbuhannya (Sukoso, 2012). Pemanasan molase pada suhu 120-125 °C selama \pm 1 jam setelah mendidih dapat mengendapkan beberapa mineral anorganik dan material tersuspensi lainnya yang dapat menghambat pertumbuhan khamir, seperti itrit, zat pewarna, asam butirat, ion kalsium (Ca), dan asam sulfat (Fajarwati, 2002).

2.4 Fermentasi

2.4.1 Definisi Fermentasi

Fermentasi adalah perubahan kimia dalam bahan pangan yang disebabkan oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroba atau sudah ada dalam bahan pangan tersebut. Walaupun jumlah enzim dalam sel mikroba sangat sedikit akan tetapi memiliki kemampuan yang besar untuk melakukan perubahan kimia yang diperlukan oleh sel. Fermentasi didefinisikan sebagai proses pemecahan karbohidrat, asam amino dan lemak dengan bantuan mikroba dan enzim tertentu yang menghasilkan CO₂ dan zat-zat lainnya. Terjadinya proses fermentasi menyebabkan perubahan sifat bahan pangan. Perubahan-perubahan tersebut seperti: kadar air, kadar pati, kadar alcohol, total asam dan pH (Fitriyanah, 2007).

Pada fermentasi terjadi penguraian senyawa dari bahan-bahan protein kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Proses fermentasi yang terjadi pada ikan merupakan proses penguraian dengan cara biologis atau

semibiologis, dimana protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam-asam amino dan peptide yang akan diurai lebih lanjut menjadi komponen-komponen lain yang berperan dalam bentuk citarasa (Adawiyah, 2007).

Deliani (2008) menyatakan bahwa berdasarkan oksigen, fermentasi dapat dibedakan menjadi dua, diantaranya:

1. Fermentasi aerob merupakan fermentasi yang prosesnya memerlukan oksigen karena dengan adanya oksigen maka mikroba dapat mencerna glukosa menghasilkan air, CO₂, dan sejumlah energi.
2. Fermentasi anaerob adalah fermentasi yang tidak membutuhkan oksigen karena beberapa mikroba dapat mencerna bahan energy tanpa adanya oksigen. Jadi hanya sebagian bahan energy yang dipecah. Mikroorganise yang melakukan fermentasi ini adalah yeast, beberapa jenis kapang dan bakteri.

Dari macam-macam fermentasi diatas, perlu diperhatikan pula perubahan yang terjadi secara mikrobiologi dalam makanan. Adapun mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan-turunannya menjadi alcohol, asam dan karbondioksida. Jadi pada prinsipnya, pengawetan pangan dengan cara fermentasi adalah menumbuhkan atau mengaktifkan pertumbuhan mikroba pembentuk alcohol dan asam serta menekan pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik.

2.4.2 Mekanisme Fermentasi

Fermentasi memungkinkan sebagian sel dapat menghasilkan ATP tanpa bantuan oksigen. Fermentasi memberikan suatu mekanisme sehingga sebagian sel dapat mengoksidasi bahan bakar organik dan menghasilkan ATP tanpa bantuan oksigen. Fermentasi merupakan suatu perluasan glikolisis yang dapat menghasilkan ATP hanya dengan fosforilasi tingkat substrat, sepanjang terdapat pasokan NAD⁺ yang cukup untuk menerima elektron selama proses oksidasi

dalam glikolisis. Fermentasi terdiri atas glikolisis ditambah dengan reaksi yang menghasilkan NAD^+ melalui transfer elektron dari NADH ke piruvat atau turunan piruvat. Terdapat jenis fermentasi, perbedaannya dalam produk limbahnya yang terbentuk dari piruvat. Dua jenis umum adalah fermentasi alkohol dan fermentasi piruvat (Neil *et al.*, 2002).

Fermentasi adalah perubahan glukosa secara anaerob yang meliputi glikolisis dan pembentukan NAD . Fermentasi menghasilkan jumlah energy yang relative lebih sedikit daripada energi yang dihasilkan melalui respirasi aerob. Fermentasi dibedakan menjadi dua tipe reaksi, yaitu fermentasi alcohol dan fermentasi asam laktat. Fermentasi alcohol maupun fermentasi asam laktat diawali dengan proses glikolisis. Pada glikolisis diperoleh $2 \text{NADH} + \text{H}^+ + 2 \text{ATP} + \text{asam piruvat}$. Jika aerob, *hydrogen* (H^+) dari NADH akan bereaksi dengan O_2 pada transfer elektron. Jika anaerob, yang bertindak sebagai akseptor hydrogen permanen adalah asetaldehid atau asam piruvat (Karmana, 2006).

2.4.3 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Proses yang menggunakan fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi suatu bahan pangan atau pakan, lebih mudah dicerna, lebih aman dan relative lebih efisien karena dapat menghasilkan makanan yang lebih tahan lama. Seperti yang dijelaskan oleh Winarno (2007), bahwa kualitas fermentasi juga dipengaruhi oleh suhu dan pH. Akan tetapi hasil akhir dari suatu produk fermentasi itu beraneka ragam. Semua itu tergantung pada substrat dan mikroba yang digunakan serta tujuan dari fermentasi itu sendiri ingin menghasilkan produk yang seperti apa.

Dalam proses fermentasi ikan louhan rebus digunakan penambahan molase dan khamir laut dengan cara fermentasi. Menurut Indah dan Susanto (2013), selama fermentasi molase berperan sebagai sumber karbon yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk melangsungkan kehidupan. Khamir telah sering digunakan dalam proses industri produk fermentasi, karena khamir

merupakan salah satu mikroorganisme untuk menghidrolisis substrat selama proses fermentasi.

2.5 Hidrolisis Protein

Hidrolisis protein merupakan reaksi pemecahan protein atau rantai polipeptida menjadi unit yang lebih sederhana. Proses ini dapat dibantu dengan aktivitas enzim *proteolitik*. Enzim yang bersifat proteolitik dapat diperoleh dengan menangkap atau membubuhkan mikroba proteolitik (Suarsana, 2012). Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatik. Proses hidrolisis kimiawi, yaitu dengan penambahan asam klorida dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan. Hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan dibanding secara kimiawi, karena dapat menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi (Witono *et al.*, 2007).

Hidrolisat protein ikan adalah sebuah produk hidrolisis protein dengan bahan baku ikan. Pada pembuatan hidrolisat protein ikan digunakan bahan penghidrolisis asam, basa, atau enzim. Produk hidrolisis ikan secara enzimatik diolah dengan cara mencampur ikan yang telah digiling atau dilumatkan dengan air dan enzim proteolitik. Hidrolisat protein merupakan sumber protein alami yang dihidrolisis secara parsial sehingga lebih mudah diasimilasi oleh makhluk hidup. Hidrolisis secara parsial mampu memutuskan ikatan peptide dengan memecah molekul protein menjadi beberapa gugus asam amino maupun peptide (Purbasari, 2008).

Perkembangan hidrolisat protein ikan dan penggunaannya sebagai pakan ternak dan nutrisi manusia sangat pesat. Teknik pengolahan pangan selama produksi peptida dapat digunakan dalam aktivitas biologis sebagai nutraceuticals dan bahan makanan fungsional di bidang kesehatan. Berbagai enzim pencernaan

seperti alcalase, bromelain, flavourzyme, nutrase, pepsine, tripsin dan papain telah diterapkan untuk meningkatkan kemampuan fungsional dan antioksidan hidrolisat protein (Galla *et al.*, 2012).

Karakteristik dari hidrolisat langsung mempengaruhi sifat fungsional bahan dalam pangan. Hidrolisat protein ikan telah terbukti memiliki potensi untuk diaplikasikan pada gizi atau farmasi. Fungsi protein dari makanan yang ditetapkan sebagai *physicochemical*, salah satu sifat dalam makanan yang dinilai oleh sistem sebagai atribut kualitas produk akhir. Maka sifat-sifat protein dapat diperbaiki dengan proses hidrolisis enzimatik pada kondisi yang terkendali (Muzaiifa, 2011).

Menurut Koesoemawardani *et al.*, (2011), dalam proses pembuatan hidrolisat protein ikan rucah dilakukan pengamatan sifat fungsional yang mencakup:

a) Protein

Jumlah protein yang terlarut selama inkubasi bergantung pada kecepatan reaksi proses hidrolisis yang dipengaruhi oleh suhu, pH, konsentrasi enzim dan substrat.

b) Stabilitas emulsi

Kestabilan emulsi akan lebih baik pada derajat hidrolisis yang rendah, karena peptide panjang yang terbentuk terserap dalam lapisan minyak dan memicu terbentuknya tetesan minyak yang kecil, akibatnya kestabilan emulsi lebih tinggi. Perbedaan stabilitas emulsi pada hidrolisat yang dihasilkan oleh masing-masing enzim yang digunakan bergantung pada sifat spesifik enzim dalam memecah protein dan gugus aktifnya.

c) Kapasitas pengikat lemak

Kapasitas pengikat lemak dipengaruhi oleh derajat hidrolisis. Hidrolisat mempunyai kemampuan mengikat senyawa yang berbeda yaitu antara air dan minyak karena mempunyai golongan peptida hidropobik dan hidropilik. Selain

itu, kemampuan kapasitas pengikat lemak sangat bergantung pada peptida hidropobik dan muatan asam aminonya.

d) Daya buih

Daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama proses, tetapi tidak dapat untuk menentukan stabilitas buih atau sebaliknya. Buih adalah bentuk dispersi koloida gas dalam dalam cairan, daya buih protein sangat dipegaruhi oleh sifat topograpikal dan sifat kimia dari sifat permukaan protein (*surface protein*). Selain itu, sifat fisikokimia terutama dari sifat molekul proteinnya juga menentukan keberhasilan terbentuknya kondisi sifat fungsional.

Produk hidrolisat protein dapat disertakan sebagai menu para penderita gangguan pencernaan dengan memanfaatkan asam amino esensial yang terdapat di dalamnya. Selain itu, juga dapat digunakan sebagai penyedap makanan karena kandungan asam glutamat yang tinggi. Rendahnya kadar lemak pada produk hidrolisat dapat digunakan sebagai bahan makanan diet, yaitu makanan dengan kandungan lemak kurang dari 5 % dan sebagai suplemen pada pembuatan roti tawar dan makanan bayi (Purbasari, 2008). Sifat hidrolisat dalam membentuk buih bisa digunakan sebagai food agent misalnya ditambahkan untuk minuman atau makanan yang membutuhkan buih sebagai penampakan (*performance*) yang menonjol (Koesomawardani, 2011). Kandungan protein yang tinggi pada produk hidrolisat cocok digunakan sebagai sumber protein yang ditambahkan pada bahan pangan atau pakan (Nurhayati, 2014). Selain itu hidrolisat protein ikan dapat digunakan secara fungsional sebagai bahan pengemulsi jika memiliki kapasitas emulsi yang tinggi (Bernadeta, 2012).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Juli 2015. Sampel ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) diambil dari waduk Karangates, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Proses pembuatan kultur khamir laut dan analisis dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Pada proses fermentasi ikan louhan rebus dan analisis dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Materi Penelitian

Pada penelitian ini meliputi beberapa materi diantaranya bahan penelitian, alat penelitian, metode penelitian, prosedur penelitian, dan parameter uji.

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam kultur khamir laut yaitu air laut, akuades, gula pasir, pupuk daun, kapas, plastik wrap, dan starter khamir laut. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam proses fermentasi terdiri dari ikan lohan rebus yang didapatkan dari waduk Karangates, Kabupaten Malang, Jawa Timur, bahan lain yang digunakan yaitu molase rebus, akuades, dan inokulum khamir laut.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia terdiri dari silica gel, benang kasur, kertas saring, Petroleum Eter (PE), H_2SO_4 , tablet Kjeldahl, akuades, H_3BO_3 , NaOH, indikator metil orange.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat untuk kultur khamir laut yang terdiri atas botol kaca, kompor, panci, spatula, pipet volume, pipet serologis, bola hisap, timbangan digital, *aerator*, selang aerasi, *beaker glass*, selang dan corong. Alat-alat yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari mikroskop, *Petroff-Hauser Chamber (Haemocytometer)*, mikropipet, *cover glass*, *objek glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *vortex mixer*, bola hisap, pipet volume, *beaker glass*, gelas ukur, timbangan digital, spatula, sprayer, dan corong. Sedangkan peralatan yang digunakan dalam proses fermentasi ikan lohan rebus yaitu kompor, panci, *waterbath*, *beaker glass*, timbangan digital, baskom, pipet volume, bola hisap, spatula, botol plastik, corong, selang, selang *aerasi*, *aerator*, timbangan digital, blender, gilingan, dan oven vakum.

Alat-alat yang digunakan dalam analisis kimia terdiri dari pH meter, oven, desikator, loyang, cawan petri, *crushable tang*, kurs porselin, *gold fisch*, sampel tube, gelas piala, gelas ukur, corong, cuvet, *sentrifuge*, timbangan digital, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, spatula, *beaker glass*, destruksi, destilasi, buret, statif, *hot plate*, *muffle*, dan *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan metode kuantitatif yang memiliki ciri khas tersendiri terutama dengan adanya kelompok kontrol. Di bidang sains, penelitian-penelitian dapat menggunakan desain eksperimen karena variabel-variabel dapat dipilih dan variabel-variabel lain yang dapat mempengaruhi proses eksperimen dapat dikontrol secara ketat (Fatarubara, 2010). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki seberapa besar dan ada tidaknya hubungan

sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir, 2005).

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap yaitu pembuatan kultur khamir laut untuk mendapatkan inokulan khamir laut yang dipanen pada fase pertumbuhan atau log. Setelah itu, inokulan yang didapat digunakan sebagai biokatalisator dengan tujuan untuk mengetahui hasil fermentasi ikan louhan rebus yang optimal berdasarkan analisis proksimat, pH, kapasitas emulsi, dan daya buih. Sehingga dari hasil yang terbaik digunakan untuk acuan dalam analisis kalsium dan profil asam amino.

3.3.1 Variabel Penelitian

Variabel ialah suatu karakteristik yang memiliki dua atau lebih nilai atau sifat yang berdiri sendiri-sendiri. Variabel terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat (Sevilla *et al.*, 2006). Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi variabel lain yang sifatnya berdiri sendiri, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh beberapa variabel lain yang sifatnya tidak dapat berdiri sendiri (Kurniawan, 2010).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah volume molase rebus yang ditambahkan dalam proses fermentasi ikan louhan rebus dan lama fermentasi. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah analisis proksimat yang meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, kadar karbohidrat, daya buih, kapasitas emulsi, pH, dan total asam amino.

3.3.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan perlakuan volume molase rebus yang terdiri dari 100 mL, 150 mL, 200 mL dan lama fermentasi pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-15. Sesuai rumus perhitungan dalam menentukan ulangan dalam suatu penelitian, penelitian ini dilakukan dengan tiga

kali ulangan. Model rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Model Rancangan Penelitian

Perlakuan Volume Molase (mL)	Kelompok (hari)					Total	Rerata
	0	3	6	9	12		
100							
150							
200							

Data yang diperoleh akan dilakukan analisis dengan menggunakan ANOVA (Analysis of Variance) menggunakan uji T dengan membandingkan antara F hitung dengan F tabel.

- Jika F hitung < F tabel 5 %, maka perlakuan tidak berbeda nyata.
- Jika F hitung > F tabel 1 %, maka perlakuan sangat berbeda nyata.
- Jika F tabel 5 % < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata

Apabila hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh yang nyata atau sangat nyata (F hitung > F tabel 5 %) maka dilanjutkan uji BNT 5 % untuk menentukan yang terbaik. Analisis BNT dinyatakan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{BNT} = t \alpha ; \text{db galat} \sqrt{\frac{\text{KTG}}{r}}$$

Keterangan : KTG : kuadrat tengah galat
 $t \alpha$: nilai t tabel pada $\alpha = 5 \%$
 db galat : derajat bebas galat
 r : bnyaknya ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

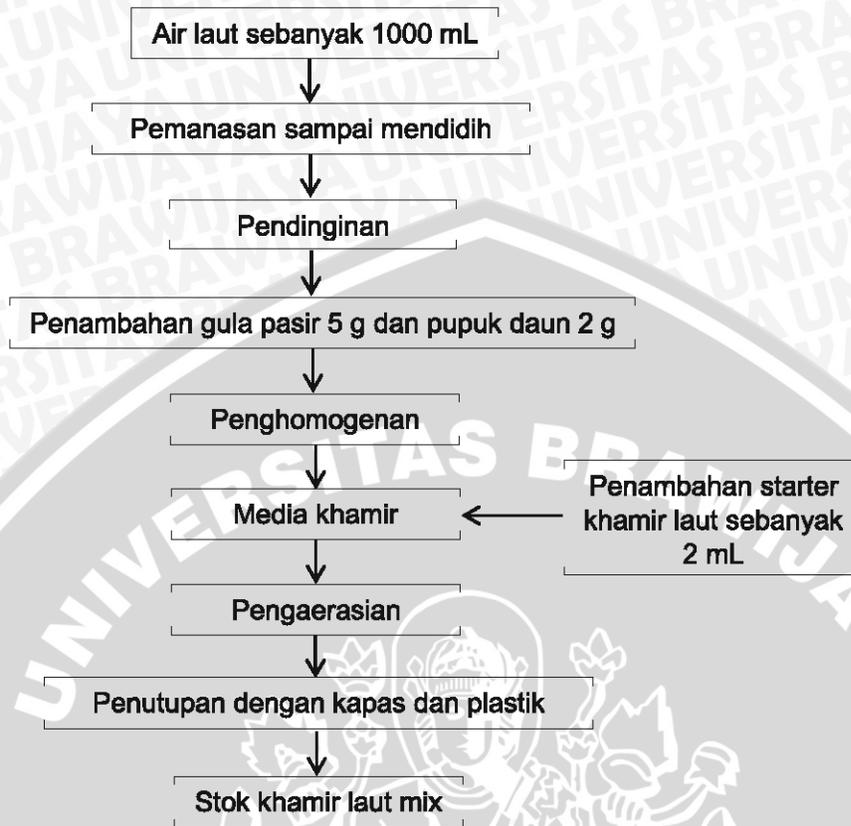
3.4.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut

Prosedur penentuan fase log dilakukan dengan pengamatan melalui *haemocytometer* pada mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap 12 jam sekali kultur khamir laut untuk kepadatannya dengan menggunakan

haemocytometer yang dilihat melalui mikroskop. Kultur khamir laut diamati mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-96.

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





Gambar 2. Skema Kerja Kultur Khamir Laut (Sukoso, 2012)

Adapun prosedur kerja dalam perhitungan kepadatan sel khamir laut (Lampiran 1) adalah sebagai berikut:

- Persiapan media untuk pengenceran kultur khamir laut. Komposisi media pengenceran yaitu 0,25 g gula pasir dan 0,1 g pupuk daun. Selanjutnya ditambahkan air laut yang sudah disterilisasi sebanyak 100 mL lalu dihomogenkan. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Lampiran 3.
- Ambil media khamir laut sebanyak 9 mL dan diletakkan dalam masing-masing 4 tabung reaksi yang kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-4} .
- Pada tabung reaksi 10^{-1} yang telah berisi media diberi kultur khamir laut sebanyak 1 mL yang telah diaerasi, lalu dihomogenkan dengan *vortex mixer*.

- Dari tabung reaksi 10^{-1} yang telah dihomogenkan, diambil 1 mL untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} kemudian dilakukan hal yang sama hingga 10^{-4} .
- Dari hasil pengenceran 10^{-4} diuji kepadatan sel khamir menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop.

Dalam melakukan pengamatan kepadatan khamir laut dilakukan setiap 12 jam selama 96 jam dengan menggunakan *haemocytometer* pada mikroskop yaitu dengan mengambil hasil pengenceran 10^{-4} menggunakan mikropipet 50 μ L atau 0,05 mL lalu diteteskan pada papan *haemocytometer* dan ditutup cover glass untuk selanjutnya diamati dibawah mikroskop.

3.4.2 Prosedur Fermentasi Ikan Louhan (*Cichlasoma sp.*) Rebus

Pada proses fermentasi ikan louhan rebus, prosedur kerja yang pertama dilakukan adalah melakukan penyiangan dan pemotongan ikan louhan yang kemudian di rebus. Lama waktu yang digunakan dalam proses perebusan ikan louhan mengacu pada penelitian Budy (2014), dimana dalam membuat hidrolisat protein kepala udang rebus menggunakan suhu 55°C selama 15 menit.

Pada penelitian ini juga menggunakan molase (tetes tebu) rebus, dimana proses perebusannya dilakukan hingga mendidih karena sifat molase yang mudah mengalami karamelisasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Khamidah dan Eliartati (2012) yang menyatakan karamelisasi disebabkan oleh reaksi gula pereduksi dengan gugus amina primer atau pemakaian suhu tinggi pada sukrosa. Pada penelitian ini menggunakan penambahan molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Perlakuan penelitian dengan berbagai variabel dapat dilihat pada Tabel 5.

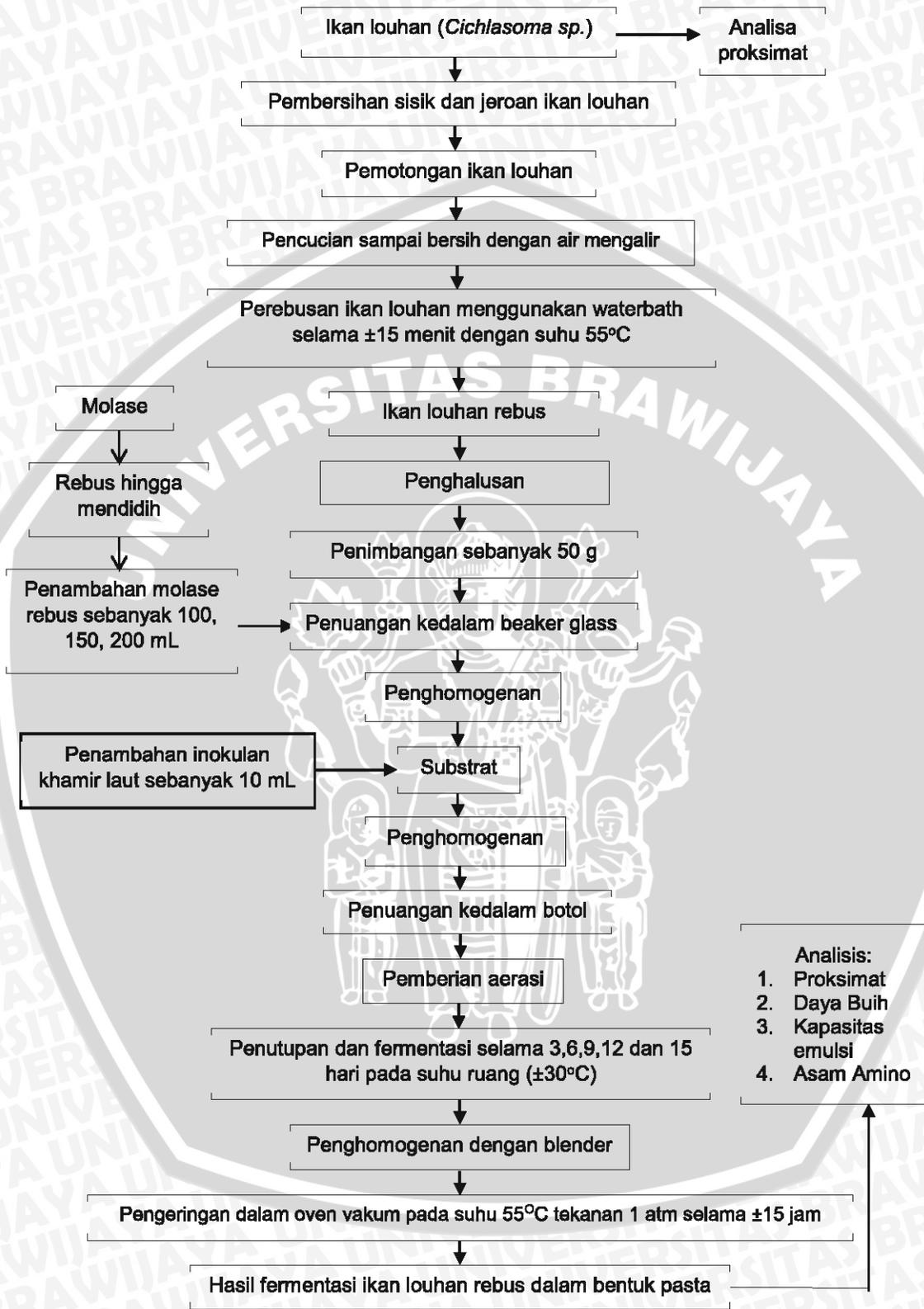
Tabel 5. Perlakuan Penelitian dengan Berbagai Variabel

Perlakuan	Molase Rebus			
	F	G	H	
Lama Fermentasi	A	AF	AG	AH
	B	BF	BG	BH
	C	CF	CG	CH
	D	DF	DG	DH
	E	EF	EG	EH

Keterangan : A = lama fermentasi 3 hari
 B = lama fermentasi 6 hari
 C = lama fermentasi 9 hari
 D = lama fermentasi 12 hari
 E = lama fermentasi 15 hari

F = molase rebus 100 mL
 G = molase rebus 150 mL
 H = molase rebus 200 mL

Prosedur fermentasi ikan louhan rebus yaitu ikan louhan disiangi dan dicuci hingga bersih lalu direbus dengan menggunakan aquadest perbandingan 1:2 (b:v) pada suhu 55°C selama 15 menit. Setelah itu ditiriskan dan dihaluskan dengan gilingan. Selanjutnya ditimbang sebanyak 50 g untuk masing-masing perlakuan dan dimasukkan kedalam botol. Kemudian ditambahkan molase rebus dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 100 mL, 150 mL, 200 mL, dan dihomogenkan. Substrat yang telah siap ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 10 mL, kemudian ditutup dan diberi aerasi yang cukup untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut. Setelah itu difermentasi selama 3, 6, 9, 12, dan 15 hari pada suhu ruang, lalu diblender untuk menghomogenkan dan selanjutnya dikeringkan dengan oven vakum pada suhu 55°C sampai menjadi pasta. Selanjutnya dilakukan pengujian yang meliputi analisis proksimat, pH, daya buih, dan kapasitas emulsi, untuk sampel dengan hasil terbaik dilakukan uji profil asam amino. Prosedur fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Prosedur Fermentasi Ikan Louhan Rebus (Mengadopsi dan memodifikasi dari penelitian Budy, 2014)

3.5 Analisis

3.5.1 Rendemen (Purbasari, 2008)

Rendemen merupakan jumlah perbandingan berat akhir setelah proses dengan berat awal sebelum proses yang dinyatakan dalam % (persen). Prinsip dari rendemen adalah untuk mengetahui berat yang hilang selama proses pengolahan. Prosedur perhitungan rendemen fermentasi ikan louan rebus adalah dengan persentase banyaknya hasil fermentasi ikan louan yang dihasilkan terhadap bahan baku yang digunakan sebelum hidrolisis.

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

Keterangan : A = Berat akhir fermentasi (setelah diperas/dikeringkan) (gram)

B = Berat awal sampel setelah pencampuran (gram)

3.5.2 Kadar Air (Sudarmadji et al., 1989)

Prinsip dari metode *thermogravimetry* untuk analisis kadar air adalah menguapkan air bebas pada sampel dengan cara dipanaskan pada suhu 105 °C selama 3 jam hingga berat sampel menjadi konstan. Prosedur dari analisis kadar air adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
- Keringkan dalam oven bersuhu 100 – 105 °C selama 3 – 5 jam. Kemudian dinginkan dalam eksikator dan ditimbang.
- Pengurangan berat bahan merupakan banyaknya air dalam bahan. Persentase kadar air dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Berat basah (\% WB)} = \frac{(A+B) - C}{B} \times 100\%$$

Dimana :

A : berat botol timbang

B : berat sampel

C : berat akhir (botol timbang + sampel) yang telah dikeringkan

3.5.3 Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Analisa kadar lemak pada hasil fermentasi ikan louhan dilakukan dengan metode *goldfisch*. Prinsip analisis kadar lemak adalah ekstraksi, yaitu pemisahan lemak dari sampel dengan cara mensirkulasikan pelarut lemak kedalam sampel, sehingga senyawa-senyawa lain tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Keuntungan dari metode *goldfisch* adalah pelarut yang sudah dipakai dapat dipakai kembali.

Prosedur kerja analisis kadar lemak pada fermentasi ikan louhan adalah sebagai berikut:

- Penimbangan sampel sebanyak 5 g
- Peletakan dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam
- Peletakan kertas saring dan tali kedalam oven bersamaan dengan sampel
- Peletakan kertas saring dan tali kedalam desikator dan penimbangan sampel sebanyak 2 g
- Penimbangan berat kertas saring dan tali menggunakan timbangan analitik
- Pembungkusan sampel dengan kertas saring
- Peletakan dalam *sample tube goldfisch* dan dipasang dibawah kondensor *goldfisch*
- Pemasangan gelas piala yang telah diisi petroleum eter
- Pengaliran air pada kondensor dan naikan pemanas *goldfisch* sampai menyentuh gelas piala dan biarkan selama 3-4 jam
- Pemanas dimatikan dan pengambilan sampel
- Peletakan sampel dalam oven suhu 105°C sampai berat konstan
- Pendinginan sampel dalam desikator
- Penimbangan sampel dengan timbangan analitik
- Rumus perhitungan kadar lemak adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Lemak(\%)} = \frac{(\text{berat awal} + \text{berat kertas saring}) - \text{berat akhir}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.5.4 Kadar Abu (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Prinsip dari metode pengabuan kering untuk analisis kadar abu ini adalah pembakaran bahan organik pada suhu tinggi selama beberapa jam sehingga hanya tersisa bahan anorganik dalam bentuk abu. Prosedur dari metode ini adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan sebanyak 2 – 10 g dalam kurs porselin kering yang telah diketahui beratnya.
- Pijarkan pada *muffle* suhu 600 °C selama 4 jam hingga berwarna keputih-putihan.
- Masukkan krus dan abu ke dalam eksikator dan ditimbang berat abu. Kadar abu dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Abu} = \frac{\text{berat abu (gram)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100\%$$

3.5.5 Kadar Protein (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Prinsip dari metode Kjeldahl untuk analisis kadar protein adalah menentukan jumlah nitrogen (N) total pada bahan melalui 3 tahapan, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Prosedur dari metode Kjeldahl adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 1 g dan masukkan ke dalam labu Kjeldahl.
- Tambahkan 15 mL H₂SO₄ pekat dan 1/3 tablet Kjeldahl sebagai katalisator.
- Masukkan ke dalam ruang asam dan panaskan sampai larutan berwarna bening dan berhenti berasap, kemudian dinginkan. Siram bagian dalam dinding labu Kjeldahl dengan 30 mL akuades.

- Tambahkan 100 mL akuades dan 50 mL NaOH kemudian didestilasi. Tampung hasil destilat pada 100 mL larutan H_3BO_3 dan tetesi dengan metilen oranye sebanyak 1 tetes.
- Titrasi dengan H_2SO_4 0,3 N hingga berubah warna menjadi merah muda. Porsentase protein bahan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Protein} = \frac{(\text{mL } H_2SO_4 \text{ sampel} - \text{mL } H_2SO_4 \text{ blanko})}{\text{g contoh}} \times N \text{ } H_2SO_4 \times 1,4008 \times 6,2$$

3.5.6 Kadar Karbohidrat (Winarno, 2004)

Prinsip dari analisis kadar karbohidrat dengan metode *Carbohydrate by Difference* adalah pengurangan angka 100 dengan komponen non karbohidrat seperti kadar air, kadar lemak, kadar protein, dan kadar abu. Kadar karbohidrat dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

3.5.7 Nilai pH (Hadiwiyoto, 1993)

Pengujian nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Prinsip dari pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hidrogen secara potensiometri atau elektrometri dengan menggunakan pH meter. Prosedurnya pengukuran pH yaitu:

- pH meter dinyalakan dan dicuci dengan aquades, lalu dilap menggunakan kertas hisap.
- Pengukuran pH dilakukan dengan memasukkan elektroda ke dalam larutan sampel kemudian dibaca nilai pH yang tertera.
- Tiap kali pH meter selesai digunakan maka elektrodanya dibersihkan seperti pada tahap awal pengukuran pH.

3.5.8 Kapasitas Emulsi (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

Kapasitas emulsi yang baik bila bahan dapat menyerap air dan minyak secara seimbang. Prinsip dari kapasitas emulsi protein bergantung pada keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik. Kapasitas emulsi diukur dengan cara

- Timbang 5 gram sampel
- Tambahkan dengan 20 mL akuades dan 20 mL minyak jagung
- Homogenkan selama 1 menit
- Sentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit.

Kapasitas emulsi dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

3.5.9 Daya buih (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

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

- Timbang sampel sebanyak 1 gram
- Tambahkan dengan 10 mL akuades
- Homogenkan selama 1 menit
- Kapasitas busa dilihat dari busa yang terbentuk dibandingkan dengan kapasitas volume awal.

Stabilitas busa merupakan rasio dari kapasitas busa selama waktu observasi dibandingkan dengan kapasitas busa awal.

$$\text{Daya Buih(\%)} = \frac{\text{volume busa yang terbentuk}}{\text{volume awal}} \times 100\%$$

3.5.10 Analisis Profil Asam Amino (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Analisis Kandungan asam amino pada hasil fermentasi ikan louhan dilakukan dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Prinsip analisis asam amino dengan metode HPLC yaitu hidrolisa protein pada sampel. Untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino penyusun protein maka protein diisolasi dan bahan kemudian dihidrolisa. Hidrolisa protein dapat menggunakan asam atau basa. Hidrolisat diinjeksikan pada HPLC dengan kolom penukar kation spherogel. Agar dapat diketahui jenis dan jumlah asam aminonya maka diinjeksikan pula standar asam amino yang telah diketahui jenis dan jumlahnya.

Prosedur kerja analisis kandungan asam amino pada hasil fermentasi ikan louhan rebus menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) menurut Sudarmadji *et al.*, 1997 adalah sebagai berikut:

- Penimbangan sampel sebanyak 5 g
- Peletakan sampel pada erlenmeyer bertutup basah
- Penambahan 50 mL petroleum eter
- Pengadukan dengan pengaduk magnet selama 5 menit untuk mengekstraksi lipidanya
- Penyaringan dengan menggunakan kertas saring whatmann no 41 dan
- Pencucian residu dengan petroleum eter 10 mL dan penuangan filtrat
- Ekstraksi residu dengan 25 mL garam encer (NaCl 5%) dalam erlenmeyer, pengadukan dengan pengaduk magnetik selama 10 menit. Lalu sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm
- Pemisahan bening dan residu, pengekstraksian 3 kali dengan garam encer. Pengumpulan bening dan penambahan akuades sehingga volumenya 100 mL

- Pengambilan 10 mL bening dan penambahan 60 mL larutan TCA 10% dalam erlenmeyer dan aduk dengan pengaduk magnet \pm 1 menit sampai endapan protein terbentuk
- Sentrifugasi cairan diatas selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan endapan (protein).
- Dekantasi beningnya dan buang lalu tiupkan gas nitrogen pada residunya hingga kering.
- Hidrolisis dengan asam klorida
 - Penimbangan 50 mg protein, masukkan dalam tabung reaksi yang tertutup ulir (dengan volume 10-15 mL), tambahkan 6 mL HCL 6N
 - Alirkan gas nitrogen selama 1 menit untuk menghilangkan udara dalam tabung tersebut, kemudian tutup rapat-rapat
 - Panaskan campuran diatas dalam oven selama 24 jam pada temperatur 110°C
 - Setelah dingin dibuka tutup tabung reaksi tersebut, tuangkan isinya dalam botol alas bulat 50 mL. cuci tabung reaksi bekasnya beberapa kali dengan larutan HCL 0,01 N
 - Uapkan semua campuran diatas dengan rotary evaporator sampai kering dengan temperatur pemanas sekitar 40°C, tambahkan 2 mL NaOH 0,01 N, biarkan dalam keadaan terbuka pada temperatur kamar selama 4 jam, tambahkan 6 mL HCL 0,02 N, kemudian encerkan larutan ini dengan eluen HPLC yang mempunya pH paling rendah sehingga volumenya menjadi 25 mL
- Penentuan dengan HPLC
 - Cuplikan diambil dengan mikrosiring sebanyak 20 μ l dan penginjeksikan dalam alat HPLC
 - Pencocokan kromatogram sampel yang keluar dengan kromatogram standar asam amino yang telah diketahui jenis dan kadarnya.

- Untuk mengetahui jenis asam amino dapat dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar, sedangkan untuk mengetahui banyaknya asam amino dapat membandingkan antara luasan puncak sampel dengan standar.
- Jika kromatogram sampel sangat berbeda jauh dengan luasan standar maka dapat mengubah banyaknya cairan sampel injeksi.

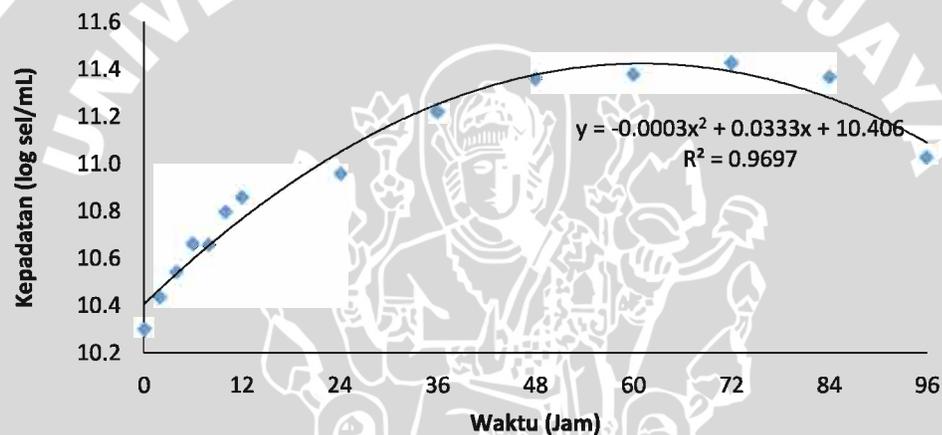


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Fase Logaritmik Khamir Laut

Pertumbuhan khamir laut ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pada berbagai lama waktu kultur. Hasil perhitungan kepadatan khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 4 dan kurva pertumbuhan sel khamir laut pada berbagai lama waktu kultur dapat dilihat pada Gambar 4.

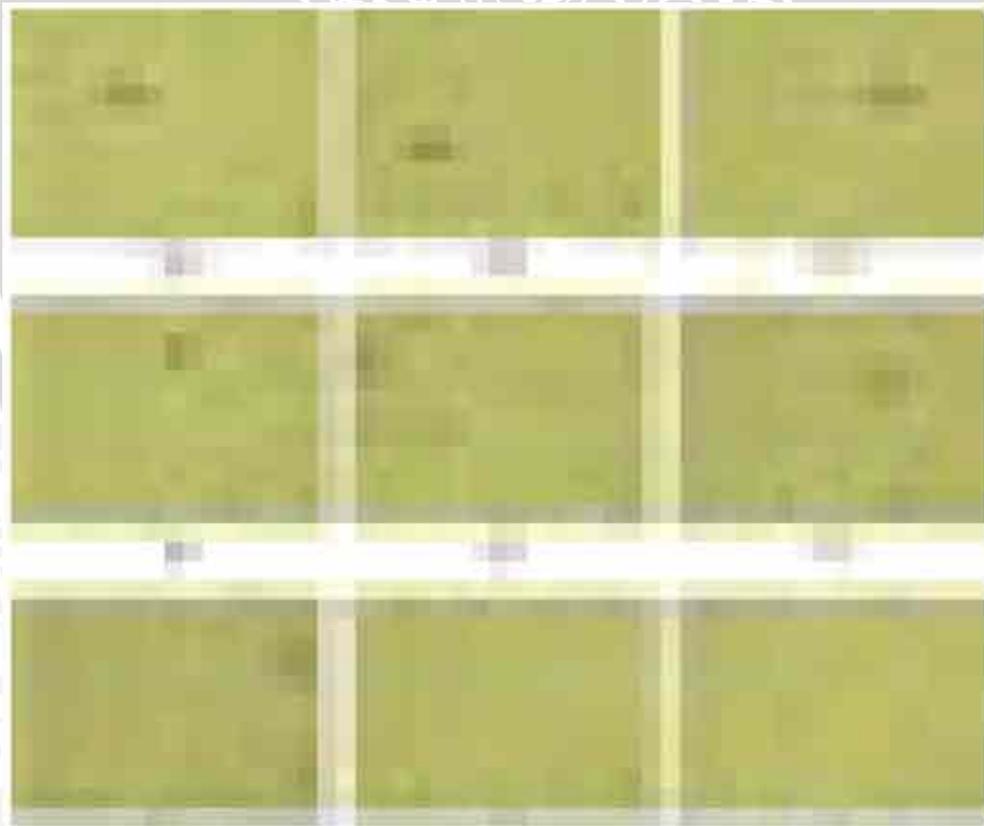


Gambar 4. Pertumbuhan Sel Khamir Laut Pada Berbagai Lama Waktu Kultur

Pada Gambar 4 terlihat pertumbuhan khamir yang sangat cepat, dengan fase adaptasi pada jam ke-0 hingga jam ke-12. Hal ini menunjukkan bahwa khamir laut mampu beradaptasi dengan memanfaatkan sumber nutrisi dari gula dan sumber nitrogen dari pupuk daun dengan baik. Pertumbuhan khamir laut terus mengalami peningkatan dari jam ke-12 hingga jam ke-72, hal ini karena khamir laut mengalami pembelahan dan peningkatan jumlah sel yang disebut sebagai fase logaritmik. Pada jam ke-72 hingga jam ke-96 pertumbuhan khamir laut mulai mengalami penurunan. Hal ini disebabkan mulai terjadinya fase kematian karena nutrisi yang digunakan sebagai sumber makanan di dalam medium telah habis dan

lingkungan sudah tidak memungkinkan untuk pertumbuhan khamir laut. Machfud *et al.* (1989) menjelaskan bahwa laju pertumbuhan spesifik bersifat tidak konstan tergantung pada kondisi lingkungan fisik dan kimiawinya. Nilai maksimum dicapai pada kondisi suplai nutrisi dan substrat masih berlebih serta konsentrasi zat-zat metabolik yang menghambat masih rendah. Berdasarkan pada laju pertumbuhan, maka pertumbuhan mikrobial dapat dibagi menjadi tiga fase, yaitu fase pertumbuhan lambat (*lag phase*), fase pertumbuhan eksponensial (*exponential phase*) dan fase pertumbuhan stasioner (*stationary phase*).

Fase log terjadi pada jam ke-72, yang terlihat dari pertumbuhan tertinggi khamir laut. Hal ini diperkuat dengan pengamatan menggunakan mikroskop. Hasil pengamatan kepadatan khamir laut terhadap lama waktu kultur yang berbeda dengan perbesaran 1000X dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Jam ke-0 (a), jam ke-12 (b), jam ke-24 (c), jam ke-36 (d), jam ke-48 (e), jam ke-60 (f), jam ke-72 (g), jam ke-84 (h), jam ke-96 (i).

Pada Gambar 5 menunjukkan kepadatan sel khamir laut dengan bentuk yang tidak sama dan tidak beraturan, sesuai dengan yang dijelaskan oleh Sukoso (2012) bahwa sel khamir laut berukuran lebih besar daripada bakteri (5-8 μm atau lebih), berbentuk oval, memanjang, elips atau bulat. Disamping itu terlihat bahwa sel khamir laut terlihat mempunyai bulatan kecil yang menempel atau disebut konidia. Munculnya konidia pada sel khamir laut tersebut akan terjadi pembelahan melalui pertunasan (*budding*). Hal ini didukung dengan penjelasan Fardiaz (1989), bahwa dalam sebuah kultur, ukuran dan bentuk khamir laut akan berbeda-beda karena adanya pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan khamir laut.

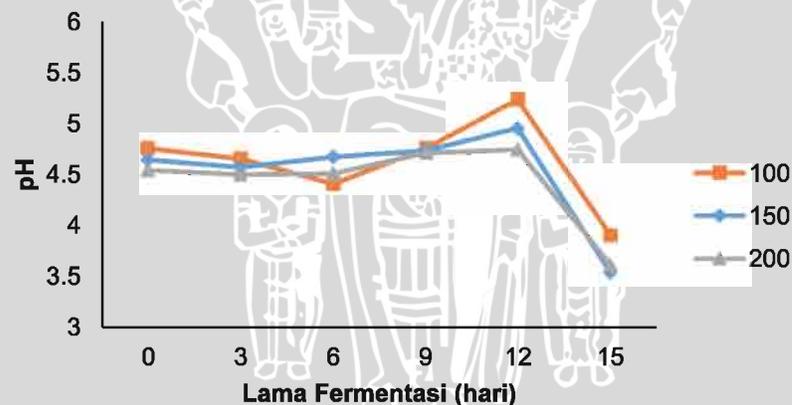
4.1.2 Penentuan Lama Fermentasi dan Volume Molase Rebus

Penentuan lama waktu fermentasi dan volume molase rebus dengan percobaan awal pada pembuatan hidrolisat protein ini bertujuan untuk menentukan lama waktu fermentasi dan volume molase rebus yang optimal digunakan dalam penelitian utama. Percobaan didasarkan pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Budy (2014) bahwa dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang rebus dan molase rebus sebagai bahan utama. Pada penelitian tersebut menggunakan volume molase rebus yaitu 100 mL, 200 mL, dan 300 mL, dengan lama waktu fermentasi 12 hari dan analisa kualitas hidrolisat protein dilakukan tiap tiga hari sekali dengan waktu pengamatan yaitu hari ke-0 sebagai kontrol, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-12.

Berdasarkan hal di atas maka dilakukan penelitian pendahuluan dengan bahan baku ikan louhan sebanyak 50 g dan volume molase rebus 50 mL, 100 mL, dan 150 mL dengan fermentasi dilakukan selama 12 hari dan pengamatan tiap 3 hari. Adapun pengamatan yang dilakukan adalah berdasarkan penampakan fisik. Hasil dari percobaan dengan volume molase sebanyak 50 mL mengalami

kebusukan pada hari ke-7, hal ini ditandai dengan habisnya cairan molase dan bau sedikit busuk. Pada volume molase sebanyak 100 mL tidak mengalami kebusukan dan mampu bertahan hingga fermentasi hari ke-12, hal ini mungkin disebabkan nutrisi yang terdapat pada molase sudah mencukupi kebutuhan nutrisi khamir laut. Seperti yang dijelaskan oleh Novianti (2007) bahwa kandungan sukrosa pada molase sebesar 30-40%. Nutrisi ini yang kemudian digunakan untuk pertumbuhan khamir laut yang dipengaruhi oleh konsentrasi komponen-komponen penyusun media pertumbuhan yaitu suplai karbon yang merupakan sumber yang berpengaruh pada pertumbuhan optimum khamir laut.

Selanjutnya digunakan volume molase rebus sebanyak 100 mL, 150 mL, dan 200 mL dengan sampel 50 g dan inokulum khamir sebanyak 10 mL. Fermentasi diperpanjang menjadi 15 hari dengan pengamatan pH setiap 3 hari. Berikut hasil pengamatan pH pada berbagai lama waktu fermentasi:



Gambar 6. Hasil Pengamatan pH Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Dari hasil pengamatan pH menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin rendah pH. Seperti yang dijelaskan oleh Kunaepah (2008) bahwa semakin lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena lama fermentasi memicu mikroorganisme menghasilkan asam yang banyak, asam dihasilkan dari ekskresi sel mikroorganisme yang terakumulasi dalam substrat yang difermentasi.

Hasil dari percobaan yang dilakukan ternyata formulasi tersebut mampu bertahan hingga 15 hari. Hal ini disebabkan karena nutrisi yang dibutuhkan oleh khamir laut melimpah sehingga dapat bertahan lama saat proses fermentasi. Seperti yang dijelaskan oleh Supriyanto *et al.* (2014), karena adanya perbedaan pola pertumbuhan khamir laut pada variasi konsentrasi molase menunjukkan bahwa komposisi media berperan penting dalam pertumbuhan khamir laut. Perbedaan kecil pada nutrisi yang tersedia memungkinkan terjadinya perubahan akibat keterbatasan nutrisi dan berpengaruh terhadap pembentukan sel mikroorganisme.

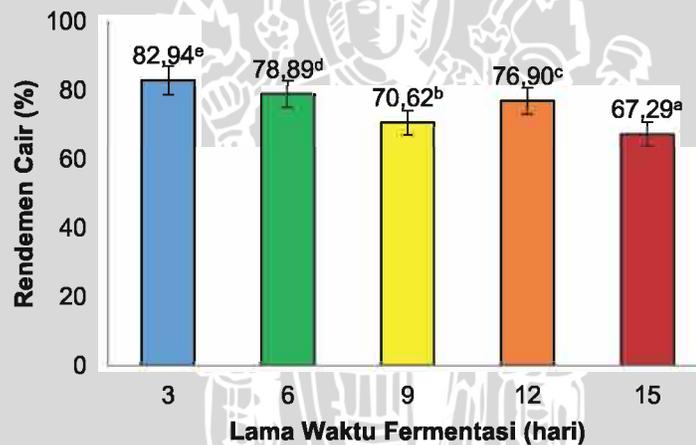
4.2 Penelitian Utama

Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan, diketahui bahwa perbandingan formula terbaik ikan louhan rebus, molase rebus, dan inokulan khamir laut pada fermentasi ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus adalah perbandingan 50:100:10, 50:150:10, 50:200:10. Lama fermentasi yang digunakan adalah 0 hari sebagai kontrol, 3 hari, 6 hari, 9 hari, 12 hari, dan 15 hari. Dalam penelitian ini yang merupakan variabel bebas adalah lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda, untuk variabel terkontrol adalah inokulan khamir laut sebanyak 10 mL. Produk akhir hidrolisat protein ikan louhan rebus ini berbentuk pasta. Adapun variabel terikat yang menjadi parameter kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan rebus adalah rendemen cairan, rendemen pasta, analisa proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), pH, emulsi, daya buih, dan pengujian total asam amino dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromotography*). Hasil analisis rendemen dan kandungan dari hasil fermentasi ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus dengan lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.2.1 Hasil Analisis Fermentasi Ikan Louhan (*Chichlasoma sp.*) Rebus

4.2.1.1 Rendemen Cair

Rendemen cairan dari hasil fermentasi ikan louhan rebus dihitung berdasarkan perbandingan berat awal produk sebelum difermentasi dan berat setelah difermentasi atau saat dipanen. Data pengamatan dan analisis rendemen cairan hidrolisat protein ikan louhan rebus dengan lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 6. Berdasarkan analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen cair dari hasil fermentasi ikan louhan rebus. Grafik pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap rendemen cairan hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 7 berikut:

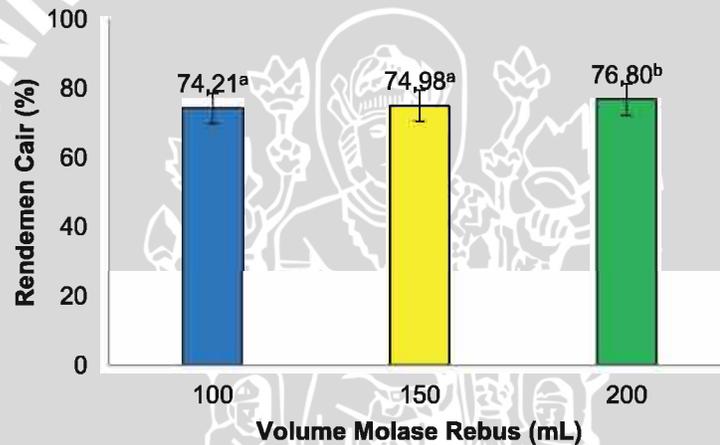


Gambar 7. Rendemen Cairan Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 7 menunjukkan adanya penurunan rendemen setiap harinya, tetapi pada hari ke-12 terjadi sedikit peningkatan rendemen cair yaitu dari 70,62%. Peningkatan nilai rendemen cair pada hari ke-12 mungkin dikarenakan banyaknya substrat yang dihidrolisis. Rendemen tertinggi pada hari ke-3 dan terendah pada hari ke-15. Seperti yang dijelaskan oleh Budy (2014), bahwa semakin lama fermentasi, rendemen cairan hidrolisat protein akan mengalami penurunan sebab

khamir laut sudah mengalami kejenuhan pada proses degradasi hidrolisat protein. Lama fermentasi menyebabkan terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil sehingga nilai rendemen menurun. Hal ini dikarenakan oleh tingginya aktivitas hidrolisis sehingga protein menjadi asam amino yang diubah menjadi H_2O , CO_2 , dan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen (NH_3), skatol, indol, kadaverin, dan putresin).

Grafik pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap rendemen cair hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 8.

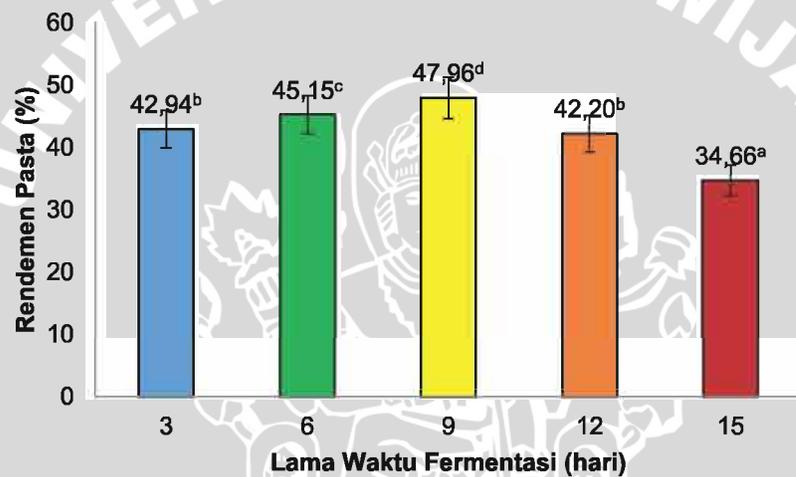


Gambar 8. Rendemen Cair Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Berdasarkan analisis dari penambahan volume molase rebus memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen pada hidrolisat protein ikan louhan rebus. Hal ini terlihat dari Gambar 8 bahwa terjadi peningkatan. Hal ini dikarenakan semakin banyak penambahan volume molase mampu memberikan nutrisi terhadap pertumbuhan khamir untuk menghidrolisis substrat. Kecenderungan naik atau turunnya rendemen mengikuti perubahan kadar air selama proses fermentasi (Widyasaputro dan Yuwono, 2013).

4.2.1.2 Rendemen Pasta

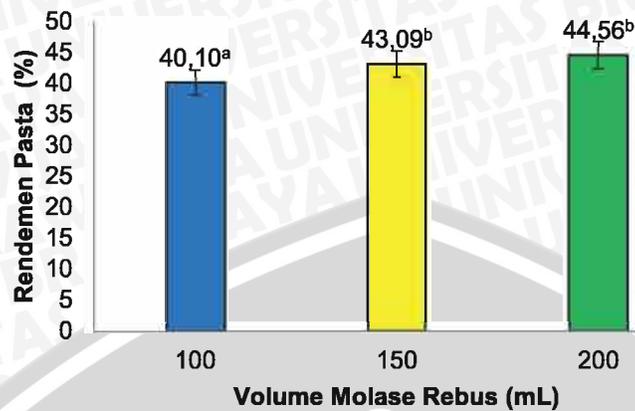
Data pengamatan dan analisis data rendemen pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 7. Dari analisis data pengaruh lama fermentasi terhadap rendemen pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$). Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap rendemen pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 9. berikut:



Gambar 9. Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 9 menunjukkan adanya penurunan rendemen pasta pada hari ke-12. Hal ini karena semakin lama fermentasi maka perombakan glukosa akan semakin banyak sehingga semakin rendah rendemen yang dihasilkan. Selain itu peningkatan terjadi pada hari ke-6, dan ke-9 dengan hasil tertinggi sebesar 47,96 % pada hari ke-9. Ini disebabkan hidrolisat protein mengalami titik optimal fermentasi sehingga terjadi peningkatan rendemen.

Pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap rendemen pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 10.



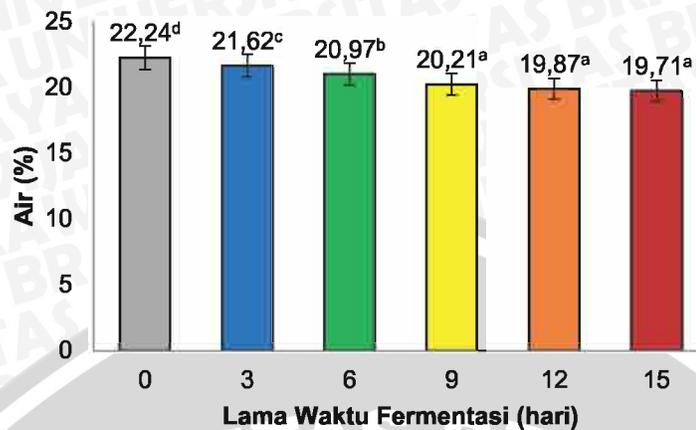
Gambar 10. Rendemen Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Berdasarkan analisis data penambahan volume molase rebus memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen pasta hidrolisat protein ikan louhan rebus. Dari gambar 10 terlihat semakin besar penambahan volume molase yang diberikan maka semakin banyak rendemen pasta yang dihasilkan. Hal ini berhubungan dengan rendemen cair yang diperoleh, dimana rendemen pasta berbanding lurus dengan rendemen cairan. Penambahan volume molase yang semakin tinggi akan langsung berperan dalam peningkatan pasta hidrolisat yang dihasilkan.

4.2.1.3 Analisa Proksimat

a. Kadar Air

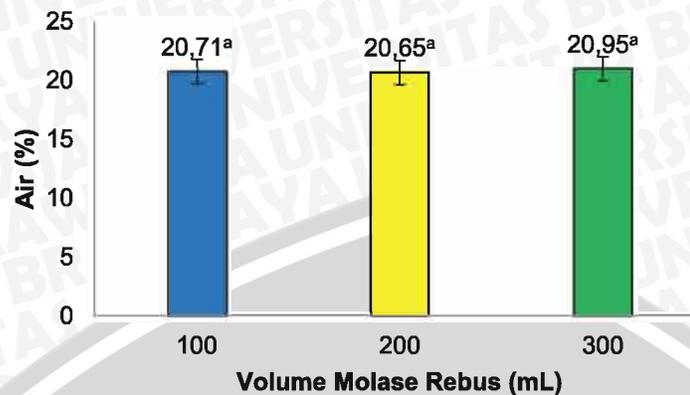
Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (hari ke-0) dan kadar air pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 8. Dari analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar air pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus. Pengaruh lama fermentasi terhadap hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 11 berikut:



Gambar 11. Kadar Air Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Seperti yang terlihat pada Gambar 11 bahwa terjadi penurunan kadar air selama 15 hari fermentasi, dikarenakan belum terjadinya hidrolisis pada perlakuan kontrol sehingga kandungan yang terdapat pada produk masih murni seperti sebelum pencampuran substrat. Sedangkan pada hari ke-3 hingga hari ke-15 terjadi penurunan kadar air yang disebabkan oleh meningkatnya kandungan nutrisi lain sehingga menurunkan kadar air hidrolisat protein. Seperti yang dijelaskan oleh Widyasaputra dan Yuwono (2013) bahwa semakin lama fermentasi maka kadar air akan semakin turun. Selain itu perubahan bahan kering dapat terjadi karena pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi. Selama itu, terjadi proses dekomposisi substrat dan perubahan kadar air. Perubahan kadar air diakibatkan terjadinya evaporasi, hidrolisis substrat atau produksi air metabolik (Nelson dan Suparjo, 2011).

Pengaruh penambahan volume molase rebus terhadap kandungan air hidrolisat protein ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 12.

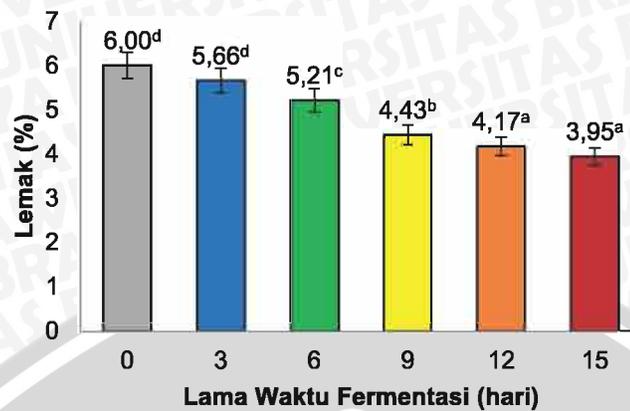


Gambar 12. Kadar Air Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Bedasarkan analisis data penambahan volume molase rebus yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar air pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus. Ditunjukkan pada gambar bahwa semakin tinggi penambahan volume molase rebus maka akan semakin tinggi pula kadar air yang dihasilkan. Hal ini dimungkinkan karena kandungan air molase rebus mencapai 64,63% (Rohim, 2014) sehingga dengan penambahan volume molase rebus yang semakin banyak maka kandungan air pada produk akhir juga semakin meningkat. Kenaikan air tersebut disebabkan oleh proses metabolisme yang dilakukan oleh mikroorganisme yang berperan selama proses fermentasi (Simanjorang, 2012).

b. Kadar Lemak

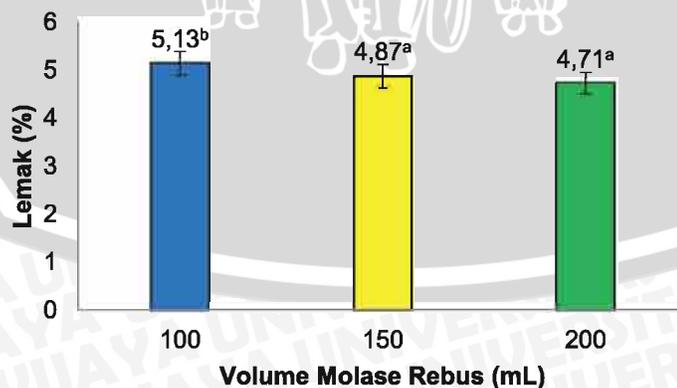
Data pengamatan dan hasil analisis kadar lemak pasta kontrol (hari ke-0) dan kadar lemak pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 9. Dari analisis data lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar lemak pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus. Pengaruh lama fermentasi terhadap hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Kadar Lemak Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Dari Gambar diatas menunjukkan bahwa kadar lemak pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini mungkin karena penurunan kadar lemak pada produk hidrolisat protein ikan disebabkan oleh terjadinya perubahan struktur jaringan ikan yang sangat cepat pada saat proses hidrolisis. Selama proses hidrolisis akan terjadi perubahan struktur jaringan ikan yang mengakibatkan terlepasnya lemak pada struktur membran. Terlepasnya lemak dari struktur membrane akan memudahkan aktivitas khamir laut dalam mendegradasi lemak (Purbasari, 2008).

Adapun pengaruh penambahan molase rebus terhadap kadar lemak pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 14.

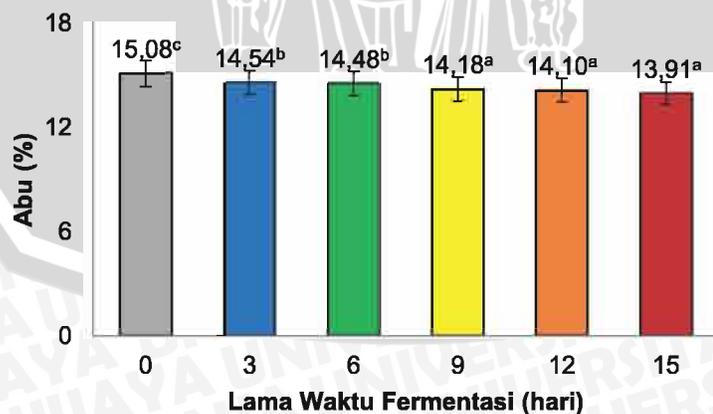


Gambar 14. Kadar Lemak Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Dari analisis data penambahan volume molase rebus yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar lemak pasta hasil fermentasi ikan louhan. Gambar 14 menunjukkan semakin banyak volume molase rebus yang ditambahkan maka kadar lemak pada produk semakin menurun. Hal ini mungkin disebabkan mikroorganismenya yang mengalami degradasi lemak pada penambahan volume molase yang semakin meningkat. Penurunan kadar lemak disebabkan karena menurunnya pH mengakibatkan suasana asam yang terbentuk sehingga proses hidrolisis dan oksidasi lemak berlangsung semakin cepat, dengan adanya air maka lemak dapat terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Reaksi ini dipercepat oleh basa, asam dan enzim-enzim (Maharaja, 2008).

c. Kadar Abu

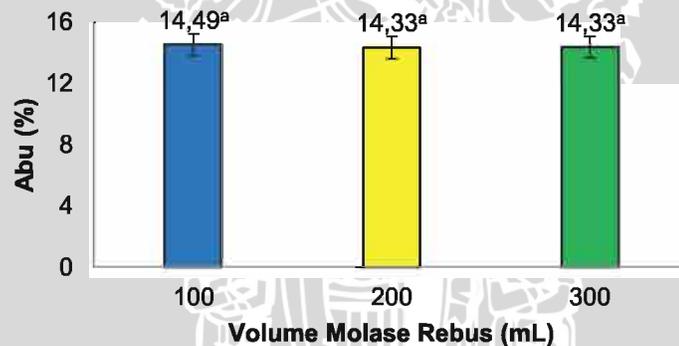
Data pengamatan dan analisis data kadar abu pasta kontrol dan hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan lama fermentasi dan penambahan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 10. Data analisis kadar abu menunjukkan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar abu pada hidrolisat protein. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar abu pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 15 berikut:



Gambar 15. Kadar Abu Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Terlihat pada Gambar 15 diatas menunjukkan terjadinya penurunan kadar abu hingga fermentasi pada hari ke-15. Seperti yang dijelaskan oleh Savitri (2011) bahwa semakin lama fermentasi menyebabkan penurunan kadar abu. Ini menunjukkan terjadi penggunaan komponen mineral dari hasil fermentasi ikan louhan rebus oleh khamir laut yang menyebabkan kadar abu menjadi berkurang. Ditambahkan oleh Suriati (2015) menurunnya kadar abu dikarenakan kadar abu berfungsi sebagai ko enzim saat proses fermentasi yang digunakan untuk inaktivasi enzim. Dimana kadar abu berhubungan dengan garam-garam mineral pada molase yang merupakan nutrisi lain yang dibutuhkan oleh khamir laut untuk pertumbuhannya.

Pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap kadar abu pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 16.



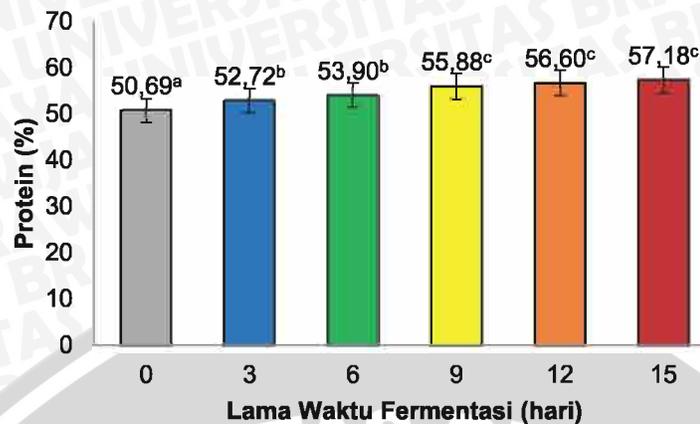
Gambar 16. Kadar Abu Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Dari Gambar diatas menunjukkan bahwa penambahan volume molase rebus yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar abu hasil fermentasi ikan louhan. Semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka kadar abu dalam produk hasil fermentasi ikan louhan rebus akan menurun. Hal ini mungkin disebabkan oleh banyaknya volume molase rebus yang ditambahkan sehingga mempengaruhi kinerja khamir laut dalam menghidrolisis substrat karena mineral dalam molase merupakan kandungan

nutrisi yang dibutuhkan khamir laut dalam proses hidrolisis selama fermentasi berlangsung, sehingga kadar abu semakin turun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hasanuzzaman *et al.* (2014), bahwa semakin tinggi konsentrasi gula yang digunakan, akan menurunkan kadar abu dari produk. Kadar abu yang semakin menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi gula dikarenakan karena adanya proses hidrolisis sukrosa. Ditambahkan oleh Purwaningsih (2012) bahwa adanya perbedaan kadar abu disebabkan karena setiap mikroorganisme mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mengabsorpsi dan mengatur logam. Sehingga dapat digunakan khamir laut untuk pertumbuhannya dan kadar abu semakin berkurang.

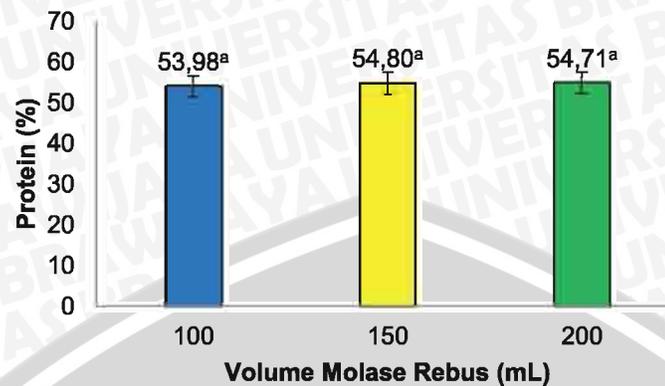
d. Kadar Protein

Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar protein kontrol (fermentasi hari ke-0) dan kadar protein pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 11. Data analisis kadar protein menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar abu hasil fermentasi ikan louhan rebus. Hasil dari kadar protein kontrol dan pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan lama fermentasi dan penambahan volume yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 17 dan Gambar 18.



Gambar 17. Kadar Protein Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 17 menampilkan terjadinya peningkatan kadar protein pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan lama fermentasi yang berbeda. Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk enzim. Peningkatan protein disebabkan oleh adanya sekresi enzim-enzim oleh khamir laut, diantaranya enzim inertase dan hidrolase. Proses pemecahan protein dengan enzim protease yang menyebabkan kadar protein meningkat. Peningkatan kandungan protein terjadi karena sekresi enzim ekstraseluler oleh khamir laut turut berperan dalam meningkatkan kandungan protein (Nelson dan Suparjo, 2011). Dijelaskan oleh Novianti (2007), bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi untuk pembelahan sel. Semakin lama fermentasi maka semakin tinggi protein yang dihasilkan, ini disebabkan terjadinya hidrolisis enzim dari metabolit khamir laut. Semakin lama waktu hidrolisis menyebabkan konsentrasi hasil hidrolisis meningkat yang disebabkan oleh lamanya waktu reaksi. Waktu hidrolisis merupakan faktor yang berpengaruh terhadap banyaknya protein yang terhidrolisis (Prasetyo, 2012). Ditambahkan oleh Purbasari (2008) selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis tergantung pada konsentrasi substrat, tekstur substrat, dan konsentrasi enzim.



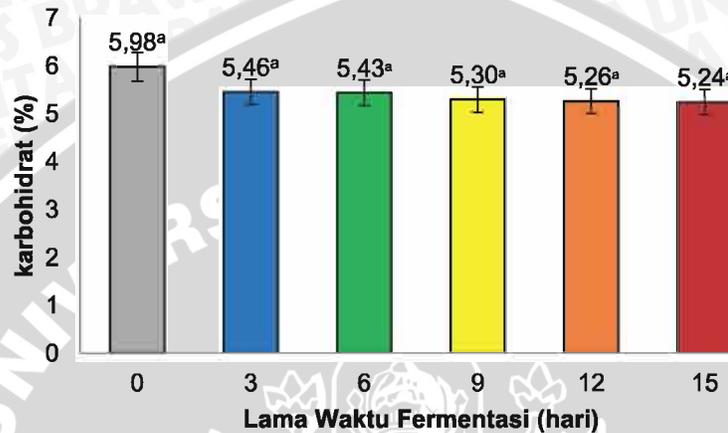
Gambar 18. Kadar Protein Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Pada gambar diatas terlihat bahwa penambahan volume molase rebus 200 mL mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh pemberian molase rebus yang terlalu banyak dapat menghambat proses fermentasi. Seperti yang dijelaskan oleh Wardhani (2007) bahwa peningkatan jumlah molase yang ditambahkan mampu menurunkan kadar protein. Hal ini menunjukkan terjadinya pemecahan asam amino oleh khamir laut selama proses fermentasi. Selama proses fermentasi terjadi aktivasi proteolitik dari enzim protease yang dihasilkan sehingga terjadi pemecahan protein menjadi asam-asam amino bebas. Kelarutan protein meningkat karena semakin besar konsentrasi protease akan semakin banyak ikatan peptida dari protein yang terputus menjadi peptide-peptida sederhana. Protein yang terhidrolisis akan membebaskan asam-asam amino (Amalia, 2007). Semakin lama hidrolisis, kontak enzim dengan substrat semakin lama, yang mengakibatkan tingkat hidrolisis semakin tinggi dan dihasilkan molekul-molekul protein yang kelarutannya meningkat (Witono *et al.*, 2007).

e. Kadar Karbohidrat

Data pengamatan dan analisis data rata-rata kadar karbohidrat kontrol (fermentasi hari ke-0) dan kadar karbohidrat pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan lama fermentasi dan penambahan volume molase yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 12. Data analisis menunjukkan bahwa lama fermentasi

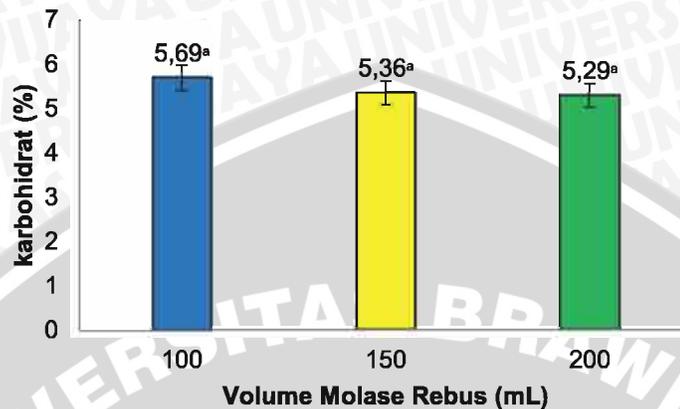
tidak memberikan pengaruh nyata pada kadar karbohidrat pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus ($p > 0,05$). Grafik hasil kadar karbohidrat kontrol dan pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 19 dan Gambar 20.



Gambar 19. Kadar Karbohidrat Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 19 diatas terlihat bahwa kadar karbohidrat mengalami penurunan. Karbohidrat yang dihasilkan adalah hasil akhir dari produk setelah diketahui kandungan-kandungan lainnya seperti kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Penurunan kadar karbohidrat terjadi karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak karbon yang dibutuhkan oleh khamir laut sebagai sumber energi dalam menghidrolisis substrat. Seperti yang dijelaskan oleh Budy (2014), bahwa selama fermentasi terjadi pemecahan molase rebus oleh khamir laut sebagai sumber energi dalam menghidrolisis substrat. Kandungan karbohidrat pada media mengandung glukosa (molase) terjadi penurunan, karena pertumbuhan sel mikroorganisme menggunakan sumber karbon sukrosa menunjukkan bahwa sel mengalami fase eksponensial. Pertumbuhan sel dengan menggunakan sumber karbon molase cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan sumber karbon lainnya. Hal ini disebabkan kondisi fisiologi pertumbuhan sel lebih baik pada medium yang kaya, dalam hal ini molase mengandung

senyawa bernitrogen, garam organik, vitamin dan elemen mikro yang mampu menstimulasi metabolisme sel (Kusmiati *et al.*, 2011).



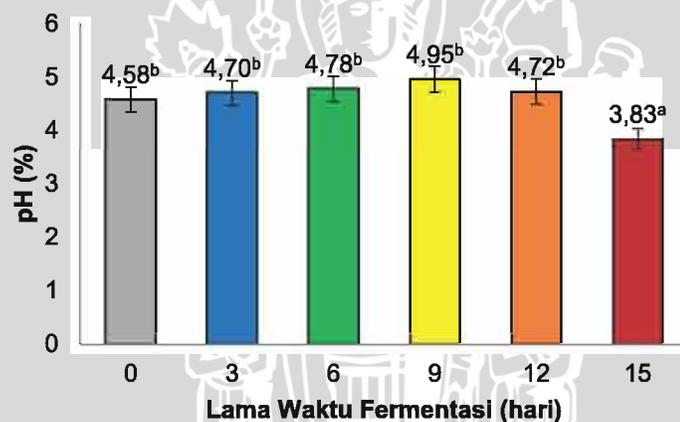
Gambar 20. Kadar Karbohidrat Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Data analisis rata-rata kadar karbohidrat pasta hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus yang berbeda mengalami penurunan seiring dengan semakin banyaknya volume molase yang ditambahkan. Hal ini mungkin disebabkan karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak karbon yang diperlukan oleh khamir laut dalam menghidrolisis sehingga semakin banyak volume molase rebus yang ditambahkan maka kadar karbohidrat hidrolisat protein ikan louhan rebus juga akan semakin menurun. Dijelaskan oleh Kusmiati *et al.*, (2011), bahwa penggunaan molase sebagai sumber karbon dalam fermentasi karena adanya kandungan gula dan berbagai nutrisi yang diperlukan bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Sumber karbon molase juga dapat digunakan menjadi pengganti glukosa. Semakin tinggi volume molase yang ditambahkan menyebabkan khamir laut semakin cepat mengalami pertumbuhan, dimana molase akan dipecah dan digunakan sebagai sumber energinya. Molase yang mengandung glukosa digunakan untuk metabolisme oleh khamir sehingga menghasilkan energi untuk pertumbuhannya. Karbohidrat yang

dihidrolisis akan terpecah menjadi senyawa yang lebih sederhana, hal ini menyebabkan karbohidrat mengalami penurunan (Rini, 2014).

4.2.1.4 Nilai pH

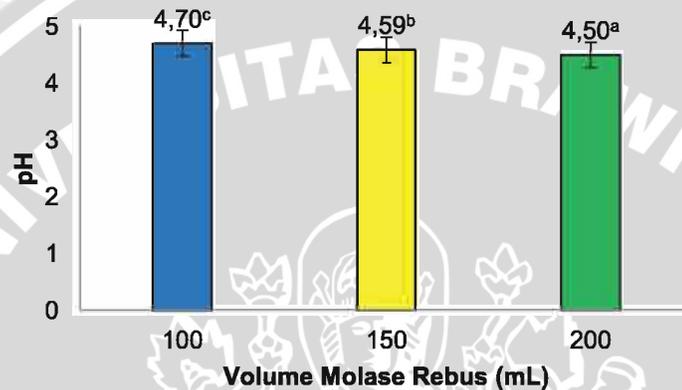
Data pengamatan dan analisis data rata-rata pH kontrol (fermentasi hari ke-0) dan pH hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Data analisis menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil fermentasi ikan louan ($p < 0,05$). Pengaruh lama fermentasi dan penambahan volume molase rebus yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 21 dan Gambar 22 berikut:



Gambar 21. Nilai Ph Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 21 menunjukkan terjadinya peningkatan pH hingga fermentasi hari ke-9 dan mengalami penurunan pada hari ke-12 dan 15. Wahyudi (1997) menyatakan bahwa adanya penguraian sumber nitrogen dan asam organik yang terdapat dalam media menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti nitrat dan nitrit sehingga dapat meningkatkan nilai pH. Penurunan pH disebabkan karena semakin lama fermentasi mengakibatkan komponen karbohidrat (gula) dari molase pecah membentuk asam-asam yang mudah menguap. Menurut Kunaepah

(2008) lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena semakin lama fermentasi, mikroorganisme yang aktif semakin banyak. Sehingga menghasilkan asam yang akan diekskresikan keluar sel dan terakumulasi dalam cairan fermentasi. Mikroorganisme fermentasi yang mampu merubah karbohidrat menjadi asam laktat menyebabkan penurunan pH yang mengakibatkan sekresi enzim (Hermiastuti, 2013).

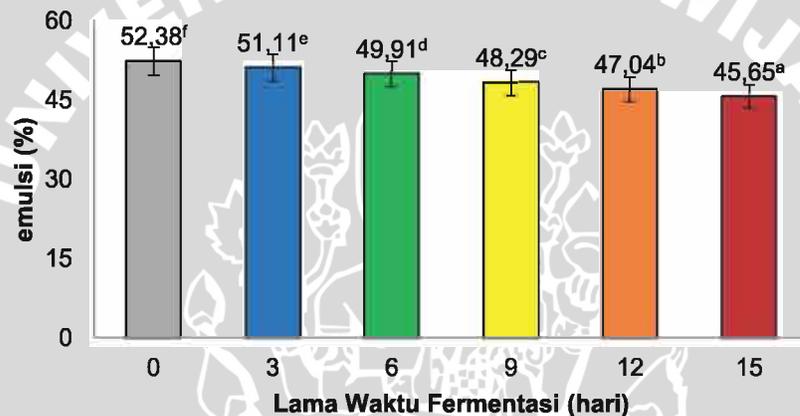


Gambar 22. Nilai Ph Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Gambar 22 menunjukkan seiring penambahan volume molase rebus mampu menurunkan nilai pH dari hasil fermentasi ikan louhan rebus. Hal ini mungkin dikarenakan semakin banyaknya volume molase rebus yang ditambahkan mempengaruhi kinerja enzim dalam menghidrolisis sehingga dihasilkan CO₂ dan asam-asam hasil ekskresi dari metabolisme khamir laut selama proses hidrolisis. Seperti yang dijelaskan oleh Rahmadi (2003) bahwa penurunan pH disebabkan karena hasil dari produk fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam piruvat, etanol, CO₂, air dan panas. Peranan utama penurunan pH dalam proses fermentasi bahan pangan adalah mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat dengan semakin lama proses fermentasi, maka semakin banyak asam yang dihasilkan (Simbolon, 2008).

4.2.1.5 Kapasitas Emulsi

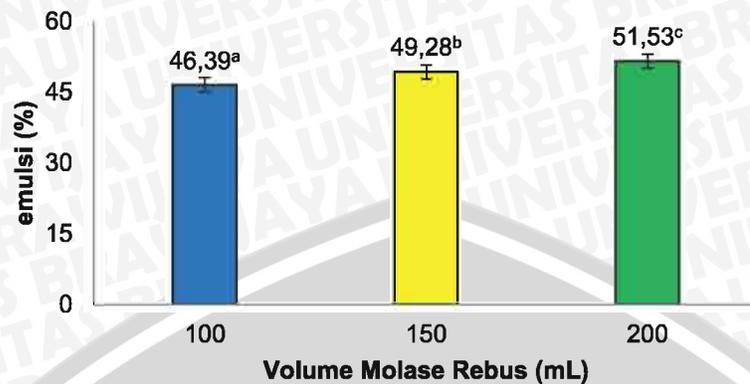
Data pengamatan dan analisis data rata-rata kapasitas emulsi kontrol (fermentasi hari ke-0) dan kapasitas emulsi pasta hidrolisat protein ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Data analisis menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil fermentasi ikan louan ($p < 0,05$). Pengaruh lama fermentasi terhadap fermentasi ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Kapasitas Emulsi Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 23 menunjukkan terjadinya penurunan kapasitas emulsi, yang mungkin disebabkan oleh kemampuan hidrolisis khamir laut yang tinggi. Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa kapasitas emulsi hidrolisat relatif stabil karena adanya kemampuan hidrolisis yang tinggi sehingga menghasilkan sejumlah peptide yang panjang hingga mengakibatkan penurunan kadar emulsi pada hidrolisat protein. Kapasitas emulsi disebabkan oleh kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak, berkaitan dengan keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik asam amino (Riewpassa *et al.*, 2013).

Pengaruh penambahan volume molase rebus pada hidrolisat protein ikan louhan rebus dapat dilihat pada Gambar 24 berikut:



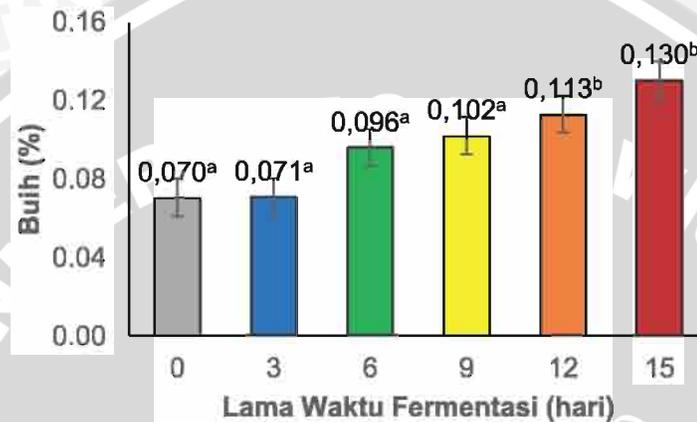
Gambar 24. Kapasitas Emulsi Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Volume Molase Rebus

Dari Gambar 24 terlihat bahwa semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka kapasitas emulsi akan semakin meningkat. Hal ini mungkin dikarenakan penambahan volume molase rebus yang semakin banyak dapat meningkatkan kemampuan hidrolisis sehingga menghasilkan sejumlah peptide panjang yang memicu terbentuknya kadar emulsi. Semakin besar ketidakcampuran maka semakin besar luas antar permukaan dan emulsi sulit dibentuk. Peptide panjang yang terbentuk terserap dalam lapisan minyak dan memicu terbentuknya tetesan minyak kecil sehingga kestabilan emulsi menjadi lebih tinggi (Gbogouri *et al.*, 2004). Aktivitas pengemulsian berhubungan erat dengan kemampuan protein untuk menutupi antar permukaan minyak–air. Peningkatan kapasitas emulsi disebabkan oleh penurunan ukuran globula minyak dalam emulsi yang menyebabkan luas antar permukaan semakin tinggi (Estiasih dan Ahmadi, 2012).

4.2.1.6 Daya Buih

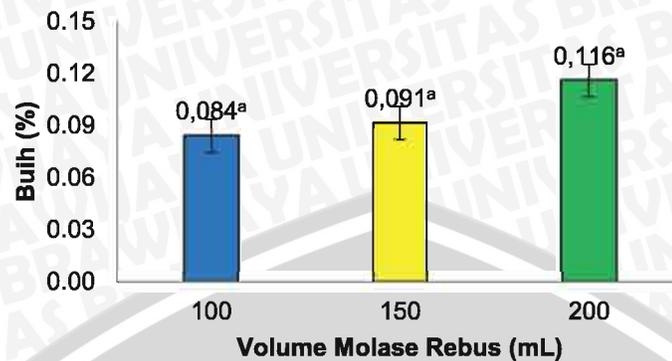
Data pengamatan dan analisis rata-rata daya buih hasil fermentasi ikan louhan rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Data analisis

menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil fermentasi ikan louan ($p < 0,05$). Pengaruh lama fermentasi dan penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap hidrolisat protein ikan louan rebus dapat dilihat pada Gambar 25 dan Gambar 26.



Gambar 25. Daya Buih Pasta Hasil Fermentasi Ikan Louan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 25 menunjukkan semakin lama fermentasi maka daya buih yang dihasilkan semakin meningkat. Pada penelitian ini daya buih tertinggi sebesar 0,13 % pada lama fermentasi hari ke-15. Hal ini mungkin karena selama waktu fermentasi terbentuk asam amino yang dapat mengabsorpsi antara fase udara dengan air sehingga memicu terbentuknya daya buih yang banyak. Seperti yang dijelaskan oleh Koesoemawardani *et al.*, (2010) hidrolisat protein mempunyai nilai protein terlarut yang tinggi maka daya buihnya juga tinggi. Selama inkubasi terbentuk peptide hidrofobik yang dapat mengabsorpsi antara fase udara dan air, sehingga dapat membentuk buih yang banyak. Kapasitas buih dipengaruhi oleh nilai pH dan berkorelasi positif dengan profil kelarutan protein seperti pada sifat emulsi, ketika muatan protein meningkat maka kapasitas buihpun meningkat (Budijato *et al.*, 2011).



Gambar 26. Daya Buih Pasta Hidolizat Protein Ikan Louhan Rebus Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Dari gambar diatas terlihat bahwa penambahan volume molase rebus yang semakin banyak dapat meningkatkan kemampuan daya buih hasil fermentasi ikan louhan rebus. Seperti yang dijelaskan oleh Fathony (2014), bahwa molase rebus membantu menyediakan energi bagi pertumbuhan khamir laut dalam menghidrolisis protein, sehingga semakin banyak nutrisi yang diberikan maka semakin banyak kandungan protein pada substrat yang terhidrolisis. Hal ini berpengaruh pada meningkatnya kemampuan daya buih hasil fermentasi ikan louhan rebus. Pembentukan dan stabilitas busa dipengaruhi oleh pH, suhu, garam, gula, lemak, dan sumber protein. Volume dan stabilitas busa akan bertambah dengan meningkatnya konsentrasi protein yang diuji. Buih yang terbentuk pada konsentrasi tinggi bersifat padat dan stabil karena lapisan permukaan lebih tebal (Sanapi, 2013).

4.2.2 Total Asam Amino

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein yang dapat diklasifikasikan berdasarkan kemampuan sintesis dalam tubuh, yaitu asam amino esensial dan non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi oleh tubuh sehingga harus disuplai melalui makanan, sedangkan asam amino non-esensial dapat diproduksi dalam tubuh. Berdasarkan hasil analisis proksimat dari hasil

fermentasi ikan louhan diperoleh hasil protein tertinggi pada lama fermentasi hari ke-15 dengan volume molase sebanyak 150 mL. Hasil ini selanjutnya dianalisis total asam amino yang dapat dilihat pada Lampiran 16. Kandungan asam amino fermentasi ikan louhan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kandungan Asam Amino Hasil Fermentasi Ikan Louhan Rebus Molase Rebus

No.	Jenis As. Amino (%)	Hasil Fermentasi Ikan Louhan	Hidrolisat Protein			Tepung Ikan ⁴
			Ikan Mujair ¹	Ikan Lele Dumbo ²	Kepala Vaname Rebus ³	
Esensial						
1.	Lisin	0,89	-	5,23	3,21	2,82
2.	Leusin	0,98	48,2	3,55	0,72	3,99
3.	Isoleusin	0,53	-	1,97	0,54	2,37
4.	Valin	0,64	43	2,57	0,71	3,27
5.	Arginin	0,81	-	2,77	0,78	3,73
6.	Threonin	0,66	131,9	2,22	0,46	2,34
7.	Phenilalanin	0,59	17,6	2,02	0,45	2,37
8.	Metionin	0,33	81,7	0,98	0,19	0,99
9.	Histidin	0,26	62,9	1,68	0,26	0,78
10.	Triptofan	-	-	-	-	-
Non Esensial						
11.	Glutamat	8,57	80,7	7,77	7,31	7,06
12.	Aspartat	1,83	114,9	5,98	1,97	4,41
13.	Alanin	1,49	18,6	2,93	1,42	3,12
14.	Glisin	1,11	18,1	4,85	0,7	3,83
15.	Prolin	0,73	67,3	-	1,18	3,93
16.	Tirosin	0,30	36,5	2,56	0,26	1,59
17.	Serin	0,53	55,7	2,61	0,44	3,75
18.	Sistin	0,01	76,1	-	-	0,63
Total		20,26	853,2	49,69	20,6	48,64

Sumber: ¹ Ariyani *et al.*, (2003)

² Salamah *et al.*, (2012)

³ Budy (2014)

⁴ Sitompul (2004)

Hasil uji protein menunjukkan bahwa kandungan protein sebesar 60,07%, namun setelah dianalisis asam amino hanya terdapat 20,26% total asam amino. Hal ini dikarenakan metode yang digunakan saat analisis kadar protein menggunakan Kjeldahl, dimana yang terdeteksi adalah total N. Sedangkan

senyawa Nitrogen tidak hanya terdapat pada senyawa protein saja tapi juga terdapat pada senyawa lainnya. Saat uji asam amino yang dideteksi murni kandungan asam amino yang terkandung pada protein saja, sehingga jumlahnya menurun sesuai yang terkandung pada protein. Pada Tabel 6 terlihat bahwa fermentasi ikan louhan rebus memiliki 17 jenis asam amino. Komposisi asam amino esensial tertinggi adalah leusin, sedangkan komposisi asam amino non esensial tertinggi adalah asam glutamat yang memiliki jumlah asam amino lebih tinggi dibandingkan dengan asam amino yang lainnya. Hal ini dimungkinkan asam glutamat merupakan jenis asam amino hidrofilik (polar) sehingga dengan perlakuan perebusan jumlahnya jadi meningkat. Menurut Winarno (2004), Sebenarnya ada 23 jenis asam amino lengkap dengan 9 kandungan asam amino esensial yang terdiri dari histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan, dan valin. Sedangkan pada asam amino non esensial terdapat 14 jenis yang terdiri dari alanine, arginine, asparagine, asam aspartic, sistein, asam glutamat, glutamin, glisin, prolin, selenosistein, serin, taurin, tirosin, dan ornitin.

Disebutkan dalam penelitian Ruttanapornvateesakul *et al.*, (2005) bahwa kandungan asam amino dipengaruhi oleh beberapa ikatan seperti ikatan hidrogen pada molekul-molekul air selama proses hidrolisis. Ramakrishnan (2013), menyatakan bahwa produk fermentasi memiliki kandungan asam amino glutamat yang dominan. Asam glutamat merupakan asam amino non esensial yang berperan penting dalam metabolisme. Asam glutamat adalah asam amino alami yang terdapat banyak pada protein. Ikan merupakan sumber asam glutamat yang banyak ditemui (Misner, 2000). Asam glutamat meningkatkan cita rasa yang diinginkan sambil mengurangi rasa yang tidak diinginkan, seperti rasa bawang yang tajam. Pendapat lain menyatakan bahwa glutamate mampu meningkatkan rasa asin atau memperbaiki keseimbangan cita rasa makanan olahan (Winarno, 2004). Metabolisme Asam amino non esensial termasuk glutamate menyebar

luas di dalam jaringan tubuh. Terdapat 57% dari asam amino yang diabsorpsi dikonversikan menjadi urea melalui hati, 6% menjadi plasma protein, 23% absorpsi asam amino melalui sirkulasi umum sebagai asam amino bebas dan sisanya 14% diduga disimpan sementara di dalam hati sebagai protei hati atau enzim (Septadiana, 2014).

Kadar asam amino hasil fermentasi ikan louhan lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar asam amino pembanding yang lainnya, seperti hidrolisat protein ikan mujair, hidrolisat protein ikan lele dumbo, hidrolisat kepala udang vaname rebus, dan tepung ikan. Komposisi asam amino hidrolisat protein berbeda-beda tergantung jenis bahan baku yang digunakan. Protein terlarut pada hasil fermentasi ikan louhan sebagian masih dalam bentuk peptida-peptida. Jenis enzim yang berbeda apabila digunakan dalam reaksi hidrolisis dapat menghasilkan komposisi asam amino yang berbeda. Hidrolisis protein ikan louhan menggunakan enzim yang dihasilkan oleh khamir laut, sedangkan hidrolisis protein ikan lele dumbo dan ikan mujair menggunakan enzim papain. Protein terlarut yang sebagian masih dalam bentuk peptida akan menyebabkan rendahnya kadar asam amino pada hidrolisat protein ikan (Nurhayati *et al.*, 2007). Kromatogram HPLC dapat dilihat pada Gambar 27.



(a)



(b)



(c)

Gambar 27. Kromatogram HPLC (a) standart; (b) hasil fermentasi ikan louhan rebus ulangan 1; (c) hasil fermentasi ikan louhan rebus ulangan 2

Gambar 27 menunjukkan hasil dari kromatogram fermentasi ikan louhan rebus dengan analisis kualitatif yang dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi standar. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan didasarkan pada luas atau tinggi peak. HPLC (High Performance Liquid Chromatography) adalah metode analisis yang banyak digunakan untuk asam organik. Teknik HPLC dibedakan atas fase normal (menggunakan pelarut nonpolar sebagai fase gerak),

fase terbalik (menggunakan pelarut polar sebagai fase gerak) dan penukar ion (menggunakan gradien konsentrasi ion dalam fase geraknya) (Sitorus *et al.*, 2015).

Asam Amino dianalisis menggunakan HPLC. Prinsip analisis asam amino ini adalah asam amino dari protein dibebaskan melalui hidrolisis dengan HCl 6N. Hidrolisat dilarutkan dengan buffer sodium sitrat dan masing-masing asam amino tersebut akan dipisahkan dengan menggunakan HPLC. Sebelum dilakukan proses hidrolisis, terlebih dahulu dilakukan ekstraksi protein dengan menggunakan metode Kjeldahl (AOAC, 2005).

Teknik kromatograf diartikan sebagai suatu metoda yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen atau fraksi sejenis menjadi uit yang terpisah satu dengan yang lain dan didasarkan pada perbedaan masing-masing. Perbedaan yang dimaksud dapat berupa perbedaan kelarutannya di dalam pelarut, perbedaan kemampuan menyerap atau terikat pada komponen lain, perbedaan muatan ionik, ukuran molekul, dan lain sebagainya (Prabawati, 2005).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian tentang pengaruh volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas ikan louhan (*Cichlasoma sp.*) rebus hasil fermentasi adalah:

- Penambahan volume molase rebus sebanyak 150 mL merupakan volume yang tepat terhadap karakteristik hasil fermentasi ikan louhan rebus, dengan kandungan nutrisi kadar air sebesar 17,63%, kadar lemak 2,62%, kadar abu 12,47%, kadar protein 60,07%, kadar karbohidrat 7,21%, pH 3,86, kapasitas emulsi 45,80%, dan 0,092 ml daya buih berdasarkan berat kering.
- Lama fermentasi 15 hari merupakan waktu yang paling tepat terhadap kualitas protein ikan louhan rebus hasil fermentasi, dengan total Asam Amino sebanyak 20,26 % yang terdiri dari 9 Asam Amino Essensial dan 8 Asam Amino Non Essensial.

5.2 Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dalam menghasilkan produk hidrolisat protein ikan louhan rebus dengan meningkatkan nilai karakteristiknya. Selain itu, produk fermentasi ikan louhan memiliki karakteristik mutu dan kandungan asam amino yang tepat untuk diaplikasikan sebagai sumber protein sehingga perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan dan efektifitas pemanfaatannya.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist 18th Edition. Gaithersburg, USA: AOAC International
- Adams, M. R., dan M. J. R. Nout. 2001. Fermentation and Food Safety. Aspen Publishers, Inc. Maryland. 290 hlm.
- Adawyah, R. 2007. Pengolahan dan Pengawetan Ikan. PT. Bumi Aksara. Jakarta. 159 hlm.
- Ahmad, R.Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces Cerevisiae* Untuk Ternak. Wartozoa Vol 15. No 1 Th 2005. 7 hlm.
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus Viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. Jurnal Sumberdaya Peraan. 5 (1):13-16
- Ariyani, F., Saleh, M., Tazwir dan N. Hak. 2003. Optimasi Proses Produksi Hidrolisat Protein Ikan dari Mujair. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. 9:11-21.
- Bernadeta, P. Ardiningsih, dan I. H. Silalahi. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. JKK. 1 (1): 26-30.
- Bharathi, S., D. Saravanan, M. Radhakrishnan, and R. Balagurunathan. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Reference to Insulinase Production. Int. J. ChemTech Res. 3 (3): 1514-1519.
- Budijanto, S., A.B. Sitanggung dan W. Murdiati. 2011. Karakterisasi Sifat Fisiko-Kimia dan Fungsional Isolat Protein Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L.). J. Teknol dan Industri Pangan, Vol. XXII No.2 Th. 2011.
- Budy, D. 2014 Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname Rebus. Skripsi. Universitas Brawijaya Malang.
- Deliani. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein, Lemak, Komposisi Asam Lemak Dan Asam Fitat Pada Pembuatan Tempe. Universitas Sumatera Utara Medan.
- Dewi, E dan Ratna I. 2008. Mutu dan Daya Simpan Fillet Dendeng Ikan Nila Merah yang Dikemas Hampa Udara dengan Vacuum Sealer Skala Rumah Tangga. Jurnal Saintek Perikanan Vol. 4 No 1 2008: 7-15.
- Estiasih, T dan Kgs. Ahmadi. 2012. Hubungan Antara Sifat-Sifat Emulsifikasi dengan Stabilitas Oksidasi Mikrokapsul yang Dihasilkan dengan Metode Pengeringan Semprot. J. Tek. Pert. Vol. 5 No. 1: 35 – 47.

- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Bogor: PAU Pangan dan Gizi.
- Fathony, A. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Stater Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Universitas Brawijaya Malang.
- Febriani, M. 2006. Substitusi Protein Hewani dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut untuk Pakan Patin (*Pangasius sp.*) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). J. Fish. Sci. 8 (2): 169-176.
- . 2010. Penggunaan Khamir Laut Sebagai Biokatalisator dalam Pembuatan Silase Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Salah Satu Bahan Alternative Pakan Ikan. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010.
- Fitriyanah, L. 2007. Pengaruh Pemberian Inokulum Murni *Saccharomyces cerevisiae* Dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kimia Dan Organoleptik Tape Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.). Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (Uin) Malang. Malang
- Galla, N.R. Prabhakara R.P. Satyanarayana A. Balaswamy K. 2012. Fuctional Properties and In Vitro Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates of *Channa striatus* and *Labeo rohita*. Food Chemistry 135 (2012) 1479-1484.
- Gbogouri, G. A., M. Linder, J. Fanni, dan M. Parmentier. 2004. Influence of Hydrolysis Degree on the Functional Properties of Salmon Byproducts Hydrolysates. J. Food Sci. 69 (8): 615-622.
- Hadiwiyoto, S. 1994. Hasil-Hasil Olahan Susu, Daging, Ikan, dan Telur. Liberty. Yogyakarta.
- Hasanuzzaman, Md, M. Kamruzzaman dan Md. M. Islam. 2014. *A Study on Tomato Candy Prepared by Dehidration Technique Using Different Sugar Solution. Food and Nutrition Science. 5 : 1261 – 1271.*
- Hermiastuti, M. 2013. Analisis Kadar Protein dan Identifikasi Asam Amino Pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*). SKRIPSI. Fakultas MIPA. Universitas Jember. 77 hlm.
- Indah, R.E dan W.H. SUsanto. 2013. Pengaruh Pemberian Gula Pasir dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Sirup Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Juwita, R. 2012. Studi Produksi Alkohol dari Tetes Tebu (*Saccharum officinarum* L) Selama Proses Fermentasi. Skripsi. Universitas Hasanudin Makassar.
- Koesoemawardani, D. dan N. Yuliana. 2009. Karakter Rusip Dengan Penambahan Kultur Kering: *Streptococcus sp*). Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia Vol. 11 No. 3, Desember 2009 Hlm.205-211
- , F. Nurainy, dan S. Handayani. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Rucuh. J. Natur Indonesia 13 (3): 256-261.

- Kunaepah, Uun. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Kosentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah.
- Kurniati, L.I., N. Aida., S. Gunawan., dan T. Widjaja. 2012. Pembuatan Mocaf (*Modified Cassava Flour*) Dengan Proses Fermentasi Menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Rhizopus oryzae*. Jurnal Teknik Pomits Vol. 1, No. 1, (2012) 1-6.
- Kusmiati, A. Thontowi, dan S. Nuswantara. Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi α -Glukan oleh *Saccharomyces Cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. Jurnal Natur Indonesia 13(2), Februari 2011: 138-145.
- Legowo, A.M dan Nurwantoro. 2004. Diktat Kuliah: Analisis Pangan. Universitas Diponegoro. Semarang
- Machfud, E., S. Gembira, dan Krisnani. 1989. Petunjuk Laboratorium, Fermentor. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Maharaja, M.L. 2008. Penggunaan Campuran Tepung Tapioka Dengan Tepung Sagu Dan Natrium Nitrat Dalam Pembuatan Bakso Daging Sapi. Fakultas Pertanian. Medan: Uneversitas Sumatra Utara.
- Misner. 2000. Monosodium Glutamate (Msg). Glutamic Acid (Glutamate), Glutamate Review. Journal of Nutrition. 2000:130:1053S – 1057S.
- Murniyati, A. S., dan Sunarman. 2004. Pendinginan Pembekuan dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 220 hlm.
- Muzaifa, M., N. Safriani, and F. Zakaria. 2011. Production of Protein Hydrolysates from Fish by-Product Prepared by Enzymatic Hydrolysis. Int. J. Bioflux Society. (5): 36-39.
- Nazir, M. 2005. Metode Penelitian. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Nelson dan Suparjo. 2011. Penentuan Lama Fermentasi Kulit Buah Kakao dengan *Phanerochaete chrysosporium*: Evaluasi Kualitas Nutrisi Secara Kimiawi. AGRINAK. Vol . 01 No.1 September 2011:1–10.
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Fermentor Air-Lift 18 Liter. SSkripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 69 hlm.
- Nurhayati, T. Salamah E, dan Hidayat T. 2007. Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses secara enzimatik. Buletin Teknologi Hasil Perikanan 10(1):23-34.
- Pelczar, M. J., R. D. Reid, and E. C. S. Chan. 1986. Microbiology. Fourth Edition. McGraw-Hill, Inc. New York. 576 hlm.

- Prabawati, S. Y. 2005. Intisari Analisis Asam Amino dalam Cumi- Cumi (*Todarodes pacificus*). Kaunia. Volume 1, Nomor 2: 169-179.
- Prasetyo, D.A. 2012. Penentuan Kandungan Logam (Hg, Pb, dan Cd) dengan Penambahan Pengawet dan Waktu Perendaman yang Berbeda Pada Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) di Perairan Muara Kamal, Teluk Jakarta. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 77 hlm.
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Mas. Jurnal Ilmu Kelautan. 17(1): 39-48.
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganisme Campuran terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. J. Indon. Trop. Anim. Agric. 28 (2): 90-94
- Ramakrishnan. 2013. Enzymatic Extraction of Proteins and Amino Acids Whole Fish and Fish Waste. Dalhousie University Halifax, Nova Scotia.
- Rieuwpassa, F. J., J. Santoso, dan W. Trilaksana. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Konsentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*). J. Ilmu dan Tekn. Kel. Trop. 5 (2): 299:309.
- Rini, D.S. 2014. Pengaruh Volume Molase dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname. Skripsi. Universitas Brawijaya Malang.
- Rohim, A. 2014. Pengaruh Perbedaan Penambahan Kadar Molase Rebus pada Medium Gula Terhadap Biomassa Sel Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ruttanapornvareesakl, Y., M. Ikeda, K. Hara, K. Osako, O. Kongpun and Y. Nozaki. 2005. *Effect of Shrimp Head Protein Hydrolyses on the State of Water and Denaturation of Fish Myofibrils During Dehydration*. *Fisheries Sci.* (71): 220-228. Sari. 2011.
- Salamah, E. T. Nurhayati., Dan I.R. Widadi. 2012. Pembuatan Dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. JPHPI 2012, vol 15 no.1.
- Sanapi, C.H. 2013. Karakteristik Sifat Fungsional Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). SKRIPSI Institut Pertanian Bogor. 29 hlm.
- Sarlin, P dan Philip R. 2013. A Molasses Based Fermentation Medium For Marine Yeast Biomass Production. University of Science and Technology. India
- Savitri, R. D. 2011. Aplikasi Proses Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi dalam Pengolahan Condiment Kupang Putih (*Corbula faba* H). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 101 hlm.

- Septadina, I.S. 2014. Pengaruh Monosodium Glutamat Terhadap Sistem Reproduksi. Fakultas Kedokteran Universitas riwijaya.
- Shan he. Chris F. Wei Zhang. 2013. Function, Applications and Production of Protein Hydrolysate from Fish Processing Co-Products (FPCP). Food Reseach Iternational 50 (2013) 289-297
- Simanjuntak, R. 2009. Studi Pembuatan Etanol dari Limbah Gula (Molase). Skripsi. Universitas Sumatera Utara. 65 hlm.
- Simanjong, E., N. Kurniawati, dan Z. Hasan. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Kosentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. Jurnal Perikanan dan Kelautan. UNPAD. ISSN. 2088-3137. Vol. 3. No. 4.209.220.
- Simbolon. 2008. Aplikasi Proses Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi dalam Pengolahan *Condiment* Kupang Putih (*Corbula faba* H). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 101 halaman.
- Sitompul S. 2004. Analisis asam amino dalam tepung ikan dan bungkil kedelai. Buletin Teknik Pertanian 9(1):33-37.
- Sitorus, L. Jullus P. 2015. Analisis Beberapa Asam Organik dengan Metode High Performane Liquid Chrmatography (HPLC) Grae Smart Rp 18 5 μ . Jurnal MIPA UNSRAT 4 (2) 148-152.
- Sudarmadji, Slamet dan H.B. Suhardi. 2010. Analisa Bahan Pangan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB. Malang. 72 hlm
- Suriati, S. 2015. Pengaruh Penambahan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kerang Hijau (*Perna viridis*). Skripsi. Universitas Brawijaya Malang
- Widyanti, W. 2009. Kinerj Pertubuhn Ikan Nila *Oreochromis niloticus* yang Diberi Berbagai Dosis Enzim Cairan Rumen pada Pakan Berbasis Daun Lamtorogung *Leucaena leucocephala*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Widyanti, E.M. 2010. Produksi Asam Sitrat dari Substrat Molase Pada Pengaruh Penambahan VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Produktivitas *Aspergillus Niger* ITBCC L74 Terimobilisasi. Tesis. Universitas Diponegoro Semarang.
- Widyasaputra, R. dan S.S. Yuwono. 2013. Pengaruh Fermentasi Alami Chips Terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Putih (*Ipomoea batatas* L) Terfermentasi. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 1 No.1 p.78-89, Oktober 2013
- Winarno, 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Cetakan kesebelas. PT. Gramedia. Jakarta. 239 hlm

Witono, Y., Aulanni'am., A. Subagio, dan S.B. Widjanarko. 2007. Karakterisasi Hidrolisat Protein Kedelai Hasil Hidrolisis Protein Kedelai Hasil Hidrolisis Menggunakan Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*). Berk. Penel. Hayati: 13 (7-13), 2007.

Zhenming, C., L. Zhiqiang, G. Lingmei, G. Fang, M. Chunling, W. Xianghong, dan L. Haifeng. 2006. Marine Yeast and Their Applications in Mariculture. J. Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research). 5 (3): 251-256.

Zipcodezoo, 2015. Klasifikasi dan Taksonomi *Chiclasoma* sp. http://www.zipcodezoo.com/Animals/Chiclasoma_sp. Diakses tanggal 11 Juli 2015.

