

**PENGARUH VOLUME MOLASE DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA
DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS PROTEIN IKAN
LOUHAN HASIL FERMENTASI**

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

Oleh :
RIAN CAHYO KUMOLO
NIM. 115080301111002



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

**PENGARUH VOLUME MOLASE DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA
DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS PROTEIN IKAN
LOUHAN 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 :
**RIAN CAHYO KUMOLO
NIM. 115080301111002**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

SKRIPSI

**PENGARUH VOLUME MOLASE DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA
DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS PROTEIN IKAN
LOUHAN HASIL FERMENTASI**

Oleh:

RIAN CAHYO KUMOLO
115080301111002

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

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Bambang Budi S., MS)
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal : _____

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Yahya, MP)
NIP. 19630706 199003 1 003
Tanggal : _____

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

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

Dosen Pembimbing II

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

**Mengetahui
Ketua Jurusan MSP**

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

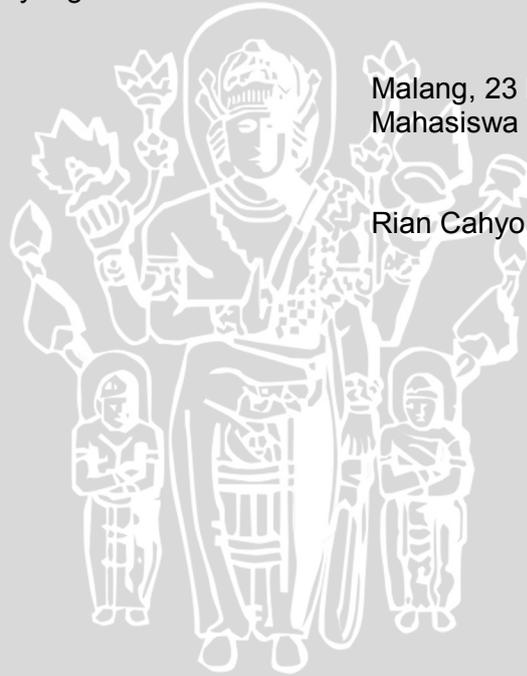
PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Rian Cahyo Kumolo



UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Ayah, Ibu dan kakak saya yang telah memberikan doa dan dukungan selama penyusunan laporan skripsi.
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. M. Firdaus, MP selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan pengetahuan dan membimbing saya dengan sabar hingga saya dapat memahami materi penelitian saya.
4. Dr. Ir. Bambang Budi S., MS dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik saran pada laporan skripsi ini.
5. Tim Louhan, Hendrian, Twenti dan erisa yang selalu mendampingi di kala susah dan senang bersama.
7. Teman-teman THP 2011 yang telah membantu dan memberikan motivasi selama ini.
8. 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

Rian Cahyo Kumolo. Skripsi tentang Pengaruh volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap fermentasi ikan louhan hasil fermentasi (dibawah bimbingan **Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D** dan **Dr. Ir. M. Firdaus, MP**).

Ikan louhan merupakan ikan air tawar yang dapat digunakan sebagai sumber protein pada proses fermentasi. Ikan louhan memiliki kandungan protein sebesar 16,05%, kadar air sebesar 71,85%, kadar abu 7,02% dan kadar lemak sebesar 3,01%. Kandungan protein pada ikan louhan dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan fermentasi ikan louhan. Proses fermentasi membutuhkan mikroorganisme untuk menguraikan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Khamir merupakan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim untuk menguraikan senyawa kompleks, dengan sumber karbon dari molase dan melalui proses fermentasi diharapkan dapat menghasilkan senyawa yang sederhana dan mudah diserap oleh makhluk hidup.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Penelitian ini terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan penentuan fase logaritmik khamir laut, penentuan volume molase dan lama fermentasi dalam proses pembuatan fermentasi ikan louhan. Penelitian utama dilakukan pembuatan fermentasi ikan louhan dengan starter khamir laut yang selanjutnya dianalisis kimia berupa analisis proksimat, pH, emulsi, dan daya buih. Hasil yang terbaik digunakan untuk acuan dalam analisis profil asam amino. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok dengan volume molase segar yang terdiri dari 100 mL, 150 mL, 200 mL dan lama fermentasi yang digunakan yaitu 3, 6, 9, 12 dan 15 hari serta dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan yaitu Volume molase yang tepat untuk fermentasi ikan louhan adalah sebanyak 150 mL. Fermentasi ikan louhan mengandung nutrisi sebesar kadar air 18,91%, kadar lemak 2,91%, kadar protein 62,41%, kadar abu 11,85%, kadar karbohidrat 3,89%, pH 4,50, kapasitas emulsi 52,33% dan daya buih 0,12 %. Lama fermentasi yang tepat untuk fermentasi ikan louhan adalah selama 15 hari. Fermentasi ikan louhan mengandung 17 jenis asam amino, 9 asam amino esensial (lisin, leusin, isoleusin, valin, arginin, threonin, phenilalanin, metionin dan histidin) dan 8 asam amino non esensial (glutamat, aspartat, alanin, glisin, prolin, tirosin, serin, sistin) dengan total asam amino sebesar 20,65 %.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucap puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-NYA penulis dapat menyajikan Skripsi yang berjudul Pengaruh Volume Molase dan Lama Fermentasi Yang Berbeda Dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Protein Hasil Fermentasi Ikan Louhan. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembuatan fermentasi ikan louhan dan beberapa uji yang terkait dengan pengukuran kualitas hasil fermentasi ikan louhan.

Penulis menyadari dalam penyusunan laporan ini masih terdapat kekurangan karena keterbatasan kemampuan dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar penyusunan laporan ini dapat menjadi lebih baik. Akhirnya, semoga laporan ini dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi pihak yang memerlukan.

Malang, November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

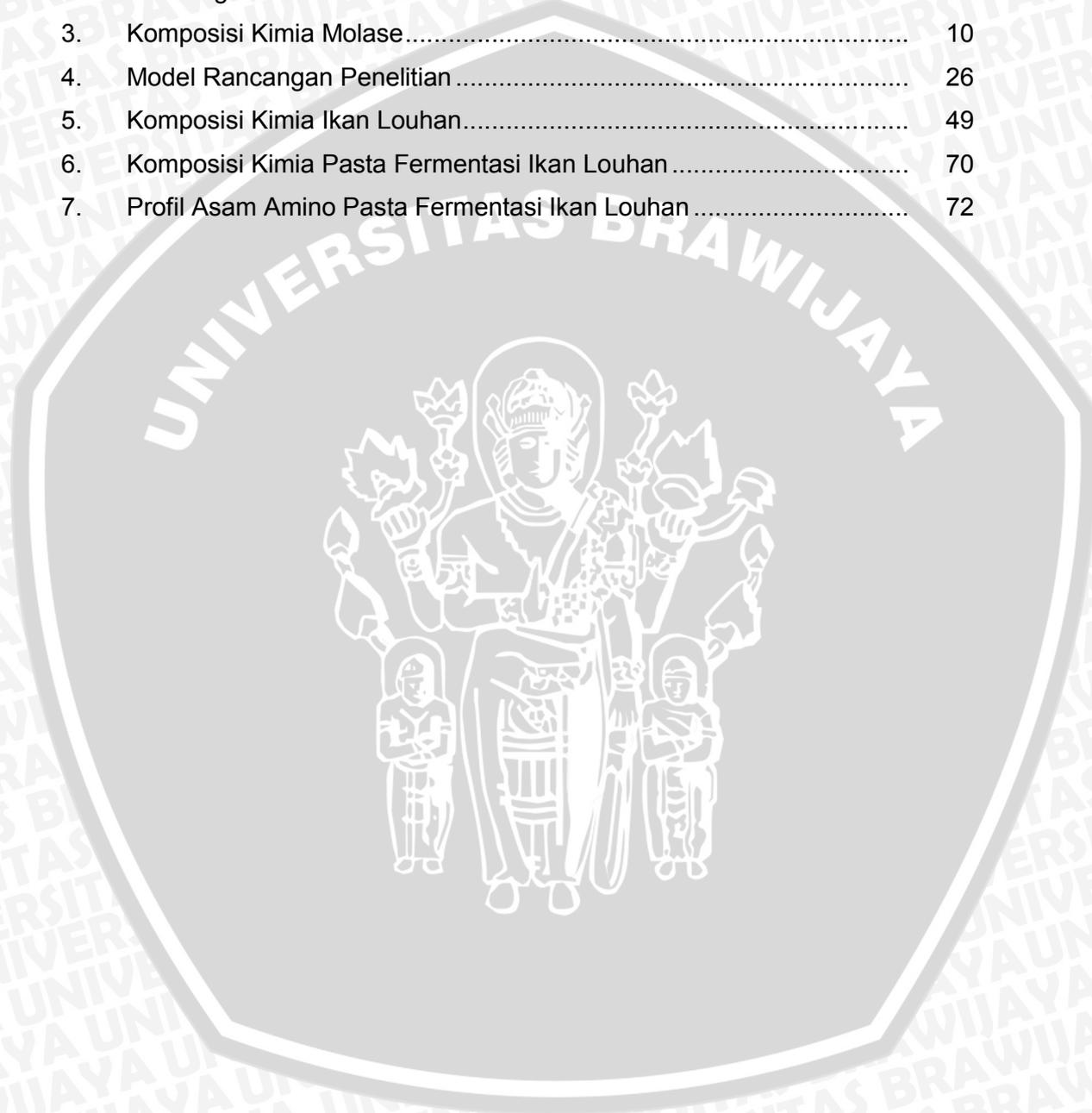
Halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Louhan.....	5
2.2 Khamir Laut.....	6
2.3 Molase.....	9
2.4 Fermentasi.....	12
2.5 Hidrolisis Protein.....	15
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian.....	23
3.1.1 Bahan Penelitian.....	23
3.1.2 Alat Penelitian.....	24
3.2 Metode Penelitian.....	24
3.2.1 Metode.....	24
3.2.2 Variabel.....	25
3.3 Rancangan Percobaan.....	26

3.4 Skema Kerja Penelitian	27
3.3.1 Diagram Alir Kultur Khamir Laut	27
3.3.2 Diagram Alir Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan	28
3.5 Prosedur Penelitian	29
3.5.1 Kultur khamir laut	29
3.5.2 Prosedur Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut	30
3.5.3 Prosedur Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan	31
3.5.4 Prosedur Analisis Proksimat	32
3.5.4.1 Kadar Air	32
3.5.4.2 Kadar Protein	33
3.5.4.3 Kadar Lemak	34
3.5.4.4 Kadar Abu	35
3.5.4.5 Karbohidrat	36
3.5.5 Prosedur Analisis pH	36
3.5.6 Prosedur Analisis Emulsi	36
3.5.7 Prosedur Analisis Daya Buih	37
3.5.8 Prosedur Analisis Total Asam Amino	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penelitian Pendahuluan	41
4.1.1 Pertumbuhan Khamir Laut	41
4.1.2 Penentuan Volume Molase dan Lama Fermentasi	44
4.1.3 Pengukuran Rendemen Fermentasi Ikan Louhan	46
4.1.4 Pengukuran pH Fermentasi Ikan Louhan	47
4.2 Penelitian Utama	48
4.2.1 Komposisi Kimia Ikan Louhan	49
4.2.2 Analisa Proksimat Fermentasi Ikan Louhan	50
4.2.2.1 Kadar Air	50
4.2.2.2 Kadar Lemak	53
4.2.2.3 Kadar Protein	55
4.2.2.4 Kadar Abu	57
4.2.2.5 Kadar Karbohidrat	59
4.2.3 Analisa Derajat Keasaman (pH)	62
4.2.4 Analisa Emulsi	64
4.2.5 Analisa Daya Buih	66
4.2.6 Rendemen Pasta Fermentasi Ikan Louhan	68
4.2.7 Fermentasi Ikan Louhan Terbaik	70
4.2.8 Profil Asam Amino	71
5. PENDAHULUAN	
5.1 Kesimpulan	75
5.2 Saran	75
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN	84

DAFTAR TABEL

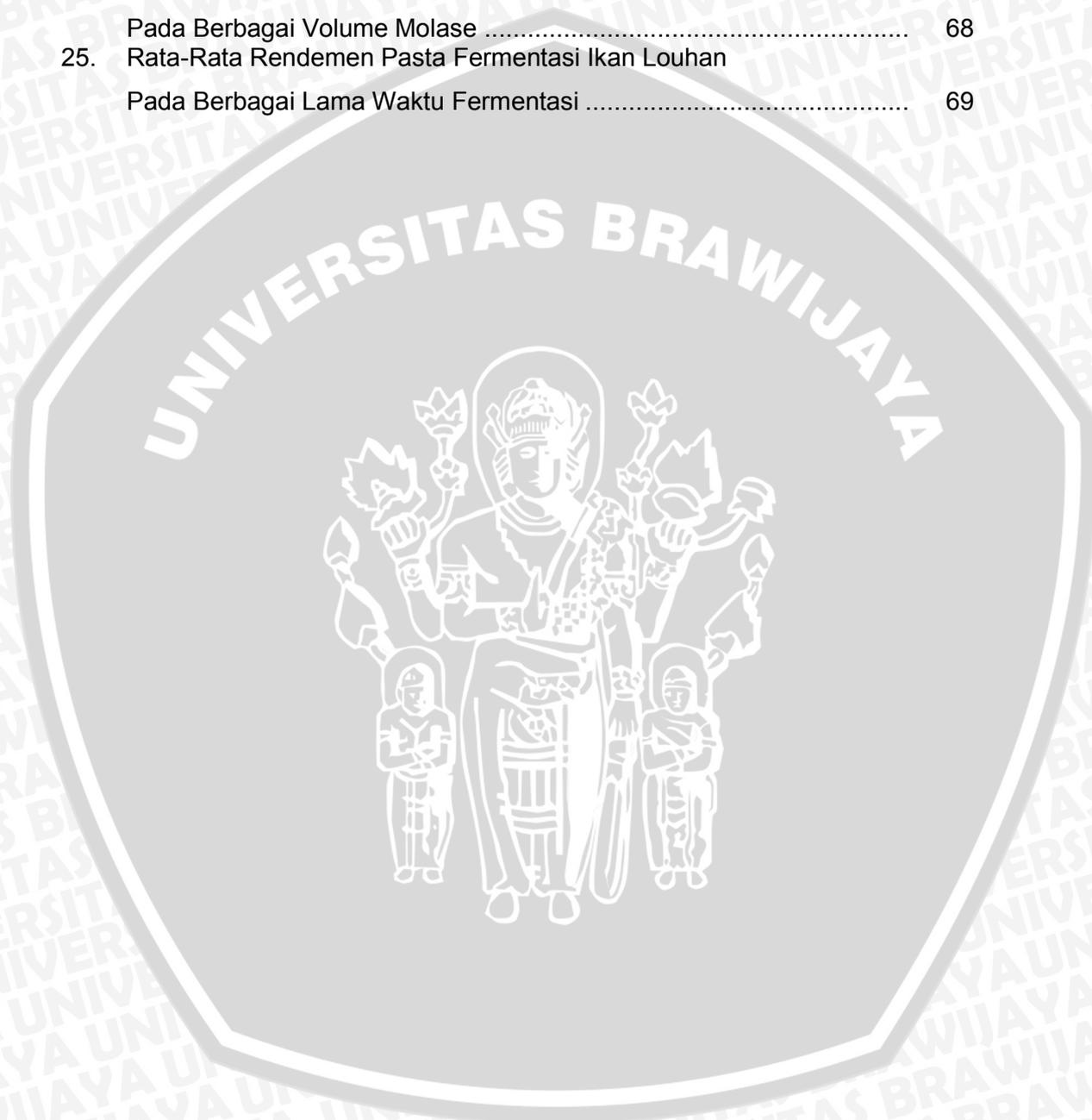
Tabel		Halaman
1.	Kandungan Gizi Biomassa Sel Khamir Laut	7
2.	Kandungan Asam Amino Biomassa Sel Khamir Laut.....	8
3.	Komposisi Kimia Molase.....	10
4.	Model Rancangan Penelitian	26
5.	Komposisi Kimia Ikan Louhan.....	49
6.	Komposisi Kimia Pasta Fermentasi Ikan Louhan	70
7.	Profil Asam Amino Pasta Fermentasi Ikan Louhan	72



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Louhan.....	5
2. Skema Kerja Kultur Khamir Laut.....	27
3. Skema Kerja Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan.....	28
4. Kurva Pertumbuhan Sel Khamir Laut Pada Berbagai Lama Waktu.....	41
5. Foto Pengamatan Sel Khamir Laut Pada Berbagai Lama Waktu.....	42
6. Rendemen Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase dan Lama Fermentasi.....	46
7. pH Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase dan Lama Waktu Fermentasi.....	48
8. Rata-Rata Kadar Air Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	51
9. Rata-Rata Kadar Air Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	52
10. Rata-Rata Kadar Lemak Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	53
11. Rata-Rata Kadar Lemak Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	54
12. Rata-Rata Kadar Protein Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	55
13. Rata-Rata Kadar Protein Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	56
14. Rata-Rata Kadar Abu Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	58
15. Rata-Rata Kadar Abu Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	59
16. Rata-Rata Kadar Karbohidrat Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	60
17. Rata-Rata Kadar Karbohidrat Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	61
18. Rata-Rata pH Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	62
19. Rata-Rata pH Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi.....	63
20. Rata-Rata Emulsi Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase.....	64
21. Rata-Rata Emulsi Pasta Fermentasi Ikan Louhan	

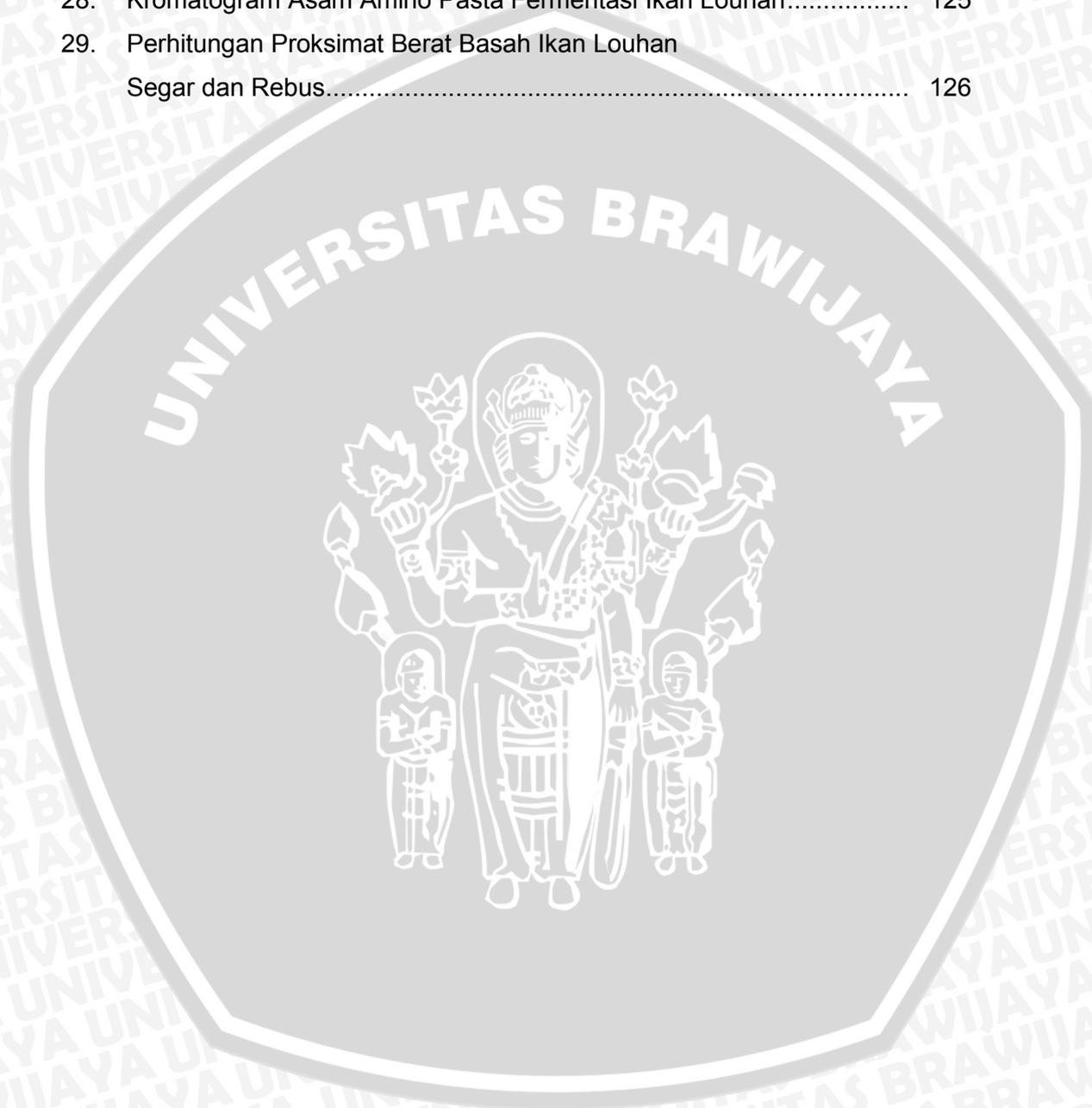
	Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	65
22.	Rata-Rata Daya Buih Pasta Fermentasi Ikan Louhan	
	Pada Berbagai Volume Molase	66
23.	Rata-Rata Daya Buih Pasta Fermentasi Ikan Louhan	
	Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	67
24.	Rata-Rata Rendemen Pasta Fermentasi Ikan Louhan	
	Pada Berbagai Volume Molase	68
25.	Rata-Rata Rendemen Pasta Fermentasi Ikan Louhan	
	Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi	69



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Dalam Kultur Khamir Laut.....	84
2. Perhitungan Komposisi Media Pengenceran Kultur Khamir Laut.....	85
3. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut.....	86
4. Data Kepadatan Sel Khamir Laut	87
5. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut.....	88
6. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan.....	90
7. Data Pengamatan Rendemen Fermentasi Ikan Louhan Pada Penelitian Pendahuluan.....	93
8. Data Pengamatan pH Fermentasi Ikan Louhan	94
9. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Fermentasi Ikan Louhan.....	95
10. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	96
11. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	98
12. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	100
13. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	102
14. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	104
15. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	106
16. Data Pengamatan dan Analisis Data pH Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	108
17. Data Pengamatan dan Analisis Data Emulsi Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	110
18. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan	112
19. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut	114
20. Dokumentasi Pembuatan Pasta Fermentasi Ikan Louhan.....	116
21. Dokumentasi Analisis Kadar Air Pasta Fermentasi Ikan Louhan.....	118
22. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Pasta Fermentasi Ikan Louhan	119
23. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Pasta Fermentasi Ikan Louhan.....	120

24.	Dokumentasi Analisis Kadar Protein Pasta Fermentasi Ikan Louhan	121
25.	Dokumentasi Analisis pH Pasta Fermentasi Ikan Louhan.....	122
26.	Dokumentasi Analisis Emulsi Pasta Fermentasi Ikan Louhan.....	123
27.	Dokumentasi Analisis Daya Buih Pasta Fermentasi Ikan Louhan	124
28.	Kromatogram Asam Amino Pasta Fermentasi Ikan Louhan.....	125
29.	Perhitungan Proksimat Berat Basah Ikan Louhan Segar dan Rebus.....	126



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Protein hasil fermentasi merupakan sumber protein alami yang dihidrolisis secara parsial sehingga lebih mudah diserap oleh makhluk hidup. Hidrolisis secara parsial mampu memecah molekul protein menjadi beberapa gugus asam amino maupun peptida melalui pemutusan ikatan rantai peptida. Hasil hidrolisis protein secara enzimatik mengandung peptida yang berat molekulnya lebih rendah sehingga mudah diserap makhluk hidup. (Purbasari, 2008). Protein yang memiliki berat molekul lebih rendah ini dapat dibuat dengan menggunakan enzim protease yang dihasilkan khamir laut melalui proses fermentasi.

Fermentasi merupakan proses penguraian substrat yang akan menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Pada proses fermentasi substrat diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana. Semakin lama waktu fermentasi maka alkohol dan asam yang dihasilkan akan semakin banyak dan mengakibatkan suasana media fermentasi menjadi asam (Wijaningsih, 2008).

Lama fermentasi berpengaruh terhadap jumlah protein yang dihasilkan pada fermentasi ikan louhan. Protein yang dihasilkan akan meningkat seiring dengan lama fermentasi. Fermentasi selama 12 hari dapat meningkatkan kadar protein hidrolisat kepala udang vaname berkisar antara 46,25–52,64% (Iriani, 2014). Proses fermentasi memerlukan mikroba sebagai pengurai nutrisi yang terdapat pada substrat, khamir laut merupakan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim dan dapat berperan dalam proses fermentasi.

Khamir merupakan organisme uniseluler yang mampu memproduksi berbagai enzim seperti protease, amilase dan lipase. Enzim-enzim yang dihasilkan dapat memecah protein, karbohidrat dan lemak yang kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Enzim protease dapat menghidrolisis

protein menjadi peptida atau asam-asam amino (Febriani, 2006). Nutrisi dari gula dan pupuk dibutuhkan khamir laut untuk menghasilkan enzim. Produk yang memiliki kandungan gula tinggi dan dapat menjadi sumber karbon bagi khamir adalah molase.

Molase adalah sejenis sirup yang merupakan yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase mengandung gula dan asam organik yang baik untuk industri pembuatan etanol. Molase masih mengandung kadar gula yang cukup untuk dapat menghasilkan etanol dengan proses fermentasi. Jenis mikroorganisme yang berperan dalam proses ini adalah golongan khamir (Simanjuntak, 2009).

Penambahan volume molase dapat meningkatkan gula pada media fermentasi sehingga laju pertumbuhan sel khamir laut meningkat. Semakin banyak sel khamir laut maka akan semakin banyak pula enzim protease yang dihasilkan khamir laut untuk memecah protein pada substrat. Penambahan volume molase 100 mL hingga 300 mL dapat meningkatkan kadar protein hidrolisat kepala udang vaname hingga berkisar antara 46,25–52,64% (Iriani, 2014). Substrat Protein dapat diperoleh dari hewan yaitu telur, daging dan ikan.

Ikan air tawar memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. Ikan louhan merupakan ikan air tawar yang dapat digunakan sebagai sumber protein pada proses fermentasi. Ikan louhan memiliki kandungan protein sebesar 16,05%, kadar air sebesar 71,85%, kadar abu 7,02% dan kadar lemak sebesar 3,01%. Kandungan protein pada ikan louhan dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan fermentasi ikan louhan.

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pembuatan fermentasi ikan louhan dengan khamir laut sebagai starter dan penambahan sumber karbon berupa molase. Dengan demikian perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut

dan diperlukan kajian yang membahas tentang pemanfaatan khamir laut sebagai biokatalisator dalam pembuatan fermentasi ikan louhan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian tentang pengaruh volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan adalah:

- Bagaimana pengaruh penambahan volume molase yang berbeda terhadap hasil fermentasi ikan louhan?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap hasil fermentasi ikan louhan?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian tentang pengaruh volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan adalah:

- Untuk mendapatkan volume molase yang tepat terhadap hasil fermentasi ikan louhan.
- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang tepat terhadap hasil fermentasi ikan louhan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian tentang pengaruh volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan adalah:

- Diduga volume molase berpengaruh terhadap hasil fermentasi ikan louhan.
- Diduga lama fermentasi berpengaruh terhadap hasil fermentasi ikan louhan.

1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan dan dapat digunakan sebagai acuan dalam proses pembuatan fermentasi ikan serta sebagai masukan atau rujukan dalam penulisan sehingga dapat bermanfaat bagi penelitian selanjutnya.

1.6 Tempat dan Jadwal Pelaksanaan

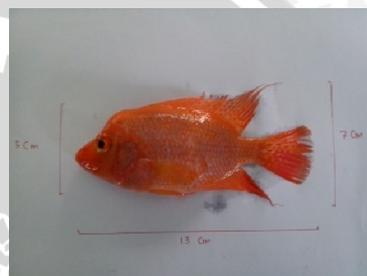
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Juli 2015 yang bertempat di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasa Hasil Perikanan, Laboratorium Nutrisi dan Biokimia Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan; Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan; Laboratorium Sentral dan Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Louhan

Ikan louhan merupakan ikan hias air tawar yang sempat digemari masyarakat Indonesia. Ikan ini memiliki ciri yang khas yaitu benjolan dibagian kepalanya. Morfologi ikan louhan dapat dilihat pada Gambar 1. Menurut zipcodezoo (2015), klasifikasi ikan louhan adalah sebagai berikut:

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



Gambar 1. Ikan Louhan

Pada Gambar 1 dapat dilihat morfologi ikan louhan. Ikan louhan memiliki famili yang sama dengan ikan nila yaitu chichlidae. Ikan nila termasuk kelompok ikan yang memiliki bentuk tubuh memanjang, ramping dan relatif pipih. Ikan nila mempunyai sirip punggung, sirip dubur dan sirip perut yang masing-masing mempunyai jari-jari lemah dan jari-jari keras yang tajam seperti duri. Sirip punggung mempunyai lima belas jari-jari keras dan sepuluh jari-jari lemah, sirip ekor mempunyai dua buah jari-jari keras dan lima belas jari-jari lemah sedangkan sirip perut mempunyai satu jari-jari keras dan enam jari-jari lemah. Pada sirip ekor terdapat enam buah garis tegak sedangkan pada sirip punggung delapan buah (Abdillah, 2006).

Ikan nila dapat hidup di perairan yang dalam dan luas maupun di kolam yang sempit dan 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 terapung. Salah satu sifat biologi ikan nila yang penting sehingga ikan ini cocok untuk dibudidayakan adalah respon yang luas terhadap pakan yakni dapat tumbuh dengan memanfaatkan pakan alami serta pakan buatan. Ikan nila bersifat herbivora, omnivora dan pemakan plankton. Sifat penting lain dari ikan nila adalah pertumbuhannya relatif cepat dibandingkan ikan jenis lainnya (Widyanti, 2009).

Ikan merupakan salah satu sumber protein hewani yang ketersediannya melimpah. Ikan air tawar memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. Ikan louhan merupakan ikan air tawar yang dapat digunakan sebagai sumber protein. Ikan louhan memiliki kandungan protein sebesar 16,05%, kadar air sebesar 71,85%, kadar abu 7,02% dan kadar lemak sebesar 3,01%. Kandungan protein pada ikan louhan dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan fermentasi ikan louhan.

2.2 Khamir Laut

Khamir adalah mikroorganisme yang mewakili bagian mikrobiota dalam semua ekosistem alam, seperti tanah, air tawar dan perairan laut dari permukaan laut ke laut dalam. Khamir laut dibagi menjadi kelompok obligat dan fakultatif. Obligat khamir laut adalah khamir yang tidak pernah diisolasi dari mana saja selain lingkungan laut. Burgaud *et al.*, (2010) menjelaskan bahwa khamir laut fakultatif adalah juga dikenal dari habitat darat.

Koloni khamir bervariasi dalam bentuk, tepian, dan elevasi. Pada khamir yang membentuk hifa atau pseudohifa, pada tepi sekitar koloni tampak bentukan seperti rambut. Koloni khamir ada yang berwarna putih, krem dan merah. Pigmentasi juga nampak pada pengamatan koloni. Koloni yang menarik perhatian karena warnanya yang mencolok, disebabkan karena terjadi sekresi zat warna ke dalam medium atau pigmentasi sel. Koloni yang berwarna merah

berasal dari karotenoid. Uji morfologi koloni, hanya koloni Rhodotorula yang berwarna merah. Hal ini menunjukkan bahwa Rhodotorula merupakan salah satu khamir yang menghasilkan pigmen karotenoid. (Nurhayati, *et al.*, 2014).

Khamir merupakan organisme selluler dari golongan jamur, bersifat kemoorganotrof, bereproduksi seksual dengan spora dan aseksual dengan pertunasan atau pembelahan. Khamir merupakan organisme uniselluler yang mampu memproduksi berbagai enzim protease, amilase, lipase yang dapat membantu pencernaan zat makanan. Sebagai sumber protein, khamir memiliki keunggulan yaitu laju pertumbuhan yang tinggi, dapat tumbuh pada media sederhana, mampu tumbuh pada tingkat kepadatan sel yang tinggi, kandungan nutrisi tinggi, daya cerna tinggi dan tidak bersifat racun (Febriani, 2006).

Khamir laut dapat digunakan sebagai pakan ataupun pangan, karena mempunyai potensi yang sangat penting sebagai sumber asam amino, protein, vitamin dan mineral yang disusun dari bahan non pangan atau limbah bermutu rendah. Sebagai sumber protein khamir memiliki beberapa keuntungan yaitu tidak tergantung pada lahan pertanian atau musim panen, perkembangan khamir sangat cepat, kandungan protein dan asam amino esensialnya cukup baik, dapat menggunakan berbagai medium ataupun limbah-limbah organik, proses kultur murah dan sederhana. Kandungan gizi biomassa sel khamir laut dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan gizi biomassa sel khamir laut

Nutrisi	Kandungan (%)
Protein	28,29
Serat Kasar	0,95
Lemak Kasar	0,34
BETN	4,33
Abu	66,09

(Febriani dan Sukoso, 2001)

Pada Tabel 1 dapat dilihat khamir laut memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu 28,29%. Tingginya kandungan protein pada khamir laut dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal. Selain kandungan protein yang tinggi, khamir laut juga memiliki 17 macam asam amino. Asam amino ini terdiri dari asam amino esensial dan asam amino non esensial. Kandungan asam amino khamir laut berkisar antara 0,071 – 0,539%. Kandungan asam amino tertinggi pada khamir yaitu asam aspartat yaitu 0,539%. Kandungan asam amino biomassa sel khamir laut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan asam amino biomassa sel khamir laut

Asam Amino	Kandungan (%)
Arginin	0,206
Histidin	0,262
Isoleusin	0,310
Lisin	0,463
Leusin	0,318
Metionin	0,344
Treonin	0,187
Valin	0,342
Alanin	0,137
Asam aspartat	0,539
Asam glutamat	0,536
Glisin	0,109
Prolin	0,346
Serin	0,071
Sistin	0,429
Fenilalanin	0,274
Tirosin	0,211

(Febriani dan Sukoso, 2001)

Penerapan bioteknologi dengan menggunakan khamir dapat digunakan untuk keperluan berbagai industri. Khamir laut menghasilkan zat bioaktif termasuk amilase, lipase, protease, phytase inulinase, vitamin C, asam amino, glutathione, glukon, pembunuh racun dengan potensi aplikasi dalam budidaya laut, makanan, farmasi, kosmetik, industri kimia dan perlindungan lingkungan (Bharathi *et al.*, 2011). Khamir paling banyak digunakan untuk

keperluan berbagai industri dalam proses produksi minuman beralkohol, biomasa, ekstrak untuk keperluan industri kimia, senyawa beraroma dan produksi protein rekombinan untuk menunjang kegiatan bioteknologi khususnya bidang molekuler (Ahmad, 2005).

2.3 Molase

Molase atau yang sering disebut dengan tetes tebu adalah hasil samping dari proses kristalisasi gula yang berulang-ulang sehingga tidak memungkinkan diproses menjadi gula. Molase merupakan salah satu bahan berpati, namun belum banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan pokok (Wiratno *et al.*, 2013). Molase (tetes tebu) biasanya dimanfaatkan untuk pupuk tanaman, bahan baku fermentasi dalam pembuatan alkohol (etanol), asam asetat, asam sitrat, asam laktat dan bahan penyedap masakan serta digunakan masyarakat sebagai bahan campuran makanan ternak (Sulistyo *et al.*, 2007).

Molase merupakan sumber karbohidrat, kaya akan gula, mengandung nitrogen, garam organik, vitamin dan elemen lainnya. Molase tidak dapat dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit untuk dikristalkan. Molase digunakan sebagai bahan dasar yang sangat berharga untuk industri dengan fermentasi. Molase mengandung gula dan asam organik yang baik untuk industri pembuatan etanol. Molase masih mengandung kadar gula yang cukup untuk dapat menghasilkan etanol dengan proses fermentasi. (Simanjuntak, 2009).

Penggunaan molase sebagai sumber karbon dalam fermentasi karena adanya kandungan gula dan berbagai nutrisi yang diperlukan bagi mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan sel dengan menggunakan sumber karbon molase cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan sumber karbon lainnya (glukosa, sukrosa dan gula pasir komersil). Hal

ini disebabkan oleh komposisi molase yang cukup kompleks dan dapat digunakan sebagai pengganti glukosa sehingga mempengaruhi metabolisme sel tersebut (Kusmiati *et al.*, 2011).

Molase memiliki kandungan K, Ca, Cl yang berfungsi dalam pertumbuhan jamur, selain itu molase juga memiliki kandungan gula yang merupakan sumber energi untuk metabolisme sel jamur yang akan merangsang pertumbuhan miselium. Molase juga memiliki kandungan unsur nitrogen berkisar 2-6% yang berfungsi untuk membangun miselium. Pemilihan media tambahan molase pada dosis yang berbeda diharapkan dapat meningkatkan produksi jamur (Pemenuhan miselium, jumlah tubuh buah jamur dan berat buah jamur) (Kusmiati *et al.*, 2011).

Molase adalah limbah dari pengolahan tebu yang berbentuk cairan kental, berwarna coklat tua kehitaman, berbau manis atau harum khas. Molase termasuk medium pertumbuhan kompleks yang kaya akan sukrosa. Gula umumnya dapat difermentasi oleh khamir adalah glukosa, galaktosa, maltosa, sukrosa, laktosa, trehalosa, melibiosa dan rafinosa. Komposisi kimia molase dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi kimia molase

Komposisi	Persentase (%)
Air	25
Sukrosa	35
Glukosa	9
Fruktosa	12
Abu	12
Sterol	0,4
SiO ₂	0,5
K ₂ O	3,5
CaO	1,5
MgO	0,1
Fe ₂ O ₃	0,2

(Kusmiati *et al.*, 2011)

Pada Tabel 3 dapat dilihat komposisi kimia molase. Komposisi molase sebagian besar terdiri dari air dan karbohidrat. Kandungan air pada molase sebesar 25% dan kandungan karbohidrat tertinggi dari sukrosa yaitu sebesar 35%. Selain bahan organik, molase juga terdiri dari bahan non organik seperti CaO, MgO dan K₂O.

Penambahan volume molase dapat meningkatkan kandungan air dan gula pada media fermentasi sehingga dapat meningkatkan laju pertumbuhan sel khamir laut. Seiring pertumbuhan sel khamir laut maka akan semakin tinggi pula enzim protease yang dihasilkan khamir laut untuk memecah protein pada substrat. Penambahan volume molase 100 mL hingga 400 mL dapat meningkatkan kadar protein pada hidrolisat protein kerang hijau (Husen, 2015). Penambahan volume molase 100 mL hingga 300 mL dapat meningkatkan kadar protein hidrolisat kepala udang vaname hingga berkisar 46,25 – 52,64% (Iriani, 2014).

Penambahan volume molase memiliki dampak positif bagi perkembangan khamir laut, namun penambahan volume molase yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kejenuhan pada media fermentasi. Cara yang paling efisien untuk menghidrolisis protein adalah dengan menggunakan enzim karena enzim menghasilkan peptida-peptida yang kurang kompleks dan mudah dipecah serta dapat melindungi produk yang dihasilkan dari kerusakan dan perubahan yang bersifat non hidrolitik. Peningkatan konsentrasi enzim ternyata akan meningkatkan volume hidrolisat protein ikan yang bersifat tak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Kecepatan katalis enzim meningkat pada konsentrasi enzim yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim berlebih maka proses tersebut tidak efisien (Amalia, 2007).

2.4 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses yang mengubah substrat menjadi bahan organik atau komponen yang mengandung bahan organik dengan bantuan mikroorganisme. Proses fermentasi dapat menyebabkan produk berubah dari keadaan semula sebagai akibat dari pemecahan kandungan bahan pangan tersebut. Bahan pangan yang telah mengalami fermentasi akan mempunyai nilai gizi yang lebih besar dibandingkan dengan bahan asalnya. Hal ini disebabkan karena mikroba bersifat katabolik atau memecah komponen yang kompleks menjadi zat-zat yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna (riboflavin, vitamin B₁₂ dan provitamin A) dan dapat memecah bahan-bahan dengan enzim-enzim tertentu yang semula tidak dapat dicerna oleh manusia (selulosa, hemiselulosa dan polimer-polimernya menjadi gula sederhana) (Winarno *et al.*, 1984).

Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan. Fermentasi menghasilkan asam atau komponen lainnya yang dapat menghambat mikroba perusak lainnya. Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik dari karbohidrat dan menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak (Wijaningsih, 2008).

Desrosier (1988) menyatakan bahwa dalam fermentasi biasanya identik dengan proses pembusukan. Fermentasi adalah suatu proses penguraian bahan-bahan karbohidrat, biasanya menghasilkan senyawa asam dan menghasilkan gas karbondioksida. Senyawa asam inilah yang pada umumnya dianggap sebagai proses pembusukan. Proses pembusukan

itu sendiri ditandai dengan adanya karakteristik gas hidrogen sulfida dan terjadi perombakan protein menjadi senyawa belerang. Hal dasar yang dapat membedakan antara fermentasi dengan proses pembusukan adalah fermentasi menghasilkan zat-zat yang memberikan rasa dan aroma yang spesifik dan disukai orang, begitu sebaliknya (Murniyati dan Sunarman, 2000).

Hasil dari fermentasi terutama tergantung pada berbagai faktor yaitu jenis bahan pangan (substrat), macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan-turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan CO₂. Mikroba proteolitik dapat memecah protein dan komponen-komponen nitrogen lainnya sehingga menghasilkan bau busuk yang tidak diinginkan, sedangkan mikroba lipolitik akan memecah atau menghidrolisa lemak, fosfolipida dan turunannya dengan menghasilkan bau yang tengik (Supriyono, 2008).

Fermentasi dapat diartikan sebagai perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir dan jamur. Syarat mikroba yang digunakan dalam fermentasi adalah kemampuannya menghasilkan enzim dalam jumlah besar. Khamir merupakan salah satu organisme bersel tunggal dengan wujud kehidupan yang lengkap sehingga khamir memiliki produktivitas enzim dan kapasitas fermentatif yang lebih tinggi dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya (Desrosier, 1988).

Fermentasi dapat berlangsung secara aerob dan anaerob. Sebagian besar fermentasi berlangsung secara aerobik yang memerlukan suplai oksigen yang dapat dipacu dengan penambahan pengadukan atau agitasi. Setiap mikroorganisme membutuhkan oksigen dalam jumlah yang berbeda untuk pertumbuhannya. Khamir laut atau khamir pada umumnya membutuhkan

oksigen dalam jumlah besar untuk memacu pertumbuhan sel-sel khamir (Machfud *et al.*, 1989).

Secara umum, pengaruh yang diinginkan dari aktivitas mikroba pada proses fermentasi disebabkan oleh aktivitas biokimianya. Enzim mikroba akan memecah karbohidrat, lemak, protein atau komponen makanan lainnya sehingga dapat meningkatkan daya cerna dan serap unsur hara dalam pencernaan manusia. Pada pertumbuhan dan metabolisme mikroba dalam bahan makanan fermentasi menghasilkan beberapa komponen, seperti asam organik, alkohol, aldehyd, ester dan banyak lainnya. Pertumbuhan mikroba juga menyebabkan meningkatnya biomassa selnya sehingga menambah nilai nutrisinya (Adams dan Nout, 2001).

Lama waktu fermentasi yang semakin lama akan meningkatkan biomassa khamir laut dan menghasilkan enzim protease yang lebih banyak pula, sehingga penguraian substrat dapat terjadi dengan lebih sempurna. Lama waktu fermentasi dapat menurunkan kadar air hidrolisat dan meningkatkan kadar protein pada hidrolisat protein kerang hijau berkisar antara 47,01 – 71,55% (Husen, 2015). Fermentasi selama 12 hari dapat meningkatkan kadar protein hidrolisat kepala udang vaname berkisar antara 46,25 – 52,64% (Iriani, 2014). Lama fermentasi dapat meningkatkan kadar protein dan daya buih hidrolisat protein kepala udang vaname (Budy, 2014).

Lama fermentasi dapat mempengaruhi terhadap kandungan kimia dan sifat fungsional tepung. Pengaplikasian pada pangan membutuhkan sifat fungsional yang cocok dan dapat diterima oleh konsumen. Sifat fungsional ini adalah karakteristik fisika kimia yang dapat berdampak selama proses produksi, penyimpanan dan konsumsi seperti kelarutan, daya buih, pembentukan gel dan emulsi. Fermentasi selama 5 hari dapat meningkatkan protein dari 22,6% hingga

23,9% dan menurunkan kadar lemak dari 2,74% hingga 1,69% (Anggraeny dan Umiyasih, 2009).

2.5 Hidrolisis Protein

Hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. Proses hidrolisis kimiawi yaitu dengan penambahan asam klorida dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan, namun dengan teknik ini menghasilkan hidrolisat yang kurang baik dalam hal keamanan dan kesehatan. Teknik hidrolisis secara kimiawi akhir-akhir ini mulai dihindari oleh kebanyakan industri *food ingredient* di Indonesia. Hidrolisis secara enzimatik merupakan pilihan metode paling aman dalam produksi penyedap rasa (witono, 2007).

Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hal ini disebabkan kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk. Papain merupakan enzim proteolitik hasil isolasi dari getah penyadapan buah pepaya (*Carica papaya* L.). Enzim tersebut dapat diproduksi dalam bentuk bubuk maupun larutan. Penggunaan enzim papain sangat beragam, diantaranya digunakan untuk pengempuk daging, konsentrat protein dan hidrolisat protein (Kurniawan, 2012).

Hidrolisat protein ikan merupakan suatu produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi senyawa-senyawa berantai pendek karena adanya proses hidrolisis yang disebabkan oleh enzim, asam maupun basa (Bernadeta *et al.*, 2012). Hidrolisat protein dapat dibuat dari ikan yang memiliki nilai ekonomis rendah. HPI juga dapat dibuat dari limbah ikan seperti

kepala, tulang, daging merah, isi perut, kulit, sisik, tulang kecil dan sirip (Muzaifa *et al.*, 2012).

Produk hidrolisat protein mempunyai kadar protein yang tinggi sehingga cocok untuk digunakan sebagai fortifikasi bahan pangan berprotein rendah seperti patilo (jajanan tradisional Gunung Kidul yang diolah dari ampas singkong terfermentasi dan dicampur pati singkong) (Haslina, 2012). Pigot dan Tucker (1990) mengungkapkan bahwa HPI dapat digunakan sebagai bahan pengganti albumin telur pada proses pembuatan es krim, agar-agar dan secara fungsional dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi, pengembang dan pengisi.

Hidrolisat protein merupakan sumber protein alami yang dihidrolisis secara parsial sehingga lebih mudah diasimilasi oleh makhluk hidup. Hidrolisis secara parsial mampu memecah molekul protein menjadi beberapa gugus asam amino maupun peptida melalui pemutusan ikatan rantai peptida. Mengingat proses penambahan asam maupun basa pada proses hidrolisis dapat merusak beberapa gugus asam amino serta menghasilkan senyawa karsinogenik, maka fungsi asam atau basa digantikan oleh enzim secara spesifik. Akibat sifat enzim yang sangat spesifik, maka diperlukan pula pemilihan kondisi hidrolisis yang tepat. Kondisi yang perlu diperhatikan selama hidrolisis berlangsung adalah suhu, nilai pH dan waktu hidrolisis (Purbasari, 2008).

Hidrolisat protein berpotensi sebagai bumbu penyedap masakan pengganti MSG. Meskipun diperkenankan sebagai penyedap masakan, penggunaan MSG yang berlebihan bisa mengakibatkan rasa pusing dan sedikit mual. Melalui teknik hidrolisis, protein dari suatu bahan dapat diubah menjadi senyawa asam amino, nukleotida, dan berbagai ragam peptida. Hidrolisat protein dapat berbentuk cair, pasta atau tepung yang bersifat higroskopis. Hidrolisat

protein yang berbentuk cair mengandung 30% padatan dan bentuk pasta yang mengandung 65% padatan (Johnson dan Peterson, 1974).

Pada umumnya hidrolisat protein digunakan untuk memperbaiki karakteristik berbagai produk pangan. Manfaat hidrolisat protein yaitu sebagai penyedap rasa, sebagai lanjutan untuk isolasi asam amino, serta untuk pengobatan. Hidrolisat protein mempunyai peranan penting dalam fortifikasi makanan dan minuman untuk memperkaya protein dan nilai gizi makanan sehubungan dengan tingginya tingkat kelarutan dan pencernaan. Hidrolisat protein dengan kualitas di bawah kualitas pangan dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein pada pakan, sumber nitrogen pada pupuk tanaman dan media tumbuh bakteri (Purbasari, 2008).

Produk hidrolisat protein ikan memiliki karakteristik warna yang berbeda beda tergantung dari pigmen bahan baku yang digunakan, misalnya HPI cair yang dibuat dari ikan salmon berwarna merah dan HPI yang dibuat dari ikan pollack berwarna putih. Selain itu, warna dari HPI yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh reaksi pencoklatan non-enzimatis (reaksi Maillard) selama proses hidrolisis. Penggunaan panas selama proses hidrolisis kemungkinan menjadi penyebab terjadinya pencoklatan pada HPI yang dihasilkan (Ariyani *et al.*, 2003).

Produk hidrolisat protein memiliki rasa pahit yang merupakan ciri khas produk HPI yang disebabkan oleh peptida berantai pendek sebagai produk hasil pemecahan protein. Mekanisme terjadinya komponen penyebab rasa pahit tersebut tidak dapat diprediksi, karena berbagai faktor yang sangat kompleks berperan dalam pembentukan komponen penyebab rasa pahit tersebut. Rasa manis pada HPI kemungkinan disebabkan oleh asam amino glisin selama proses hidrolisis, sedangkan rasa gurih disebabkan oleh

pembentukan oligopeptida yang mempunyai proporsi molaritas yang tinggi dari asam glutamat selama proses hidrolisis (Bernadeta *et al.*, 2012).

Hidrolisat protein mempunyai sifat kelarutan yang tinggi seiring dengan meningkatnya nilai derajat hidrolisis. Namun berbanding terbalik pada kapasitas pengemulsi, stabilitas emulsi dan pengikatan lemak yang meningkat seiring dengan penurunan nilai derajat hidrolisis (Gbogouri *et al.*, 2004). Meningkatnya protein terlarut maka kapasitas pengikatan lemak menurun dan daya buih meningkat (Koesoemawardani *et al.*, 2011).

Karakteristik hidrolisat protein seperti pH, daya buih, kapasitas emulsi dan kandungan gizi sangat mempengaruhi kualitas hidrolisat protein. Purbasari (2008) melaporkan hidrolisat terbaik dapat dilihat dari hasil kadar protein yang tertinggi. Amalia (2007) melaporkan bahwa protein merupakan salah satu unsur yang paling penting dalam produk hidrolisat karena tujuan memproduksi produk hidrolisat adalah untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Tingkat mutu dari produk hidrolisat sangat ditentukan dari kadar protein yang dikandung pada produk. Pemilihan hidrolisat protein terbaik dapat ditinjau dari parameter hidrolisat seperti pH, emulsi dan daya buih.

- pH

Penurunan pH selama hidrolisis disebabkan oleh terbentuknya peptida maupun asam-asam amino yang semakin banyak, yang disebabkan pemecahan protein oleh enzim. Selain itu kontaminan dari enzim yang ditambahkan juga mempengaruhi perubahan pH hidrolisat. pH berhubungan dengan daya simpan produk. Apabila produk memiliki nilai pH tinggi maka tidak dapat disimpan lama, begitupun sebaliknya. Dengan pH rendah maka pertumbuhan mikroba dapat dihambat karena terbentuknya ion-ion hidrogen dalam konsentrasi yang tinggi menyebabkan ketidakstabilan pada membran dan meningkatkan permeabilitas membran (Simanjourang, 2012).

- Kapasitas emulsi

Kapasitas emulsi adalah kemampuan hidrolisat untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi tersebut. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya, dimana erat kaitannya dengan indeks kelarutan nitrogen. Kapasitas emulsi disebabkan oleh kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak yang berkaitan dengan keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik asam amino (Rieuwpassa *et al.*, 2013).

- Daya buih

Daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena molase membantu menyediakan energi bagi khamir laut dalam menghidrolisis protein. Protein yang terhidrolisis semakin banyak menyebabkan banyaknya asam amino hidrofobik yang terbentuk dan berpengaruh pada semakin banyaknya daya buih. Asam amino hidrofobik akan mengabsorpsi fase udara dan air sehingga terbentuk buih yang banyak (Budy, 2014). Chotimah (2009) menambahkan bahwa terbentuknya buih diawali dengan terbukanya ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga rantai protein akan semakin panjang dan udara akan masuk diantara molekul-molekul yang terbuka dan bertahan disana sehingga volume buih meningkat.

- Aplikasi Produk Hasil Fermentasi

Tumbuhan polong memiliki kandungan protein yang baik. Kacang bali merupakan tumbuhan polong yang dapat menggantikan kandungan protein pada hewan. Fermentasi kacang bali selama lima hari memiliki kandungan protein sebesar 23,9%, lemak 1,69%, abu 5,52%, serat kasar 4,52% dan daya buih 4,17%. Tepung hasil fermentasi kacang bali ini dapat digunakan sebagai peningkat nilai nutrisi makanan pokok seperti sereal dan tepung umbi.

Penggunaan fermentasi kacang bali ini dapat menjadi solusi mal nutrisi khususnya pada negara-negara berkembang (Adebowale dan Maliki, 2011).

Teh merupakan hasil pertanian yang mengandung senyawa berkhasiat, terutama dalam bidang kesehatan. "Tea-cider" atau yang lebih dikenal dengan nama "Kombucha", merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula yang memiliki cita rasa dan aroma yang khas, yaitu rasa asam-manis, mengandung berbagai vitamin dan mineral serta asam-asam organik yang berasal dari daun teh setelah difermentasi. Produk fermentasi ini bersifat asam dengan pH 4,2 sehingga perlu dilakukan uji organoleptik untuk mengetahui produk fermentasi ini dapat diterima atau tidak di masyarakat sebagai minuman. Lamanya fermentasi mempengaruhi cita-rasa produk "Tea-cider", semakin lama waktu fermentasi maka produk "Tea-cider" kurang disukai. Hal ini terjadi karena pembentukan asam semakin lama semakin tinggi, dan menyebabkan pH cairan "Tea-cider" menurun sampai di bawah 3, sehingga kurang disukai oleh para panelis. Fermentasi selama 10 hari dan 12 hari disukai oleh para panelis (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Produk hidrolisat atau produk hasil fermentasi dapat digunakan sebagai pakan bagi ruminansia maupun hewan ternak lainnya, selain itu dapat digunakan sebagai pupuk bagi tanaman dan dapat juga digunakan sebagai sumber nitrogen dalam media pertumbuhan bakteri, jamur atau khamir. Fermentasi eceng gondok dapat digunakan sebagai pakan atau bahan ransum itik lokal di Solo (Dewanti *et al.*, 2013). Pupuk ikan yang paling baik yaitu hidrolisat ikan, dimana semua sisi ikan dicampurkan dengan cara enzimatik. Nutrisi hidrolisat ikan sama juga dengan ikan utuh, bedanya hidrolisat ikan berupa cair hingga dapat lebih gampang diserap akar serta dapat juga diberikan pada tanaman lewat penyemprotan ke daun (*foliar feeding*) (Novitriana, 2014). Pepton ikan merupakan pepton yang paling disukai jika dibandingkan dengan pepton dari

daging ataupun tanaman dan dapat digunakan sebagai sumber nitrogen bagi pertumbuhan berbagai mikroorganisme (Dufosse *et al.*, 1997).

- Asam Amino

Protein dalam bahan makanan yang dikonsumsi manusia akan mengalami siklus pemecahan. Protein dipecah menjadi komponen-komponen yang lebih kecil, yaitu asam amino dan atau peptida. Selain itu, di dalam tubuh terjadi proses sintesis protein baru untuk mengganti protein yang lama, sehingga tidak ada sebuah molekulpun yang disintesis untuk dipakai seumur hidup (Chayati dan Andian, 2008).

Bila protein dihidrolisis dengan asam, alkali, atau enzim, akan dihasilkan campuran asam-asam amino. Sebuah molekul asam amino terdiri dari sebuah atom C yang mengikat gugus amino, gugus karboksil, atom hidrogen (H) dan gugus R (rantai cabang). Asam amino dalam kondisi netral (pH isoelektrik, pI , yaitu antara 4,8 – 6,3) berada dalam bentuk ion dipolar (ion zwitter). Apabila asam amino berada pada kondisi pH lebih kecil dari pI , maka asam amino menjadi bermuatan positif. Apabila pH lebih besar dari pI , maka asam amino menjadi bermuatan negatif (Chayati dan Andian, 2008).

Asam amino ada yang memiliki rantai cabang alifatik seperti glisin, valin, leusin, isoleusin, serin, treonin dan alanin. Asam amino yang memiliki rantai cabang siklik dan aromatik adalah fenilalanin, tirosin, prolin, triptofan, lisin, arginin dan histidin. Asam amino yang memiliki gugus asam yaitu asam aspartat, asam glutamat, asparagin dan glutamin. Asam amino yang memiliki gugus belerang yaitu sistein dan metionin (Chayati dan Andian, 2008).

Buih merupakan sistem dua fase yang terdiri dari fase kontinu berupa cairan (protein) dan fase terdispersi berupa udara. Protein dapat membentuk buih karena bersifat amfifilik (mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik). Contoh: whipped topping, whipped cream, meringues, es krim, marshmallow, souffles,

bread dough, cake butter, dan mousses. Fungsi protein dalam buih adalah sebagai bahan surface active yaitu untuk pembentuk dan penstabil fase gas yang terdispersi. Buih dibuat dengan cara melakukan proses bubbling, whipping dan shaking pada larutan protein (Chayati dan Andian, 2008).

Chayati dan Andian (2008) menyatakan protein bisa berperan sebagai emulsifier karena mempunyai sifat amfifilik (mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik). Protein digunakan sebagai emulsifier untuk emulsi tipe O/W, namun tidak cocok untuk emulsi W/O karena protein tidak larut dalam minyak. Contoh emulsi yang menggunakan protein sebagai emulsifiernya adalah sebagai berikut:

- susu, kuning telur, santan, susu kedelai, mentega, margarin, mayonnaise, spread, salad dressing, frozen dessert, frankfurter, sosis dan cake
- susu alami: globula lemak distabilkan oleh membran lipoprotein
- susu homogenisasi: membran lipoprotein diganti oleh film protein yang terdiri dari misel kasein dan protein whey, sehingga lebih stabil terhadap creaming.
- gravies, saus, soft pie filling: dari protein tepung, susu dan telur.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan baku, bahan untuk kultur khamir laut, bahan untuk pembuatan fermentasi ikan louhan, dan bahan untuk analisa kimia. Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah dari ikan louhan (*Ciclashoma sp.*) yang didapatkan di Bendungan Sutami, Desa Kebun Kelopo, Kecamatan Sumberpucung, Kabupaten Malang. Bahan-bahan untuk kultur khamir laut terdiri dari air laut, gula pasir, pupuk daun (hortigro), starter khamir laut, kapas, plastik *wrap* dan plastik. Bahan-bahan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari stok khamir laut, gula pasir, pupuk daun (Hortigro), kapas, alkohol dan tisu. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein terdiri dari ikan louhan, molase dan inokulan khamir laut.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia yaitu untuk analisis proksimat (melingkupi kadar protein, kadar air, kadar lemak, kadar karbohidrat dan kadar abu) terdiri dari silika gel, benang kasur, kertas saring, petroleum eter, H_2SO_4 , tablet Kjeldahl, akuades, H_3BO_3 , NaOH dan indikator *metil orange*. Selanjutnya bahan-bahan yang digunakan untuk uji pH, emulsi dan daya buih adalah akuades dan minyak jagung. Bahan berikutnya untuk analisis total asam amino adalah larutan OPA (O-Phthaldehyde), metanol, merkaptoetanol, asam borat, kertas saring whatman dan akuabides.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir laut terdiri dari botol kaca, kompor, panci perebusan, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, aerator, selang, corong dan beaker glass. Peralatan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari mikroskop, *Petroff-Hauser Chamber (Haemocytometer)*, pipet tetes, *cover glass*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, *vortex mixer*, bola hisap, pipet volume, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan digital, spatula dan *sprayer*. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan fermentasi ikan louhan terdiri dari *beaker glass*, timbangan digital, baskom, bola hisap, pipet volume, botol, selang, aerator dan gilingan daging.

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

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang secara sengaja dilakukan oleh peneliti terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna diamati pengaruhnya (Jaedun, 2011). 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 terdiri dari dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui waktu pemanenan inokulan khamir laut sehingga dapat dipanen pada fase pertumbuhan atau log. Selain untuk mengetahui waktu pemanenan penelitian pendahuluan juga digunakan untuk mencari formulasi daging ikan dengan volume molase yang tepat, sehingga formulasi terbaik yang digunakan untuk penelitian utama. Setelah itu, inokulan didapat digunakan sebagai biokatalisator atau penghasil enzim pada proses pembuatan fermentasi ikan louhan. Selanjutnya pada penelitian utama akan dilakukan analisis proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), pH, kapasitas emulsi dan daya buih, sehingga dari hasil yang terbaik digunakan untuk acuan dalam analisis profil asam amino.

3.2.2 Variabel

Variabel dapat didefinisikan sebagai ciri atau faktor yang dapat menunjukkan variasi. Variabel terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas ialah faktor yang menyebabkan suatu pengaruh, sedangkan variabel terikat ialah faktor yang diakibatkan oleh pengaruh tersebut (hasil). (Sevilla *et al.*, 2006).

Penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah volume molase masing-masing (100 mL, 150 mL, 200 mL) dan lama fermentasi, yaitu dilakukan pengamatan terhadap fermentasi hari ke-0, 3, 6, 9, 12 dan 15. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah analisis proksimat (meliputi kadar air, kadar lemak, kadar

abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), pH, daya buih, kapasitas emulsi dan profil asam amino pada HPI dengan perlakuan terbaik.

3.3 Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga perlakuan dan enam kelompok. Dengan perlakuan A= molase 100 mL, B= molase 150 mL dan C= molase 200 mL serta dikelompokkan menjadi 6 kelompok yaitu kelompok hari ke-0, 3, 6, 9, 12 dan 15. Rancangan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Model rancangan percobaan 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	15		
100								
150								
200								

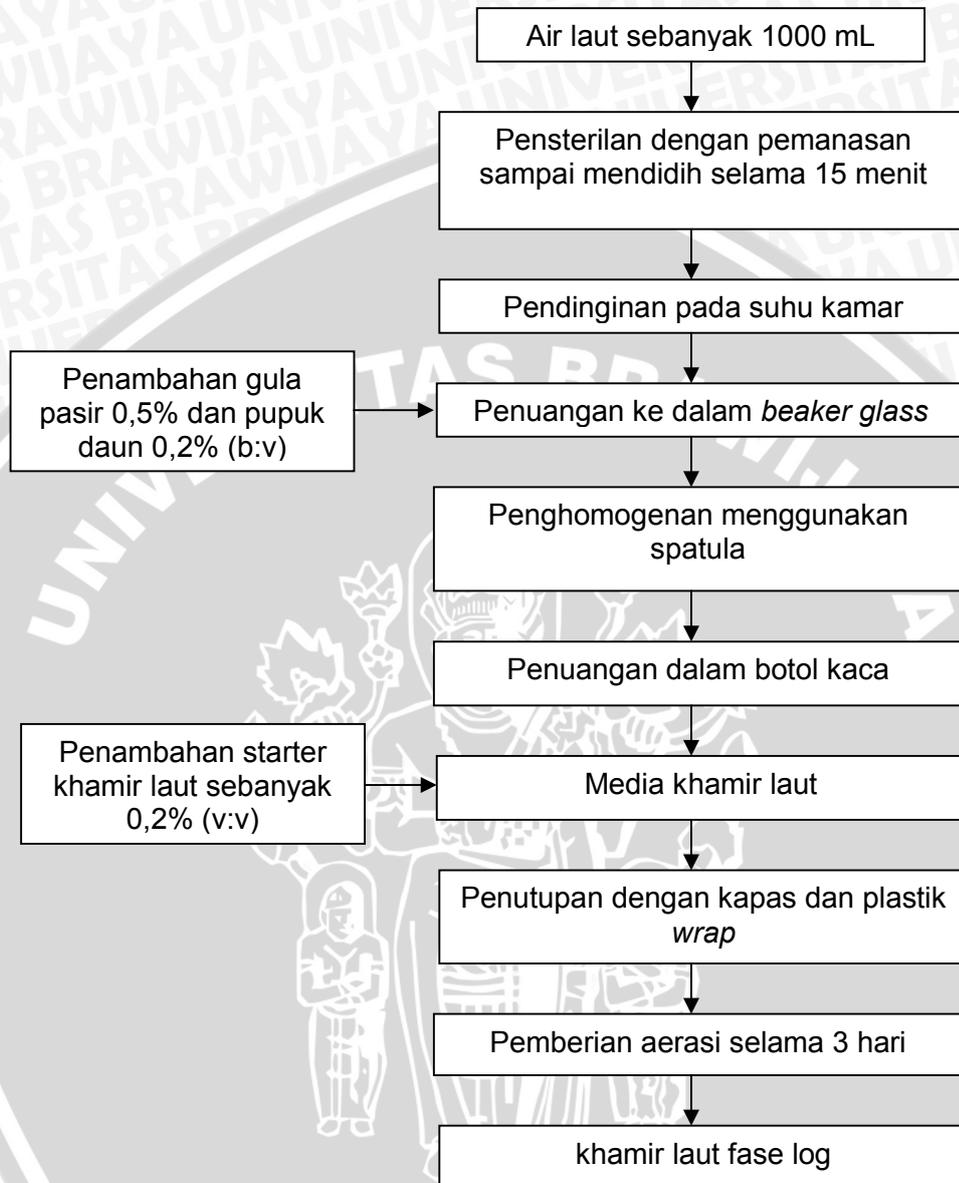
Data yang diperoleh akan dilakukan analisa dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan uji F dengan membandingkan antara F hitung dan F tabel

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

Apabila hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan uji BNT 5%.

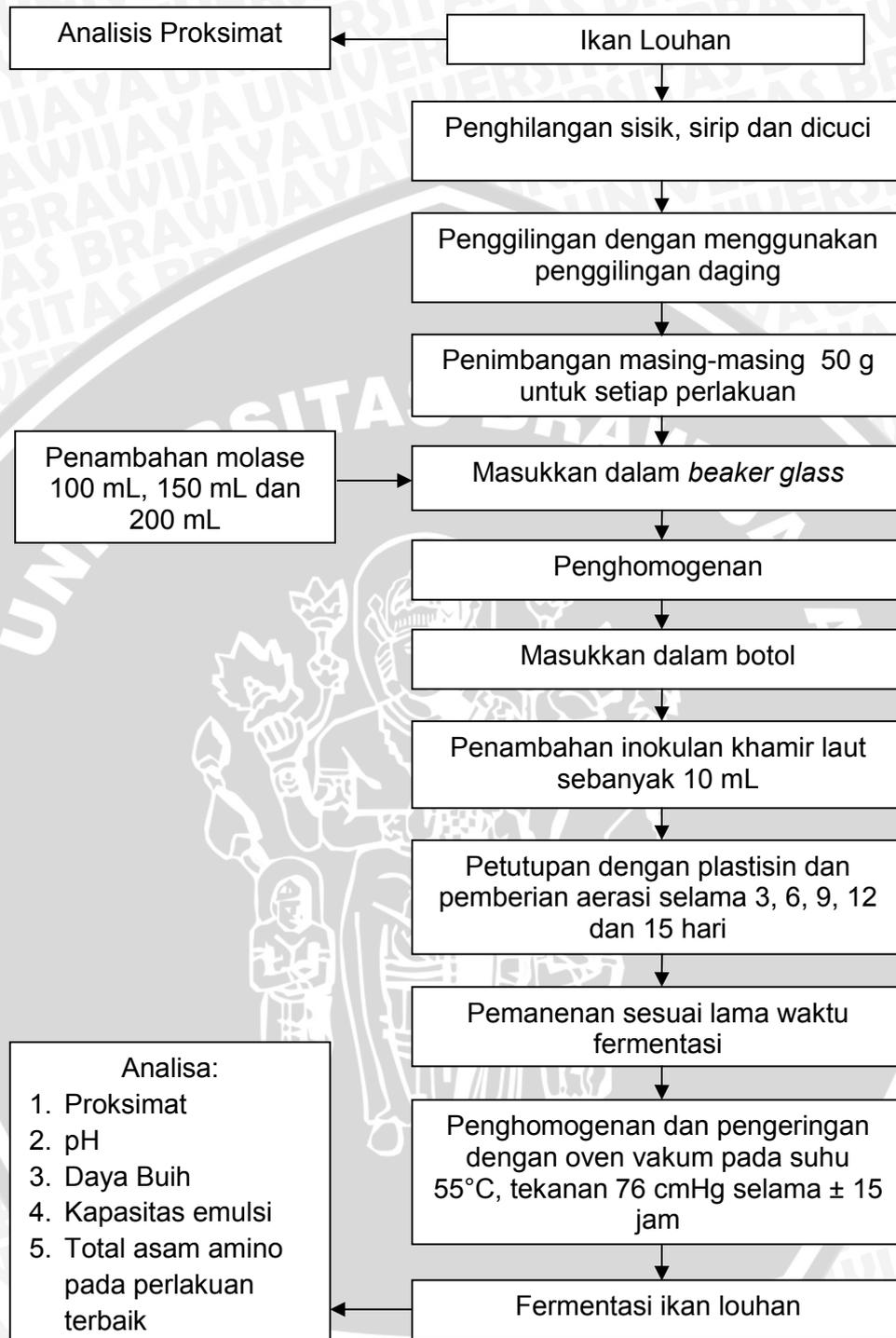
3.4 Skema Kerja Penelitian

3.4.1 Diagram Alir Kultur Khamir Laut



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

3.4.2 Diagram Alir Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan



Gambar 3. Skema Kerja Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan (Mengadopsi dan memodifikasi dari penelitian Budy, 2014).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Kultur Khamir Laut

Prosedur pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dilakukannya pengkulturan khamir laut. Prosedur kultur khamir laut adalah sebagai berikut:

- Bahan berupa air laut 1000 mL, gula 5 g, pupuk daun 2 g dan stok khamir laut sebagai starter sebanyak 10 mL
- Pemanasan air laut sampai mendidih kemudian pendinginan pada suhu kamar
- Masukkan air laut rebus dalam botol kaca yang telah steril dengan perendaman air mendidih
- Penambahan gula pasir 0,5% (b/v) dan pupuk 0,2% (b/v) lalu penghomogenan sehingga menjadi media khamir laut
- Penambahan starter khamir laut sebanyak 2 mL pada media kultur khamir laut
- Masukkan selang aerasi yang sudah steril dengan perendaman air mendidih kedalam botol kaca tempat kultur khamir laut untuk mengalirkan udara
- Penutupan mulut botol kaca dengan menggunakan kapas dan plastik *wrap* untuk menghindari kontaminasi
- Pemberian aerasi selama 72 jam
- Khamir laut pada fase log

3.5.2 Prosedur Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut

Prosedur perhitungan kepadatan sel khamir laut dilakukan secara langsung menggunakan *haemocytometer* dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dan dilakukan pengenceran sampai 10^{-4} agar kepadatan sel lebih mudah untuk dihitung. Adapun prosedurnya adalah sebagai berikut:

- Pemanasan 50 mL air laut sampai mendidih
- Pembuatan media pengenceran dengan mencampurkan air laut 50 mL, gula pasir 0,5% (b/v) dan pupuk 0,2% (b/v)
- Masukkan media pengenceran kedalam 4 tabung reaksi masing-masing berisi 9 mL
- Masukkan biakan khamir laut sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi pertama sebagai 10^{-1} , setelah itu penghomogenan dengan vortex mixer, langkah yang sama dilakukan hingga pengenceran hingga 10^{-4}
- Penghitungan kepadatan sel khamir pada pengenceran 10^{-4} dengan *haemocytometer* dibawah mikroskop

- Penghitungan kepadatan sel khamir menggunakan *handtally counter*
Adapun prosedur kerja perhitungan kepadatan sel dengan alat *hemocytometer* adalah sebagai berikut:

- Pembersihan *haemocytometer* dengan alkohol 70% dan pengeringan dengan tisu
- Penambahan 1 tetes khamir laut pada *haemocytometer*
- Penutupan dengan *cover glass*
- Peletakan *haemocytometer* pada mikroskop dan pencarian fokus pada perbesaran 400x
- Penghitungan sampel pada 5 kotak, yaitu ujung kanan atas, kanan bawah, kiri atas, kiri bawah dan bagian tengah

- Rumus jumlah sel/mL dengan menggunakan *haemocytometer* adalah sebagai berikut:

Jumlah sel/mL = rata-rata jumlah sel tiap kotak x $\frac{1}{4}$ x 10^6 x faktor pengenceran

3.5.3 Prosedur Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan

Prinsip dari pembuatan fermentasi ikan louhan yaitu melakukan suatu pemecahan substrat dengan bantuan air dan adanya penambahan enzim untuk memecah substrat tersebut menjadi komponen yang lebih sederhana. Prosedur pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menyiapkan bahan baku fermentasi yaitu ikan louhan. Pada dasarnya komposisi gizi bahan pangan terdiri dari empat komponen utama yaitu air, protein, karbohidrat dan lemak. Jumlah masing-masing komponen tersebut berbeda-beda pada bahan pangan, tergantung dari sifat alamiah bahan misalnya kekerasan, citarasa dan warna (Winarno, 2007).

Prosedur pembuatan fermentasi ikan louhan adalah:

- Penghilangan sisik dan sirip ikan louhan
- Pencucian untuk menghilangkan kotoran
- Pemotongan daging ikan louhan menjadi kecil-kecil
- Penggilingan daging dan penimbangan sebanyak 50 g untuk masing-masing perlakuan
- Penambahan molase sesuai dengan perlakuan sebanyak 100 mL, 150 mL dan 200 mL
- Masukkan kedalam botol yang telah steril dengan perendaman pada air mendidih
- Penambahan inokulan khamir laut sebanyak 10 mL
- Penutupan dengan plastisin dan diaerasi selama 15 hari pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$).

3.5.4 Prosedur Analisis Proksimat

3.5.4.1 Kadar Air (Sediaoetama, 2000)

Analisa kadar air pada fermentasi ikan louhan dapat dilakukan dengan menggunakan metode thermogravimetri. Prinsipnya menguapkan air yang ada dalam bahan dengan cara pemanasan. Kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti sebagai besar air sudah diuapkan. Bahan yang telah mengalami pengeringan lebih bersifat higroskopis. Oleh karena itu selama pendinginan sebelum penimbangan, bahan harus ditempatkan dalam desikator yang telah berisi zat penyerap air seperti silika gel (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Prosedur kerja analisis kadar air menurut Sediaoetama (2000) adalah sebagai berikut:

- Peletakan cawan yang bersih dengan tutup setengah terbuka kedalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam
- Pengeluaran cawan dari oven dan pendinginan dalam desikator selama 15 menit
- Penimbangan cawan dan tutup dalam keadaan kosong
- Penimbangan sampel sebanyak 15 g dan peletakan dalam cawan
- Pengeringan dalam oven pada suhu 105°C selama 3-5 jam
- Pendinginan dalam desikator selama 15 menit
- Penimbangan cawan yang telah mengalami pengeringan
- Pengeringan sampai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg)
- Pengurangan berat bahan adalah banyaknya air dalam bahan
- Rumus perhitungan kadar air adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat botol timbang + sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.4.2 Kadar Protein (Sediaoetama, 2000)

Analisa kadar protein pada hidrolisat protein ikan louhan menggunakan metode Kjeldal. Prinsipnya yaitu dengan menentukan jumlah nitrogen (N) total yang terkandung dalam suatu bahan pangan. Penentuan protein berdasarkan jumlah N menunjukkan protein kasar, karena selain protein juga terikut senyawa N bukan protein seperti urea, asam nukleat, amoniak, nitrat, nitrit, amida, purin dan pirimidin. Analisa kadar protein dengan cara penentuan jumlah N total ini dilakukan untuk mewakili jumlah protein yang ada. Analisis kadar protein dengan metode Kjeldal terdiri dari tiga tahap yaitu destruksi, destilasi dan titrasi (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Prosedur analisis kadar protein menurut Sediaoetama (2000) adalah sebagai berikut:

- Penimbangan sampel sebanyak 1 g
- Peletakan kedalam labu kjeldal dan ditambahkan H₂SO₄ pekat
- Penambahan tablet Kjeldal sebagai katalisator
- Pencampuran bahan didestruksi selama 2-3 jam dan pendinginan
- Penambahan 100 mL akuades dan 50 mL NaOH kemudian pendestilasian
- Penampungan destilat pada erlenmeyer yang berisi 50 mL asam boraks dan 1 tetes indikator MO
- Pentitrasian destilat dengan H₂SO₄ 0,3 N sampai warna merah muda
- Rumus perhitungan kadar protein adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Protein(\%)} = \frac{(\text{mL titrasi} + \text{mL blanko}) \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 14,007 \times 6,25}{\text{berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

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

Analisis kadar lemak pada fermentasi ikan louhan dilakukan dengan metode *goldfish*. Prinsip analisis kadar lemak adalah ekstraksi, yaitu pemisahan lemak dari sampel dengan cara mensirkulasikan pelarut lemak ke dalam sampel, sehingga senyawa-senyawa lain tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Keuntungan dari metode *goldfish* adalah pelarut yang sudah dipakai dapat dipakai kembali (Sudarmadji *et al.*,1989).

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 goldfish* dan dipasang dibawah kondensor *goldfish*
- Pemasangan gelas piala yang telah diisi petroleum eter
- Pengaliran air pada kondensor dan naikkan pemanas *goldfish* 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:

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

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

Analisis kadar abu pada fermentasi ikan louhan dapat dilakukan dengan metode langsung (cara kering). Prinsip dari penentuan kadar abu adalah membakar bahan dalam tanur atau tungku (*furnance*) dengan suhu 600°C selama 6-8 jam sehingga seluruh unsur utama pembentuk senyawa organik (C,H,O,N) habis terbakar dan berubah menjadi gas dan sisanya adalah abu yang merupakan kumpulan dari mineral-mineral (Sudarmadji *et al.*, 1989).

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

- Pengeringan kurs porselin dalam oven bersuhu 105°C selama semalam
- Peletakan kurs porselin dalam desikator selama 15-30 menit
- Penimbangan kurs porselin
- Penimbangan sampel sebanyak 2 g
- Peletakan sampel dalam kurs porselin
- Peletakan kurs porselin dan sampel dalam tanur, pengabuan pada suhu 600°C sampai seluruh bahan menjadi abu
- Pendinginan kurs porselin kedalam desikator
- Penimbang berat abu
- Rumus perhitungan kadar abu adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Abu(\%)} = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat kurs porselin}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.4.5 Kadar Karbohidrat (Legowo *et al.*, 2007)

Analisis kadar karbohidrat pada fermentasi ikan louhan dapat dilakukan dengan metode *carbohydrate by difference*, prinsipnya yaitu hasil pengukuran dari 100% dengan kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein sehingga kadar karbohidrat tergantung pengurangannya. Perhitungan *carbohydrate by difference* adalah penentuan karbohidrat dalam bahan pangan secara kasar (Legowo, *et al.*, 2007).

Rumus perhitungan kadar karbohidrat adalah sebagai berikut:

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

3.5.5 Prosedur Analisis pH (SNI 06-6989.11-2004)

Metode pengukuran pH dapat dilakukan dengan menggunakan elektroda pada pH meter. Prinsip dari pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hidrogen secara potensiometri atau elektrometri dengan menggunakan pH meter.

Prosedur pengukuran pH adalah sebagai berikut:

- Pengeringan elektroda dengan tisu
- Pembilasan elektroda dengan akuades
- Pencelupan elektroda pada contoh uji sampai pH meter menunjukkan angka pembacaan yang tetap
- Catat hasil pembacaan yang tertera pada pH meter

3.5.6 Prosedur Analisis Emulsi (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

Metode analisis emulsi dapat dilakukan dengan menggunakan sentrifugasi. Prinsip dari pengujian emulsifikasi yaitu membuat sistem heterogen yang tersusun atas dua fase cairan yang tidak tercampur tetapi cairan yang satu terdispersi dengan baik dalam cairan yang lain. Daya kerja *emulsifier* terutama

disebabkan oleh bentuk molekulnya yang dapat terikat baik pada minyak maupun pada air. Ada dua tipe emulsi yaitu minyak dalam air dan emulsi air dalam minyak (Rieuwpassa *et al.*, 2013).

Prosedur pengujian emulsi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Penimbangan sampel sebanyak 5 g
- Peletakan sampel pada cuvet
- Penambahan 20 mL akuades dan 20 mL minyak jagung
- Penghomogenan selama 1 menit
- Sentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit
- Rumus perhitungan kapasitas emulsi adalah sebagai berikut:

$$\text{Kapasitas Emulsi(\%)} = \frac{\text{Volume emulsi setelah disentrifus}}{\text{Volume awal}} \times 100\%$$

3.5.7 Prosedur Analisis Daya Buih (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

Buih merupakan sistem dua fase yang terdiri dari fase kontinyu berupa cairan dan fase terdispersi berupa udara. Protein dapat membentuk buih karena bersifat amfifilik (mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik). Buih dibuat dengan cara melakukan proses *bubbling*, *whipping* dan *shaking* pada larutan protein (Chayati dan Andian, 2008). Prinsip dari daya buih yaitu kekuatan protein dalam memerangkap gas, dimana kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia protein (Budy, 2014).

Prosedur pengujian daya buih adalah sebagai berikut:

- Penimbangan sampel sebanyak 1 g
- Peletakan sampel pada cuvet
- Penambahan akuades sebanyak 10 mL
- Pengukuran tinggi awal pada kuvet yang berisi sampel dan akuades
- Penghomogenan dengan cara pengkocokan selama 1 menit

- Pengukuran tinggi buih yang terbentuk pada cuvet
- Rumus perhitungan daya buih adalah sebagai berikut:

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

3.5.8 Prosedur Analisis Total Asam Amino (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Analisis Kandungan asam amino pada 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. Hasil hidrolisis 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 (Sudarmadji *et al.*, 1997).

Prosedur kerja analisis kandungan asam amino pada hidrolisat protein ikan louhan 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 beningan dan residu, pengekstraksian 3 kali dengan garam encer. Pengumpulan beningan dan penambahan akuades sehingga volumenya 100 mL
- Pengambilan 10 mL beningan 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
- Pengambilan cuplikan 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

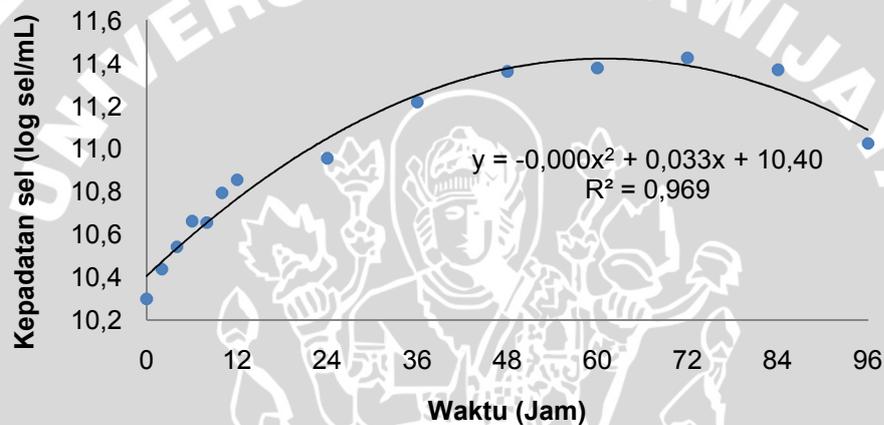


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Pertumbuhan khamir laut ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pada berbagai lama waktu kultur. Data pengamatan dan analisis data kepadatan khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 4 dan 5. Kurva pertumbuhan khamir laut pada berbagai lama waktu kultur dapat dilihat pada Gambar 4.



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

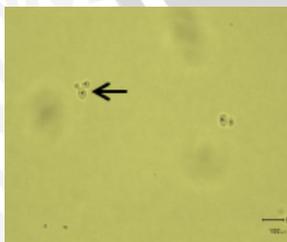
Gambar 4 memperlihatkan bahwa titik optimasi pertumbuhan khamir laut terdapat pada jam ke-72. Khamir laut mengalami pembelahan secara cepat pada hari ke-3 atau jam ke-72 (Jannah, 2012). Hal ini dimungkinkan karena khamir telah melewati fase adaptasi sehingga dapat hidup dan tumbuh dengan cepat pada media kultur. Jumlah sel khamir laut yang tertinggi pada jam ke-72 karena pada masa kultur tersebut khamir laut tumbuh sangat banyak sehingga menyebabkan tingginya kepadatan sel khamir laut (Budy, 2014).

Gambar 4 juga memperlihatkan bahwa perbedaan lama kultur terhadap tingkat kepadatan yang dihasilkan menjadi petunjuk kurva pertumbuhan khamir laut, dimana fase lag terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-2 yang ditandai dengan pertumbuhan yang masih lambat. Fase log terjadi diatas jam ke-2

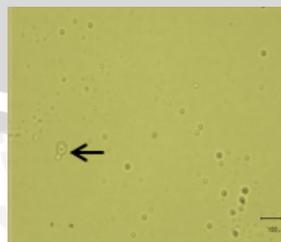
hingga jam 72 dan tingkat kepadatan khamir laut yang paling tinggi terdapat pada jam ke-72 dimana sel khamir laut mengalami pembelahan dengan kecepatan tinggi sehingga nutrisi yang terdapat pada media dapat digunakan secara optimal untuk pertumbuhannya. Pada fase log sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan (Noviati, 2007).

Fase stasioner terjadi diatas jam ke-72 hingga jam 84 dimana jumlah sel khamir laut yang tumbuh akan sama dengan jumlah sel yang mati. Fase kematian terjadi diatas jam ke-84 hingga jam ke-96 yang ditandai dengan penurunan pertumbuhan khamir laut dikarenakan disebabkan habisnya nutrisi yang digunakan khamir laut untuk tumbuh, terakumulasinya metabolit sekunder seperti alkohol, dan karena pertumbuhan sudah sampai titik jenuh. Pertumbuhan mikroorganisme akan berlangsung sampai sumber energi habis dimana pembentukan produk akhir tidak terjadi dan pertumbuhan selanjutnya tidak mungkin terjadi. Akumulasi produk beracun seperti etanol, asam laktat dan amonia membuat sel menjadi tidak hidup, mengurangi laju pertumbuhan atau mengurangi laju katabolisme dan pembentukan produk akhir (Riadi, 2013).

Fase log pada jam ke-72 dapat diperkuat dengan pengamatan mikroskop. Hasil pengamatan berupa foto kepadatan sel khamir laut pada jam ke-0 hingga jam ke-96 dengan pembesaran 1000x. Foto kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Gambar 5.



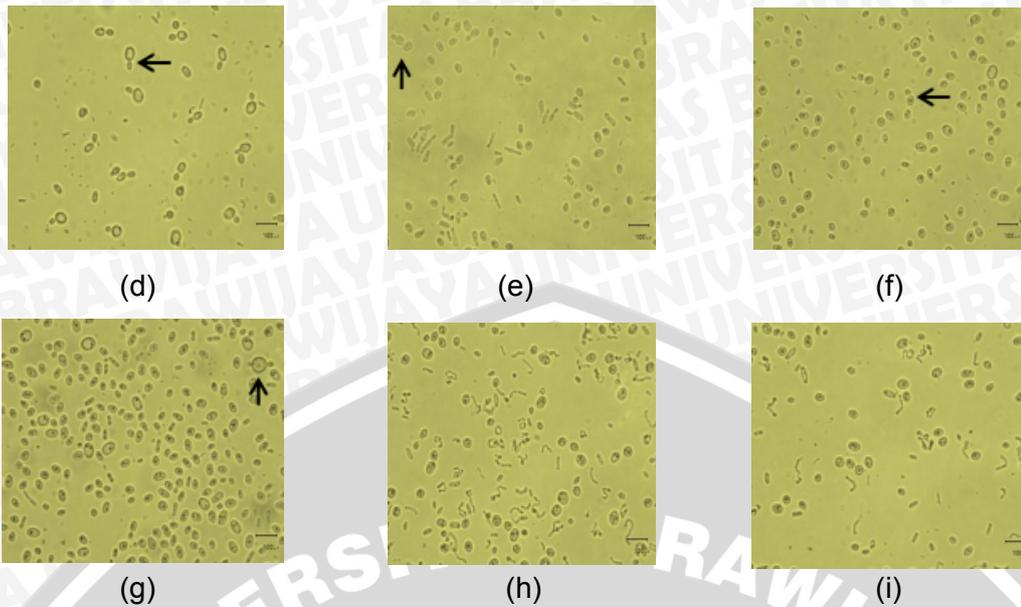
(a)



(b)



(c)



Keterangan: Anak panah menunjukkan konodia pada sel khamir laut

Gambar 5. Foto pengamatan sel khamir laut dengan perbesaran 1000X. Pada 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)

Gambar 5 menunjukkan kepadatan sel khamir laut dengan bentuk yang bulat serta terdapat bulatan kecil yang menempel pada sel tersebut yang disebut dengan konodia. Konodia menunjukkan bahwa sel khamir laut sedang mengalami pembelahan. Bentuk sel khamir bermacam-macam yaitu bulat, oval, silinder, dan bulat panjang. Dalam sebuah kultur, ukuran dan bentuk khamir laut akan berbeda-beda hal ini disebabkan karena adanya pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan khamir laut (Fardiaz, 1989).

Pada Gambar 5 dapat dilihat bahwa sel khamir laut sudah membelah diri pada jam ke-24 hingga jam ke-96 masih ada sel khamir yang membelah diri. Proses pembelahan sel terjadi aseksual dengan pembentukan tunas, suatu proses yang merupakan sifat khas dari khamir. Pada awalnya akan timbul suatu gelembung kecil dari permukaan sel induk. Gelembung ini secara bertahap membesar dan setelah mencapai ukuran yang sama dengan induknya terjadi

pengerutan yang melepaskan tunas dari induknya. Sel terbentuk selanjutnya akan memasuki tahap pertunasan kembali (Buckle *et al.*, 2007).

4.1.2 Penentuan Volume Molase dan Lama Fermentasi

Penentuan volume molase dan lama fermentasi bertujuan untuk mengetahui volume molase dan lama fermentasi terbaik yang selanjutnya akan digunakan sebagai landasan dalam melakukan penelitian utama. Pada penentuan ini dilakukan dalam tiga kali percobaan dengan bahan baku ikan louhan sebanyak 50 g. Percobaan pertama (volume molase 2,5 mL, 5 mL dan 7,5 mL), percobaan kedua (volume molase 50 mL, 100 mL dan 150 mL), dan percobaan ketiga (volume molase 100 mL, 150 mL dan 200 mL). Data pengamatan volume molase dan lama fermentasi dapat dilihat pada Lampiran 6.

Hasil dari percobaan pertama dengan volume molase 2,5 mL, 5 mL dan 7,5 mL mengalami pembusukan setelah fermentasi berlangsung selama 1 hari dengan warna coklat pucat dan bau agak busuk. Hal tersebut dimungkinkan karena kurangnya cairan pada sampel sebagai sumber air yang sangat penting dan dibutuhkan oleh setiap organisme dan mikroorganisme untuk tumbuh dan menyebabkan sampel terlalu padat dan kesulitan pada saat aerasi sehingga proses agitasi tidak berjalan dengan sempurna dan suplai oksigen tidak dapat tersebar dengan baik. Sebagian proses fermentasi berlangsung secara aerobik yang memerlukan suplai oksigen, dimana dapat dilakukan dengan cara pengadukan atau agitasi (Standbury dan Whitaker, 1984).

Pada percobaan kedua, volume molase yang digunakan ditingkatkan 20 kali lipat dari percobaan pertama menjadi 50 mL, 100 mL dan 150 mL dengan bahan baku ikan louhan yang digunakan sebanyak 50 g. Hasil percobaan kedua warna produk pada volume molase 50 mL yaitu coklat sedangkan warna produk pada volume molase 100 mL yaitu coklat kehitaman dan volume molase 150 mL

dengan warna coklat kehitaman. Pada percobaan ini semakin banyak volume molase segar yang ditambahkan maka warna fermentasi akan semakin hitam.

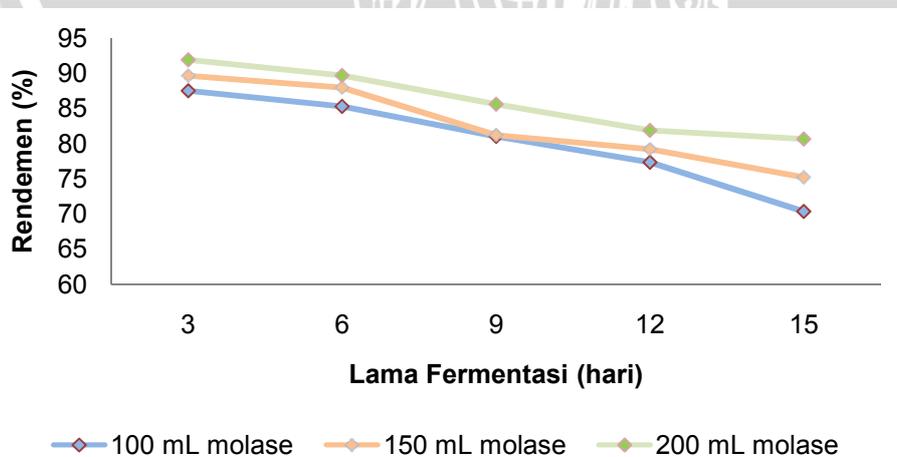
Pada percobaan kedua, fermentasi dengan penambahan volume molase 50 mL mengalami penurunan kadar cairan sehingga menjadi agak kering setelah difermentasi selama 7 hari sedangkan volume molase 100 mL dapat bertahan hingga 12 hari, begitu pula dengan fermentasi dengan penambahan molase 150 mL yang dapat bertahan hingga hari ke-12. Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi molase yang digunakan terlalu sedikit pada fermentasi dengan penambahan volume molase sebanyak 50 mL sehingga fermentasi tidak berlangsung hingga waktu yang ditentukan. Produk yang dihasilkan masih padat sementara khamir laut memiliki habitat yang kadar airnya sangat tinggi, sehingga khamir laut yang menghasilkan protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat serta akan menyulitkan proses aerasi. Selama fermentasi berlangsung akan menghasilkan asam-asam dan CO_2 yang bersifat mudah menguap sehingga dapat keluar melalui selang pembuangan dan cairan yang terdapat pada sampel akan berkurang (Rahmadi, 2003).

Pada percobaan ketiga, batas bawah volume molase yang digunakan ditingkatkan 2 kali lipat dari percobaan kedua menjadi 100 mL, 150 mL dan 200 mL dengan bahan baku ikan louhan sebanyak 50 g. Hal ini disebabkan karena pada percobaan kedua diasumsikan khamir kekurangan cairan sehingga molase dinaikkan 2 kali lipat. Hasil percobaan ketiga yaitu hasil fermentasi ikan louhan dapat bertahan selama 15 hari dan warna produk coklat kehitaman. Volume cairan mulai mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan karena selama proses fermentasi dihasilkan asam-asam dan CO_2 yang bersifat mudah menguap sehingga dapat keluar melalui selang pembuangan dan cairan yang terdapat pada sampel akan berkurang.

Pada percobaan ketiga dengan volume molase 100 mL, 150 mL dan 200 mL dengan bahan baku ikan louhan yang digunakan sebanyak 50 g berjalan dengan baik, ditandai dengan penurunan volume media fermentasi dan tidak timbulnya bau busuk sehingga dapat dijadikan sebagai landasan pada penelitian utama. Lama fermentasi yang digunakan dalam penelitian utama menggunakan acuan 15 hari dan dengan volume khamir laut sebesar 10 mL.

4.1.3 Pengukuran Rendemen Fermentasi Ikan Louhan

Rendemen merupakan jumlah persentase sampel akhir setelah proses dan dinyatakan dalam % (bobot/bobot). Proses hidrolisis dengan menggunakan enzim dari khamir laut akan merubah protein pada substrat menjadi protein yang ikatan peptidanya lebih pendek. Persentase banyaknya produk akhir yang dihasilkan terhadap bahan baku yang digunakan sebelum hidrolisis disebut dengan rendemen produk (Purbasari, 2008). Data pengamatan dan analisis data rendemen fermentasi ikan louhan dengan volume molase dan lama fermentasi berbeda dapat dilihat pada Lampiran 7. Rendemen yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6.

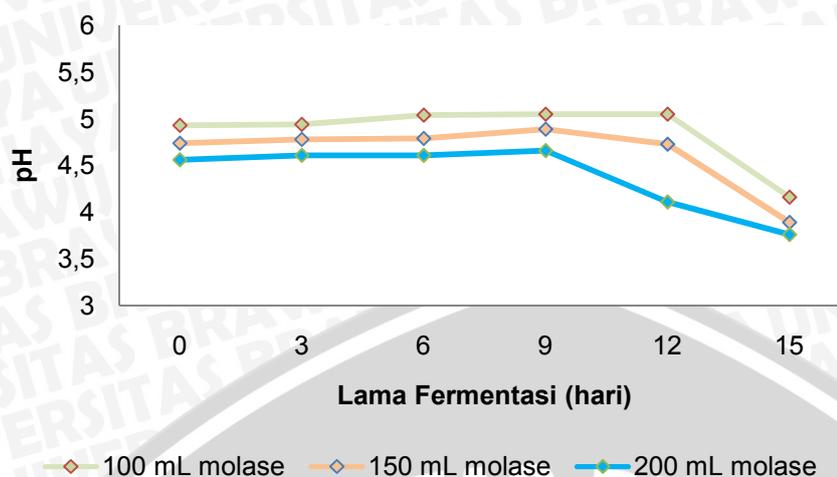


Gambar 6. Rendemen Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase dan Lama Waktu Fermentasi

Gambar 6 memperlihatkan bahwa rendemen fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda mengalami penurunan dari hari ke-0 (kontrol) hingga fermentasi hari ke-15. Semakin menurunnya rendemen cairan dimungkinkan karena semakin lama metabolisme khamir laut dalam fermentasi maka semakin banyak air, karbon, nitrogen dan nutrisi lainnya yang dapat digunakan oleh khamir laut untuk menghasilkan enzim-enzim yang dapat menghidrolisis protein dan lemak pada substrat yaitu ikan louhan. Aktivitas hidrolisis yang tinggi menyebabkan terurainya protein menjadi asam amino yang kemudian berubah menjadi H_2O , CO_2 , dan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen (NH_3 , skatol, indol, kadaverin, dan putresin). Semakin lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil sehingga nilai rendemen cairan akan mengalami penurunan (Liawati, 1992).

4.1.4 Pengukuran pH Fermentasi Ikan Louhan

pH merupakan tingkat keasaman pada suatu produk yang dipengaruhi oleh komponen penyusun produk tersebut. Data pengamatan dan analisis data pH kontrol dan fermentasi ikan louhan dengan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 8. pH yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. pH Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase dan Lama Waktu Fermentasi

Gambar 7 menunjukkan bahwa pH fermentasi ikan louhan dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH fermentasi ikan louhan dengan volume molase 100 mL memiliki nilai paling tinggi dan fermentasi ikan louhan dengan volume molase 200 mL memiliki nilai pH paling rendah. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi maka khamir akan berkembang semakin banyak sehingga menghasilkan produk sampingan metabolisme yang dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi. Lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH karena semakin lama fermentasi semakin banyak mikroorganisme yang aktif, sehingga menghasilkan asam yang lebih banyak. Asam yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan diekskresikan keluar sel sehingga terakumulasi dalam cairan fermentasi (Kunaepah, 2008).

4.2 Penelitian Utama

Berdasarkan penelitian pendahuluan didapatkan hasil bahwa proses pembuatan fermentasi ikan louhan dilakukan dengan penambahan volume molase sebanyak 100 mL, 150 mL dan 200 mL dan lama fermentasi yang digunakan yaitu 3, 6, 9, 12 dan 15 hari. Penambahan inokulan khamir laut fase

logaritmik sebanyak 10 mL. Fermentasi ikan louhan pada penelitian ini berbentuk pasta untuk mempermudah proses analisa dan penyimpanan produk. Melihat kemungkinan pemakaian protein hasil fermentasi ikan louhan sebagai suplemen pakan maka hasil penelitian pendahuluan tersebut digunakan untuk penelitian utama dan dilakukan analisis untuk menentukan kualitas protein hasil fermentasi yang meliputi rendemen, analisa proksimat, pH, kapasitas emulsi, daya buih dan total asam amino pada perlakuan terbaik.

4.2.1 Komposisi Kimia Ikan Louhan

Bahan baku dalam penelitian ini adalah ikan louhan segar. Bahan baku berasal dari Bendungan Sutami, Desa Kebun Kelopo, Kecamatan Sumber Pucung, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Bahan baku yang akan dianalisis harus melalui proses pengeringan terlebih dahulu. Pengeringan dapat dilakukan dengan cara pengeringan dengan sinar matahari atau pengeringan dengan oven pada suhu 60°C. Proses pengeringan tersebut dilakukan untuk menghindari terjadinya perubahan kimiawi pada sampel, seperti degradasi protein atau hilangnya kandungan yang akan dianalisis (Marlina, 1999). Analisis kimia dilakukan di bagian nutrisi dan makanan ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya untuk mengetahui kandungan gizi ikan louhan segar. Hasil analisis kimia ikan louhan segar dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Komposisi kimia ikan louhan

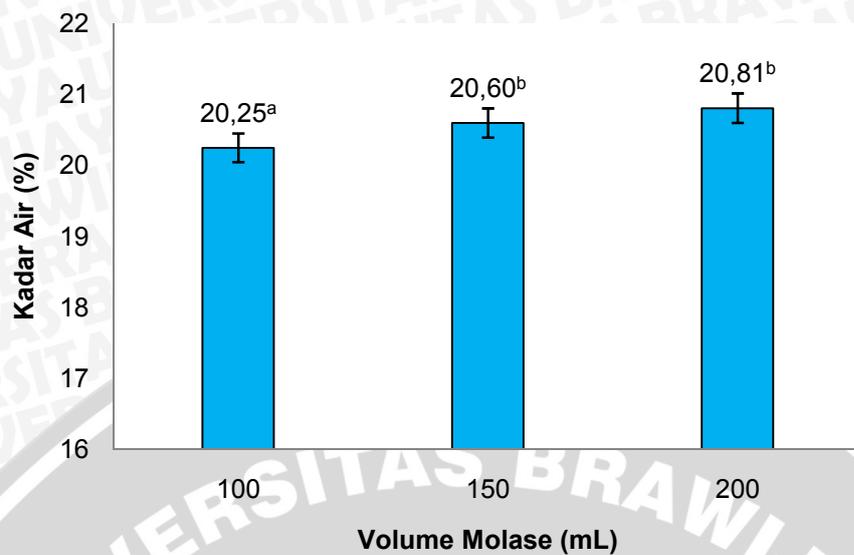
Parameter	Ikan Louhan Segar	Ikan Louhan Rebus
Kadar Air (%)	71,85	73,03
Kadar Abu (%)	7,029	6,828
Kadar Protein Kasar (%)	16,051	16,764
Kadar Lemak Kasar (%)	3,012	2,343
Serat Kasar (%)	0,253	0,218

Tabel 5 memperlihatkan komposisi kimia ikan louhan segar. Secara keseluruhan, komposisi kimia ikan louhan segar yang digunakan dalam sampel penelitian ini lebih rendah kadar proteinnya dibandingkan dengan ikan louhan rebus. Keragaman komposisi kimia ikan louhan dapat dipengaruhi oleh habitat, makanan, jenis kelamin dan umur ikan louhan itu sendiri.

4.2.2 Analisa Proksimat Fermentasi Ikan Louhan

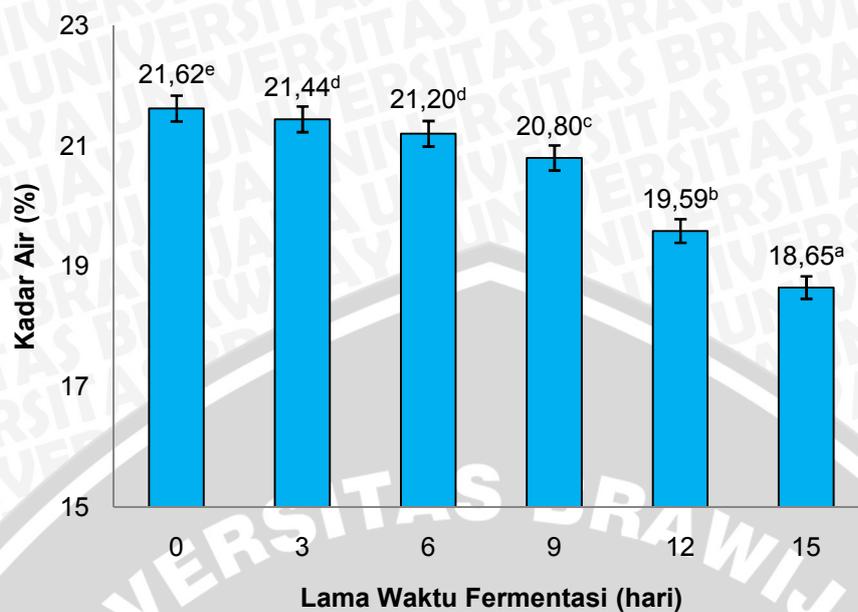
4.2.2.1 Kadar Air

Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar air pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar air pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata kadar air kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 8 dan Gambar 9.



Gambar 8. Rata-Rata Kadar Air Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 8 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kadar air pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena tingginya kadar air pada molase itu sendiri yaitu 17-25% dan adanya proses metabolisme khamir laut yang menghasilkan air (Yuniasari, 2009). Peningkatan jumlah molase dapat meningkatkan kadar air (Budy, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka semakin banyak cairan protein hasil fermentasi ikan louhan yang dihasilkan. Pada saat khamir laut menghidrolisis substrat maka khamir laut akan menghasilkan air dari proses metabolisme. Khamir laut memanfaatkan substrat berupa karbohidrat yang mudah terfermentasi sebagai sumber energi untuk tumbuh dan berkembang. Hasil perombakan karbohidrat yang mudah terfermentasi adalah gula-gula sederhana yang kemudian diubah menjadi energi dengan hasil sampingan berupa metabolit, alkohol, asam, CO₂ dan air (Rahmadi, 2003).

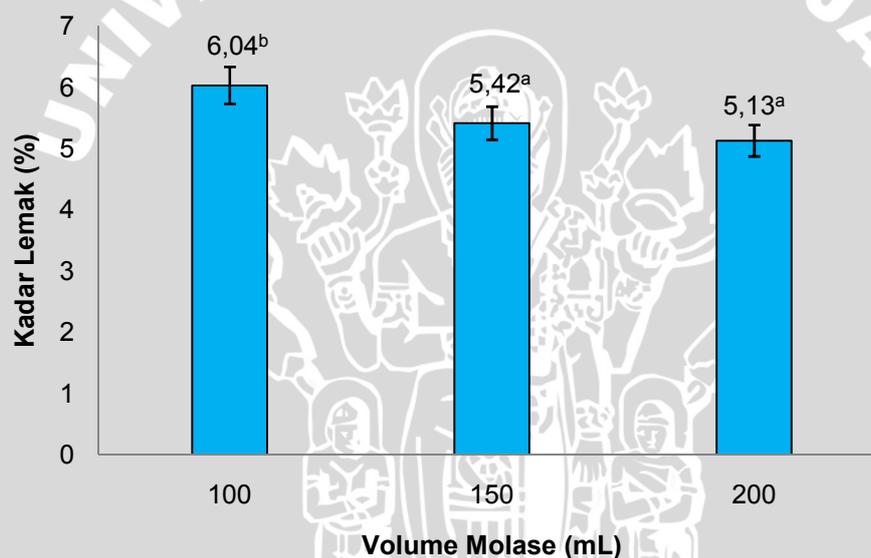


Gambar 9. Rata-Rata Kadar Air Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 9 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar air pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena selama hidrolisis akan menyebabkan semakin banyak molekul-molekul air yang dibebaskan. Semakin lama waktu fermentasi yang digunakan maka semakin rendah kadar air pada hidrolisat (Fathony, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis substrat ikan louhan oleh khamir laut menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga kemampuan untuk mengikat air berkurang. Selama proses hidrolisis menyebabkan menurunnya kemampuan bahan mempertahankan air karena kehilangan gugus hidroksil. Gugus hidroksil mempunyai kemampuan yang besar untuk mempertahankan air karena struktur gugus hidroksil yang mudah dimasuki air. Kehilangan gugus hidroksil menyebabkan semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan sehingga tekstur bahan menjadi lunak dan berair. Semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan akan menyebabkan air pada fermentasi ikan louhan akan mudah menguap selama pengeringan (Pusparani dan Sudarminto, 2014).

4.2.2.2 Kadar Lemak

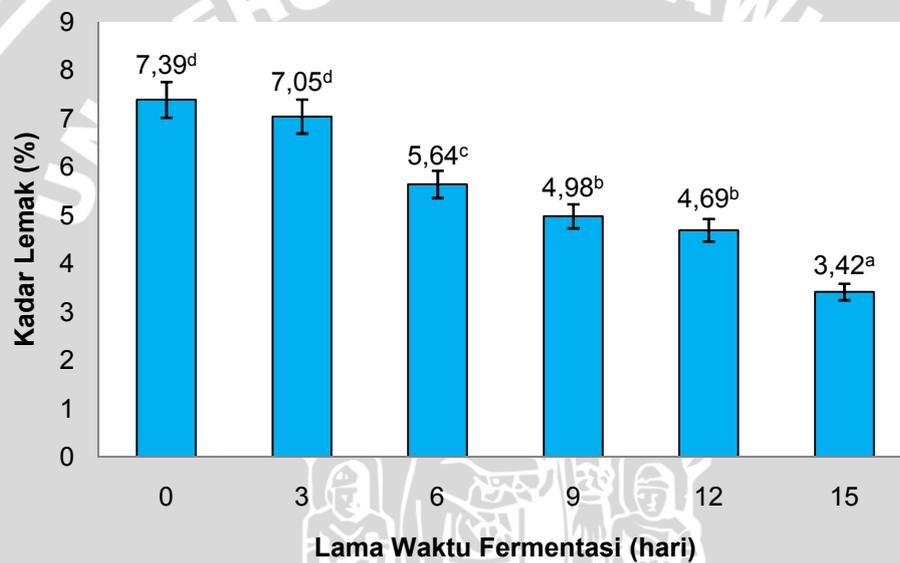
Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar lemak pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar lemak pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata kadar lemak kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 10 dan Gambar 11.



Gambar 10. Rata-Rata Kadar Lemak Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 10 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar lemak pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan biomassa khamir yang mengakibatkan produksi enzim lipase semakin banyak untuk merombak lemak. Peningkatan jumlah molase dapat menurunkan kadar lemak (Budy, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa khamir laut menghasilkan zat bioaktif termasuk lipase. Enzim lipase akan memecah lemak menjadi asam

lemak bebas dan gliserol (Bharathi *et al.*, 2011). Lemak yang sudah terdegradasi akan menjadi asam lemak rantai pendek yang mudah menguap sehingga menyebabkan kandungan lemak menurun (Susi, 2012). Selain itu, juga dimungkinkan karena kandungan proksimat berkaitan dengan kesetimbangan massa, dimana kadar air berbanding terbalik dengan kandungan lainnya (Winarso, 2003). Penambahan volume molase meningkatkan kadar air fermentasi ikan louhan sehingga dapat menurunkan kadar lemak fermentasi ikan louhan.



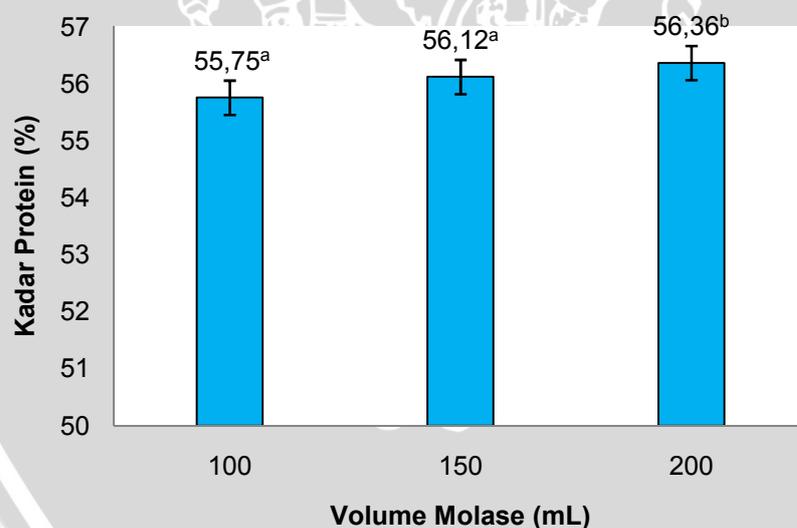
Gambar 11. Rata-Rata Kadar Lemak Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 11 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar lemak pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena meningkatkan aktivitas enzim lipase yang dihasilkan oleh khamir untuk merombak kandungan lemak substrat sebagai sumber energi bagi pertumbuhannya. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar lemak semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa kegiatan enzim lipolitik meningkat selama fermentasi yang menghidrolisis komponen lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Proses lipolitik akan menyebabkan terurainya lemak menjadi asam

lemak rantai pendek, karbonil dan senyawa volatil sebagai asam lemak bebas sehingga berkurangnya kadar lemak yang dihasilkan (Noviana *et al.*, 2012; Dwinaningsih, 2010; Supriyati *et al.*, 1998).

4.2.2.3 Kadar Protein

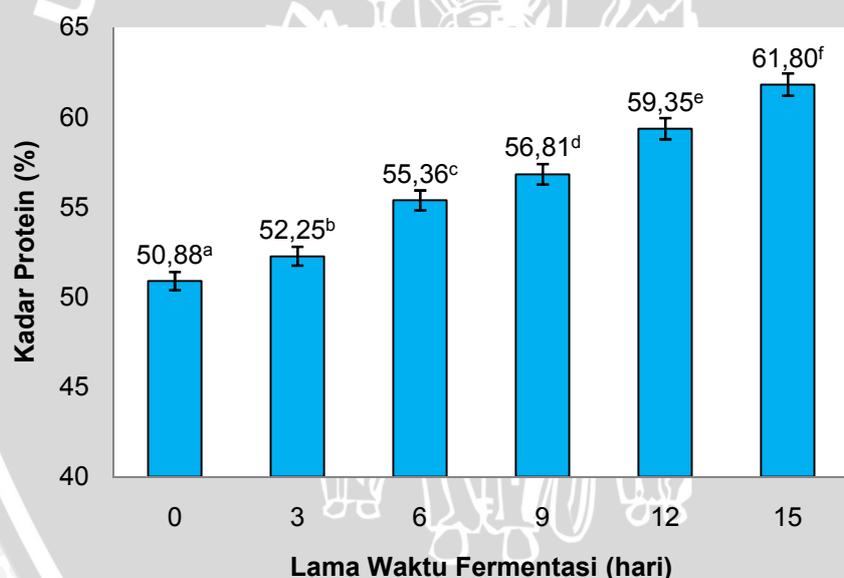
Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar protein pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar protein pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata kadar protein kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13.



Gambar 12. Rata-Rata Kadar Protein Pasta fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 12 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kadar protein pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan biomassa

khamir, dimana khamir laut merupakan penghasil protein sel tunggal. Selain itu, dimungkinkan karena adanya pemanfaatan molase sebagai substrat pertumbuhan khamir sehingga memicu mengeluarkan metabolit berupa enzim untuk menghidrolisis protein ikan louhan segar. Semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktivitas dari khamir laut semakin meningkat dan memicu mengeluarkan enzim yang lebih banyak. Khamir laut mengandung protein sebesar 28,29%. Khamir laut menghasilkan enzim antara lain proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase dan fosfatase. Proses hidrolisis dapat meningkatkan kadar protein karena terjadi pemecahan protein menjadi asam amino dan ikut terdeteksinya enzim karena enzim adalah protein (Febriani, 2010; Sukoso, 2012; Savitri, 2011).



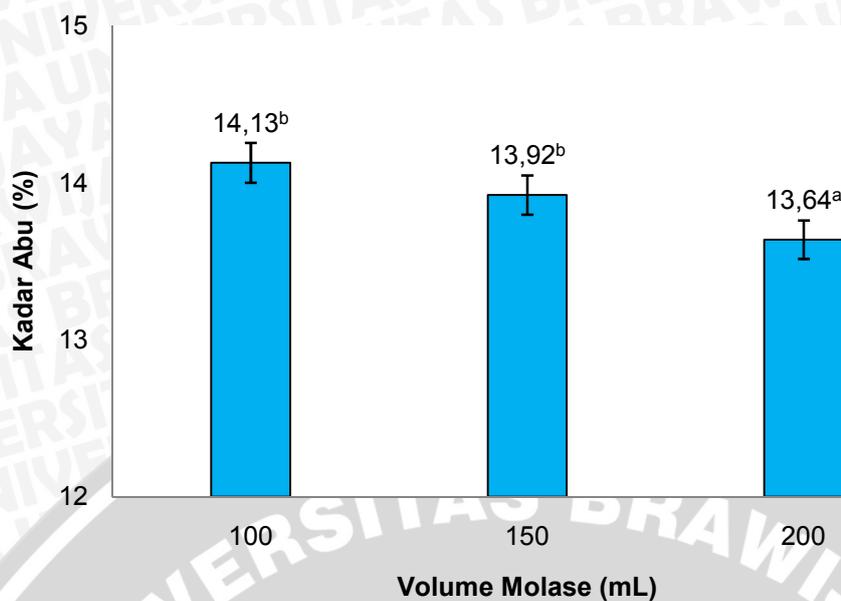
Gambar 13. Rata-Rata Kadar Protein Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 13 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat meningkatkan kadar protein pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena adanya hidrolisis protein pada substrat ikan louhan oleh enzim protease hasil metabolit khamir laut dan peningkatan jumlah sel-sel khamir laut dari hari ke

hari yang secara signifikan juga dapat meningkatkan kadar protein pada fermentasi ikan louhan. Proses hidrolisis dapat meningkatkan kadar protein karena terjadi pemecahan protein menjadi asam amino dan ikut terdeteksinya enzim karena enzim adalah protein. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar protein disebabkan karena adanya peningkatan biomassa khamir laut seiring dengan lama fermentasi. Selama proses fermentasi, mikroba akan mengeluarkan enzim-enzim yang tersusun dari protein dan mikroba sendiri dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (Savitri, 2011; Mangisah *et al.*, 2003).

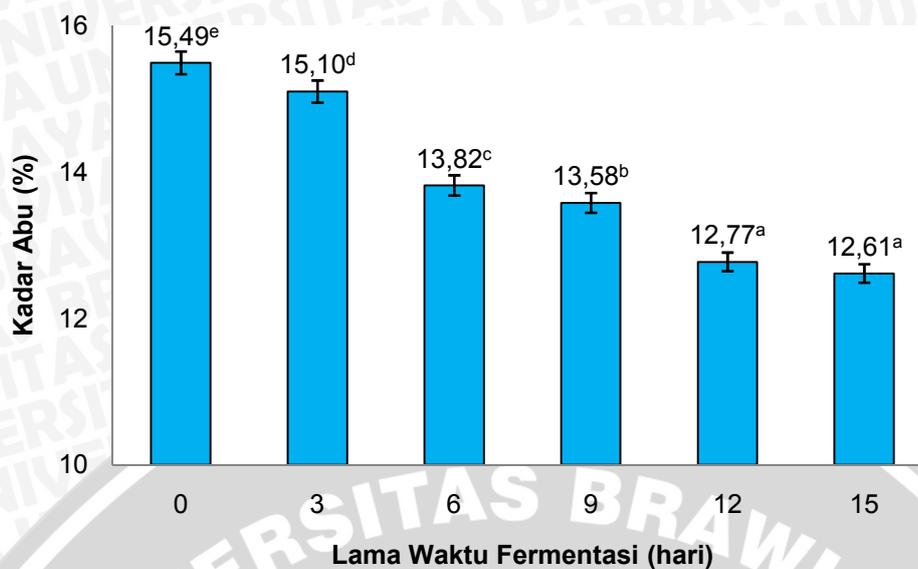
4.2.2.4 Kadar Abu

Data pengamatan dan analisis data kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar abu pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar abu pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata kadar abu kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14 dan Gambar 15.



Gambar 14. Rata-Rata Kadar Abu Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 14 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar abu pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena adanya pemanfaatan mineral pada substrat untuk pertumbuhan dan perkembangan khamir laut. Peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar abu (Husen, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa zat makanan utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen dan komponen mineral. Mineral merupakan salah satu pelengkap nutrisi bagi proses metabolisme mikroorganisme agar proses fermentasi berlangsung dengan baik (Budiman dan Sigit, 2009; Gunawan *et al.*, 2013).



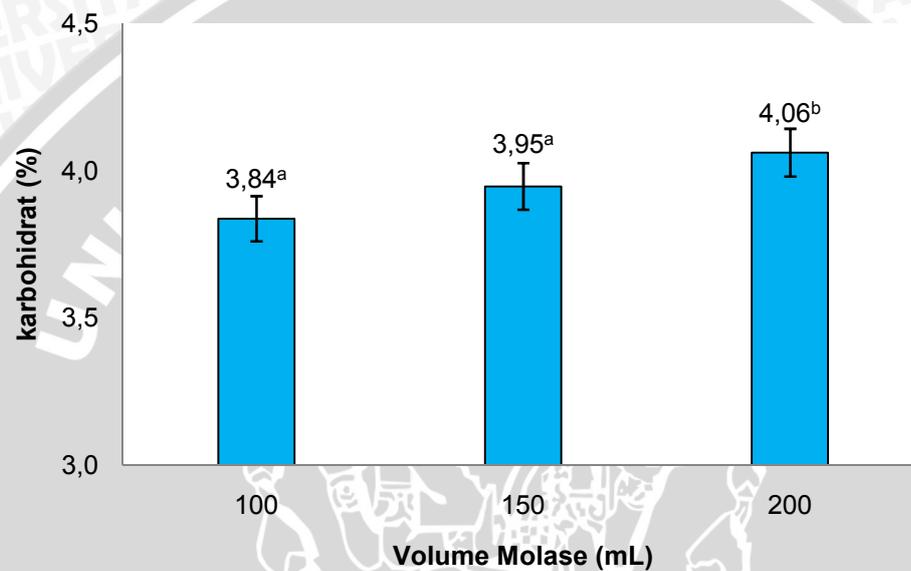
Gambar 15. Rata-Rata Kadar Abu Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 15 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar abu pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena kandungan bahan organik semakin bertambah dan penggunaan mineral untuk pertumbuhan khamir laut. Semakin lama fermentasi maka kadar abu akan mengalami penurunan (Budy, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa pada proses fermentasi akan terjadi peningkatan bahan organik karena adanya proses degradasi bahan (substrat) oleh mikroba, semakin sedikit bahan organik yang terdegradasi, maka relatif semakin sedikit juga terjadinya penurunan kadar abu secara proporsional, sebaliknya semakin banyak bahan organik yang terdegradasi maka relatif semakin banyak juga terjadinya penurunan kadar abu secara proporsional (Styawati *et al.*, 2014; Kurniati *et al.*, (2012).

4.2.2.5 Kadar Karbohidrat

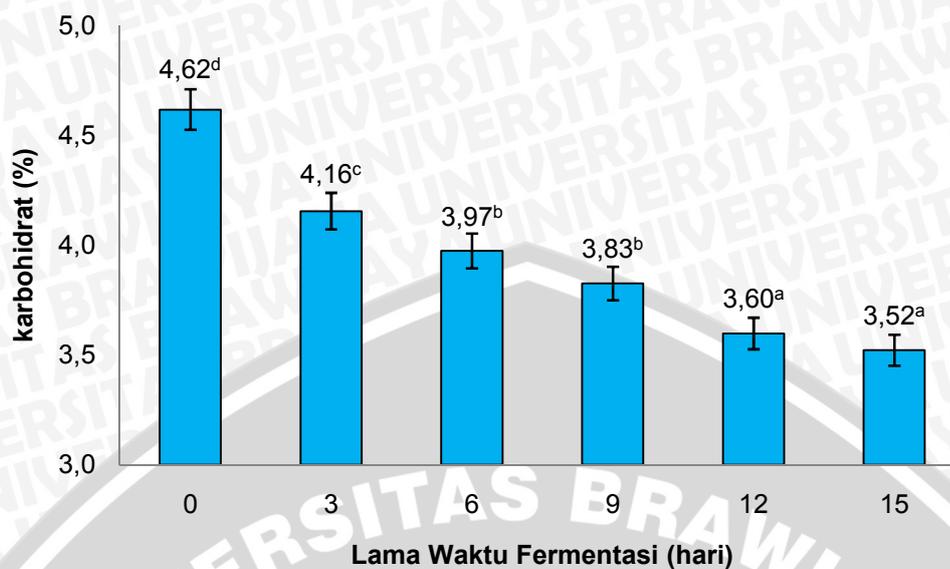
Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar karbohidrat pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat

pada Lampiran 15. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar karbohidrat pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata kadar karbohidrat kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 16 dan Gambar 17.



Gambar 16. Rata-Rata Kadar Karbohidrat Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 16 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan pasta kadar karbohidrat fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena kandungan karbohidrat pada molase itu sendiri. Molase mengandung 42 - 71% karbohidrat. Sehingga peningkatan volume molase akan diimbangi dengan peningkatan karbohidrat (Yuniasari, 2009).

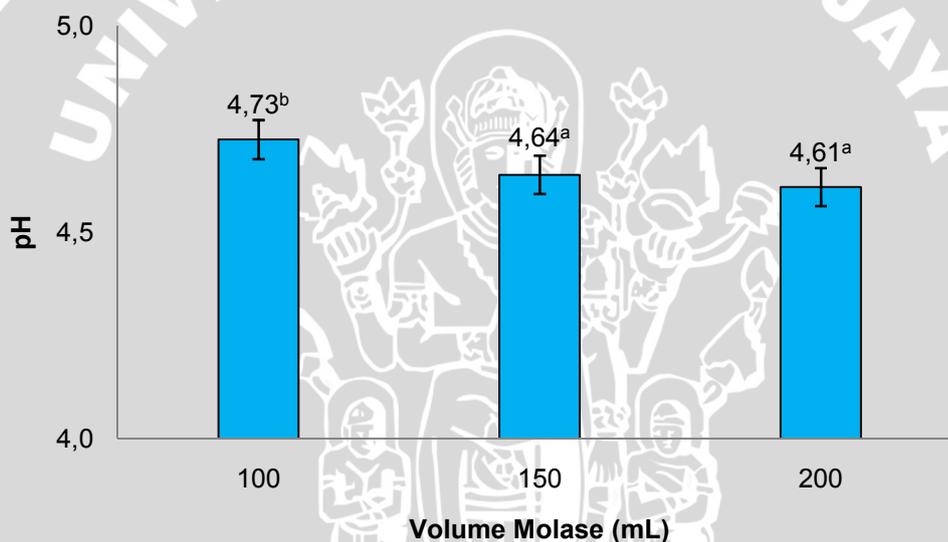


Gambar 17. Rata-Rata Kadar Karbohidrat Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 17 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar karbohidrat pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena molase merupakan sumber karbohidrat untuk pertumbuhan khamir laut. Khamir laut menggunakan enzim amilase untuk memecah karbohidrat menjadi gula sederhana sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan biomasa khamir laut. Kadar karbohidrat hidrolisat kupang putih menurun seiring lama fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa selama fermentasi terjadi pemecahan molase oleh khamir laut sebagai sumber energi dalam menghidrolisis substrat ikan louhan. Khamir laut memiliki berbagai enzim, salah satunya enzim amilase. Aktivitas enzim amilase inilah yang berperan dalam memecah karbohidrat menjadi senyawa lebih sederhana sehingga kadar karbohidrat akan mengalami penurunan (Savitri, 2011; Bharathi, 2011).

4.2.3 Analisa Derajat Keasaman (pH)

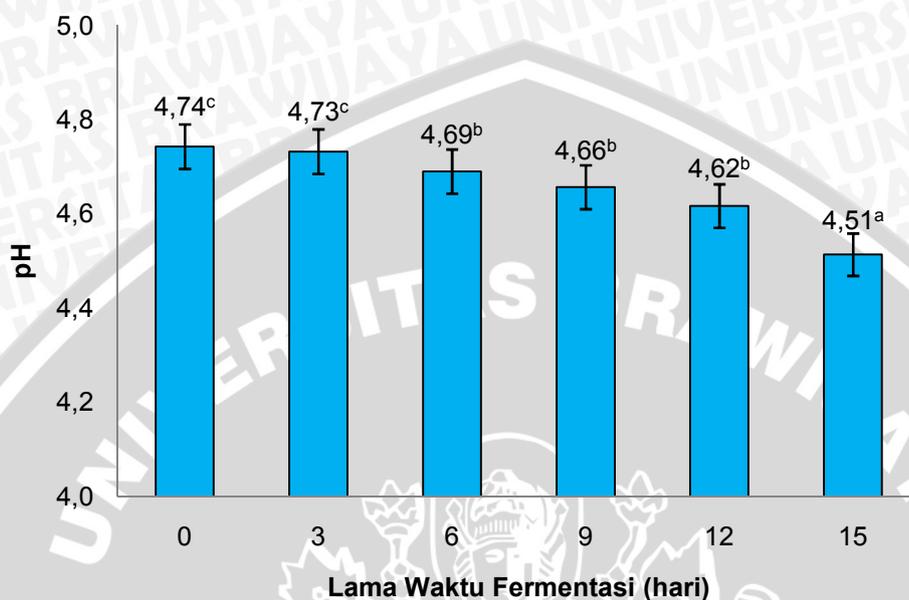
Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap pH pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata pH kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 18 dan Gambar 19.



Gambar 18. Rata-Rata pH Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 18 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan pH pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktivitas dari khamir laut untuk memecah komponen karbohidrat dari molase semakin meningkat. Terpecahnya komponen karbohidrat dari molase akan membentuk asam-asam yang mudah menguap, diantaranya asam asetat, asam piruvat dan asam laktat. semakin

banyak volume molase yang ditambahkan maka semakin rendah pH yang dihasilkan (Nurul *et al.*, 2013; Yunika, 2015).



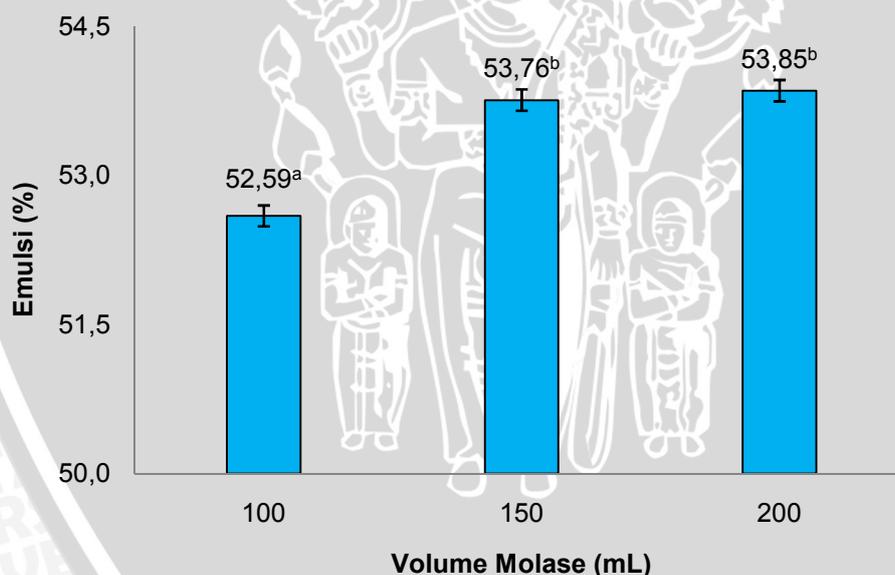
Gambar 19. Rata-Rata pH Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 19 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan pH pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena hasil dari produk fermentasi adalah asam. Semakin lama fermentasi maka semakin rendah pH yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa selama fermentasi berlangsung terdapat produk sampingan metabolisme khamir yang dikeluarkan kedalam larutan fermentasi. pH yang didapatkan berkisar antara 4-5 menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan cukup baik karena pertumbuhan khamir yang baik adalah antara 3-6. Selain itu, juga dimungkinkan karena aktivitas dari khamir laut semakin meningkat seiring lama fermentasi dan memicu mengeluarkan enzim yang lebih banyak. Enzim yang lebih banyak akan meningkatkan proses hidrolisis protein pada substrat menjadi peptida dan asam-

asam amino sehingga pH semakin menurun (Yunika, 2015; Savitri, 2011; Oktavia *et al.*, 2012; Simanjourang *et al.*, 2012).

4.2.4 Analisa Emulsi

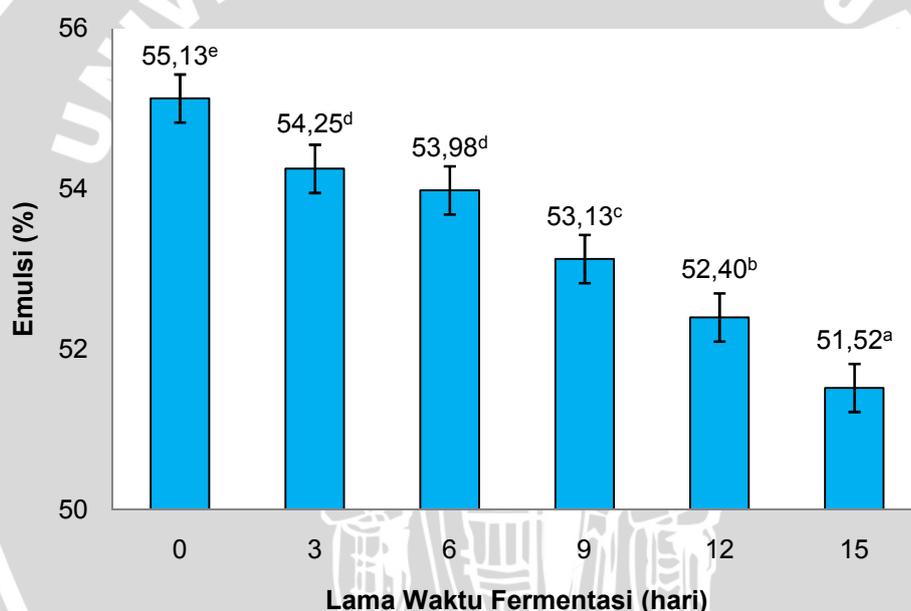
Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan emulsi pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap emulsi pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata emulsi kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 20 dan Gambar 21.



Gambar 20. Rata-Rata Emulsi Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 20 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kapasitas emulsi pasta fermentasi ikan louhan. Semakin banyak volume molase yang digunakan maka terjadi peningkatan kapasitas emulsi.

Semakin banyak volume molase yang ditambahkan akan menyediakan nutrisi yang semakin banyak untuk pertumbuhan khamir laut sehingga proses hidrolisis berjalan dengan optimal menghasilkan asam amino. Asam amino memiliki gugus polar (hidrofilik) dan gugus non polar (hidrofobik). Oleh karena itu, gugus polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus polar pada air dan gugus non polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus non polar pada minyak sehingga terbentuklah emulsi. Asam amino hasil hidrolisis sebagian akan diserap oleh minyak yang memicu terbentuknya emulsi pada hidrolisat protein (Budy, 2014; Husen, 2015; Koesoemawardani *et al.*, (2011).



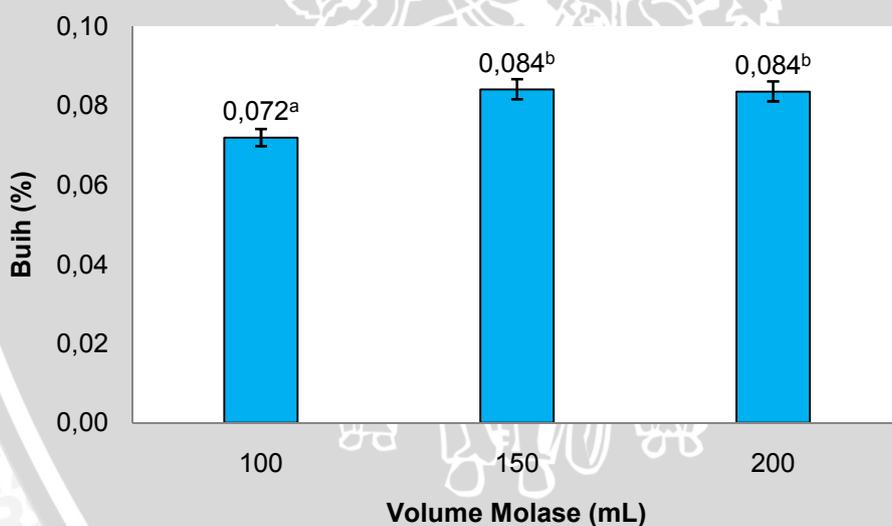
Gambar 21. Rata-Rata Emulsi Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 21 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kapasitas emulsi pasta fermentasi ikan louhan. Semakin lama fermentasi maka kapasitas emulsi semakin menurun. Kapasitas emulsi disebabkan karena kemampuan bahan dalam menyerap air dan minyak yang berkaitan dengan keseimbangan asam amino hidrofobik (yang dapat

berinteraksi dengan minyak) dan asam amino hidrofilik (yang dapat berinteraksi dengan air) (Fathony, 2014; McCarthy *et al.*, 2013).

4.2.5 Analisa Daya Buih

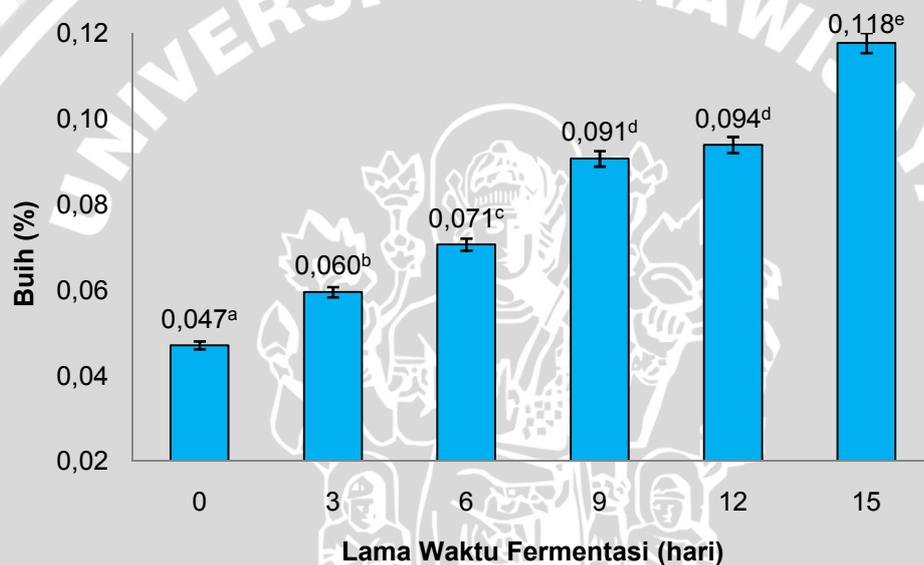
Data pengamatan dan analisis data daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan daya buih pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap daya buih pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata daya buih kontrol dan pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 22 dan Gambar 23.



Gambar 22. Rata-Rata Daya Buih Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 22 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan daya buih pasta fermentasi ikan louhan. Daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi. Hal ini dimungkinkan karena molase membantu menyediakan energi bagi khamir laut

dalam menghidrolisis protein. Protein yang terhidrolisis semakin banyak menyebabkan banyaknya asam amino hidrofobik yang terbentuk dan berpengaruh pada semakin banyaknya daya buih. Asam amino hidrofobik akan mengabsorpsi fase udara dan air sehingga terbentuk buih yang banyak. Terbentuknya buih diawali dengan terbukanya ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga rantai protein akan semakin panjang dan udara akan masuk diantara molekul-molekul yang terbuka dan bertahan disana sehingga volume buih meningkat (Husen, 2015; Budy, 2014; Chotimah, 2009).



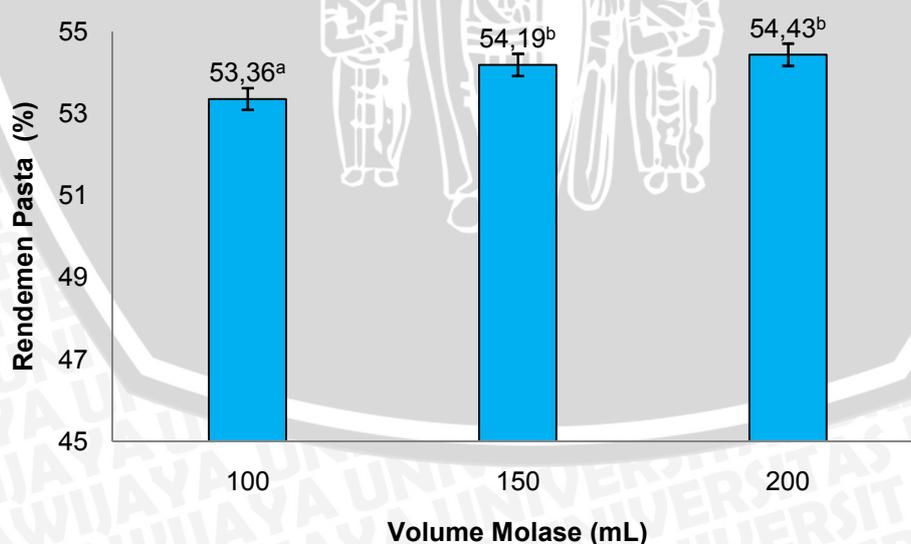
Gambar 23. Rata-Rata Daya Buih Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 23 memperlihatkan bahwa semakin lama fermentasi dapat meningkatkan daya buih pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena jumlah protein yang terhidrolisis semakin banyak dan terbentuk asam amino hidrofobik yang akan mengabsorpsi fase udara dan air sehingga terbentuk buih yang banyak. Penguraian protein yang semakin banyak memungkinkan lebih banyak udara yang akan dimasukkan diantara molekul-molekul protein. Pembentukan buih terdiri dari 3 tahap yaitu tahap pertama protein globular berdifusi ke dalam permukaan udara - air dan menurunkan

tegangan permukaan, tahap kedua terbentuknya lipatan protein pada permukaan, dan tahap ketiga interaksi polipeptida untuk membentuk film dengan denaturasi dan koagulasi parsial. Protein teradsorpsi pada permukaan dan membentuk film yang stabil mengelilingi buih dan membentuk buih. Protein dengan jenis hidrofobik rendah akan menunjukkan daya buih rendah, sedangkan protein dengan kelarutan rendah akan menunjukkan daya buih yang lebih baik (Amiza *et al.*, 2012; Yuniarto *et al.*, (2014).

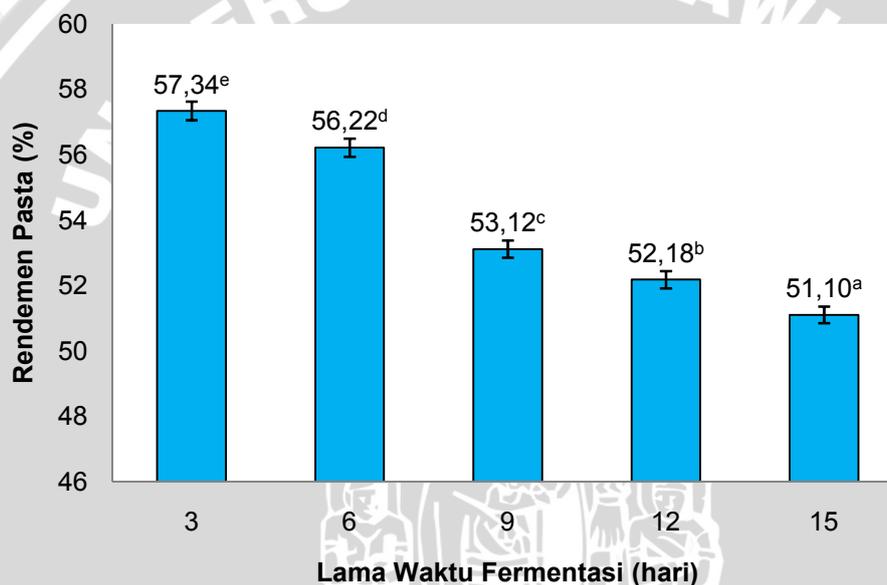
4.2.6 Rendemen Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Data pengamatan dan analisis data rendemen pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antar lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap rendemen pasta fermentasi ikan louhan. Rata-rata rendemen pasta fermentasi ikan louhan dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 24 dan Gambar 25.



Gambar 24. Rata-Rata Rendemen Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Volume Molase

Gambar 24 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan rendemen pasta fermentasi ikan louhan. Hal ini dimungkinkan karena semakin banyak substrat yang dihidrolisis maka rendemen yang dihasilkan juga semakin meningkat. Penambahan volume molase pada pembuatan hidrolisat protein dapat meningkatkan rendemen. Selama proses hidrolisis akan menyebabkan terlarutnya komponen gizi seperti protein, lemak, dan mineral yang dapat mempengaruhi besarnya rendemen produk hidrolisat yang dihasilkan (Husen, 2015; Shahidi *et al.*, 1994).



Gambar 25. Rata-Rata Rendemen Pasta Fermentasi Ikan Louhan Pada Berbagai Lama Waktu Fermentasi

Gambar 25 memperlihatkan bahwa rendemen pasta fermentasi ikan louhan mengalami penurunan hingga hari ke-15. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi menyebabkan semakin banyak senyawa volatil yang terbentuk. Aktivitas hidrolisis yang tinggi menyebabkan terurainya protein menjadi asam amino yang kemudian berubah menjadi H_2O , CO_2 dan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen (NH_3 , skatol, indol, kadaverin dan putresin). Semakin lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan

senyawa-senyawa volatil sehingga nilai rendemen cairan akan mengalami penurunan (Liawati, 1992).

4.2.7 Fermentasi Ikan Louhan Terbaik

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter fermentasi ikan louhan diperoleh hasil tertinggi yaitu pada lama fermentasi 15 hari dengan volume molase 150 mL. Hal ini ditinjau dari kandungan protein tertinggi yang diperoleh dari pasta fermentasi ikan louhan antar perlakuan. Hidrolisat terbaik dapat dilihat dari hasil kadar protein yang tertinggi (Purbasari, 2008). Protein merupakan salah satu unsur yang paling penting dalam produk fermentasi karena tujuan memproduksi produk hidrolisat adalah untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Tingkat mutu dari produk fermentasi sangat ditentukan dari kadar protein yang dikandung pada produk. Pemilihan produk fermentasi terbaik dapat ditinjau dari parameter seperti pH, emulsi dan daya buih (Amalia, 2007). Komposisi kimia dari hidrolisat protein ikan louhan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Komposisi Kimia Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Parameter	Pasta Fermentasi Ikan Louhan	Ikan Louhan
Kadar Air (%)	18,9182	71,85
Kadar Abu (%)	11,8578	7,029
Kadar Protein Kasar (%)	62,4143	16,051
Kadar Lemak Kasar (%)	2,9182	3,012
Kadar Karbohidrat (%)	3,8916	0,253
pH	4,5033	-
Emulsi (%)	52,3359	-
Daya Buih (%)	0,1272	-

Tabel 6 menunjukkan bahwa kandungan protein pasta fermentasi ikan louhan lebih tinggi dibandingkan dengan bahan baku awal. Hal ini menunjukkan terjadinya hidrolisis protein ikan louhan oleh enzim protease khamir laut dan biomasa khamir laut yang terus bertambah selama fermentasi. Konsentrasi

enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam produk fermentasi. Kenaikan kadar protein diperoleh dari aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh mikroba yang ada dalam proses fermentasi. Lamanya waktu fermentasi membuat populasi mikroba semakin meningkat, sehingga membuat kadar protein terlarut juga meningkat (Haslaniza *et al.*, 2010).

Kadar protein memiliki nilai yang berbanding terbalik dengan kadar air sehingga dalam perhitungannya menggunakan perbandingan berbalik nilai. Jika dilakukan perhitungan dengan perbandingan berbalik nilai kandungan protein fermentasi ikan louhan dengan kadar air 18,91% adalah 60,98%, nilai ini masih lebih rendah dibandingkan dengan nilai pada Tabel 6 yaitu 62,41%. Hal ini diduga karena selama proses fermentasi biomassa khamir laut terus meningkat sehingga dapat meningkatkan kadar protein pada produk akhir fermentasi.

4.2.8 Profil Asam Amino

Analisis asam amino ditujukan untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino yang terkandung dalam suatu produk. Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter fermentasi ikan louhan diperoleh perlakuan terbaik yaitu pada lama fermentasi 15 hari dengan volume 150 mL. Perlakuan terbaik fermentasi ikan louhan dianalisis profil asam aminonya. Analisis profil asam amino fermentasi ikan louhan dapat dilihat pada Lampiran 28. Kandungan asam amino fermentasi ikan louhan dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan lele dumbo, hidrolisat protein kepala vaname rebus, tepung ikan dan telur dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Profil Asam Amino Pasta Fermentasi Ikan Louhan

No.	Jenis Asam Amino (%)	Hasil Fermentasi Ikan Louhan	HPI Lele Dumbo ¹	HPI Vaname Rebus ²	Telur Ayam Ras ³	Tepung Ikan ⁴
Esensial						
1.	Lisin	1,16	5,23	3,21	0,42	2,82
2.	Leusin	0,98	3,55	0,72	0,60	3,99
3.	Isoleusin	0,52	1,97	0,54	0,28	2,37
4.	Valin	0,64	2,57	0,71	0,27	3,27
5.	Arginin	0,73	2,77	0,78	0,47	3,73
6.	Threonin	0,64	2,22	0,46	0,30	2,34
7.	Phenilalanin	0,47	2,02	0,45	0,40	2,37
8.	Metionin	0,31	0,98	0,19	0,12	0,99
9.	Histidin	0,23	1,68	0,26	0,14	0,78
Non Esensial						
10.	Glutamat	8,41	7,77	7,31	1,05	7,06
11.	Aspartat	2,01	5,98	1,97	0,87	4,41
12.	Alanin	1,62	2,93	1,42	0,47	3,12
13.	Glisin	1,13	4,85	0,70	0,27	3,83
14.	Prolin	0,87	-	1,18	0,28	3,93
15.	Tirosin	0,28	2,56	0,26	0,23	1,59
16.	Serin	0,63	2,61	0,44	0,48	3,75
17.	Sistin	0,01	-	-	-	0,63
	Total	20,65	49,69	20,6	6,63	48,64

Sumber: ¹Salamah *et al.*, (2012)

²Budy (2014)

³Heny (2002)

⁴Sitompul (2004)

Tabel 7 menunjukkan bahwa fermentasi ikan louhan memiliki 17 jenis asam amino yang terdiri dari 9 asam amino esensial dan 8 asam amino non esensial. Pada prinsipnya suatu protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam suatu komposisi yang hampir menyamai kebutuhan manusia merupakan protein yang bermutu tinggi. Kandungan asam amino yang dihasilkan lebih rendah jumlahnya dibandingkan dengan persen kadar protein yang dihasilkan. Hal tersebut dimungkinkan karena pada penelitian ini menggunakan metode Kjeldahl dalam mendeteksi protein pada sampel dimana prinsip metode Kjeldahl yaitu penerkaan jumlah protein secara empiris berdasarkan jumlah N di

dalam bahan. Metode Kjeldahl tidak hanya mendeteksi nitrogen dalam protein tetapi senyawa non-protein yang mengandung nitrogen akan terdeteksi pula (Legowo *et al.*, 2007).

Tabel 7 menunjukkan bahwa kadar asam amino pada fermentasi ikan louhan lebih rendah dibandingkan dengan kadar asam amino pada hidrolisat protein ikan lele dumbo dan tepung ikan. Hal ini diduga karena bahan baku yang digunakan berbeda dan protein yang terlarut pada fermentasi ikan louhan sebagian masih dalam bentuk peptida-peptida. Kemampuan enzim dalam menguraikan protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana mempengaruhi kandungan asam amino produk hidrolisat protein. Protein akan diuraikan menjadi peptida-peptida oleh enzim kemudian peptida diuraikan menjadi asam amino. Faktor-faktor seperti pH, suhu, konsentrasi enzim dapat mempengaruhi hidrolisis (Amalia, 2007).

Tabel 7 menunjukkan bahwa produk fermentasi ikan louhan mengandung asam amino non esensial tertinggi yaitu glutamat. Hal ini dimungkinkan karena dengan hidrolisis asam, glutamin akan terhidrolisa sempurna menjadi asam glutamat. Purbasari (2008) menyatakan bahwa asam glutamat merupakan asam amino nonesensial, berperan dalam menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan. Asam glutamat juga bermanfaat untuk membantu dalam meningkatkan massa otot (memperbesar otot). Asupan asam glutamat yang berlebihan (lebih dari 120 mg/kg berat badan) dapat menyebabkan kerusakan sistem syaraf sehingga dapat menimbulkan penyakit alzheimer dan amyotrophic lateral sclerosis. Hidayat (2005) menambahkan bahwa produk hidrolisat dapat digunakan sebagai penyedap karena memiliki kandungan asam glutamat yang tinggi. Produk hidrolisat dapat disertakan sebagai menu para penderita gangguan

pencernaan dengan memanfaatkan asam amino esensial yang terdapat di dalamnya.

Tabel 7 menunjukkan bahwa produk fermentasi ikan louhan mengandung asam amino esensial tertinggi yaitu lisin dan leusin. Fungsi leusin yaitu membantu meningkatkan produksi hormon pertumbuhan, mempercepat proses penyembuhan pada tulang, jaringan dan kulit (Razi, 2009). Amalia (2007) menambahkan bahwa sebagai bahan pangan, asam amino serin, glisin, alanin, threonin, sistein dan prolin memiliki rasa yang manis. Arginin, valin, leusin, isoleusin, phenilalanin, triptofan dan tirosin memiliki rasa pahit. Sementara lisin dan metionin memiliki rasa manis dan pahit. Rasa gurih disebabkan oleh asam glutamat.

Kikunae Ikeda seorang ahli kimia Jepang pada tahun 1909, mengisolasi asam glutamat dari rumput laut 'kombu' yang biasa digunakan dalam masakan Jepang, kemudian dia menemukan rasa lezat dan gurih dari MSG yang berbeda dengan rasa yang pernah dikenalnya, oleh karena itu, dia menyebut rasa itu dengan sebutan 'umami' yang berasal dari bahasa Jepang 'umai' yang berarti enak dan lezat, rasa umami ini dapat bertahan lama, di dalamnya terdapat suatu komponen L-glutamat dan 5-ribonukleotida. Rangsangan selera dari makanan yang diberi MSG disebabkan oleh kombinasi rasa yang khas dari efek sinergis MSG dengan komponen 5-ribonukleotida yang terdapat di dalam makanan, yang bekerja pada membran sel reseptor kecap atau lidah (Wakidi, 2012).

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian tentang pengaruh volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas protein hasil fermentasi ikan louhan adalah:

- Volume molase yang tepat untuk fermentasi ikan louhan adalah sebanyak 150 mL. Fermentasi ikan louhan berdasar berat kering mengandung kadar air 18,91%, kadar lemak 2,91%, kadar protein 62,41%, kadar abu 11,85%, kadar karbohidrat 3,89%, pH 4,50, kapasitas emulsi 52,33%, daya buih 0,12 %.
- Lama fermentasi yang tepat untuk fermentasi ikan louhan adalah selama 15 hari. Fermentasi ikan louhan mengandung 17 jenis asam amino, 9 asam amino esensial (lisin, leusin, isoleusin, valin, arginin, threonin, phenilalanin, metionin dan histidin) dan 8 asam amino non esensial (glutamat, aspartat, alanin, glisin, prolin, tirosin, serin, sistin) dengan total asam amino sebesar 20,65 %.

5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu untuk pembuatan fermentasi ikan louhan dapat menggunakan penambahan volume molase 150 mL dan lama fermentasi 15 hari dan perlu dilakukan pengujian asam lemak pada produk fermentasi ikan louhan. Produk hasil fermentasi dapat diaplikasikan sebagai pupuk tanaman, media pertumbuhan mikroorganisme atau menjadi pakan hewan ternak, namun perlu penelitian lebih lanjut mengenai tingkat keamanan hasil fermentasi untuk penggunaan pada produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, F. 2006. Penambahan Tepung Wortel dan Karagenan Untuk Meningkatkan Kadar Serat Pangan Pada Rengginang Cumi Nila (*Oreochromis niloticus*). Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Adams, M. R., dan M. J. R. Nout. 2001. Fermentation and Food Safety. Aspen Publishers, Inc. Maryland. 290 hlm.
- Ahmad, R.Z. 2005. Pemanfaatan Khamir Laut *Saccaromyces cerevisiae* untuk ternak. Jurnal penelitian dan pengembangan peternakan. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Amiza, M. A., Y. L. Kong, dan A. L Faazaz. 2012. Effect of Degree of Hydrolysis on Physicochemical Properties of Cobia (*Rachycentron canadum*) Frame Hydrolysate. International Food Research Journal. 19 (1): 199-206.
- Anggraeny, Y. N., dan U. Umiyasih. 2009. Pengaruh Fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kandungan Nutrisi dan Kecernaan Ampas Pati Aren (*Arenga pinnata Merr.*) Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Hlm. 256-262.
- Ariyani, F., M. Saleh, Tazwir, dan N. Hak. 2003. Optimasi Proses Produksi Hidrolisat Protein Ikan (HPI) dari Mujair (*Oreochromis mossambicus*). J.Pen. Perik. Indo. 9 (5): 11-21.
- Bharathi, S., D. Saravanan, M. Radhakrishnan, dan Balagurunathan, R. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Reference to Inulinase Production. International Journal of ChemTech Research. 3(3): 1514-1519.
- 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.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, dan M. Wootton. 1985. Ilmu Pangan. UI Press. Jakarta.
- Budiman, A., dan A. Sigit. 2009. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan

Media Jerami Padi. Artikel Penelitian. Fakultas Teknik Kimia. Universitas Diponegoro. Semarang.

Budy, D. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Rebus. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Burgaud, G., A. Danielle., D. Lucile., A.C. Marie., Bonavita, dan B. Georges. 2010. Marine Culturable Yeasts in Deep-Sea Hydrothermal Vents: Species Richness and Association with Fauna. FEMS Microbiology Ecology. 73 (1): 121-133.

Chayati dan Andian. 2008. Bahan Ajar Kimia Pangan. Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

Chotimah, S.C. 2009. Pengaruh Jenis Dan Level *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Albumen Terhadap Kadar Glukosa Dan Sifat Fisik Tepung Putih Telur. Jurnal Ilmu Peternakan. Volume 2 Nomor 2: 67-73

Desrosier, N. W. 1988. Teknologi Pengawetan Pangan. UI Press. Jakarta. 610 hlm.

Dwinaningsih, E. A. 2010. Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/ Beras dan Penambahan Angkak Serta Variasi Lama Fermentasi. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Fathony, A. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Febriani, M., Sukoso, dan A. W. Ekawati. 2001. Studi Khamir Laut sebagai Sumber Nutrisi Potensial untuk Pakan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). Thesis. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.

Febriani, M. 2006. Substitusi Protein Hewan Dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut Untuk Pakan Patin (*Pangasius sp.*) dan Kerapu Tikus (*Cromilaptes altivelis*). Jurnal Perikanan (*Journal of Fisher Science*). VIII((2): 169-176

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.

Gunawan, E. R., Dedi, S., dan Dhony, H. 2013. Optimalisasi Integrasi Sapi, Jagung, dan Rumput Laut (Pijar) Pada Teknologi Pengolahan Pakan Ternak Berbasis Limbah Pertanian Jagung – Rumput Laut Guna Mendukung Program Bumi Sejuta Sapi (BSS) di Nusa Tenggara Barat . *Buletin Peternakan.* 37(3): 157-164

Haslaniza, H., M.Y. Maskat, A.W.M. Wan, dan S. Mamot. 2010. The Effects of Enzyme Concentration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipitate from Cockle (*Anadara granosa*) Meat Wash Water. *International Food Research Journal.* 17: 147-152.

Haslina. 2012. Nilai Gizi dan Daya Cerna Protein Patilo sebagai Makanan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis niloticus*). *Prosiding Semnas FAI.* Hlm 252-256.

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

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

Husen, R. A. H. 2015. Pengaruh Penambahan Volume Molase Segar yang Berbeda Terhadap Karakteristik Hidrolisat Protein Kerang Hijau (*Perna viridis*) Selama Masa Fermentasi Dengan Starter Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Iriani, H. 2014. Pengaruh Volume Molase dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname Rebus (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eskperimen. Pelatihan Penulisan Artikel Ilmiah. LPMP Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. 13 hlm.

Johnson, A. H., and M. S. Peterson. 1974. *Encyclopedia of Food Technology.* Vol. II. The AVI Publ. Co. Inc. Westport.

Jumiyati., H.B. Siti, dan M. Ibnul. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi Di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Biosaintifika*. 4 (1):28-35.

Koesoemawardani, D., F. Nurainy, dan S. Widjaja. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Rucah. *Jurnal Nature Indonesia*. 13(3): 256-261

Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.

Kurniati, L. I., A. Nur, G. Setiyi, dan W. Tri. 2012. Pembuatan Mocaf (Modified Cassava Flour) dengan Proses Fermentasi Menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknik POMITS*. Volume 1, Nomor 1:1-6.

Kurniawan, L. Susi, dan H.R.J. Siti. 2012. Hidrolisis Protein Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp*) dengan Enzim Papain. *Jurnal Fish Technology*. 1(1): 41-54.

Kusmiati, A. Thontowi, dan S. Nuswantara. 2011. Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi α -Glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *J. Natur Indonesia*. 13 (2): 138-145.

Liawati. 1992. Mempelajari Pengaruh Perbedaan Perendaman dengan Mumbu Ekstrak dan Larutan Garam terhadap Daya Awet Cumi-Cumi (*Loligo edulis*) Asap. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

Legowo, A. M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. Analisis Pangan. Buku Ajar Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. 56 hlm.

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.

Mangisah, I., H.N. Maulana, dan S. Sri. 2003. Evaluasi Nilai Nutrisi Eceng Gondok Terfermentasi *Aspergillus niger* Sebagai Alternatif Pakan. Laporan Penelitian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi. Universitas Diponegoro. Semarang

Marlina, N. 1999. Konversi Data Hasil Analisis Proksimat Kedalam Bahan Segar. Lokakarya Fungsional Non Peneliti. Balai Penelitian Ternak. Bogor.

- McCarthy, A. L., C.O. Yvonne, dan M.O. Nora. 2013. Protein Hydrolysates from Agricultural Crops-Bioactivity and Potential for Functional Food Development. *Journal Agriculture*. Volume 3: 112-130.
- Murniyati, A. S., dan Sunarman. 2000. Pendinginan, Pembekuan dan Pengawetan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 220 hlm.
- Muzaifa, M., N. Safriani, dan F. Zakaria. 2012. Production of Protein Hydrolysates from Fish by-Product Prepared by Enzymatic Hydrolysis. *Int.J. Bioflux Society*. (5): 36-39.
- Nazir, M. 2005. Metode Penelitian. PT Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Noviana, Y., L. Susi, dan H.R.J. Siti. 2012. Karakteristik Kimia dan Mikrobiologi Silase Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) dengan Penambahan Asam Format dan Bakteri Asam Laktat 3B104. *Jurnal Fishtechology*. Volume 1, Nomor 1: 55-68
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Fermentor Air-Lift 18 Liter. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 69 hlm.
- Nurhayati, T., S. Ella., Cholifah, dan N. Roni. 2014. Optimasi Proses Pembuatan Hidrolisat Jeroan Ikan Kakap Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*. Volume 17 Nomor 1: 42-52.
- Nurul, A., M. Junus, dan M. Nasich. 2013. Pengaruh Penambahan Molase Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Padatan Lumpur Organik Unit Gas Bio. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang
- Oktavia, H. T., S. Sri, S. Endro. 2012. Pemanfaatan Limbah Air Cucian Beras Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Padat Secara Fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Artikel Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Pigot, G. M., and B. W. Tucker. 1990. Utility Fish Flesh Effectively While Maintaining Nutritional Qualities. *Sea Food Effect of Technology on Nutrition*. Marcel Decker Inc. New York.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor

- Pusparani, T dan S.Y. Sudarminto. 2014. Pengaruh Fermentasi Alami Pada Chips Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) Terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi jalar. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 2, Nomor 4: 137-147.
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganism Campuran terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *Journal Indonesia Tropical Animal Agriculture*. 28 (2): 90-94.
- Razi, M. A. 2009. Pemanfaatan Hidrolisat Protein Kerang Mas Ngur (*Atractodea striata*), Karagenan, Kitosan, dan Ekstrak *Pemphis acidula* pada Pembuatan Skin Lotion. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Riadi, L. 2013. *Teknologi Fermentasi Edisi 2*. Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Rieuwpassa, F. J., J. Santoso, dan W. Trilaksani. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Konsentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *J. Ilmu dan Tekn. Kel. Trop*. 5 (2): 299:309.
- Salamah, E., N. Tati., dan R.W. Indah. 2012. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Ezim Papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*. Volume 15 Nomor 1: 9-16.
- Sarlin, P. J., dan P. Rosamma. 2013. A Molasses Based Fermentation Medium for Marine Yeast Biomass Production. *International Journal of Research in Marine Sciences*. 2(2): 39-44.
- 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.
- Sevilla, C. G., J. A. Ochave, T. G. Punsalan, B. P. Regala, dan G. G. Uriarte. 2006. *Pengantar Metode Penelitian*. UI Press. Jakarta. 315 hlm.
- Shahidi, F. B. J. R. 1994. *Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie Academic and Professional. Glasgow.
- Simanjorang, E., K. Nia, dan H. Zahidah. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Volume 3, Nomor 4: 209-220
- Simanjuntak, R. 2009. Studi Pembuatan Etanol Dari Limbah Gula (Molase). Skripsi. Departemen Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret: Surakarta

Sitompul, S. 1997. Komposisi Asam-Asam Amino dari Biji-Bijian dan Kacang-Kacangan. Lokakarya Fungsional Non Peneliti. Balai Penelitian Ternak Ciawi. Bogor.

SNI 06-6989.11-2004. Air dan Air Limbah – Bagian 11: Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. Badan Standarisasi Nasional.

Standbury, P. F., dan A. Whitaker. 1984. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press. New York.

Styawati, N. E., Muhtarudin, dan Liman. 2014. Pengaruh Lama Fermentasi *Trametes sp.* Terhadap Kadar Bahan Kering, Kadar Abu, dan Kadar Serat Kasar Daun Nenas Varietas Smooth cayene. Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu. Volume 2 Nomor 1: 19-24.

Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty: Yogyakarta

Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya: Malang

Sulistyo, D. R. Arief, dan A. Nur. 2007. Pembuatan Nata dari Limbah Cair Tahu dengan Menggunakan Molases sebagai Sumber Karbon *Acetobacter xylinum*. Ekuilibrium. 6 (1): 1-5.

Supriyati, P.T., H. Hamid, dan Sinurat. 1998. Fermentasi Bungkil Inti Sawit Secara Substrat Padat dengan Menggunakan *Aspergillus niger*. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. Volume 3, Nomor 3:165-170.

Supriyono, T. 2008. Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total Dan Aktivitas "Merantas" Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter (*Lactobacillus bulgaricus* Dan *Candida kefir*) Dan Konsentrasi Glukosa. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Diponegoro.Semarang.

Susi. 2012. Komposisi Kimia dan Asam Amino pada Tempe Kacang Nagara (*Vigna unguiculata*). Jurnal Agroscentiae. Volume 19 Nomor 1: 28-36

Urano, N., M. Yamazaki, and R. Ueno. 2001. Distribution of Halotolerant and/or Fermentative Yeasts in Aquatic Environments. J. Tokyo University of Fisheries, 87: 23-29

Widyanti, R. 2009. Pengaruh Fermentasi Alami Chips terhadap Sifat Fisik Tepung ikan nila Terfermentasi. J. Pangan dan Agroindustri. 1 (1): 78-89.

Wijaningsih, W. 2008. Aktivitas anti Bakteri In Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Diponegoro: Semarang

Winarno, F. G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz. 1984. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Gramedia .Jakarta. 83 hlm.

Winarno, F.G. 2007. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta

Winarso, D. 2003. Perubahan Karakteristik Fisik akibat Perbedaan Umur, Macam Otot, Waktu, dan Temperatur Perebusan pada Daging Ayam Kampung. Jurnal Indonesia Tropical Animal Agriculture. 28 (3): 119-132.

Wiratno, E. N., T. Ardyati, dan A. K. Wardani. 2013. Pengaruh Gula Reduksi dan Total Nitrogen terhadap Densitas dan Viabilitas Sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam Fermentasi Etanol dari Molase. Universitas Brawijaya. Malang. Hlm. 6-9.

Witono, Y., A.S. Aulanni'am, dan B.W. Simon. 2007. Karakterisasi Hidrolisat Protein Kedelai Hasil Hidrolisis Menggunakan Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*). Berkala Penelitian Hayati. 13: 7–13.

Yunianto, W. T., E.R. Lilik., R. Djalal, dan U.A.A. Khothibul. 2014. Efek Pengeringan dengan Sinar Matahari dan Oven Terhadap Emulsifikasi, Daya Serap Minyak dan Daya Buih pada Konsentrat Protein Paru Sapi. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.

Yuniasari, D. 2009. Pengaruh Pemberian Bakteri Nitrifikasi dan Denitrifikasi serta Molase dengan C/N Rasio Berbeda terhadap Profil Kualitas Air, Kelangsungan Hidup, dan Pertumbuhan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Yunika, K. R. 2015. Pengaruh Lama Fermentasi dan Perbedaan Konsentrasi Molase Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Ikan Lele (*Clarias sp.*) Rebus. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

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

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan dalam Kultur Khamir Laut

Air laut = 1000 mL

Gula pasir 0,5%

$$= 0,005 \times 1000 \text{ mL} = 5 \text{ mL} = 5 \text{ cc} = 5 \text{ cm}^3 = 5 \text{ gram}$$

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

Pupuk daun 0,2%

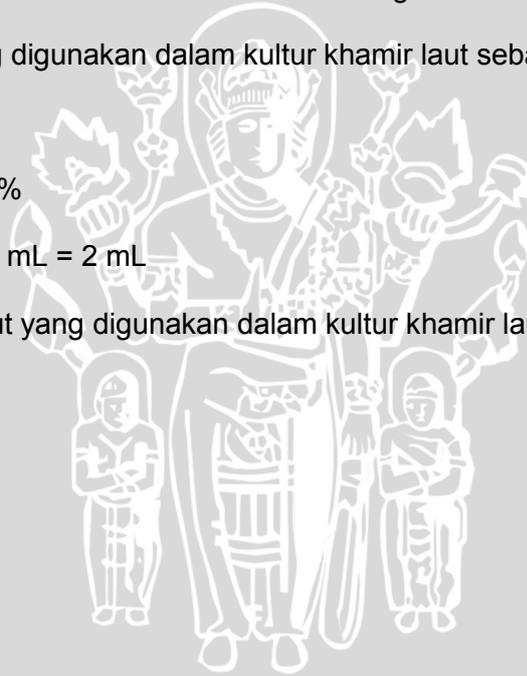
$$= 0,002 \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL} = 2 \text{ cc} = 2 \text{ cm}^3 = 2 \text{ gram}$$

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

Starter khamir laut 0,2%

$$= 0,002 \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL}$$

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



Lampiran 2. Perhitungan Komposisi Media Pengenceran Kultur Khamir

Laut

Air Laut = 50 mL

Gula pasir 0,25%

$$= 0,0025 \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

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

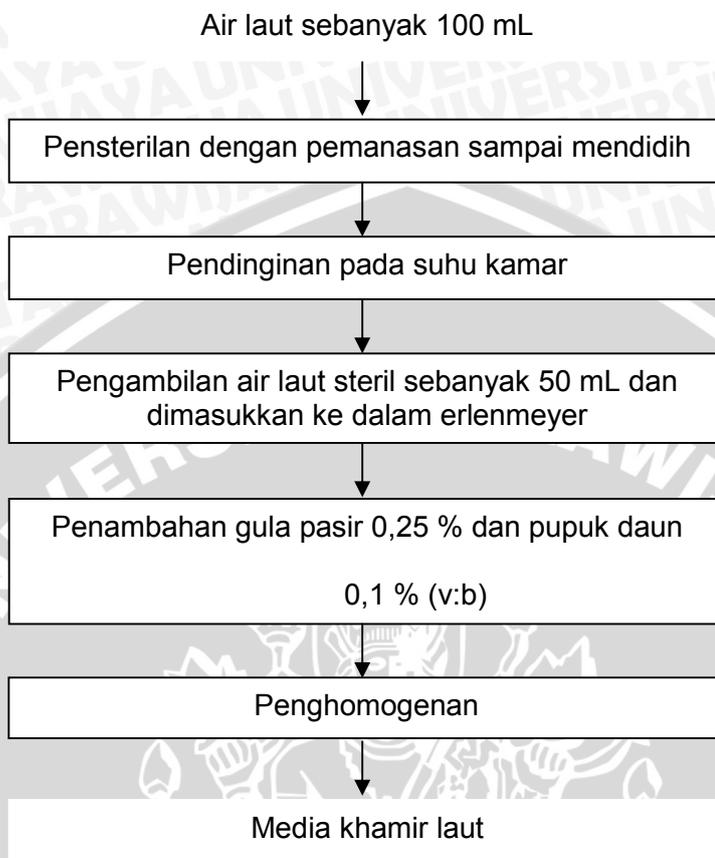
Pupuk daun 0,1%

$$= 0,001 \times 50 \text{ mL} = 0,05 \text{ mL} = 0,05 \text{ cc} = 0,05 \text{ cm}^3 = 0,05 \text{ gram}$$

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



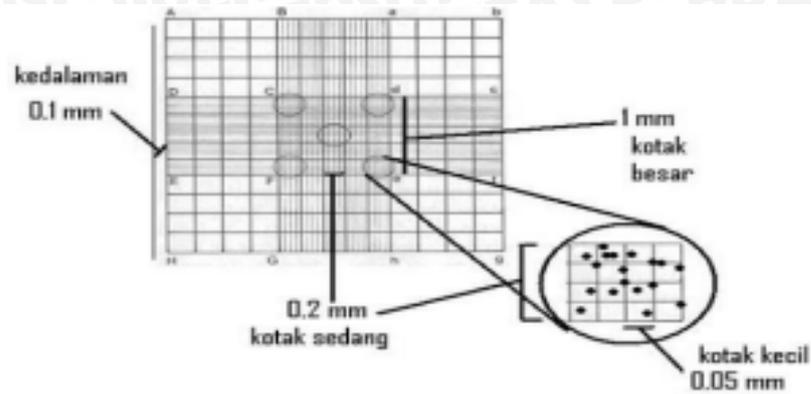
Lampiran 3. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut



Lampiran 4. Data Kepadatan Sel Khamir Laut

Kolom	Jam ke-													
	0	2	4	6	8	10	12	24	36	48	60	72	84	96
Pojok kanan atas	7	12	10	21	9	23	37	40	54	109	104	89	104	39
Pojok kanan bawah	8	13	17	6	25	18	26	28	32	88	105	101	94	46
Pojok kiri atas	17	12	11	19	9	30	34	36	167	69	92	184	93	42
Pojok kiri bawah	3	10	18	25	32	26	21	35	43	87	49	114	96	39
Tengah	5	8	14	21	16	28	26	42	36	108	130	48	82	47
Jumlah	40	55	70	92	91	125	144	181	332	461	480	536	469	213
Jumlah sel (kotak sedang)	8	11	14	18,4	18,2	25	28,8	36,2	66,4	92,2	96	107,2	93,8	42,6

Lampiran 5. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

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

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

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

Jadi, formula dalam menentukan jumlah sel yaitu:

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

Atau

$$\text{Jumlah sel/mL} = \text{jumlah sel} \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4$$

• Pengamatan jam ke- 0 = $2,3 \times 10^{11}$ sel/mL

Jumlah sel/LI = $8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$ Log sel/mL = 11,3627

= 2×10^{10} sel/mL

Log sel/mL = 10,3010

• Pengamatan jam ke- 60

Jumlah sel/mL = $96 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$

= $2,4 \times 10^{11}$ sel/mL

• Pengamatan jam ke- 12

Jumlah sel/m = $28,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$ Log sel/mL = 11,3802

= $7,2 \times 10^{10}$ sel/mL

Log sel/mL = 10,8573

• Pengamatan jam ke- 72

Jumlah sel/mL = $107,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$

= $2,7 \times 10^{11}$ sel/mL

• Pengamatan jam ke- 24

Jumlah sel/mL = $36,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$ Log sel/mL = 11,4281

= $9,1 \times 10^{10}$ sel/mL

Log sel/mL = 10,9566

• Pengamatan jam ke- 84

Jumlah sel/mL = $93,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$

= $2,3 \times 10^{11}$ sel/mL

• Pengamatan jam ke- 36

Jumlah sel/mL = $66,4 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$ Log sel/mL = 11,3701

= $1,7 \times 10^{11}$ sel/mL

Log sel/mL = 11,2201

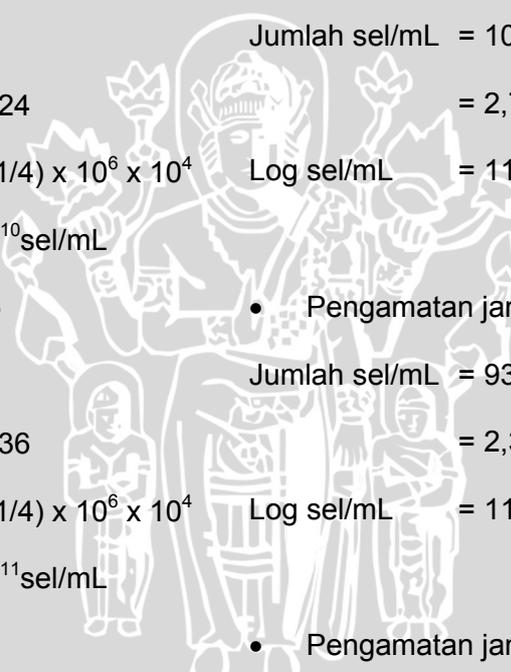
• Pengamatan jam ke- 96

Jumlah sel/mL = $42,6 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$

= $1,1 \times 10^{11}$ sel/mL

• Pengamatan jam ke- 48

Jumlah sel/mL = $92,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4$ Log sel/mL = 11,0273



Lampiran 6. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan

• **Penelitian Pendahuluan**

Percobaan Pertama dilaksanakan pada tanggal 3 Maret 2015.

Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan dengan sampel sebanyak 50 gram, khamir 10 mL dan molase sebanyak 2,5 mL, 5 mL dan 7,5 mL.

KETERANGAN

FOTO

PENELITIAN

HPI dengan penambahan molase 2,5 mL

- Fermentasi bertahan hingga hari ke-1
- Berwarna coklat pucat
- Bau agak busuk



HPI dengan penambahan molase 5 mL

- Fermentasi bertahan hingga hari ke-1
- Berwarna coklat pucat
- Bau agak busuk



HPI dengan penambahan molase 7,5 mL

- Fermentasi bertahan hingga hari ke-1
- Berwarna coklat pucat
- Bau agak busuk



- **Penelitian Pendahuluan**

Percobaan Kedua dilaksanakan pada tanggal 11 Maret 2015. Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan dengan sampel sebanyak 50 gram, khamir 10 mL dan molase sebanyak 50 mL, 100 mL dan 150 mL.

KETERANGAN	FOTO
PENELITIAN	
HPI dengan penambahan molase 50 mL	
<ul style="list-style-type: none"> • Fermentasi bertahan hingga hari ke-7 • Berwarna coklat • Bau Fermentasi 	
HPI dengan penambahan molase 100 mL	
<ul style="list-style-type: none"> • Fermentasi bertahan hingga hari ke-12 • Berwarna coklat kehitaman • Bau Fermentasi 	
HPI dengan penambahan molase 150 mL	
<ul style="list-style-type: none"> • Fermentasi bertahan hingga hari ke-12 • Berwarna coklat kehitaman • Bau Fermentasi 	

- **Penelitian Pendahuluan**

Percobaan Ketiga dilaksanakan pada tanggal 25 Maret 2015. Pembuatan Fermentasi Ikan Louhan dengan sampel sebanyak 50 gram, khamir 10 mL dan molase sebanyak 100 mL, 150 mL dan 250 mL.

KETERANGAN

FOTO

PENELITIAN

HPI dengan penambahan molase 100 mL

- Fermentasi bertahan hingga hari ke-15
- Berwarna coklat kehitaman
- Bau Fermentasi



HPI dengan penambahan molase 150 mL

- Fermentasi bertahan hingga hari ke-15
- Berwarna coklat kehitaman
- Bau Fermentasi



HPI dengan penambahan molase 200 mL

- Fermentasi bertahan hingga hari ke-15
- Berwarna coklat kehitaman
- Bau Fermentasi



Lampiran 7. Data Pengamatan Rendemen Fermentasi Ikan Louhan Pada Penelitian Pendahuluan

Perlakuan				
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Rndemen Cairan
3 Hari	100 mL	168,19	147,1609	87,4968
	150 mL	225,51	202,1332	89,6338
	200 mL	278,07	255,5154	91,8889
6 Hari	100 mL	167,81	143,0634	85,2532
	150 mL	225,70	198,4750	87,9375
	200 mL	279,23	250,3800	89,6680
9 Hari	100 mL	169,96	137,6317	80,9789
	150 mL	227,68	184,7730	81,1547
	200 mL	287,32	245,8376	85,5623
12 Hari	100 mL	172,89	133,6539	77,3057
	150 mL	229,58	181,7814	79,1800
	200 mL	286,84	234,8433	81,8726
15 Hari	100 mL	173,19	121,7683	70,3091
	150 mL	227,06	170,6667	75,1637
	200 mL	285,42	230,1204	80,6252



Lampiran 8. Data Pengamatan pH Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Volume Molase	Hasil pH
		Campuran (Filtrat dan Residu)
0	100 mL	4,93
	150 mL	4,74
	200 mL	4,56
3	100 mL	4,94
	150 mL	4,78
	200 mL	4,61
6	100 mL	5,04
	150 mL	4,79
	200 mL	4,61
9	100 mL	5,05
	150 mL	4,89
	200 mL	4,66
12	100 mL	5,05
	150 mL	4,73
	200 mL	4,11
15	100 mL	4,16
	150 mL	3,89
	200 mL	3,76

Lampiran 9. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Fermentasi Ikan Louhan

Perlakuan			Hasil Analisis								
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Rendemen Cairan (%)	Rendemen Pasta (%)	Kadar Air (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Karbohidrat (%)	pH	Kapasitas Emulsi (%)	Daya Buih (%)
0 Hari (Kontrol)	100 mL			22,1683	6,1687	15,4562	50,8013	5,4055	4,8400	54,3080	0,04342
	150 mL			22,2345	6,2347	15,4424	50,9925	5,0959	4,7333	55,4545	0,04835
	200 mL			22,1410	6,1408	15,4391	50,4348	5,8443	4,6550	55,6156	0,04952
3 Hari	100 mL	87,4968	56,7706	21,6284	5,6282	15,3569	51,8450	5,5415	4,8167	53,5652	0,05191
	150 mL	89,6338	57,5501	22,0066	6,0066	14,0903	52,3321	5,5644	4,7133	54,4758	0,06170
	200 mL	91,8889	57,7117	21,3820	5,3813	14,1653	53,5722	5,4992	4,6667	54,7098	0,06495
6 Hari	100 mL	85,2532	55,6426	21,3077	5,3076	14,0462	54,7200	4,6186	4,7633	53,2354	0,05832
	150 mL	87,9375	56,1705	21,2847	5,2847	13,9176	54,8608	4,6522	4,6700	54,2606	0,07579
	200 mL	89,6680	56,8429	21,0772	5,0772	13,4845	55,6219	4,7392	4,6367	54,4519	0,07767
9 Hari	100 mL	80,9789	52,7051	21,0114	5,0113	13,4047	56,0498	4,5228	4,7300	52,5632	0,08425
	150 mL	81,1547	53,2612	20,7113	4,7124	13,5923	56,3595	4,6245	4,6333	53,3377	0,09478
	200 mL	85,5623	53,3819	20,7186	4,7190	13,5353	56,3398	4,6873	4,6067	53,4773	0,09293
12 Hari	100 mL	77,3057	51,2450	19,5577	3,5573	13,0358	59,3753	4,4739	4,6900	51,4073	0,08700
	150 mL	79,1800	52,4933	18,7484	4,7479	12,8238	59,3043	4,3756	4,5867	52,6821	0,09709
	200 mL	81,8726	52,8011	19,3916	4,3922	12,4539	59,1938	4,5684	4,5733	53,1082	0,09759
15 Hari	100 mL	70,3091	50,4132	18,4458	3,4457	12,8690	60,9365	4,3029	4,5133	50,4705	0,10680
	150 mL	75,1637	51,4326	18,9182	2,9182	11,8578	62,4143	3,8916	4,5033	52,3359	0,12725
	200 mL	80,6252	51,4656	19,2152	3,2156	12,5432	60,7471	4,2790	4,5233	51,7550	0,11894

Lampiran 10. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
3 Hari	100 mL	56,6075	56,9541	56,7502	170,3118	56,7706	0,1742
	150 mL	57,3800	57,5481	57,7222	172,6504	57,5501	0,1711
	200 mL	57,4474	57,8562	57,8316	173,1352	57,7117	0,2293
6 Hari	100 mL	55,7605	55,5246	55,6429	166,9279	55,6426	0,1179
	150 mL	56,2371	56,1061	56,1684	168,5116	56,1705	0,0656
	200 mL	56,7636	56,9213	56,8439	170,5288	56,8429	0,0788
9 Hari	100 mL	52,8517	52,5660	52,6975	158,1152	52,7051	0,1430
	150 mL	53,6081	53,2470	52,9285	159,7837	53,2612	0,3400
	200 mL	53,4273	53,0763	53,6421	160,1457	53,3819	0,2856
12 Hari	100 mL	51,1799	51,5183	51,0369	153,7350	51,2450	0,2472
	150 mL	52,5338	52,1219	52,8242	157,4798	52,4933	0,3529
	200 mL	52,6843	52,9163	52,8026	158,4032	52,8011	0,1160
15 Hari	100 mL	50,1004	50,7216	50,4178	151,2397	50,4132	0,3106
	150 mL	51,3151	51,5499	51,4329	154,2979	51,4326	0,1174
	200 mL	51,7460	51,0183	51,6326	154,3969	51,4656	0,3915

PERLAKUAN	KELOMPOK					TOTAL
	3	6	9	12	15	
100 mL	170,31	166,93	158,12	153,74	151,24	800,33
150 mL	172,65	168,51	159,78	157,48	154,40	812,82
200 mL	173,14	170,53	160,15	158,40	154,30	816,51
Total	516,10	505,97	478,04	469,62	459,93	2429,66

FK	131183,58
JK TOTAL	269,62
JK PERLAKUAN	9,59
JK KELOMPOK	257,29
JK GALAT	2,74

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	4	257,292	64,323	892,071	2,619	3,858
PERLAKUAN	2	9,589	4,794	66,493	3,245	5,211
GALAT	38	2,740	0,072			
TOTAL	44	269,621				

PERLAKUAN	KELOMPOK					TOTAL	RERATA	ST. DEV
	3	6	9	12	15			
100 mL	56,77	55,64	52,71	51,25	50,41	266,78	53,36	2,76
150 mL	57,55	56,17	53,26	52,49	51,47	270,94	54,19	2,57
200 mL	57,71	56,84	53,38	52,80	51,43	272,17	54,43	2,71
Total	172,03	168,66	159,35	156,54	153,31	809,89		
Rerata	57,34	56,22	53,12	52,18	51,10			
ST.DEV	0,50	0,60	0,36	0,82	0,60			

NILAI t tabel	2,02
BNT 5%	0,44

Perlakuan	Rataan	100 mL	150 mL	200 mL	notasi
100 mL	53,36	0,00			a
150 mL	54,19	0,83	0,00		b
200 mL	54,43	1,08	0,25	0,00	b

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	notasi
15	51,10	0,00					a
12	52,18	1,08	0,00				b
9	53,12	2,01	0,94	0,00			c
6	56,22	5,11	4,04	3,10	0,00		d
3	57,34	6,24	5,16	4,23	1,13	0,00	e

Lampiran 11. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Perlakuan	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	22,1126	22,2245	22,1678	66,5049	22,1683	0,0560
	150 mL	22,1480	22,3211	22,2345	66,7035	22,2345	0,0865
	200 mL	22,2432	22,0386	22,1411	66,4230	22,1410	0,1023
3 Hari	100 mL	21,7477	21,5087	21,6288	64,8852	21,6284	0,1195
	150 mL	22,0620	21,9511	22,0067	66,0198	22,0066	0,0555
	200 mL	21,5341	21,2289	21,3829	64,1460	21,3820	0,1526
6 Hari	100 mL	21,4076	21,2076	21,3078	63,9231	21,3077	0,1000
	150 mL	21,2148	21,3547	21,2847	63,8542	21,2847	0,0699
	200 mL	21,1498	21,0047	21,0772	63,2317	21,0772	0,0726
9 Hari	100 mL	20,9541	21,0686	21,0115	63,0342	21,0114	0,0572
	150 mL	20,5393	20,8832	20,7114	62,1339	20,7113	0,1719
	200 mL	20,8276	20,6099	20,7185	62,1559	20,7186	0,1088
12 Hari	100 mL	19,6869	19,4275	19,5587	58,6731	19,5577	0,1297
	150 mL	18,8622	18,6342	18,7488	56,2453	18,7484	0,1140
	200 mL	19,3104	19,4741	19,3903	58,1749	19,3916	0,0819
15 Hari	100 mL	18,3397	18,5519	18,4458	55,3374	18,4458	0,1061
	150 mL	18,8017	19,0348	18,9182	56,7547	18,9182	0,1166
	200 mL	19,1802	19,2501	19,2152	57,6455	19,2152	0,0350

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	63,90	63,29	62,55	61,62	57,77	55,34	364,47
150 mL	64,96	64,52	63,65	62,13	58,75	56,75	370,77
200 mL	65,74	65,19	64,63	63,46	59,77	55,75	374,54
TOTAL	194,61	193,00	190,83	187,21	176,29	167,84	1109,78

FK	22807,65
JK TOTAL	67,32
JK PERLAKUAN	2,875
JK KELOMPOK	62,83
JK GALAT	1,61

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	62,834	12,567	358,544	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	2,875	1,438	41,017	3,200	5,099
GALAT	46	1,612	0,035			
TOTAL	53	67,322				

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL	RERAT A	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	21,30	21,10	20,85	20,54	19,26	18,45	121,49	20,25	1,14
150 mL	21,65	21,51	21,22	20,71	19,58	18,92	123,59	20,60	1,11
200 mL	21,91	21,73	21,54	21,15	19,92	18,58	124,85	20,81	1,30
Total	64,87	64,33	63,61	62,40	58,76	55,95	369,93		
Rerata	21,62	21,44	21,20	20,80	19,59	18,65			
ST.DEV	0,31	0,32	0,35	0,32	0,33	0,24			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,31

Perlakuan	Rataan	A	B	C	notasi
100 mL	20,25	0,00			a
150 mL	20,60	0,35	0,00		b
200 mL	20,81	0,56	0,21	0,00	c

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	0	notasi
15	18,65	0,00						a
12	19,59	0,94	0,00					b
9	20,80	2,15	1,21	0,00				c
6	21,20	2,55	1,62	0,40	0,00			d
3	21,44	2,80	1,86	0,64	0,24	0,00		d
0	21,62	2,97	2,03	0,82	0,42	0,18	0,00	e

Lampiran 12. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	6,2245	6,1126	6,1689	18,5060	6,1687	0,0559
	150 mL	6,3211	6,1480	6,2349	18,7040	6,2347	0,0866
	200 mL	6,0386	6,2432	6,1406	18,4224	6,1408	0,1023
3 Hari	100 mL	5,5087	5,7477	5,6282	16,8846	5,6282	0,1195
	150 mL	5,9511	6,0620	6,0066	18,0197	6,0066	0,0554
	200 mL	5,2289	5,5341	5,3809	16,1439	5,3813	0,1526
6 Hari	100 mL	5,2076	5,4076	5,3074	15,9227	5,3076	0,1000
	150 mL	5,3547	5,2148	5,2846	15,8541	5,2847	0,0700
	200 mL	5,0047	5,1498	5,0771	15,2316	5,0772	0,0725
9 Hari	100 mL	5,0686	4,9541	5,0113	15,0340	5,0113	0,0572
	150 mL	4,8832	4,5393	4,7148	14,1373	4,7124	0,1720
	200 mL	4,6099	4,8276	4,7193	14,1569	4,7190	0,1089
12 Hari	100 mL	3,4275	3,6869	3,5575	10,6719	3,5573	0,1297
	150 mL	4,6342	4,8622	4,7474	14,2438	4,7479	0,1140
	200 mL	4,4741	4,3104	4,3921	13,1766	4,3922	0,0819
15 Hari	100 mL	3,5519	3,3397	3,4454	10,3371	3,4457	0,1061
	150 mL	3,0348	2,8017	2,9180	8,7545	2,9182	0,1166
	200 mL	3,2510	3,1801	3,2157	9,6468	3,2156	0,0355

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	23,81	22,75	18,79	17,33	14,82	11,14	108,64
150 mL	21,70	21,42	16,75	14,14	14,24	9,25	97,51
200 mL	21,02	19,24	15,23	13,36	13,18	10,35	92,38
TOTAL	66,53	63,42	50,78	44,83	42,24	30,74	298,54

FK	1650,44
JK TOTAL	112,18
JK PERLAKUAN	7,68
JK KELOMPOK	101,29
JK GALAT	3,21

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	101,288	20,258	290,679	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	7,682	3,841	55,118	3,200	5,099
GALAT	46	3,206	0,070			
TOTAL	53	112,176				

PERLAKUAN	KELOMPOK						Total	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	7,94	7,58	6,26	5,78	4,94	3,71	36,21	6,04	1,60
150 mL	7,23	7,14	5,58	4,71	4,75	3,08	32,50	5,42	1,59
200 mL	7,01	6,41	5,08	4,45	4,39	3,45	30,79	5,13	1,34
Total	22,18	21,14	16,93	14,94	14,08	10,25	99,51		
Rerata	7,39	7,05	5,64	4,98	4,69	3,42			
ST.DEV	0,48	0,59	0,60	0,70	0,28	0,32			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,43

Perlakuan	Rataan	200 mL	150 mL	100 mL	notasi
200 mL	5,13	0,00			a
150 mL	5,42	0,29	0,00		a
100 mL	6,04	0,90	0,62	0,00	b

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	0	notasi
15	3,42	0,00						a
12	4,69	1,28	0,00					b
9	4,98	1,57	0,29	0,00				b
6	5,64	2,23	0,95	0,66	0,00			c
3	7,05	3,63	2,35	2,07	1,40	0,00		d
0	7,39	3,98	2,70	2,41	1,75	0,35	0,00	d

Lampiran 13. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	15,3793	15,5333	15,45611	46,3687	15,4562	0,0770
	150 mL	15,2229	15,6605	15,44392	46,3273	15,4424	0,2188
	200 mL	15,5979	15,2799	15,43948	46,3173	15,4391	0,1590
3 Hari	100 mL	15,5319	15,1801	15,35874	46,0707	15,3569	0,1759
	150 mL	13,9342	14,2467	14,09002	42,2709	14,0903	0,1563
	200 mL	14,0094	14,3233	14,16306	42,4958	14,1653	0,1570
6 Hari	100 mL	13,9273	14,1651	14,04602	42,1385	14,0462	0,1189
	150 mL	13,8104	14,0246	13,91786	41,7529	13,9176	0,1071
	200 mL	13,5090	13,4599	13,48448	40,4534	13,4845	0,0245
9 Hari	100 mL	13,1519	13,6577	13,40455	40,2141	13,4047	0,2529
	150 mL	13,4337	13,7492	13,59396	40,7769	13,5923	0,1578
	200 mL	13,6046	13,4661	13,53525	40,6059	13,5353	0,0692
12 Hari	100 mL	13,2505	12,8206	13,03637	39,1075	13,0358	0,2149
	150 mL	12,9624	12,6842	12,82458	38,4713	12,8238	0,1391
	200 mL	12,3072	12,6015	12,45307	37,3618	12,4539	0,1471
15 Hari	100 mL	12,9156	12,8224	12,86911	38,6071	12,8690	0,0466
	150 mL	11,9017	11,8137	11,85782	35,5733	11,8578	0,0440
	200 mL	12,7122	12,3737	12,54357	37,6295	12,5432	0,1692

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	47,03	46,07	42,14	41,31	39,11	38,61	254,27
150 mL	46,47	45,43	41,75	40,78	38,47	37,67	250,58
200 mL	45,92	44,40	40,45	40,11	37,36	37,23	245,46
TOTAL	139,42	135,90	124,34	122,20	114,94	113,51	750,30

FK	10425,14
JK TOTAL	66,21
JK PERLAKUAN	2,17
JK KELOMPOK	63,12
JK GALAT	0,92

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	63,117	12,623	632,689	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	2,171	1,085	54,396	3,200	5,099
GALAT	46	0,918	0,020			
TOTAL	53	66,205				

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	15,68	15,36	14,05	13,77	13,04	12,87	84,76	14,13	1,17
150 mL	15,49	15,14	13,92	13,59	12,82	12,56	83,53	13,92	1,19
200 mL	15,31	14,80	13,48	13,37	12,45	12,41	81,82	13,64	1,19
TOTAL	46,47	45,30	41,45	40,73	38,31	37,84	250,10		
Rerata	15,49	15,10	13,82	13,58	12,77	12,61			
ST.DEV	0,19	0,28	0,29	0,20	0,29	0,23			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,23

Perlakuan	Rataan	200 mL	150 mL	100 mL	notasi
200 mL	13,64	0,00			a
150 mL	13,92	0,28	0,00		b
100 mL	14,13	0,49	0,20	0,00	b

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	0	notasi
15	12,61	0,00						a
12	12,77	0,16	0,00					a
9	13,58	0,97	0,81	0,00				b
6	13,82	1,20	1,04	0,24	0,00			c
3	15,10	2,49	2,33	1,52	1,28	0,00		d
0	15,49	2,88	2,72	1,91	1,67	0,39	0,00	e

Lampiran 14. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	50,8375	50,7650	50,8013	152,4038	50,8013	0,0363
	150 mL	51,1515	50,8335	50,9925	152,9776	50,9925	0,1590
	200 mL	50,3208	50,5489	50,4348	151,3045	50,4348	0,1141
3 Hari	100 mL	51,7358	51,9542	51,8450	155,5349	51,8450	0,1092
	150 mL	52,5467	52,1175	52,3321	156,9963	52,3321	0,2146
	200 mL	53,7020	53,4424	53,5722	160,7166	53,5722	0,1298
6 Hari	100 mL	54,6346	54,8055	54,7200	164,1601	54,7200	0,0855
	150 mL	54,9427	54,7788	54,8608	164,5823	54,8608	0,0819
	200 mL	55,4860	55,7578	55,6219	166,8657	55,6219	0,1359
9 Hari	100 mL	56,1204	55,9792	56,0498	168,1494	56,0498	0,0706
	150 mL	56,2559	56,4631	56,3595	169,0786	56,3595	0,1036
	200 mL	56,1445	56,5351	56,3398	169,0194	56,3398	0,1953
12 Hari	100 mL	59,0148	59,7357	59,3753	178,1258	59,3753	0,3605
	150 mL	58,9531	59,6556	59,3043	177,9130	59,3043	0,3512
	200 mL	59,2447	59,1429	59,1938	177,5815	59,1938	0,0509
15 Hari	100 mL	60,6430	61,2300	60,9365	182,8096	60,9365	0,2935
	150 mL	62,2949	62,5337	62,4143	187,2429	62,4143	0,1194
	200 mL	60,3689	61,1252	60,7471	182,2412	60,7471	0,3781

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	151,90	155,53	164,87	168,58	177,86	184,81	1003,56
150 mL	152,78	156,20	165,89	171,34	177,81	186,09	1010,10
200 mL	153,20	158,56	167,53	171,42	178,48	185,32	1014,52
TOTAL	457,89	470,29	498,28	511,33	534,15	556,23	3028,17

FK	169811,66
JK TOTAL	783,85
JK PERLAKUAN	3,38
JK KELOMPOK	775,87
JK GALAT	4,61

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	775,866	155,173	1548,790	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	3,378	1,689	16,857	3,200	5,099
GALAT	46	4,609	0,100			
TOTAL	53	783,853				

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	50,63	51,84	54,96	56,19	59,29	61,60	334,52	55,75	4,22
150 mL	50,93	52,07	55,30	57,11	59,27	62,03	336,70	56,12	4,24
200 mL	51,07	52,85	55,84	57,14	59,49	61,77	338,17	56,36	4,01
Total	152,63	156,76	166,09	170,44	178,05	185,41	1009,39		
Rerata	50,88	52,25	55,36	56,81	59,35	61,80			
ST.DEV	0,22	0,53	0,45	0,54	0,13	0,22			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,52

Perlakuan	Rataan	100 mL	200 mL	150 mL	notasi
100 mL	55,75	0,00			a
150 mL	56,12	0,36	0,00		a
200 mL	56,36	0,61	0,25	0,00	b

Kelompok	Rataan	0	3	6	9	12	15	notasi
0	50,88	0,00						a
3	52,25	1,38	0,00					b
6	55,36	4,49	3,11	0,00				c
9	56,81	5,94	4,56	1,45	0,00			d
12	59,35	8,47	7,10	3,98	2,53	0,00		e
15	61,80	10,93	9,55	6,44	4,99	2,45	0,00	f

Lampiran 15. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Perlakuan Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	5,4461	5,3645	5,4059	16,2165	5,4055	0,0408
	150 mL	5,1565	5,0370	5,0941	15,2876	5,0959	0,0598
	200 mL	5,7995	5,8894	5,8440	17,5329	5,8443	0,0450
3 Hari	100 mL	5,4759	5,6093	5,5393	16,6245	5,5415	0,0667
	150 mL	5,5060	5,6227	5,5646	16,6933	5,5644	0,0584
	200 mL	5,5256	5,4712	5,5009	16,4977	5,4992	0,0272
6 Hari	100 mL	4,8229	4,4141	4,6187	13,8557	4,6186	0,2044
	150 mL	4,6774	4,6271	4,6521	13,9566	4,6522	0,0252
	200 mL	4,8505	4,6278	4,7393	14,2176	4,7392	0,1114
9 Hari	100 mL	4,7050	4,3405	4,5228	13,5683	4,5228	0,1823
	150 mL	4,8879	4,3652	4,6203	13,8734	4,6245	0,2614
	200 mL	4,8134	4,5613	4,6872	14,0618	4,6873	0,1261
12 Hari	100 mL	4,6204	4,3292	4,4721	13,4217	4,4739	0,1456
	150 mL	4,5881	4,1637	4,3748	13,1267	4,3756	0,2122
	200 mL	4,6635	4,4710	4,5707	13,7052	4,5684	0,0962
15 Hari	100 mL	4,5498	4,0559	4,3032	12,9088	4,3029	0,2469
	150 mL	3,9669	3,8161	3,8917	11,6747	3,8916	0,0754
	200 mL	4,4877	4,0708	4,2785	12,8370	4,2790	0,2084

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	13,36	12,35	11,65	11,15	10,44	10,11	69,06
150 mL	14,08	12,43	11,95	11,61	10,73	10,22	71,04
200 mL	14,12	12,61	12,16	11,66	11,20	11,36	73,10
TOTAL	41,56	37,40	35,76	34,43	32,38	31,69	213,21

FK	841,79
JK TOTAL	8,51
JK PERLAKUAN	0,45
JK KELOMPOK	7,31
JK GALAT	0,74

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	7,311	1,462	90,428	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	0,454	0,227	14,026	3,200	5,099
GALAT	46	0,744	0,016			

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	4,45	4,12	3,88	3,72	3,48	3,37	23,02	3,84	0,41
150 mL	4,69	4,14	3,98	3,87	3,58	3,41	23,68	3,95	0,45
200 mL	4,71	4,20	4,05	3,89	3,73	3,79	24,37	4,06	0,36
Total	13,85	12,47	11,92	11,48	10,79	10,56	71,07		
Rerata	4,62	4,16	3,97	3,83	3,60	3,52			
ST.DEV	0,14	0,04	0,08	0,09	0,13	0,23			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,21

Perlakuan	Rataan	100 mL	150 mL	200 mL	notasi
100 mL	3,84	0,00			a
150 mL	3,95	0,11	0,00		a
200 mL	4,06	0,22	0,11	0,00	b

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	0	notasi
15	3,52	0,00						a
12	3,60	0,08	0,00					a
9	3,83	0,30	0,23	0,00				b
6	3,97	0,45	0,38	0,15	0,00			b
3	4,16	0,63	0,56	0,33	0,18	0,00		c
0	4,62	1,10	1,02	0,79	0,64	0,46	0,00	d

Lampiran 16. Data Pengamatan dan Analisis Data pH Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	4,95	4,73	4,84	14,5200	4,8400	0,1100
	150 mL	4,66	4,86	4,68	14,2000	4,7333	0,1102
	200 mL	4,70	4,61	4,66	13,9650	4,6550	0,0450
3 Hari	100 mL	4,90	4,71	4,84	14,4500	4,8167	0,0971
	150 mL	4,65	4,84	4,65	14,1400	4,7133	0,1097
	200 mL	4,71	4,64	4,65	14,0000	4,6667	0,0379
6 Hari	100 mL	4,83	4,66	4,80	14,2900	4,7633	0,0907
	150 mL	4,62	4,77	4,62	14,0100	4,6700	0,0866
	200 mL	4,68	4,62	4,61	13,9100	4,6367	0,0379
9 Hari	100 mL	4,80	4,63	4,76	14,1900	4,7300	0,0889
	150 mL	4,60	4,73	4,57	13,9000	4,6333	0,0850
	200 mL	4,65	4,59	4,58	13,8200	4,6067	0,0379
12 Hari	100 mL	4,77	4,58	4,72	14,0700	4,6900	0,0985
	150 mL	4,56	4,68	4,52	13,7600	4,5867	0,0833
	200 mL	4,61	4,56	4,55	13,7200	4,5733	0,0321
15 Hari	100 mL	4,54	4,48	4,52	13,5400	4,5133	0,0306
	150 mL	4,48	4,56	4,47	13,5100	4,5033	0,0493
	200 mL	4,56	4,51	4,50	13,5700	4,5233	0,0321

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	14,52	14,45	14,29	14,19	14,07	13,54	85,06
150 mL	14,20	14,14	14,01	13,90	13,76	13,51	83,52
200 mL	13,97	14,00	13,91	13,82	13,72	13,57	82,99
TOTAL	42,69	42,59	42,21	41,91	41,55	40,62	251,57

FK	1171,94
JK TOTAL	0,70
JK PERLAKUAN	0,13
JK KELOMPOK	0,33
JK GALAT	0,24

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	0,327	0,065	12,324	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	0,129	0,064	12,143	3,200	5,099
GALAT	46	0,244	0,005			
TOTL	53	0,700				

PERLAKUAN	KELOMPOK						Total	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	4,84	4,82	4,76	4,73	4,69	4,51	28,35	4,73	0,12
150 mL	4,73	4,71	4,67	4,63	4,59	4,50	27,84	4,64	0,09
200 mL	4,66	4,67	4,64	4,61	4,57	4,52	27,66	4,61	0,05
Total	14,23	14,20	14,07	13,97	13,85	13,54	83,86		
Rerata	4,74	4,73	4,69	4,66	4,64	4,51			
ST.DEV	0,09	0,08	0,07	0,06	0,06	0,01			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,12

Perlakuan	Rataan	200 mL	150 mL	100 mL	notasi
200 mL	4,61	0,00			a
150 mL	4,64	0,03	0,00		a
100 mL	4,73	0,12	0,09	0,00	b

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	0	notasi
15	4,51	0,00						a
12	4,64	0,12	0,00					b
9	4,66	0,14	0,04	0,00				b
6	4,69	0,18	0,07	0,03	0,00			b
3	4,73	0,22	0,12	0,08	0,04	0,00		c
0	4,74	0,23	0,13	0,09	0,05	0,01	0,00	c

Lampiran 17. Data Pengamatan dan Analisis Data Emulsi Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Perlakuan	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
			I	II	III			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	100 mL	54,05	54,28	54,59	162,92	54,31	0,3303
	150 mL	150 mL	55,55	55,36	55,45	166,36	55,45	0,4781
	200 mL	200 mL	55,56	55,55	55,75	166,85	55,62	0,3679
3 Hari	100 mL	100 mL	53,43	53,70	53,57	160,70	53,57	0,2186
	150 mL	150 mL	54,41	54,41	54,61	163,43	54,48	0,2930
	200 mL	200 mL	54,77	54,55	54,81	164,13	54,71	0,3792
6 Hari	100 mL	100 mL	53,21	53,53	52,97	159,71	53,24	0,2850
	150 mL	150 mL	54,15	54,17	54,45	162,78	54,26	0,2965
	200 mL	200 mL	54,55	54,29	54,52	163,36	54,45	0,2719
9 Hari	100 mL	100 mL	52,85	52,28	52,56	157,69	52,56	0,2804
	150 mL	150 mL	53,64	53,04	53,33	160,01	53,34	0,1685
	200 mL	200 mL	53,21	53,75	53,47	160,43	53,48	0,1449
12 Hari	100 mL	100 mL	51,66	51,25	51,31	154,22	51,41	0,1304
	150 mL	150 mL	52,91	52,79	52,35	158,05	52,68	0,1155
	200 mL	200 mL	52,87	52,91	53,55	159,32	53,11	0,1398
15 Hari	100 mL	100 mL	50,57	50,10	50,74	151,41	50,47	0,2663
	150 mL	150 mL	51,86	52,82	52,33	157,01	52,34	0,0909
	200 mL	200 mL	52,08	51,83	51,35	155,27	51,76	0,1129

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	162,92	160,70	151,41	157,69	154,22	159,71	946,65
150 mL	166,36	163,43	157,01	160,01	158,05	162,78	967,64
200 mL	166,85	164,13	155,27	160,43	159,32	163,36	969,35
TOTAL	496,13	488,25	463,68	478,13	471,59	485,84	2883,64

FK	153988,72
JK TOTAL	99,82
JK PERLAKUAN	17,76
JK KELOMPOK	77,86
JK GALAT	4,20

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	77,859	15,572	170,557	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	17,760	8,880	97,262	3,200	5,099
GALAT	46	4,200	0,091			
TOTL	53	99,819				

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	54,31	53,57	53,24	52,56	51,41	50,47	315,55	52,59	1,43
150 mL	55,45	54,48	54,26	53,34	52,68	52,34	322,55	53,76	1,18
200 mL	55,62	54,71	54,45	53,48	53,11	51,76	323,12	53,85	1,36
Total	165,38	162,75	161,95	159,38	157,20	154,56	961,21		
Rerata	55,13	54,25	53,98	53,13	52,40	51,52			
ST.DEV	0,71	0,60	0,65	0,49	0,88	0,95			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,50

Perlakuan	Rataan	100 mL	150 mL	200 mL	notasi
100 mL	52,59	0,00			a
150 mL	53,76	1,17	0,00		b
200 mL	53,85	1,26	0,10	0,00	b

Kelompok	Rataan	15	12	9	6	3	0	notasi
15	51,52	0,00						a
12	52,40	0,88	0,00					b
9	53,13	1,61	0,73	0,00				c
6	53,98	2,46	1,58	0,86	0,00			d
3	54,25	2,73	1,85	1,12	0,27	0,00		d
0	55,13	3,61	2,73	2,00	1,14	0,88	0,00	e

Lampiran 18. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Kontrol dan Pasta Fermentasi Ikan Louhan

Lama Fermentasi	Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi
		Volume Molase Segar	I	II			
0 Hari (Kontrol)	100 mL	0,0413	0,0411	0,0478	0,1303	0,0434	0,0038
	150 mL	0,0440	0,0495	0,0515	0,1450	0,0483	0,0039
	200 mL	0,0510	0,0491	0,0485	0,1486	0,0495	0,0013
3 Hari	100 mL	0,0518	0,0539	0,0500	0,1557	0,0519	0,0020
	150 mL	0,0626	0,0647	0,0577	0,1851	0,0617	0,0036
	200 mL	0,0625	0,0638	0,0685	0,1949	0,0650	0,0032
6 Hari	100 mL	0,0561	0,0570	0,0619	0,1750	0,0583	0,0031
	150 mL	0,0767	0,0722	0,0785	0,2274	0,0758	0,0033
	200 mL	0,0787	0,0783	0,0760	0,2330	0,0777	0,0014
9 Hari	100 mL	0,0808	0,0852	0,0868	0,2528	0,0843	0,0031
	150 mL	0,0962	0,0934	0,0948	0,2844	0,0948	0,0014
	200 mL	0,0951	0,0908	0,0929	0,2788	0,0929	0,0022
12 Hari	100 mL	0,0870	0,0871	0,0869	0,2610	0,0870	0,0001
	150 mL	0,0941	0,0976	0,0996	0,2913	0,0971	0,0028
	200 mL	0,0989	0,0969	0,0970	0,2928	0,0976	0,0011
15 Hari	100 mL	0,1047	0,1176	0,0981	0,3204	0,1068	0,0099
	150 mL	0,1222	0,1326	0,1270	0,3817	0,1272	0,0052
	200 mL	0,1389	0,1174	0,1005	0,3568	0,1189	0,0192

PERLAKUAN	KELOMPOK						TOTAL
	0	3	6	9	12	15	
100 mL	0,130	0,156	0,175	0,253	0,261	0,320	1,295
150 mL	0,145	0,185	0,227	0,284	0,291	0,382	1,515
200 mL	0,149	0,195	0,233	0,279	0,293	0,357	1,505
TOTAL	0,424	0,536	0,635	0,816	0,845	1,059	4,315

FK	0,345
JK TOTAL	0,033
JK PERLAKUAN	0,002
JK KELOMPOK	0,030
JK GALAT	0,002

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
KELOMPOK	5	0,030	0,006	176,867	2,417	3,444
PERLAKUAN	2	0,002	0,001	25,342	3,200	5,099
GALAT	46	0,002	0,00003			
TOTL	53	0,033				

PERLAKUAN	KELOMPOK						Σ PERLAKUAN	RERATA	ST. DEV
	0	3	6	9	12	15			
100 mL	0,043	0,052	0,058	0,084	0,087	0,107	0,432	0,0720	0,024
150 mL	0,048	0,062	0,076	0,095	0,097	0,127	0,505	0,0842	0,028
200 mL	0,050	0,065	0,078	0,093	0,098	0,119	0,502	0,0836	0,025
Σ HARI	0,141	0,179	0,212	0,272	0,282	0,353	1,438		
Rerata	0,047	0,060	0,071	0,091	0,094	0,118			
ST.DEV	0,003	0,007	0,011	0,006	0,006	0,010			

NILAI t tabel	2,01
BNT 5%	0,010

Perlakuan	Rataan	100 mL	150 mL	200 mL	notasi
100 mL	0,072	0,000			a
200 mL	0,084	0,012	0,000		b
150 mL	0,084	0,012	0,001	0,000	b

Kelompok	Rataan	0	3	6	9	12	15	notasi
0	0,047	0,000						a
3	0,060	0,012	0,000					b
6	0,071	0,023	0,011	0,000				c
9	0,091	0,044	0,031	0,020	0,000			d
12	0,094	0,047	0,034	0,023	0,003	0,000		d
15	0,118	0,071	0,058	0,047	0,027	0,024	0,000	e

Lampiran 19. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut



Disiapkan 1 liter air laut



Penimbangan gula 5 gram



Perebusan air hingga mendidih



Pensterilan air laut hingga mendidih



Penimbangan pupuk daun 2 gram



Pensterilan beaker glass



Pendinginan pada suhu ruang



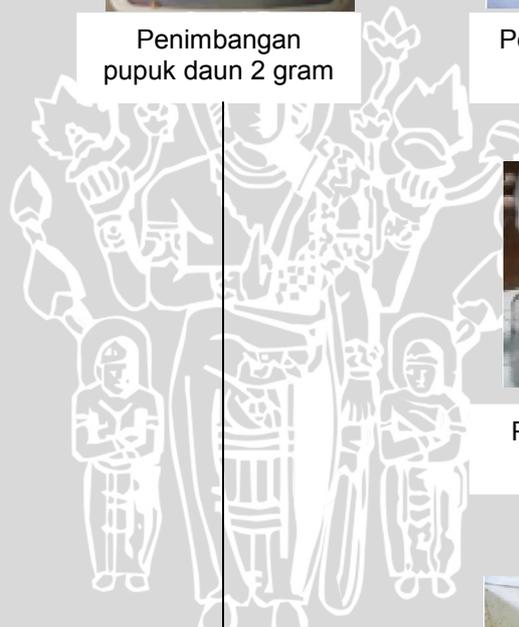
Pensterilan botol kaca



Dimasukkan dalam beaker glass



Pensterilan selang aerator





Penambahan gula



Penambahan pupuk daun



Penghomogenan dengan spatula



Penutupan mulut botol dengan kapas



Panambahan 2 mL stok khamir laut



Penuangan kedalam botol kaca



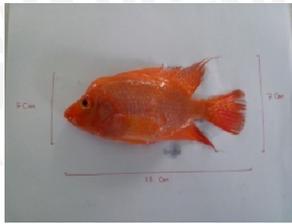
Penutupan dengan plastic wrap



Diberi aerasi selama 3 hari



Lampiran 20. Dokumentasi Pembuatan Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Ikan Louhan



Dibersihkan sisik dan siripnya



Dicuci dan dipotong kecil-kecil



Diukur volume molase



Ditimbang sebanyak 50 gram



Digiling hingga halus



Dihomogenkan dalam beaker glass



Ditambahkan khamir sebanyak 10 mL



Dimasukkan dalam botol plastik



Ditimbang berat akhir



Diberi aerasi dan difermentasi selama 3,6,9,12,15 hari



Ditimbang berat awal



Dipotong botol plastik



Dihomogenkan dengan diblender



Diletakkan pada cawan petri



Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Dikeringkan dalam vacum dryer selama ± 15 jam



Ditata pada loyang

Lampiran 21. Dokumentasi Analisis Kadar Air Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Preparasi cawan petri dalam oven selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat cawan petri



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Pengeringan dalam oven suhu 105°C selama ± jam



Penimbangan sampel sebantak 15 gram



Penimbangan berat akhir



Lampiran 22. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Pasta Fermentasi Ikan Louhan



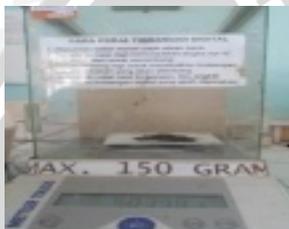
Preparasi kertas saring dan tali dalam oven selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat kertas saring



Penimbangan berat sampel



Penghalusan sampel



Penimbangan berat tali



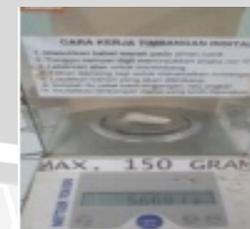
Pembungkusan sampel



Diekstraksi dengan gold fish selama 3 jam



Pengeringan dalam oven sampai berat konstan



Penimbangan berat akhir



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit

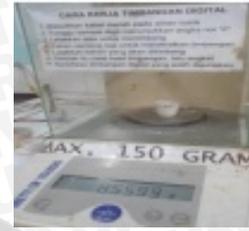
Lampiran 23. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Preparasi kurs porselin dalam oven selama 24 jam



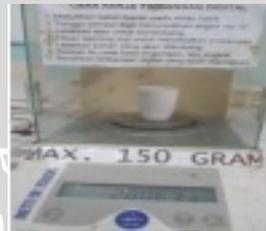
Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat kurs porselin



Pengarangan sampai sampel tidak berasap



Penimbangan sampel sebanyak 2 gram



Penghalusan sampel



Pengabuan pada suhu 600°C hingga berwarna abu



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat akhir

Lampiran 24. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Penimbangan berat sampel sebanyak 0,5 gram



Penghalusan tablet kjeldal



Penimbangan tablet kjeldal sebanyak 2 gram



Penambahan 30 mL aquades



Sampel hasil destruksi berwarna bening



Destruksi sampel dengan penambahan katalis



Destilasi dan ditambahkan NaOH dan H₂O



Larutan penampung destilat



Didestilasi selama 3 menit



Hasil titrasi

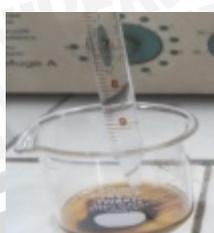


Dititrasi hingga berwarna merah muda

Lampiran 25. Dokumentasi Analisis pH Pasta Fermentasi Ikan Louhan



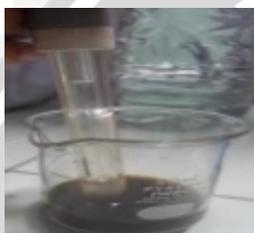
Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



Ditambahkan 10 mL aquades



Dihomogenkan



Dicelupkan elektroda pada sampel



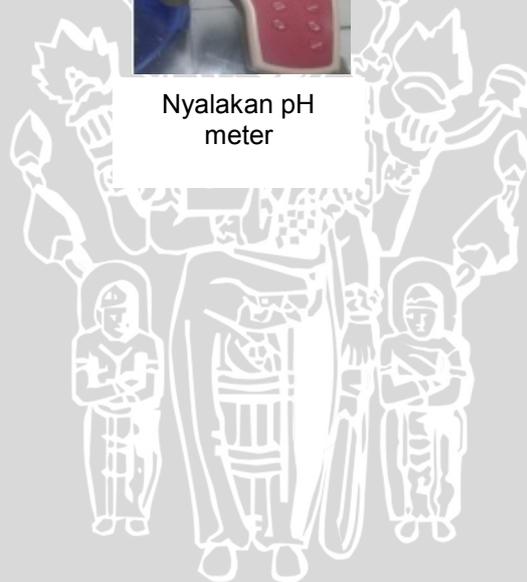
Nyalakan pH meter



Dibilas elektroda dengan aquades



Ditunggu sampai nilai stabil



Lampiran 26. Dokumentasi Analisis Emulsi Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



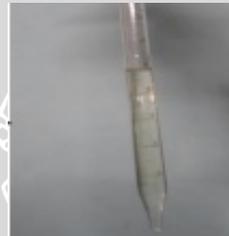
Dimasukkan dalam cuvet



Diukur 5 mL aquades



Ditambahkan 5 mL minyak jagung



Diukur 5 mL minyak



Ditambahkan 5 mL aquades



Dimasukkan dalam sentrifuge



Diputar selama 5 menit dengan kecepatan 7500 rpm



Hasil sentrifuge



Pengukuran volume emulsi



Penghilangan fase minyak pada sampel

Lampiran 27. Dokumentasi Analisis Daya Buih Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Penimbangan sampel 1 gram



Dimasukkan kedalam cuvet



Diukur 10 mL aquades



Penimbangan sampel 1 gram



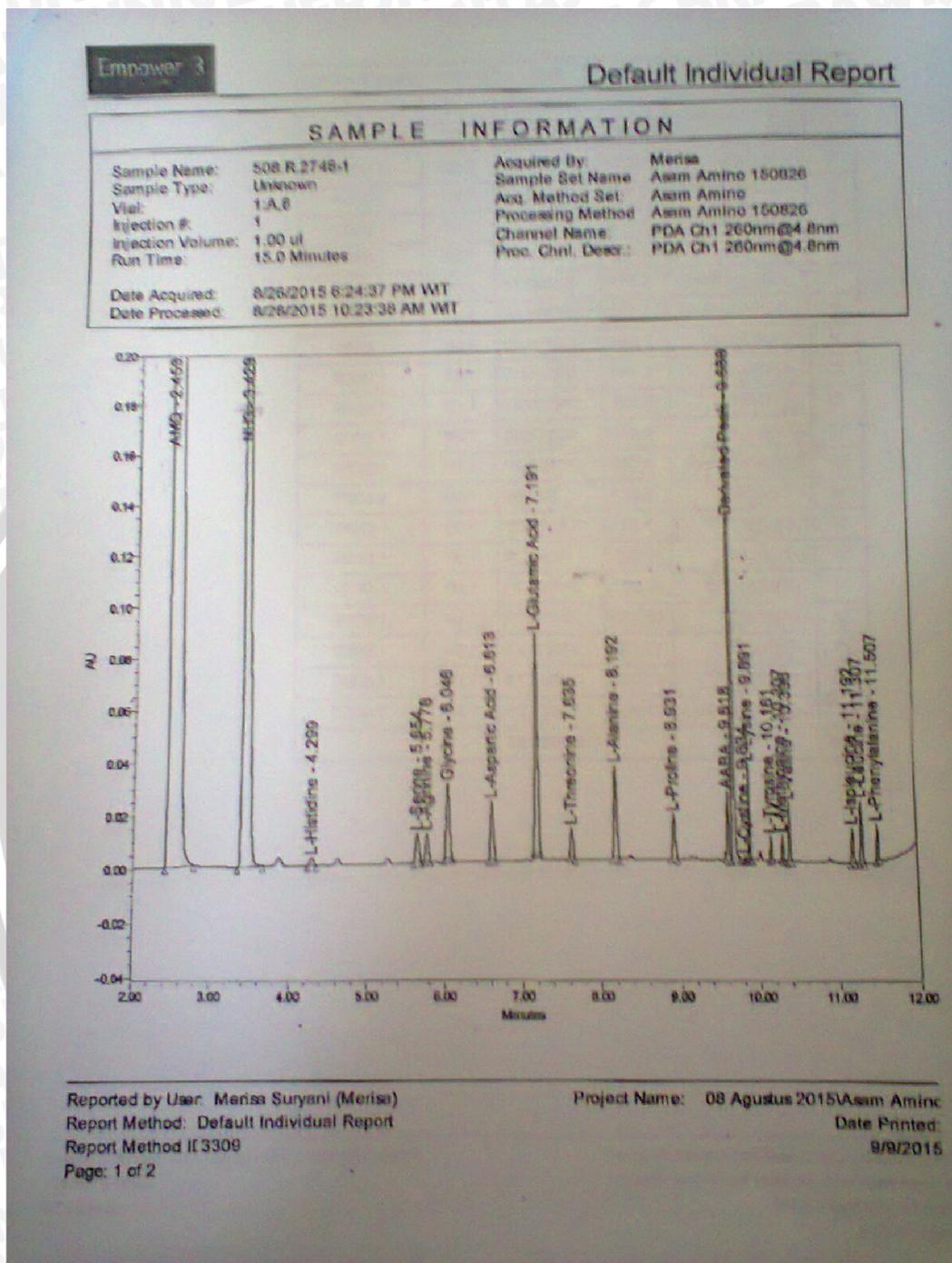
Penimbangan sampel 1 gram



Dimasukkan dalam cuvet



Lampiran 28. Kromatogram Asam Amino Pasta Fermentasi Ikan Louhan



Lampiran 29. Perhitungan Proksimat Berat Basah Ikan Louhan Segar dan Rebus

Sampel	Bahan Kering (%)	Abu (%)	Protein (%)	Serat Kasar (%)	Lemak (%)
Segar	28,15	24,97	57,02	0,90	10,70
Rebus	26,97	25,32	62,16	0,81	8,69

Perhitungan proksimat berat basah

$$\text{Kadar air (segar)} = 100 - 28,15 = 71,85$$

$$\text{Kadar air (rebus)} = 100 - 26,97 = 73,03$$

$$\text{Kadar abu (segar)} = (24,97/100) \times 28,15 = 7,029$$

$$\text{Kadar abu (rebus)} = (25,32/100) \times 26,97 = 6,828$$

$$\text{Kadar protein (segar)} = (57,02/100) \times 28,15 = 16,051$$

$$\text{Kadar protein (rebus)} = (62,16/100) \times 26,97 = 16,764$$

$$\text{Serat kasar (segar)} = (0,90/100) \times 28,15 = 0,253$$

$$\text{Serat kasar (rebus)} = (0,81/100) \times 26,97 = 0,218$$

$$\text{Kadar lemak (segar)} = (10,70/100) \times 28,15 = 3,012$$

$$\text{Kadar lemak (rebus)} = (8,69/100) \times 26,97 = 2,343$$

Sampel	Kadar air (%)	Abu (%)	Protein (%)	Serat Kasar (%)	Lemak (%)
Segar	71,85	7,029	16,051	0,253	3,012
Rebus	73,03	6,828	16,764	0,218	2,343