

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) merupakan hama karena menjadi pemakan tanaman padi di areal persawahan dan telurnya yang menempel pada batang padi menyebabkan tanaman padi mati (Dewi, 2012). Habitat sawah sesuai bagi perkembangbiakan keong mas sehingga populasinya meningkat sangat cepat dalam waktu yang relative cepat, dan cepat pula merusak tanaman padi (Suharto, 2009). Disisi lain keong mas yang bersifat hama, keong mas ini juga memiliki kandungan protein yang tinggi yaitu sebesar 10,86% kadar protein daging keong mas rebus. Kandungan protein yang terkandung dalam keong mas masih cukup memadai untuk digunakan sebagai bahan pakan alternative. Oleh karena itu akan diolah menjadi produk hidrolisat protein.

Pemanfaatan keong mas dengan perlakuan perebusan diharapkan dapat meningkatkan daya cerna kadar protein pada hidrolisat. Pengolahan seperti perebusan dapat mempengaruhi kandungan asam amino yang terdapat dalam suatu bahan pangan. Sejalan dengan berlangsungnya perebusan, protein akan mengalami denaturasi sehingga membentuk struktur yang lebih sederhana sehingga lebih mudah untuk dicerna (Nurjanah *et al.*, 2008).

Hidrolisat protein merupakan produk cair yang dibuat dari ikan rucah atau limbah hasil perikanan pembuatannya dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol sehingga didapatkan hasil akhir berupa campuran komponen protein (Haslina, 2004). Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hidrolisis menggunakan enzim berlangsung secara spesifik yang dapat mempengaruhi

pembentukan peptide dan asam- asam amino (Nurhayati *et al.*, 2014). Pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan enzim mikroorganisme dapat dilakukan dengan cara fermentasi.

Fermentasi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan kualitas bahan pangan yang telah banyak dilakukan. Penambahan dengan starter mikroorganisme dilakukan sesuai dengan tujuan fermentasi dan substrat yang digunakan (Tampoebolon, 2009). Pada penelitian terdahulu telah banyak dilakukan mengenai proses fermentasi menggunakan enzim papain dan protease ekstrak nanas sebagai starter. Menurut Sukoso (2012), khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase. Sehingga khamir laut dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein.

Khamir laut memerlukan nutrisi untuk melakukan aktivitas dalam proses fermentasi seperti sumber karbon, nitrogen, dan oksigen. Ahmad (2005), menyatakan bahwa khamir laut dapat hidup dalam gula sederhana seperti glukosa atau sukrosa yaitu gula kompleks disakarida. Sumber karbon yang biasanya digunakan untuk pertumbuhan khamir laut adalah gula pasir. Mengingat gula pasir cukup mahal sehingga digunakan molase untuk pertumbuhan khamir laut dalam penelitian ini.

Molase atau tetes tebu ini digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan khamir laut dalam proses fermentasi. Karbohidrat yang terdapat pada molase ini telah siap digunakan sebagai fermentasi tanpa perlakuan pendahuluan karena sudah berbentuk gula. Biasanya pH molase ini berkisar antara 5,5-6,5 (Nurul, 2011). Pada penelitian terdahulu penggunaan volume molase terbaik yaitu pada volume molase 200 mL dengan lama fermentasi 12 hari yaitu pada pembuatan hidrolisat protein kepala udang vannamei (Budy, 2014). Dan pada volume molase

300 mL dengan lama fermentasi 12 hari pada pembuatan hidrolisat kerang hijau (Suriati, 2015).

Pada penelitian ini pembuatan hidrolisat protein telah dimodifikasi menggunakan bahan baku keong mas dan dilakukan fermentasi menggunakan starter khamir laut. Khamir laut adalah salah satu jenis mikroba dari golongan jamur penghasil enzim protease. Khamir laut telah terbukti dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) (Fathony, 2014), hidrolisat protein kerang hijau (*Perna viridis*) (Suriati, 2015), dan hidrolisat eceng gondok (*Eichornia crassipes*) (Sari, 2015). Pada penelitian terdahulu rata-rata fermentasi menggunakan kultur khamir laut pada fase logaritmik yaitu pada jam ke-72 atau hari ke-3 kultur.

Mengacu uraian diatas maka penelitian ini dilakukan modifikasi pembuatan hidrolisat protein dengan menggunakan biokatalisator khamir laut dengan sampel keong mas rebus dan penambahan molase pada proses fermentasi. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan optimasi kualitas hidrolisat protein keong mas menggunakan starter khamir laut dengan penambahan berbagai volume molase dan waktu fermentasi yang berbeda.

1.2 Rumusan Masalah

Keong mas memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, namun pemanfaatan keong mas sebagai hidrolisat protein menggunakan starter khamir laut belum banyak dilakukan. Adanya pengolahan keong mas menjadi hidrolisat protein dengan menggunakan lama fermentasi berpotensi dalam penyediaan pakan yang dapat menambah nutrisi keong mas sebelum difermentasi. Pembuatan hidrolisat protein keong mas menggunakan khamir laut berpotensi untuk meningkatkan

kandungan protein dalam produk hidrolisat keong mas. Penggunaan volume molase segar dan lama fermentasi yang tepat sangat menentukan kualitas hidrolisat protein keong mas yang akan didapatkan. Dari uraian ini didapat rumusan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh penambahan volume molase segar yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus yang dihasilkan?
- Bagaimana kualitas hidrolisat protein keong mas rebus yang terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian tentang pengaruh penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus selama proses fermentasi dengan starter khamir laut adalah :

- Untuk mendapatkan volume molase segar yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus.
- Untuk mendapatkan lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus.
- Untuk mengetahui kualitas hidrolisat protein keong mas rebus terbaik.

1.4 Hipotesis

Hipotesa yang mendasari penelitian ini adalah:

- Diduga penambahan molase segar dan lama fermentasi berpengaruh terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus serta perlakuan terbaik menghasilkan profil asam amino terbaik.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan keong mas sebagai bahan pembuatan hidrolisat protein, pengaruh lama fermentasi dan volume molase yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Biokimia Dan Nutrisi Ikan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Maret sampai Juni 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keong Mas

Keong mas atau siput murbei (*Pomacea canaliculata*) termasuk siput air tawar yang diintroduksi ke Indonesia pada tahun 1981 sebagai hewan hias. Pada tahun 1990, menteri pertanian mengeluarkan peraturan larangan untuk mengembangbiakkan keong mas di sekitar lahan sawah. Pada tahun 1996 menteri pertanian mengeluarkan peraturan baru yang berisi instruksi kepada semua gubernur untuk melarang pembiakan keong mas. Keong mas yang lepas ke sawah berkembangbiak dengan cepat. Habitat sawah sesuai bagi perkembangbiakan keong mas sehingga populasinya meningkat sangat cepat dalam waktu yang relative cepat, dan cepat pula merusak tanaman padi. Oleh karena itu, keong mas berubah status dari hewan peliharaan menjadi hama padi (Suharto, 2009).

Keong mas merupakan siput air tawar dari Amerika Selatan. Keong mas ini terdiri dari tiga jenis yaitu *P. canaliculata*, *P. urenus*, dan *P. paludosa*. Ketiga keong mas tersebut menyebabkan kerusakan pada tanaman padi, tetapi yang berkembangbiak di Indonesia adalah jenis *P. canaliculata*. Keong mas juga disebut siput murbei karena telurnya yang seperti buah murbei berwarna merah muda. Klasifikasi keong mas (*pomacea canaliculata* Lamarck) menurut Ardiansyah (2002), adalah sebagai berikut :

- Phylum : Mollusca
- Sub phylum : Avertebrata
- Class : Gastropoda
- Sub class : Prosobranchia (Streptoneura)
- Ordo : Mesogastropoda

- Super famili : Vivivaroidea (Cyclophoracea)
Famili : Ampullaridae (Pilidae)
Genus : *Pomacea*
Species : *Pomacea canaliculata* L.



Gambar 1. Keong mas

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) adalah siput sawah dengan warna cangkang keemasan yang dianggap sebagai salah satu hama dalam produksi padi. Keong mas disebut hama karena menjadi pemakan tanaman padi di areal persawahan dan telurnya yang menempel pada batang padi menyebabkan tanaman padi mati. Keong mas memiliki karakteristik khusus yang digunakan untuk membedakan dengan keong-keong jenis lain yang hidup pada habitat yang sama. Keong mas dewasa memiliki cangkang berwarna coklat keemasan dan daging berwarna putih krem hingga kemerah-merahan. Ukuran tubuhnya bervariasi dan tergantung pada ketersediaan makanan. Makanan keong mas umumnya berupa tanaman yang masih muda dan lunak, misalnya bibit padi, sayuran, dan enceng gondok (Dewi, 2012).

Membuat hidrolisat protein menggunakan bahan baku keong mas karena kandungan nutrisi keong mas yang cukup tinggi terutama pada protein. Sehingga keong mas dapat dijadikan hidrolisat protein. Kandungan nutrisi daging keong mas segar dan daging keong mas rebus dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini :

Tabel 1. Kandungan nutrisi daging keong mas segar dan daging keong mas rebus

Parameter	Kandungan (%)	
	Segar	Rebus
Kadar air	77,40	68,36
Kadar abu	5,44	4,40
Kadar protein	14,04	10,86
Kadar lemak	0,99	0,70

(Dewi,2012)

Kandungan nutrisi yang terkandung dalam daging keong mas tidak hanya protein, air, lemak dan karbohidrat saja melainkan ada kandungan lain seperti kandungan mineral makro dan mineral mikro. Beberapa mineral yang ditemukan dalam daging keong mas menurut Pambudi (2011), antara lain adalah kalium, kalsium, natrium, fosfor, magnesium, seng, dan besi. Kandungan mineral keong mas dapat dilihat pada Tabel 2. berikut ini :

Tabel 2. Kandungan mineral keong mas

Komposisi	Kadar (bk) (mg/100g)
Mineral makro	
Kalsium	7593,81
Natrium	620,84
Kalium	824,84
Fosfor	1454,32
Magnesium	238,05
Mineral mikro	
Besi	44,16
Seng	20,57
Selenium	Tidak terdeteksi
Tembaga	Tidak terdeteksi

(Pambudi,2011)

Kandungan protein yang dimiliki keong mas cukup tinggi sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku untuk hidrolisat protein. Wardana (2008), menyatakan kandungan protein daging keong mas kurang lebih 12,2%, sehingga

dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein yang menggunakan enzim papain.

2.2 Fermentasi

Fermentasi merupakan proses yang merubah substrat menjadi bahan organik atau komponen yang mengandung bahan organik dengan bantuan mikroorganisme. proses fermentasi dapat menyebabkan produk berubah dari keadaan semula sebagai dari pemecahan kandungan bahan pangan. Bahan pangan yang mengalami fermentasi mempunyai nilai gizi yang lebih bagus dibandingkan dengan bahan aslinya. Karena disebabkan mikroba bersifat katabolik atau memecah komponen-komponen yang kompleks menjadi zat-zat yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna (Winarno *et al.*, 1984).

Fermentasi juga disebut aplikasi metabolisme mikroba untuk mengubah bahan baku menjadi produk baru bernilai lebih tinggi seperti asam-asam organik, protein sel tunggal, biopolymer, dan antibiotik. Fermentasi menggunakan teknologi dapat menghasilkan produk berkadar protein tinggi. Khamir laut adalah salah satu contoh protein kasar atau protein murni yang berasal dari mikroorganisme disebut juga protein sel tunggal atau *Single Cell Protein* (SCP) (Muhiddin *et al.*, 2001). Proses metabolisme yang terjadi dalam fermentasi yaitu perubahan kimia dalam substrat atau bahan organik karena adanya aktivitas enzim oleh jasad renik. Glukosa yang digunakan sebagai substrat dan jasad renik yang digunakan adalah khamir laut (Putra *et al.*, 2013).

Proses fermentasi juga ditentukan dengan lama waktu fermentasi. Perbedaan lama waktu fermentasi juga dapat menghasilkan kandungan nutrisi bahan yang difermentasi berbeda. . Lama fermentasi yang tepat dapat menghasilkan hidrolisat

protein yang optimal karena bahan baku dapat dipecah menjadi senyawa yang lebih sederhana. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, dan juga dipengaruhi oleh lama waktu hidrolisis. Jadi semakin lama waktu hidrolisis yang digunakan maka proses hidrolisis berjalan lebih sempurna (Purbasari, 2008).

Pembuatan hidrolisat protein dengan cara fermentasi sering dilakukan sebelumnya. Proses pembuatan silase keong mas dengan penambahan BAL (bakteri asam laktat) dilakukan selama 7 hari (Noviana, 2012). Pada pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname dengan penambahan khamir laut dan molase sebagai substrat perlakuan terbaik yaitu pada lama fermentasi hari ke-12 (Budy, 2014). Pada pembuatan hidrolisat protein kerang hijau menggunakan khamir laut juga dan molase sebagai substrat perlakuan terbaik pada lama fermentasi hari ke-12 (Suriati, 2015).

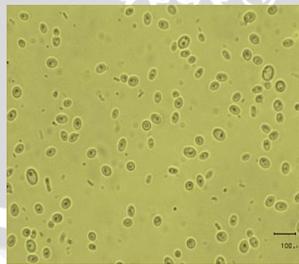
Dalam proses fermentasi mikroorganisme yang berperan yaitu dari golongan khamir, kapang, dan bakteri (Aditiwati, 2003). Mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunannya menjadi alkohol, karbondioksida, dan asam. Dalam proses fermentasi ini dapat meningkatkan nilai gizi bahan asalnya, karena terjadi perombakan bahan kompleks menjadi sederhana dan disintesis beberapa vitamin seperti riboflavin, pro vitamin A dan vitamin B12. Beberapa protein diubah menjadi asam amino kemudian menjadi NH_3 (Mangisah *et al.*, 2003).

Proses pembuatan hidrolisat protein dengan penambahan molase atau gula dalam proses fermentasi. Dijelaskan menurut Susanto (2009), Molase sebagai media fermentasi digunakan untuk mikroba sebagai sumber bahan makanan selama proses fermentasi berlangsung. Mikroba akan menggunakan sumber karbohidrat sebagai sumber makanan. Dengan adanya penambahan gula atau molase ini aktivitas mikroba akan meningkat.

2.3 Khamir Laut

Khamir laut adalah salah satu jenis mikroorganisme yang diisolasi langsung dari laut. Khamir laut merupakan golongan jamur yang memiliki sifat kemoorganotrof, reproduksi secara seksual dengan spora dan aseksual dengan pertunasan dan membelah diri. Khamir laut termasuk fungi, tetapi perkembangbiakannya lebih cepat daripada kapang (Febriani, 2001). Cendawan terdiri dari kapang dan khamir. Kapang bersifat filamenteus, sedangkan khamir biasanya bersifat uniselular (Pelczar, 2008).

Khamir merupakan organisme eukariot, heterotrof yang termasuk kingdom eumycota dan keberadaannya tersebar pada berbagai habitat. Habitat khamir laut terdapat di perairan tawar, perairan mangrove, maupun perairan laut (Nagahama, 2006). Ukuran khamir laut sangat beragam memiliki lebar antara 1 sampai 5 μ m dan panjang 5 sampai 30 μ m atau lebih. Khamir laut memiliki bentuk oval, tetapi beberapa ada yang memanjang atau bentuk bola. Antar spesies khamir laut memiliki bentuk yang khas, tetapi sekali dalam pembiakan murni terdapat variasi yang khas dalam ukuran dan bentuk sel-sel individu, tergantung pada umur dan lingkungan khamir laut itu sendiri. Khamir laut tidak dilengkapi dengan flagellu atau organ-organ penggerak lainnya (Pelczar, 1986). Gambar khamir laut dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Khamir Laut

Khamir laut dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif, seperti protein sel tunggal, asam amino, probiotik, vitamin C, glutation, β -carotenoid, glukon, amylase, phytase, pembunuh toksin, dan protease (Zhenming *et al.*, 2006). Ditambahkan oleh Bhararathi (2011), yang mengungkapkan bahwa khamir laut juga mengandung lipase dan insulinase yang memiliki aplikasi potensial dalam bidang budidaya, makanan, farmasi, kosmetik, industri kimia, dan proteksi dari lingkungan. Kandungan nutrisi dan asam amino dari kultur khamir laut menurut Febriani (2001), adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Kandungan nutrisi dan asam amino khamir laut

Kandungan	prosentase
• Analisa proksimat :	
– Bahan kering oven	71,85
– Protein	28,29
– Lemak	0,34
– BETN	4,33
– Serat kasar	0,95
– Abu	66,09
• Asam amino esensial :	
– Arginin	0,206
– Histidin	0,262
– Isoleusin	0,310
– Leucin	0,318
– Lisin	0,463
– Threonine	0,187
– Metionin + sistin	0,773
– Valin	0,342
– Phenylalanine	0,274

(Febriani, 2001)

Dinding sel khamir terdapat komponen-komponen seperti glukon khamir, mannan, protein, kitin, dan lipid. Protein pada dinding sel khamir jumlahnya relatif konstan, yaitu 6% - 8% dari berat kering dinding sel. Protein ini juga termasuk enzim protease yang memecah substrat yang akan diserap, misalnya invertase dan hidrolase (Fardiaz, 1989). Proteolitik atau protease adalah enzim golongan hidrolase. Enzim hidrolase mengkatalis reaksi-reaksi hidrolisis merupakan reaksi

yang melibatkan unsur air pada ikatan spesifik dari substrat atau bahan. Enzim proteolitik atau protease memiliki dua pengertian yaitu, proteinase yang dapat mengkatalisa hidrolisa molekul protein menjadi fragmen- fragmen yang lebih sederhana. Dan peptidase yang menghidrolisa fragmen polipeptida menjadi asam amino (Hidayat, 2005).

Hidrolisis protein menggunakan enzim proteolitik adalah cara yang sangat efisien dan aman karena menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino akibat penggunaan asam kuat, basa kuat, ataupun suhu tinggi pada reaksi hidrolisis asam atau basa. Reaksi hidrolisis protein menggunakan enzim akan memutus ikatan peptida yang ditargetkan secara spesifik. Hidrolisis menggunakan enzim protease menghasilkan hidrolisat yang dihasilkan mengandung peptide dengan bobot molekul rendah yang terdiri dari dua hingga empat asam amino. Proses hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan hidrolisat protein yang terdiri dari 18-20 macam asam amino (Widadi, 2011).

2.4 Molase

Molase merupakan hasil samping yang dihasilkan dari sisa pembuatan gula tebu. Molase dihasilkan dari cairan kental yang diperoleh dari tahap pemisahan Kristal gula. Molase tidak dapat dibentuk lagi menjadi sukrosa tapi masih mengandung gula dengan kadar tinggi 50-60%, mineral dan asam amino. Molase juga mengandung gula yaitu sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12%. Karbohidrat yang terdapat pada molase ini telah siap digunakan sebagai fermentasi tanpa perlakuan pendahuluan karena sudah berbentuk gula. Biasanya pH molase ini berkisar antara 5,5-6,5 (Nurul, 2011). Yuniasari (2009), menambahkan bahwa kandungan molase tidak hanya gula saja melainkan ada unsur- unsur lain yaitu

seperti, mineral mikro yang penting bagi kehidupan organisme (cobalt, boron, iodium, tembaga, mangan, dan seng) dan molase juga mengandung vitamin dan pigmen. Komposisi kimia molase segar dan molase rebus dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kimia Molase Segar dan Molase Rebus

Komposisi kimia		Kandungan (%)	
		Molase Segar	Molase Rebus
Kandungan Gula	Fruktosa	4,5652	3,9174
	Gula reduksi	1,5602	2,1615
	Sukrosa	0,5299	0,3962
Proksimat	Air	66,20	64,63
	Protein	23,23	24,64
	Karbohidrat	3,36	5,73
	Abu	4,13	4,95
Asam Amino	Lemak	0,08	0,05
	Asam Glutamat	2,912	3,594
	Prolin	0,640	0,350
	Alanin	0,610	0,512
	Aspartate	0,405	0,699
	Serin	0,069	0,234
	Glisin	0,051	0,187
	Valin	0,045	0,124
	Lisin	0,035	0,966
	Leusin	0,027	0,121
	Isoleusin	0,024	0,084
	Treonin	0,021	0,112
	Tirosin	0,015	0,060
	Histidin	0,014	0,074
	Fenialanin	0,009	0,073
	Metionin	0,008	0,034
	Arginine	0,007	0,107
	Sistein	-	0,081

Sumber : Rohim (2014).

Molase sebagai media fermentasi digunakan sebagai sumber bahan makanan bagi khamir laut selama proses fermentasi berlangsung. Bakteri akan menggunakan sumber karbohidrat sebagai sumber makannya. Ketika sumber karbohidrat di dalam

medium telah habis terpakai, maka khamir laut beralih menggunakan sumber nitrogen. Penambahan karbohidrat seperti molase dimaksudkan untuk mempercepat terbentuknya sumber energi yang cepat tersedia bagi khamir laut (Nurul, 2005).

Perebusan molase dapat menyebabkan sebagian sukrosa dalam molase akan terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu gula invert (fruktosa dan glukosa) yang merupakan gula pereduksi (Susanto dan Setyohadi, 2011), dimana senyawa karbon dari jenis monosakarida (glukosa, fruktosa, dan galaktosa) dapat diasimilasi lebih cepat dibandingkan dengan disakarida (sukrosa dan maltosa), sehingga dapat segera digunakan khamir laut untuk pertumbuhannya (Sukoso, 2012). Fajarwati (2002), menambahkan Perebusan molase juga dapat mengurangi kerusakan pada molase akibat mikroorganisme kontaminan. Pemanasan molase pada suhu 120-125°C selama ± 1 jam setelah mendidih dapat mengendapkan beberapa material anorganik dan material tersuspensi lainnya yang dapat menghambat pertumbuhan khamir seperti: nitrit, zat pewarna, koloid, asam butirat, ion kalsium (Ca) dan asam sulfat.

Khamir laut dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa ataupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Khamir laut membutuhkan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen untuk menunjang kebutuhan hidupnya saat fermentasi berjalan. Pada saat uji fermentasi gula- gula mempunyai reaksi positif pada gula dektrosa, sukrosa, galaktosa, maltose, trehalosa, raffinosa, dan negative pada gula laktosa (Ahmad, 2005).

Molase sebagai sumber karbon telah banyak digunakan dalam penelitian sebelumnya. Seperti pada penelitian tentang optimasi kadar molase untuk pertumbuhan khamir laut dalam medium ekstrak ubi jalar. Pada penelitian tersebut menggunakan volume molase sebanyak 0%, 0,5% dan 1%. Yang bertujuan untuk

mengetahui kadar penambahan molase terbaik untuk produksi biomassa khamir (Noviati,2007). Kemudian pada penelitian pembuatan hidrolisat protein kepala udang vannamei menggunakan penambahan molase dengan 3 perlakuan yaitu 100 mL, 200 mL, dan 300 mL. Perlakuan terbaik pada penelitian tersebut yaitu volume molase 200 mL (Budy, 2014). Pada penelitian pembuatan hidrolisat protein kerang hijau menggunakan penambahan molase dengan 4 perlakuan yaitu 100 mL, 200 mL, 300 mL dan 400 mL. Dan diperoleh perlakuan terbaik pada volume molase 400 mL (Husen. 2015).

2.5 Hidrolisat Protein

Hidrolisat protein merupakan proses pemutusan ikatan peptida pada struktur proteinnya menjadi ikatan lebih sederhana yang melalui proses hidrolisis baik menggunakan asam ,basa, maupun enzim. Reaksi hidrolisis akan menghasilkan hidrolisat protein yang berkualitas karena kondisi suhu, waktu hidrolisis yang terkontrol dan pH. Hidrolisis dengan cara penggunaan enzim berlangsung secara spesifik dapat mempengaruhi pembentukan peptida dan asam amino. Penggunaan enzim dalam hidrolisat protein dianggap paling aman dan sangat menguntungkan (Nurhayati *et al.*, 2014).

Proses hidrolisis mengurangi ukuran peptida. Penggunaan hidrolisat protein sebagai bahan untuk pakan ternak atau konsumsi manusia sudah sejak tahun 1960-1970. Saat ini aplikasi hidrolisat protein ini telah berkembang di berbagai industri, termasuk obat-obatan, kosmetik atau nutrisi hewan. Baru-baru ini hidrolisat protein ikan telah menjadi populer di industri makanan karena kandungan protein yang sangat tinggi. Karena beberapa protein memiliki berbagai sifat fungsional yang dinamis, mengenai sifat fungsional hidrolisat protein ikan selama dekade terakhir ini,

beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan memiliki sifat biologis seperti penghambatan *angiotensin-converting enzyme*, antioksidan, imunomodulator dan antimikroba (Seniman, 2014).

Karakteristik hidrolisat protein ikan dapat dilihat berdasarkan warna, hidrolisat dari ikan mujair mempunyai warna kekuningan agak kehijauan sangat pucat, semakin lama waktu hidrolisis warna hidrolisat protein semakin gelap yaitu kuning kecoklatan. Perubahan warna pada hidrolisat protein dapat berbeda– beda tergantung jenis bahan baku yang digunakan. Warna pada hidrolisat protein juga dapat dipengaruhi oleh terjadinya reaksi pencoklatan non- enzimatis selama proses. adanya penggunaan panas selama proses hidrolisis juga bisa disebut salah satu penyebab terjadinya pencoklatan pada hidrolisat protein ikan yang dihasilkan (Ariyani, 2003).

Karakteristik lain dari hidrolisat protein adalah adanya rasa pada produk hidrolisat protein ikan. Rasa pahit yang terdapat pada hidrolisat protein ini disebabkan adanya peptida yang berantai pendek sebagai produk hasil pemecahan protein. Komponen penyebab rasa pahit pada hidrolisat protein ikan tidak dapat diprediksi, karena berbagai faktor yang sangat kompleks berperan dalam pembentukan komponen penyebab rasa pahit. Rasa manis pada hidrolisat protein ikan disebabkan karena adanya asam amino glisin selama proses hidrolisis. Dan rasa gurih pada hidrolisat protein ikan disebabkan adanya pembentukan oligopeptida yang mempunyai proporsi molaritas yang tinggi dari asam glutamat (Bernadeta, 2012).

Karakteristik hidrolisat protein juga dapat dilihat dari daya buih suatu bahan. Daya buih merupakan bentuk terdispensi koloida gas dalam cairan. Daya buih sangat dipengaruhi oleh protein yang terhidrolisis selama proses tetapi tidak dapat

menentukan stabilitas buih atau sebaliknya. Daya buih protein sangat dipengaruhi oleh sifat topografikal dan sifat kimia, dari sifat permukaan protein (*surface protein*). Selain itu, sifat fisikokimia terutama dari sifat molekul protein juga menentukan keberhasilan terbentuknya kondisi sifat fungsional (Koesomawardani,2008). Rieuwpassa (2013), menyatakan bahwa kekuatan protein dalam merangkap gas merupakan faktor utama yang menentukan karakteristik dari buih protein. Dan kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia protein.

Kapasitas emulsi merupakan salah satu karakteristik dari hidrolisat protein. Emulsi merupakan suatu bahan yang dapat meningkatkan proses pencampuran antara dua fase yang berbeda dan sulit bercampur melalui aksi permukaan (Budy, 2014). Kapasitas emulsi yang baik yaitu bila bahan dapat menyerap air dan minyak secara seimbang. Kestabilan emulsi protein bergantung pada keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik (Rieuwpassa, 2013). Kestabilan emulsi baik pada derajat hidrolisis yang rendah. Hal tersebut karena peptida panjang yang terbentuk akan terserap dalam lapisan minyak dan memicu terbentuknya tetesan minyak yang kecil menyebabkan kestabilan emulsi lebih tinggi (Koesoemawardani, 2008).

Analisis asam amino bertujuan untuk mengetahui jenis- jenis protein penyusun dalam suatu bahan dan mengetahui jumlah asam amino esensial dalam bahan. Hidrolisis yang berjalan baik akan menghasilkan hidrolisat yang terdiri dari 18-20 macam asam amino. Hal tersebut dapat dikatakan bahwa proses hidrolisis yang dilakukan mendekati sempurna. Kadar asam amino bebas pada produk hidrolisat cenderung meningkat dengan semakin lamanya waktu hidrolisis. Hal tersebut dikarenakan waktu hidrolisis adalah salah satu faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis untuk berjalan sempurna. Hidrolisis protein akan menambah kepolaran protein sehingga molekul protein yang tidak larut dalam air akan larut dengan

adanya proses hidrolisis. Protein akan menghasilkan asam amino jika dihidrolisis, namun ada beberapa protein yang disamping menghasilkan amino juga menghasilkan molekul protein yang masih berikatan (Purbasari, 2008).



3. METODELOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan baku yaitu keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang di peroleh dari Tulungagung yang berlokasi di Desa Mojosari, Kecamatan Kauman, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Bahan yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir antara lain adalah air laut, stok khamir laut, pupuk daun, gula pasir, dan *aquadest*. Kemudian bahan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein adalah Keong mas rebus, molase segar, *aquadest*, dan kultur khamir. Selanjutnya bahan yang digunakan dalam analisa uji proksimat antara lain kertas saring, tali kasur, PE (*petroleum ether*), tablet kjedhal, H_3BO_3 , metil orange, H_2SO_4 , *aquadest*, kertas label. Untuk uji pH dan uji daya buih bahan yang digunakan adalah *aquadest*. Dan untuk uji kapasitas emulsi bahan yang digunakan adalah minyak jagung dan *aquadest*. Sedangkan untuk uji analisa total asam amino adalah standar AABA (*Alfa Amino Butiric Acid*), *aquabidest*, *AccQ-fluor borate*, *reagent flour A*, dan HCl.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat- alat yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir dan penghitungan kepadatan sel khamir laut adalah kompor, panci, *beaker glass* 1000 mL, spatula, timbangan digital, pipet volume, bola hisap, botol gelas kaca 1000 mL, aerator, slang aerasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet sirelogis, *vortex mixer*, *crushable tank*, dan mikroskop *hemocytometer*. Sedangkan peralatan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein adalah timbangan digital, baskom, *waterbath*, pengiling

daging, *beaker glass* 1000 mL, corong, spatula, solet, pipet volume, slang aerasi, aerator. Peralatan yang digunakan untuk analisis uji proksimat antara lain oven, cawan petri, timbangan digital, *goldfish*, gelas piala, sample tube, *muffle*, *crushable tank*, kurs porseline, desikator, erlenmeyer 250 mL, pipet volume, bola hisap, pipet tetes, biuret statif, destruksi, destilasi. Sedangkan peralatan yang digunakan dalam uji pH adalah pH meter dan *beaker glass* 100 mL. peralatan pada uji kapasitas emulsi adalah *cuvet*, rak tabung reaksi, spatula, gelas ukur, *sentrifuge*. Dan peralatan pada uji buih adalah *cuvet* dan rak tabung reaksi. Dan peralatan untuk analisis total asam amino adalah *waterbath*, *vortex mixer*, pipet volume, bola hisap, mikropipet, *beaker glass*, labu ukur, timbangan digital, oven, dan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Metode eksperimen ini mengarahkan ke penelitian yang secara sengaja dilakukan oleh peneliti terhadap variable yang datanya belum ada sehingga perlu adanya perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna diamati pengaruhnya. Pondasi yang mengacung pada penelitian ini adalah penelitian penelitian terdahulu, literature, studi kasus yang disebutkan serta data sekunder yang lain (Williams, 2007). Sedangkan menurut Arifin (2008), penelitian eksperimen adalah jenis penelitian yang berusaha untuk mencari ide atau hubungan- hubungan yang baru, serta bertujuan untuk menyelidiki masalah untuk mendapatkan pengetahuan dan pemahaman yang baik dan mendalam tentang masalah yang dijadikan objek penelitian.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan dalam beberapa tahap yaitu mengetahui waktu pemanenan khamir laut yang dipanen pada saat pertumbuhan atau untuk mengetahui fase logaritmik khamir laut. Khamir laut ini nantinya akan digunakan sebagai starter khamir laut pada pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus. Penelitian ini juga dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui volume khamir laut yang optimum sebagai biokatalisator pada hidrolisat protein keong mas sehingga dari volume khamir laut yang terbaik digunakan untuk acuan pada penelitian utama. Tahap selanjutnya dilakukan penentuan volume molase terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus. Tujuan pada tahap tersebut yaitu untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam proses pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus. Setelah itu dilakukan penelitian utama yaitu penelitian pada pembuatan hidrolisat protein keong mas dengan starter khamir laut. Pada pembuatan hidrolisat protein keong mas ini akan dilakukan analisis kimia seperti analisis proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), kapasitas emulsi, daya buih, pH. Serta untuk mengetahui profil asam amino dari hidrolisat protein keong mas dari perlakuan terbaik.

3.3 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Variable merupakan faktor yang dapat menunjukkan variasi. Berdasarkan kegunaannya ada 3 macam variable yaitu variable bebas, variable terikat, dan variable terkontrol. Variable bebas adalah variable yang diselidiki pengaruhnya atau faktor yang menjadikan pokok permasalahan yang ingin diteliti. Variable terikat merupakan variable yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variable

bebas. Dan variable terkontrol adalah variable yang dikendalikan dan dibuat sama antara kelompok yang diteliti.

Variable bebas dari penelitian ini adalah pengaruh perbedaan molase segar yang ditambahkan dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas dengan volume molase masing- masing adalah 200 mL, 300 mL, dan 400 mL. selanjutnya lama fermentasi yang berbeda, yaitu dilakukan pengamatan terhadap fermentasi hari ke-0 sebagai kontrol, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-12. Berikutnya variable terkontrol pada penelitian ini yaitu pemberian inokulum khamir laut sebanyak 20 mL pada semua perlakuan. Sedangkan variable terikat adalah parameter yang diamati antara lain komposisi kimia (kandungan kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat). Kapasitas emulsi, daya buih, pH dan total asam amino pada hidrolisat protein keong mas.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Prosedur Penentuan Fase Log

Prosedur pertama yang dilakukan untuk menentukan fase logaritmik adalah mengkultur khamir laut. Jannah (2012), menyatakan prinsip kultur khamir adalah memperbanyak kultur khamir laut yang dapat memproduksi protease, pada proses Pertumbuhannya menggunakan media air laut dan memanfaatkan gula sebagai sumber nutrisi, pupuk daun sebagai sumber nitrogen dan aerasi yang cukup sebagai suplai oksigen dalam pertumbuhannya. Khamir mampu mentransportasikan dan memanfaatkan senyawa nitrogen organik dan anorganik. Selama pertumbuhannya khamir laut menghasilkan senyawa- senyawa seperti asam amino, nukleotido, enzim dan faktor pertumbuhan yang belum diidentifikasi yang mampu menstimulasi pertumbuhan dan enzim. Bekatorou *et al.*, (2006), menambahkan dalam

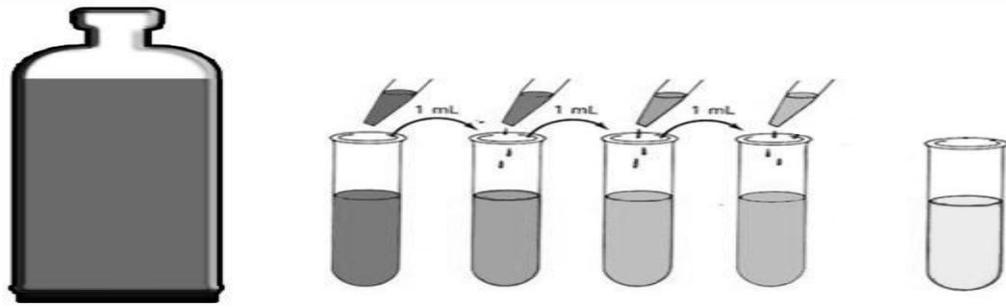
perkembangbiakan khamir laut bahwa suplai oksigen adalah kebutuhan untuk memproduksi biomassa yang optimal. Pada penelitian pendahuluan prosedur penentuan fase log khamir laut dilakukan dengan pengamatan melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati khamir laut setiap 12 jam sekali untuk mengukur kepadatan sel khamir aut. Pengamatan ini dilakukan mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-108.

Tahap pertama dalam penentuan fase log khamir laut yaitu mengkultur khamir laut. Proses dalam pembuatan kultur khamir laut menurut Sukoso (2012) yaitu sebagai berikut dan dapat dilihat pada lampiran 3 :

- Disiapkan bahan-bahan seperti air laut, gula pasir, pupuk daun, dan biakan khamir laut.
- Air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar.
- Air laut steril yang sudah dingin kemudian dimasukkan ke dalam botol gelas kaca, lalu ditambahkan gula pasir 0,5% sebagai sumber nutrisi dan pupuk daun 0,2% sebagai sumber nitrogen (v:b) serta dihomogenkan sehingga diperoleh media khamir laut. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun dapat dilihat pada lampiran 1.
- Lalu ditambah starter khamir laut sebanyak 0,2% dari air laut yang digunakan (v:v) dan dihomogenkan.
- Kultur khamir laut yang telah siap kemudian ditutup dengan kapas dan dilapisi plastik *wrap* untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan, lalu diberi aerasi yang cukup untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut.

- Aerasi dilakukan selama empat hari untuk dilakukan pengamatan tingkat kepadatan sel khamir laut.

Tahap selanjutnya adalah untuk menentukan fase log khamir laut yaitu membuat media pengenceran khamir laut dan pengamatan kepadatan sel khamir laut melalui *haemocytometer* dan mikroskop. Tahap pembuatan media pengenceran khamir laut adalah diperlukan air laut sebanyak 100 mL kemudian disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Air laut steril yang sudah dingin kemudian diambil sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 0,25% dan pupuk daun 0,1% (v:b). selanjutnya dihomogenkan dan didapat media khamir laut. Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir laut dapat dilihat pada lampiran 2 dan diagram alir pembuatan media pengenceran khamir laut dapat dilihat pada lampiran 4 selanjutnya media khamir laut dimasukkan ke dalam empat tabung reaksi dengan masing- masing tabung reaksi 9 mL diberi perlakuan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-4} . Selanjutnya pada tabung reaksi 10^{-1} yang telah berisi media khamir laut sebanyak 9 mL ditambah dengan kultur khamir laut sebanyak 1 mL yang telah diaerasi dan dihomogenkan dengan *vortex moxer*. Dari tabung reaksi 10^{-1} yang telah dihomogenkan diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} serta dihomogenkan. Langkah tersebut dilakukan sampai tabung reaksi 10^{-4} . Proses pengenceran kultur khamir laut 10^{-1} sampai 10^{-4} dapat dilihat pada gambar 2. Setelah dilakukan pengenceran sampai 10^{-4} langkah selanjutnya adalah uji kepadatan sel khamir laut menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop.



Kultur khamir laut yang telah diaerasi

Gambar 3. pengenceran kultur khamir laut 10^{-1} sampai 10^{-4}

Pengamatan kepadatan khamir laut dilakukan setiap 12 jam selama 4 hari dengan menggunakan haemocytometer pada mikroskop dengan mengambil hasil pengenceran 10^{-4} dengan menggunakan mikropipet sebanyak 0,05 mL. Kemudian diteteskan pada *haemocytometer* dan ditutup dengan cover glass. Setelah itu diamati dibawah mikroskop. Data hasil pengamatan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada lampiran 5 Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran dapat dilihat pada lampiran 6 Dan perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada lampiran 7 Dari hasil penentuan kultur khamir laut didapat pada jam ke-72 kepadatan khamir laut sebanyak $2,395 \times 10^{10}$ sel/mL. Pada jam ke-72 ini menunjukkan khamir laut melalui fase logaritmik. Sehingga pada pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus khamir laut yang digunakan sebagai substrat yaitu pada kepadatan $2,395 \times 10^{10}$ sel/mL pada jam ke-72.

3.4.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus

Pada penelitian ini menggunakan penambahan volume molase yang berbeda dan lama fermentasi yang berbeda. Perlakuan penelitian dengan berbagai variable dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perlakuan Penelitian dengan Berbagai Variabel

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

Keterangan : A : lama fermentasi 0 hari
 B : lama fermentasi 3 hari
 C : lama fermentasi 6 hari
 D : lama fermentasi 9 hari
 E : lama fermentasi 12 hari

F : molase segar 200 mL
 G : molase segar 300 mL
 H : molase segar 400 mL

Prosedur dari pembuatan hidrolisat protein adalah melakukan suatu pemecahan substrat dengan bantuan air atau H₂O dan adanya penambahan enzim untuk memecahkan substrat tersebut menjadi komponen yang lebih sederhana. Prosedur yang dilakukan dalam penelitian utama ini yaitu langkah pertama mempersiapkan bahan baku yaitu keong mas rebus. Penelitian ini mengacu pada penelitian Noviana *et al.*,(2012) dan Firdus (2005), Keong mas yang diperoleh dicuci terlebih dahulu dengan air bersih. Daging dan jerojanya dikeluarkan dari cangkang, ditiriskan kemudian dicincang. Setelah dicincang daging keong mas direndam dengan air garam 3,5% dari berat daging keong selama 30 menit. Kemudian daging keong dicuci sampai bersih. Setelah itu daging keong mas di rebus dalam waterbath dengan suhu 55°C selama ±15 menit. Pada suhu tinggi kandungan protein akan rusak sehingga nilai gizinya turun, oleh karena itu hanya digunakan suhu maksimal 60°C. kemudian daging keong mas di haluskan menggunakan penggiling daging. Tujuan dihaluskan yaitu supaya bahan baku lebih mudah bercampur dengan komponen bahan- bahan yang lain. Pada penelitian ini juga menggunakan molase (tetes tebu) segar,penambahan molase segar dengan

konsentrasi berbeda yaitu 200 mL, 300 mL, dan 400 mL. Tujuan dari perlakuan berbeda pada molase segar ini adalah untuk mengetahui tingkat efektifitas molase segar terhadap proses pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus. Selanjutnya ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 20 mL. khamir laut yang digunakan adalah inokulan khamir laut yang mengalami fase logaritmik karena fase tersebut pertumbuhan khamir laut menuju pertumbuhan tertinggi yaitu pada tingkat kepadatan khamir laut $2,395 \times 10^{10}$ sel/mL pada jam ke-72. Selain itu tujuan digunakan khamir laut yaitu sebagai starter dalam proses hidrolisis pada keong mas. Kemudian untuk membuat hidrolisat protein dilakukan proses fermentasi, dimana dilakukan pengamatan pada hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-12. Tujuan dari lama fermentasi yang berbeda yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat protein keong mas. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan analisis terhadap hasil fermentasi hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-12. Sebelum dilakukan analisis kandungan nilai gizi hidrolisat protein keong mas diperas terlebih dahulu menggunakan kain blacu. Tujuan dilakukan memerasan yaitu untuk memisahkan antara cairan dan endapan pada sampel hidrolisat protein tersebut. Setelah itu cairan hidrolisat protein dioven vakum selama ± 15 jam dengan suhu 55°C . Prinsip pengeringan dengan oven vakum menurut Legowo *et al.*, (2007) adalah mengeringkan produk yang mudah terdekomposisi pada suhu 100°C pada tempat yang dapat dikurangi tekanan udaranya atau vakum. Sehingga pengeringan dapat berlangsung pada tekanan rendah. Tujuan dari dilakukan pengovenan vakum menggunakan suhu 55°C adalah supaya tidak merusak pada kadar protein dalam hidrolisat protein. Selain itu, kadar air hidrolisat protein akan turun dan menjadi bentuk pasta. Selanjutnya dilakukan analisis kimia antara lain analisis proksimat. Selain itu dilakukan analisis pH, emulsi,

dan daya buih. Analisis tersebut adalah karakteristik fisik dari hidrolisat protein. Dari hasil hidrolisat protein terbaik tiap perlakuan fermentasi, selanjutnya dilakukan analisis total asam amino dari perlakuan terbaik. Diagram alir pembuahan hidrolisat protein keong mas dapat dilihat pada lampiran 9.

3.5 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Pada penelitian ini rancangan data yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan tiga perlakuan dan enam kelompok. Perlakuan yang digunakan adalah A= molase segar 200 mL, B= molase segar 300 mL, C= molase segar 400 mL. Serta dikelompokkan menjadi 6 kelompok yaitu kelompok hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-12. Rancangan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Model rancangan percobaan penelitian ini dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Model Rancangan Penelitian

Perlakuan	Kelompok					Total	Rerata
	Vol. Molase (mL)	0	3	6	9		
200							
300							
400							

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

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

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel 5\%}}$) maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% menggunakan Microsoft excel 2013 ntuk menentukan yang terbaik.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Rendemen

Menurut Purbasari (2008), rendemen adalah jumlah persentase sampel setelah proses berakhir, kemudian dinyatakan dalam bentuk %(persen). Rendemen produk hidrolisat protein berasal dari persentase banyaknya hasil akhir produk hidrolisat yang dihasilkan terhadap bahan baku yang sebelum melalui proses hidrolisis.

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

Keterangan : A = Berat akhir setelah proses hidrolisis (setelah diperas/
dikeringkan) (g)

B = Berat awal setelah pencampuran (g)

3.6.2 Uji Proksimat

a. Analisis Kadar Air (Legowo *et al.*, 2007)

Pengujian kadar air menggunakan metode pengeringan dalam oven (termogravimetri). Prinsip metode pengeringan dengan oven ini adalah mengeringkan sampel dengan suhu 100-105°C sampai bobot konstan dengan perhitungan selisih bobot bahan (sampel) sebelum dan sesudah pengeringan merupakan air yang teruap sehingga dapat dihitung sebagai kadar air bahan. Prosedur dan perhitungan kadar air dengan menggunakan metode pengeringan oven atau thermogravimetri adalah sebagai berikut :

- Siapkan cawan petri yang telah diberi kode sesuai kode sampel terlebih dahulu.
- Panaskan cawan petri dalam oven dengan suhu 100-105°C selama ± 1 jam.
- Ambil cawan dan masukkan dalam desikator ± 15 menit, setelah itu cawan ditimbang sebagai berat A.
- Timbang sampel sebanyak ± 5 g dalam cawan petri yang telah diketahui beratnya dan dicatat sebagai berat B.
- Keringkan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama 4-6 jam. Setelah itu singinkan dalam desikator selama ± 15 menit dan ditimbang. Panaskan lagi dalam oven dan ditimbang hingga berat konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg. kemudian masukkan dalam desikator selama ± 15 menit dan dilanjutkan dengan penimbangan yang dicatat sebagai berat C.
- Kadar air dapat dihitung menggunakan rumus wet basis (WB) sebagai berikut :

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

b. Analisis Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Analisis kadar lemak menggunakan metode goldfisch. Prinsip analisis kadar lemak yaitu ekstraksi, pemisahan lemak dari sampel dengan cara mensirkulasikan pelarut lemak ke dalam sampel, sehingga senyawa- senyawa lain tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Menggunakan metode goldfisch ini memiliki keuntungan yaitu pelarut yang sudah dipakai dapat digunakan lagi. Prosedur dan perhitungan analisis kadar lemak metode goldfisch adalah sebagai berikut :

- Timbang ± 5 g sampel kering yang halus serta pindahkan kedalam kertas saring yang dibungkus dan ditali dengan tali kasur.

- Pasang sampel pada sampel tube, merupakan gelas penyangga yang bagian bawahnya terbuka, epat dibawah kondensor alat destilasi goldfish.
- Masukkan pelarut secukupnya (paling banyak 75 mL) dalam gelas piala. Pelarut yang digunakan adalah *petroleum ether*.
- Pasang gelas piala yang sudah diisi pelarut terlebih dahulu pada kondensor sampai tepat dan tak dapat diputar lagi.
- Alirkan air pendingin pada kondensor.
- Naikkan pemanas listrik sampai menyentuh bagian bawah gelas piala dan nyalakan pemanas listrik
- Ekstraksi selama \pm 3-4 jam.
- Jika ekstraksi telah selesai, matikan pemanas listrik dan turunkan. Setelah tidak ada tetesan pelarut lagi, ambil thimble dan sisa bahan dalam gelas penyangga.
- Selanjutnya residu dioven dengan suhu 100°C sampai berat konstan. Berat residu ini dinyatakan sebagai lemak yang ada pada bahan pangan.
- Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{kadar lemak} = \frac{(\text{berat awal} + \text{berat kertas saring} + \text{berat tali kasur}) - \text{berat akhir}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$$

c. Analisis Kadar Abu (Legowo *et al.*, 2007)

Analisis kadar abu menggunakan metode gravimetri. Prinsip analisis kadar abu adalah pembakaran atau pengabuan bahan organik yang diuraikan menjadi (H₂O) dan karbondioksida (CO₂) tetapi zat anorganik atau abu tidak terbakar.

Prosedur analisis kadar abu adalah sebagai berikut :

- Cawan porseline yang digunakan terlebih dahulu dioven selama 30 menit pada suhu 100-105°C, setelah itu didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang sebagai berat A.
- Kemudian sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan sebagai berat B.
- Sampel kemudian dibakar diatas nyala pembakaran sampai tidak berasap.
- Kemudian dilakukan pengabuan sampe didalam muffle yang bersuhu 500-600°C sampai pengabuan sempurna. Lama waktu pengabuan tiap bahan berbeda- beda tergantung jenis bahan kisaran antara 2-8 jam.
- Sampel yang sudah menjadi abu didinginkan dalam desikator dan di timbang sebagai berat C.
- Kadar abu dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

d. Analisis Kadar Protein (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Analisis kadar protein menggunakan metode kjeldahl terbagi tiga bagian yaitu destruksi, destilasi, titrasi. Prinsip metode kjeldahl ini adalah menghitung jumlah protein secara empiris berdasarkan jumlah N didalam bahan. Prosedur analisis kadar proten menggunakan metode Kjeldahl adalah sebagai berikut :

- Bahan kering yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 0,2- 0,5 g dan dimasukkan kedalam labu kjeldahl.
- Ditambahkan 15 mL H₂SO₄ pekat dan dimasukkan tablet kjeldahl sebanyak 2 g sebagai katalisator.

- Didestruksi dalam ruang asam selama 2-3 jam pada suhu 370°C sampai berwarna jernih kehijauan.
- Setelah dingin ditambah aquadest 30 mL.
- Setelah itu dilakukan destilasi dan penampung destilat dalam erlen meyer yang telah diberi 50 mL H₃BO₃ dan 1 tetes indikator MO (*Metyl Orange*).
- Setelah destilasi selesai dilakukan titrasi dengan larutan H₂SO₄ 0,4 N hingga berubah menjadi warna merah muda tidak pudar.
- Kadar protein dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

e. Analisis Kadar Karbohidrat (Andarwulan *et al.*, 2011)

Analisis karbohidrat biasanya diberikan sebagai karbohidrat total *by difference*, dapat diartikan kandungan karbohidrat diperoleh dari hasil pengurangan 100% dengan % komponen lain (air, abu, lemak, protein). Rumus perhitungan kadar karbohidrat dapat dilihat dibawah ini :

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

3.6.3 Uji pH (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Uji pH dilakukan setelah pH meter dikalibrasi terlebih dahulu. Kemudian disiapkan sampel sebanyak 1 g ditambahkan dengan akuadest perbandingan 1:10 (v:v), kemudian dihomogenkan. Elektroda dibilas dengan akuadest dan dikeringkan. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam larutan sampel dan pengukuran pH dapat di set. Di tunggu beberapa detik elektroda dicelup sampai diperoleh nilai pH yang stabil.

3.6.4 Uji Kapasitas Emulsi (Rieuwpassa *et al.*, 2013)

Prinsip dari pengujian emulsi 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 air. Ada dua tipe emulsi yaitu minyak dalam air (o.w) dan emulsi dalam minyak (w/o) Prosedur pengujian emulsifikasi adalah sebagai berikut :

- Sampel ditimbang sebanyak 5 g.
- Sampel dimasukkan kedalam cuvet kemudian ditambahkan 20 mL air dan 20 mL minyak jagung
- Dihomogenisasi selama 1 menit lalu di sentrifus pada 7500 rpm selama 5 menit.
- Kapasitas emulsi dihitung menggunakan rumus

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

3.6.5 Uji Buih (Koesoemawardani *et al.*, 2001)

Daya buih dipengaruhi oleh jumlahnya protein yang terhidrolisis selama proses, tetapi tidak untuk menentukan stabilitas buih atau sebaliknya. Buih merupakan bentuk disperse koloida gas dalam cairan. Daya buih protein sangat dipengaruhi oleh sifat topografikal dan sifat kimia dari sifat permukaan protein (*surface protein*). Selain itu, sifat fisikokimia terutama dari sifat molekul proteinnya juga menentukan keberhasilan terbentuknya kondisi sifat fungsional. Prosedur pengujian daya buih adalah sebagai berikut :

- Sampel ditimbang sebanyak 1 g.

- Sampel ditambahkan ke dalam 10 mL air dan dihomogenisasi selama 1 menit
- Sampel dipindah ke dalam 25 mL beaker glass
- Dilihat kapasitas busa yang terbentuk dan dihitung kapasitas busanya dibandingkan dengan kapasitas volume awal.
- Dihitung kapasitas buih menggunakan rumus

$$\text{Kapasitas daya buih} = \frac{\text{volume busa yang terbentuk}}{\text{volume awal}} \times 100\%$$

3.6.6 Analisis Asam Amino

Prinsip dari HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) adalah menggunakan kromatografi. Kromatografi adalah suatu metode pemisahan yang berdasarkan pada perbedaan migrasi komponen antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak.

Pada prosedur HPLC, fase diam berupaserbuk berukuran μm , ditempatkan pada kolom secara mampat dengan diameter 0,5 cm dengan panjang 5-50 cm. fase gerak berupa cairan murni atau campuran ataupun larutan, untuk menggerakkan fase gerak dengan tekanan tinggi digunakan pompa.

Tahapan pengujian sampel menggunakan HPLC adalah sebagai berikut :

- a. Preparasi AccQ Four TM Reagent Kit
 1. Panaskan pemanas sampai suhu 55°C
 2. Vial 2A (AccQ Flour Reagen Powder) dipanaskan sebentar agar powder dibawah vial
 3. Masukkan 1 mL vial 2B (AccQ Flour Reagen diluent) kedalam vial 2A
 4. Tutup vial dan kocok selama 10 detik
 5. Panaskan kembali vial 2A kocok sampai powder tercampur rata

b. Preparasi sampel

- Pengenceran standart
 1. Standart asam amino H Pierce. Pengenceran dengan air sampai 10 mL
 2. Ambil 10 μ L stok standart pierce. Pengenceran dengan air sampai 10 mL
 3. $F_p = 10.000 \text{ mL} / 10 \text{ mL} = 1000x$. sehingga konsentrasi standart menjadi 2,5 n mol/mL

c. Preparasi solven

- Solven A
 1. 19 g sodium acetate
 2. 2,27 g TEA
 3. 40% phosphoric acid
 4. 5 mL CAN

Campuran 19 g sodium asetat dan 2,27 g TEA dalam 1 L air. Tambahkan 40% phosphoric acid ($\pm 6 \text{ mL}$ / lebih) sampai pH 5,1. Tambahkan 5 mL CAN

- Solven B : CAN (Acetonitrile)
- Solven C : Air

d. Preparasi sampel HPLC atau hidrolisis

1. Timbang 100 mg sampel
2. Masukkan 5 mL 6 N HCL
3. Keringkan sampel dengan nitrogen / argon
4. Tutup tabung dan masukkan oven pada suhu 112°C selama 22 jam
5. Saring sampel menggunakan 0,45 μ m kertas saring
6. Ambil sampel yang sudah disaring sebanyak 100 μ L dan diencerkan dengan miliQ water sebanyak 5 mL

e. Preparasi Sampel HPLC (*Derivatization*)

1. Ambil sampel yang sudah diencerkan sebanyak 50 μL
2. Campurkan dengan 350 μL AccQ *derivatization buffer* dan 100 μL AccQ *fluor reagen to derivatize*
3. Kocok sebentar dan masukan dalam air yang sudah dipanaskan selama 10 menit dengan suhu 55°C
4. Sampel siap diinjeksikan

f. Analisa Asam Amino

1. Nyalakan UPS
2. Nyalakan tombol di tiap-tiap masing bagian (a, b, c, dan d)
3. Nyalakan adaptor untuk *solvent manager*
4. Nyalakan computer
5. Atur kondisi kromatografi meliputi:
 - Suhu 37° C
 - Laju alir 1 mL/menit
 - *Detector fluorescence*
Eksitasi (ex) : 250 nm
Emisi (em) : 395 nm
6. Masukkan ke program total *chrom navigator*: Run → *take control* (untuk mengatur *auto sampler* dan *pump*) → flexar LC → Ok → tunggu

g. *Build Sequence*:

Create new sequence → Ok

Instrument : flexar LC

Build : *vial by vial* → Ok

h. Append new cycles

Type : Blank

Name : Blanko

of cycles : 2

Vial : 1

Method : amino acid → select

Blok semuanya → klik kanan → edit token string → clear → tokens → sample name → fill down

i. Selesai → Save as → beri nama

j. Action → set up

Set up parameters :

– Starting row : 1

– End row : 5

– Run : start run when ready

– Proceeding : suppress report/plots → ok

k. Run release control (untuk menghentikan pengaturan auto sampler dan pump)

l. Tutup TC navigator

m. Matikan computer

n. Matikan tiap masing-masing alat (a, b, c dan d)

o. Matikan UPS

Perhitungan total asam amino sebagai berikut:

Asam amino (mg/100g) =

$$\frac{\left(\frac{\text{area komponen}}{\text{area AABBA}}\right) \text{sampel} \times \text{konsentrasi standart} \times \text{BM} \times \text{tp}}{\left(\frac{\text{area komponen}}{\text{area MBA}}\right) \text{standart} \times 1.000.000 \times \text{bobot sampel} \times 1000} \times 100\%$$

3.6.7 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Prinsip HPLC yaitu menggunakan tekanan yang tinggi untuk mengirim fase gerak masuk melalui kolom ke detektor. Dengan memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan dengan besar. Metode pemisahan umum HPLC tergantung sifat polaritas senyawa dalam eluat yaitu fase diam dan fase terbalik. Pada penelitian ini menggunakan HPLC fase terbalik karena fase gerak yang digunakan bersifat polar dan fase diam bersifat non polar. Fase gerak berupa zat cair yang disebut eluen atau pelarut sedangkan fase diam berupa silika gel yang mengandung hidrokarbon panjang berupa atom karbon 18. Fase gerak pada penelitian ini menggunakan acetonitril 60%.

Analisis asam amino diawali dengan hidrolisis. Pada tahap ini, hidrolisis rantai polipeptida yang sempurna dilakukan dengan HCl 6 N pada suhu 110 °C selama 22 jam. Hidrolisis dilakukan dengan HCl karena HCl dapat memecah ikatan peptida secara sempurna dan dapat dengan mudah hilang dari hidrolisat dengan adanya penguapan. Setelah larutan di hidrolisis, hidrolisat yang diperoleh kemudian didinginkan pada suhu kamar. Kemudian isi tabung dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas. Hasil dari proses hidrolisis menghasilkan larutan hitam kecoklatan sehingga tidak bias langsung di injeksikan ke dalam HPLC. Sebelum dilakukan injeksi ke dalam alat HPLC hasil hidrolisis di filter terlebih dahulu dengan menggunakan membran filter berpori 0,45 µm. Hal ini

bertujuan untuk memisahkan asam amino dari komponen lain yang dapat mengganggu proses pada saat analisis dan menghilangkan zat yang dapat merusak kolom HPLC. Setelah proses filtrasi menggunakan membrane filter 0,45 μm , larutan akan terlihat bening dan bersih. Sampel asam amino ditambahkan dengan AABA (*Alpha Amino Butyric Acid*) sebagai internal standar. Penambahan larutan standar internal digunakan untuk mengoreksi hilangnya residu asam amino selama proses hidrolisis karena aliran atau penghancuran.

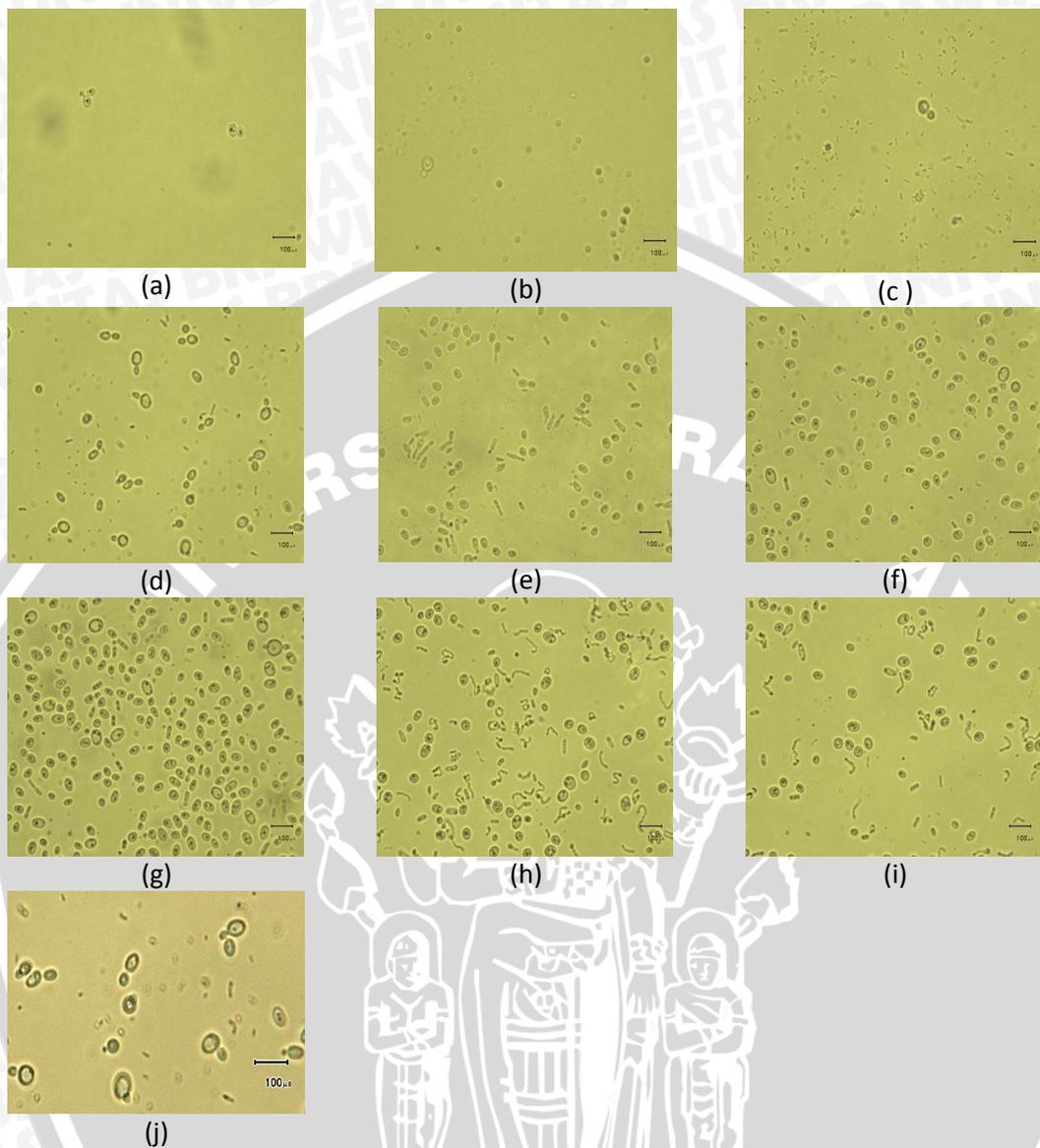
Sampel mulai diderivatisasi dengan menambahkan 70 μl AccQ fluor borate dan 20 μl reagen fluor A ke dalam 10 μl filtrat. Kemudian vortex dan didiamkan selama 1 menit serta diinkubasi pada suhu 550C selama 10 menit. Selanjutnya disuntikkan pada HPLC. Asam amino adalah senyawa yang umum tidak memiliki gugus kromofor kecuali asam amino fenilalanin, tirosin dan triptofan. Oleh karena itu dalam penelitian ini perlu dilakukan proses derivatisasi asam amino yang bertujuan agar menghasilkan derivat yang mampu berfluoresensi sehingga pengukuran menjadi lebih selektif dan sensitif. Agen penderivat dapat bereaksi dengan asam amino primer dan asam amino sekunder dan menghasilkan derivate fluoresen dengan eksitasi 250 nm dan emisi 395 nm.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

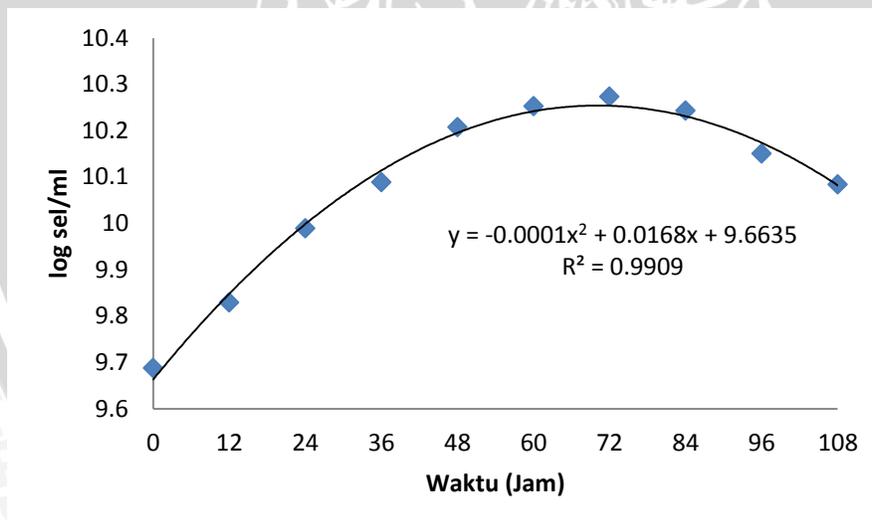
Fase logaritmik disebut juga dengan fase eksponensial dimana pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Fase logaritmik adalah fase sel khamir membelah dengan cepat dan konstan. Pada fase logaritmik kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi kandungan nutrient dan pH pada tempat medium bertumbuh. Pertumbuhan khamir laut sangat ditentukan berdasarkan tingkat kepadatannya. Menurut Novianti (2007), pada fase logaritmik kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium yaitu seperti pH, kandungan nutrien, suhu, dan kelembaban udara. Pada fase ini sel khamir laut membutuhkan energi lebih banyak dibanding fase lainnya, selain itu sel khamir paling sensitif terhadap lingkungan. Untuk melihat tingkat kepadatan sel khamir dapat dilihat dengan pengamatan melalui hemositometri pada mikroskop. Hasil mikrograf dari kepadatan khamir laut berdasarkan lama waktu kultur dengan perbesaran 1000x dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Mikrograf kepadatan khamir laut pada berbagai lama waktu dengan perbesaran 1000x,: 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), dan jam ke-108 (j).

Gambar 4 menunjukkan gambar sel khamir dapat dilihat dengan jelas yang berbentuk bulat. Menurut Sukoso (2012), sel khamir laut berbeda dengan sel bakteri atau mikroba. Sel khamir laut lebih besar dibanding dengan sel bakteri atau mikroba

jenis lain. Di dalam sel khamir laut terdapat bulatan kecil yang menempel disebut konodia. Konodia pada sel khamir menunjukkan bahwa khamir laut akan membelah melalui pertunasan. Buckle *et al.*, (1978), menambahkan bahwa proses pembelahan sel secara aseksual dengan cara pembentukan tunas. Awal pembelahan yaitu terjadi timbul suatu gelembung kecil di permukaan sel induk. Setelah itu gelembung tersebut membesar sampai mencapai ukuran yang sama dengan sel induk. Kemudian terjadi pengerutan yang melepas tunas dari sel induknya. Setelah itu sel yang terbentuk memasuki tahap pertunasan kembali. Pada fase ini disebut fase logaritmik atau fase eksponensial pada khamir laut yaitu pertumbuhan khamir laut meningkat. Pada fase ini khamir laut digunakan untuk penelitian utama sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus.



Gambar 5. Fase Pertumbuhan Khamir Laut

Gambar 5 Terlihat titik optimasi pertumbuhan khamir laut yang di amati menggunakan haemocytometri menunjukkan hasil bahwa pertumbuhan khamir laut tertinggi pada jam ke-72 dan pada jam selanjutnya mengalami penurunan yaitu pada jam ke-84 dan seterusnya. Jumlah sel khamir pada jam ke-72 menunjukkan fase

logaritmik. Menurut Tetelepa (2011), menyatakan ketersediaan nutrisi dalam media kultur menjadi faktor pembatas bila nutrisi tersebut mengalami penurunan. Kejadian tersebut dapat mengakibatkan mikroorganisme akan berhenti tumbuh tetapi tidak mati dan akan aktif lagi jika memperoleh tambahan nutrisi kembali. Pertumbuhan mikroorganisme terhenti karena songkongan nutrisi yang terkandung pada media sudah tidak memadai lagi. Sehingga terjadi kompetisi nutrisi antara mikroorganisme yang satu dengan yang lain dan akhirnya terjadi penurunan jumlah sel akibat banyak sel yang sudah tidak mendapat nutrisi. Jannah (2012), menambahkan bahwa pada hari ke-3 atau jam ke-72 khamir laut mengalami pembelahan sangat cepat. Sedangkan pada jam ke-84 pertumbuhan khamir laut mengalami penurunan atau menuju fase kematian.

4.1.2 Penentuan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi

Penentuan volume molase segar pada pembuatan hidrolisat protein keong mas bertujuan untuk mengetahui volume optimum yang akan digunakan saat penelitian utama. Percobaan penentuan volume molase dilakukan sebanyak tiga kali. Percobaan pertama menggunakan formulasi molase sebanyak 10 mL, 20 mL dan 30 mL dengan 50 g daging keong mas dan 10 mL khamir laut. Pada percobaan pertama ini mengalami pembusukan pada hari ke-2 untuk volume molase 10 mL, pada hari ke- 3 untuk volume molase 20 mL dan pada hari ke-4 untuk volume molase 30 mL. Pada percobaan pertama ini di anggap gagal karena waktu fermentasi yang sangat pendek dan ditandai terjadinya pembusukan pada produk sehingga dianggap gagal. volume molase yang ditambahkan terlalu sedikit dibandingkan daging keong mas sehingga tekstur hidrolisat protein menjadi padat. Molase berpesan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan khamir laut, apabila

volume molase yang ditambahkan sedikit, khamir laut tidak mampu mengurai substrat yang terlalu padat dan menyebabkan lama fermentasi berlangsung singkat.

Percobaan kedua menggunakan formulasi molase sebanyak 40 mL, 50 mL dan 60 ml dengan penambahan daging keong mas sebanyak 50 g dan khamir laut sebanyak 20 mL. Pada percobaan kedua terjadi pembentuhan buih atau busa berlebihan. Sehingga cairan hidrolisat protein keong mas meluber keluar wadah. Peristiwa tersebut diduga bahwa didalam daging keong tersebut masih terdapat banyak lendir. Sehingga pada saat proses aerasi perlangsung campuran formulasi daging keong, molase dan khamir laut membentuk busa. Pada percobaan kedua ini dianggap gagal karena proses fermentasi hanya bertahan satu hari saja.

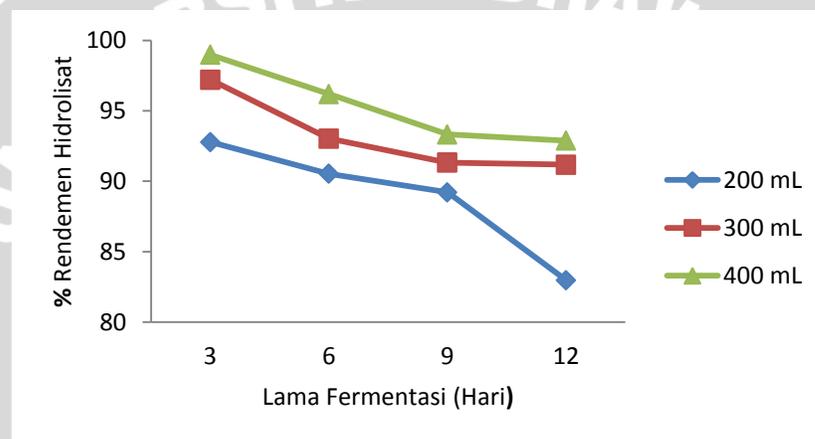
Percobaan ketiga menggunakan formulasi molase sebanyak 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan penambahan daging keong mas sebanyak 100 g dan khamir laut sebanyak 20 mL. pada percobaan ketiga ini dilakukan untuk menentukan batas bawah dalam penentuan volume molase serta lama fermentasi yang optimal untuk digunakan pada penelitian utama. Setelah dilakukan pengamatan, hasil hidrolisat protein keong mas volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL dapat bertahan sampai hari ke-12. Dan tidak terjadi pembusukan maupun keluar buih yang berlebihan. Hal tersebut dapat dilihat dari bau khas fermentasi yang dihasilkan.

Dari percobaan ketiga ini volume molase yang tepat untuk pembuatan hidrolisat protein keong mas yaitu dengan volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan lama fermentasi 3, 6, 9 dan 12 hari sehingga didapat acuan untuk melakukan penelitian utama dengan penambahan daging keong mas sebanyak 100 g dan khamir laut sebanyak 20 mL dengan kepadatan $2,395 \times 10^{10}$ sel/mL. Semakin tinggi volume molase yang digunakan maka aroma khas fermentasi dan tekstur

yang dihasilkan hidrolisat protein tidak terlalu padat dan warna hidrolisat protein keong mas semakin coklat.

4.1.3 Pengukuran Rendemen Cair Hidrolisat Protein Keong Mas

Rendemen yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan menggunakan 20 mL khamir laut dapat dilihat pada gambar 6.



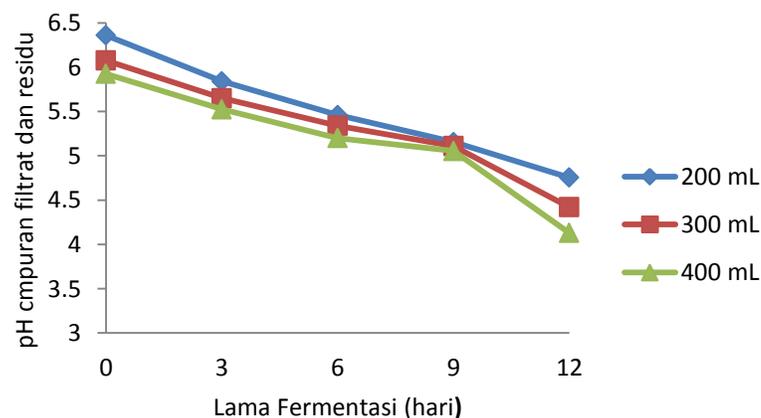
Gambar 6. Rendemen Cair Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi Berbeda.

Gambar 6. Menunjukkan bahwa rendemen cair hidrolisat protein keong mas tertinggi pada fermentasi hari ke-3. Kejadian tersebut dikarenakan pada fermentasi hari ke-3 proses hidrolisis belum berjalan maksimal sehingga rendemen cairan masih meningkat. Pada fermentasi hari selanjutnya rendemen mengalami penurunan hingga fermentasi hari ke-12. Hal tersebut diduga pada fermentasi hari ke-6, 9 dan 12 sudah terjadi proses hidrolisis oleh khamir laut. Budy (2014), Sari (2015), menyatakan bahwa rendemen cair hidrolisat protein udang vanname rebus mengalami penurunan hal tersebut diduga semakin lama fermentasi dapat menyebabkan banyaknya senyawa volatile yang terbentuk. Liawati (1992),

melaporkan bahwa aktivitas hidrolisis yang tinggi dapat menyebabkan terlarutnya protein menjadi asam amino yang akan berubah menjadi H_2O , CO_2 dan senyawa yang mengandung nitrogen (etanol, NH_3 , indol dan putresin). Maka semakin lama waktu fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa- senyawa volatile sehingga nilai rendemen cair akan mengalami penurunan.

4.1.4 Pengukuran pH Hidrolisis Protein Keong Mas

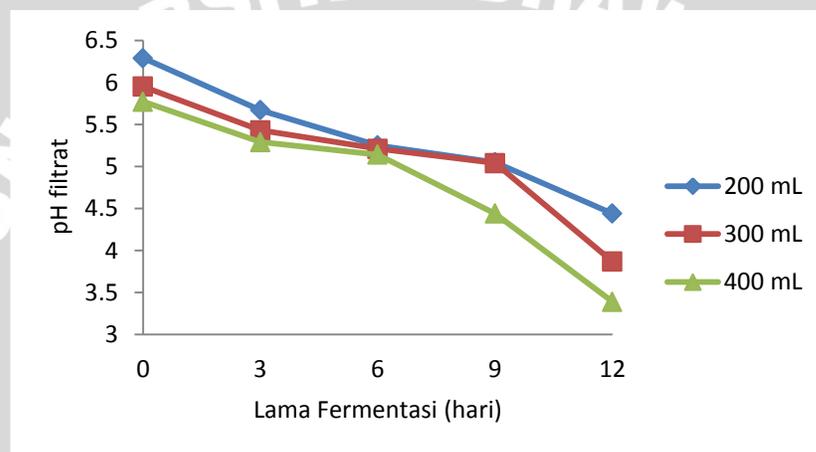
Pada penelitian ini perlu dilakukan pengukuran pH pada hasil fermentasi. pH yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan menggunakan khamir laut sebanyak 20 mL dengan kepadatan $2,395 \times 10^{10}$ sel/mL pada jam ke-72 dapat dilihat pada gambar 7, 8 dan 9 data pH hidrolisis protein keong mas dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. pH Campuran Filtrat dan Residu Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Pada Gambar 7 menunjukkan pH campuran filtrate dan residu dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH campuran filtrate dan residu untuk volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL pada fermentasi hari ke-0 masih

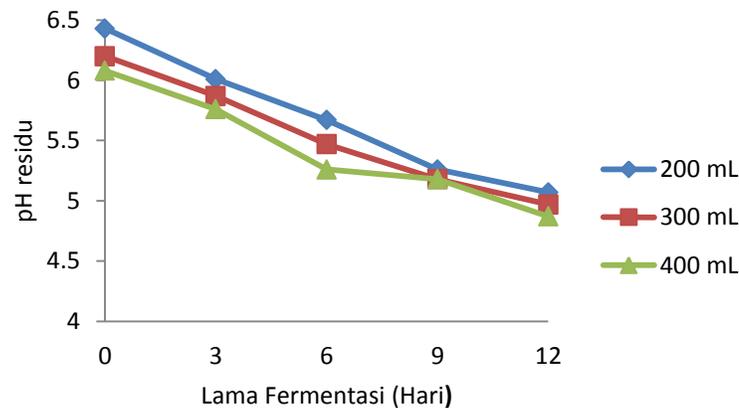
mendekati pH netrat yaitu kisaran 6,36-5,93. hal tersebut menunjukkan proses hidrolisis belum berjalan dan khamir laut belum tumbuh secara maksimal. Sedangkan pada fermentasi hari ke-12 pH campuran filtrate dan residu mengalami penurunan yaitu kisaran antara 4,76-4,13 kejadian tersebut menunjukkan sudah terjadi proses hidrolisis dan menunjukkan fermentasi berjalan dengan baik. Dan kemampuan khamir laut menghidrolisis sangat baik pada pH tersebut karena pertumbuhan khamir laut yang baik pada pH 3-6 (Oktavia *et al.*, 2012).



Gambar 8. pH Filtrat Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Pada Gambar 8 menunjukkan pH filtrat dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH filtrat pada volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL pada fermentasi hari ke-0 kisaran antara 6,29-5,77 menunjukkan bahwa fermentasi hari ke-0 belum terjadi hidrolisis dan pertumbuhan khamir laut belum maksimal sehingga pH cenderung hampir netral. Jika dibandingkan pada volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan lama fermentasi hari ke-12 pH mengalami penurunan yaitu pada kisaran 4,44-3,39. Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir laut bekerja sangat baik pada saat proses hidrolisis karena khamir laut tumbuh dengan baik pada pH 4-3. Hal tersebut dapat dimungkinkan juga karena semakin lama proses

fermentasi maka khamir laut berkembang semakin banyak sehingga dapat menghasilkan larutan fermentasi yang asam.



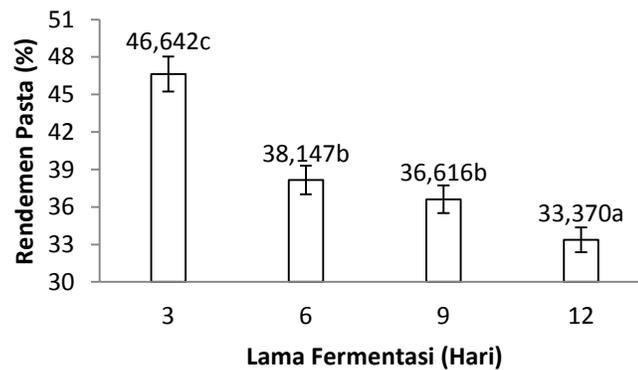
Gambar 9. pH Residu Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Pada Gambar 9 menunjukkan bahwa pH residu dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH residu pada volume 200 mL, 300 mL dan 400 mL pada hari ke-0 berkisar 6,43-6,08 menunjukkan pH hampir netral. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa pada fermentasi hari ke-0 belum terjadi proses hidrolisis dan pertumbuhan khamir laut belum maksimal. Jika dibandingkan pada volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL fermentasi hari ke-12 pH mengalami penurunan. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa pada hari ke-12 sudah terjadi proses hidrolisis sehingga pH mengalami penurunan karena cairan hasil hidrolisis berubah menjadi asam. Dan pada fermentasi hari ke-12 khamir laut sangat baik pertumbuhannya karena khamir laut tumbuh maksimal pada pH 4-3.

4.2 Penelitian Utama

4.2.1 Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas

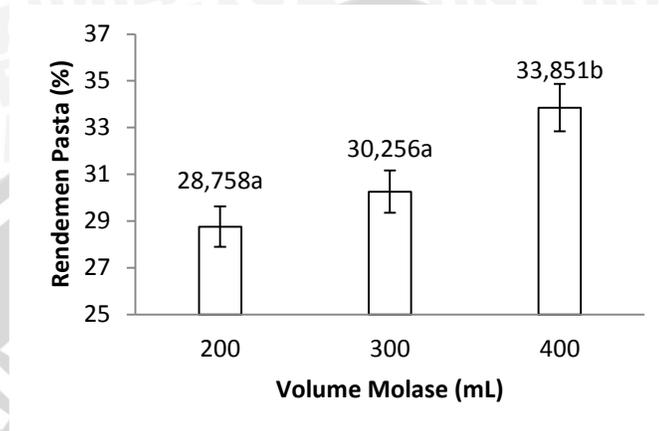
Data pengamatan dan analisis data rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Grafik rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Gambar 10 dan Gambar 11.



Gambar 10. Rata- Rata Kadar Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi Berbeda.

Gambar 10 menunjukkan bahwa rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus mengalami penurunan pada hari ke-6, 9 dan 12. Hal tersebut berbanding lurus dengan rendemen cair hidrolisat protein keong mas rebus. Proses pemastan untuk mendapatkan hidrolisat protein keong mas rebus pasta mengakibatkan komponen air berkurang dan dapat meningkatkan komponen lain seperti lemak, abu dan protein. Hidayat (2005) menyatakan bahwa proses pengeringan pada produk hidrolisat hanya bertujuan untuk menghilangkan kandungan air pada sampel. Maka rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus cenderung lebih rendah apabila

dibandingkan dengan rendemen cair hidrolisat protein keong mas rebus seiring dengan lama fermentasi.



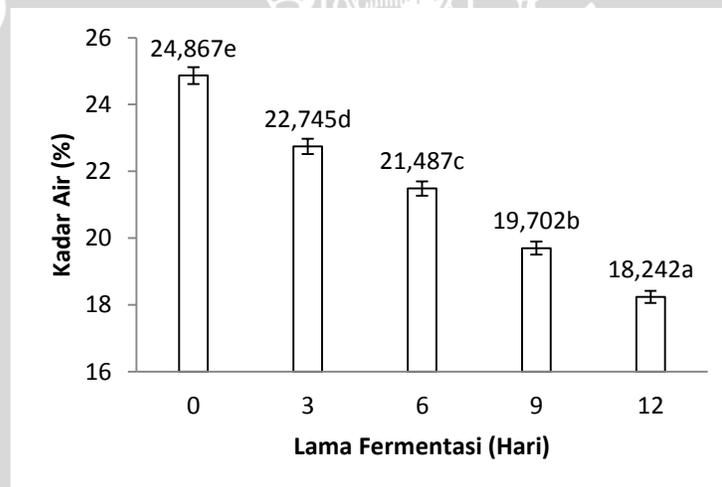
Gambar 11. Rata- Rata Kadar Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Pada Gambar 11 menunjukkan bahwa penambahan volume molase yang berbeda pada hidrolisat protein keong mas rebus terjadi kenaikan volume molase rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus. kejadian tersebut dapat dimungkinkan karena enzim protease hasil metabolit khamir laut bekerja dengan maksimal dalam menghidrolisis protein yang ada pada daging keong mas rebus maka rendemen yang dihasilkan juga meningkat. Sari (2015) melaporkan bahwa semakin banyak volume molase dalam pembuatan hidrolisat protein maka rendemen hidrolisat protein meningkat. Menurut Purbasari (2008) pada penelitiannya menyatakan bahwa nilai rendemen produk hidrolisat protein kerang mas ngur meningkat seiring dengan penambahan enzim papain. Shahidi *et al.*, (1994) menyatakan bahwa selama proses hidrolisis dapat menyebabkan terlarutnya komponen lain seperti protein, abu dan lemak yang dapat mempengaruhi kenaikan rendemen produk hidrolisat yang dihasilkan.

4.2.2 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Keong Mas

a. Kadar Air

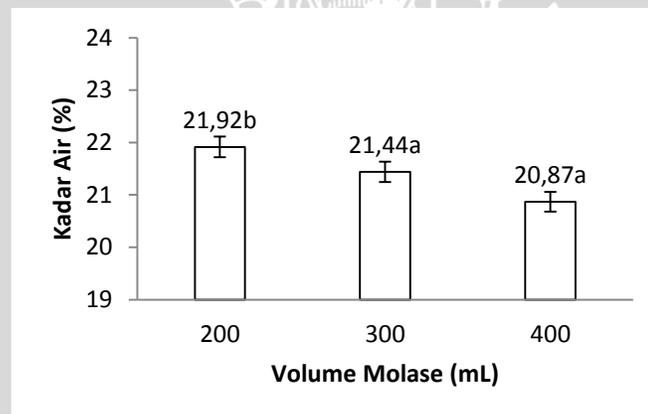
Data pengamatan dan analisis data kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar air dari pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan perlakuan lama fermentasi dan volume molase yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13.



Gambar 12. Rata- Rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi Berbeda.

Gambar 12 menunjukkan hasil kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus pada hari ke-0 atau kontrol lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan perlakuan lama fermentasi yang berbeda. Hal tersebut dikarenakan adanya pelepasan ion (H^+) dan (OH^-) saat proses hidrolisis. Penurunan kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus dikarenakan air terikat dipecah oleh mikroba menjadi air bebas yang mudah menguap. Syahputri

dan Wardani (2015) menyatakan bahwa proses fermentasi dapat menurunkan kadar air karena selama proses fermentasi berjalan terjadi perubahan air terikat menjadi air bebas yang mudah menuap. Tetapi sebelum proses fermentasi berjalan molekul air masih membentuk hidrat dengan molekul lain yang mengandung atom nitrogen, oksigen, garam, protein dan senyawa organik lainnya maka air tidak mudah menguap. Oleh sebab itu, saat proses fermentasi berjalan maka enzim- enzim mikroba memecah senyawa organik seperti (garam, karbohidrat, protein dan senyawa organik lainnya) sehingga air terikat berubah menjadi air bebas. Maka kadar air pasta hidrolisat protein dengan perlakuan lama fermentasi mengalami penurunan.



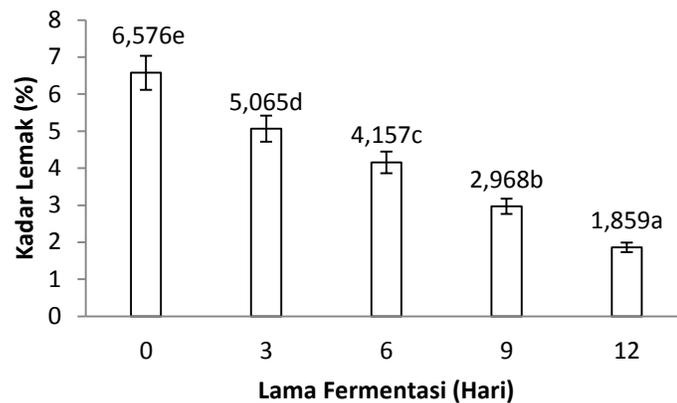
Gambar 13. Rata-Rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Pada Gambar 13 grafik menunjukkan adanya penurunan kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pelepasan ion (H^+) dan (OH^-) saat terjadi proses perombakan (hidrolisis) protein pada hidrolisat protein. Pada saat hidrolisis berlangsung, ikatan peptida terputus dan sebagai gantinya lokasi pemutusan ikatan tersebut berikatan dengan enzim melalui pengikatan oleh ion-ion positif atau negative dari molekul air (Fathony, 2014). Pusparani dan Yuwono

(2014), menyatakan bahwa kadar air hari ke-0 atau kontrol lebih tinggi dibanding produk fermentasi. Karena hidrolisat protein keong mas rebus akan meningkatkan kandungan nutrisi lainnya sehingga dapat menurunkan kadar air hidrolisat protein. Proses hidrolisis menyebabkan terlarutnya komponen lain seperti protein, lemak dan mineral. Sehingga dapat menurunkan kadar air produk hidrolisat protein. Penambahan volume molase segar menyebabkan kadar air hidrolisat protein keong mas rebus menurun. Kejadian tersebut dikarenakan pada saat dilakukan oven vakum dalam proses pembuatan pasta hidrolisat keong mas rebus, pengovenan cairan hidrolisat protein tidak merata sehingga menyebabkan kadar air berkurang. Menurut Simanjorang (2012), penurunan kadar air disebabkan oleh proses metabolisme (katabolisme) yang dilakukan oleh mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi. Proses metabolisme tersebut menghasilkan energi panas yang pada akhirnya menyerap air selama waktu fermentasi berjalan.

b. Kadar Lemak

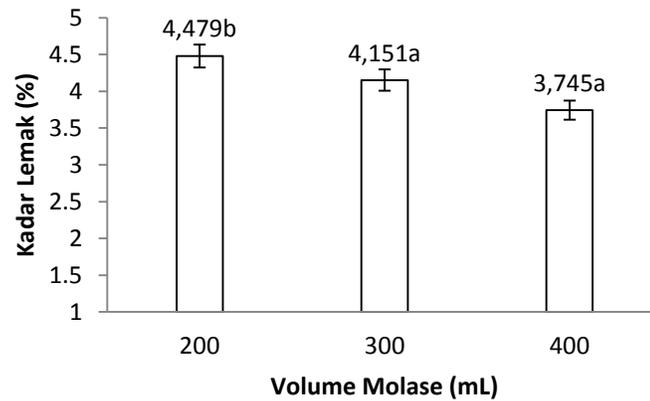
Data pengamatan dan analisis data kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata Kadar lemak dari hidrolisat protein keong mas rebus molase segar dengan perlakuan lama fermentasi volume molase yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14 dan Gambar 15.



Gambar 14. Rata- Rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 14 menunjukkan hasil kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus pada hari ke-0 atau kontrol lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan perlakuan lama fermentasi yang berbeda. Hal tersebut disebabkan oleh aktifitas khamir laut yang optimal untuk memecah lemak menjadi senyawa yang sederhana asam lemak gliserol dan asam lemak bebas sehingga menyebabkan kadar lemak pasta hidrolisat protein menurun. Noviana (2012) menyatakan bahwa turunnya kadar lemak disebabkan proses hidrolisis lemak menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas mudah mengalami kerusakan sehingga kadar lemak menurun. Purbasari (2008), menambahkan bahwa penurunan kadar lemak pada produk hidrolisat protein disebabkan saat proses hidrolisis enzimatik terjadi perubahan struktur jaringan yang sangat cepat. Karena protein myofibril banyak berkurang selama proses hidrolisis. Pada saat proses hidrolisis membran ini cenderung berkumpul dan membentuk gelembung yang tak larut, sehingga menyebabkan hilangnya membran lipid. Produk hidrolisat protein keong mas rebus dengan kadar

lemak rendah umumnya lebih stabil dan tahan lama jika dibandingkan dengan produk hidrolisat protein yang mempunyai kadar lemak tinggi.

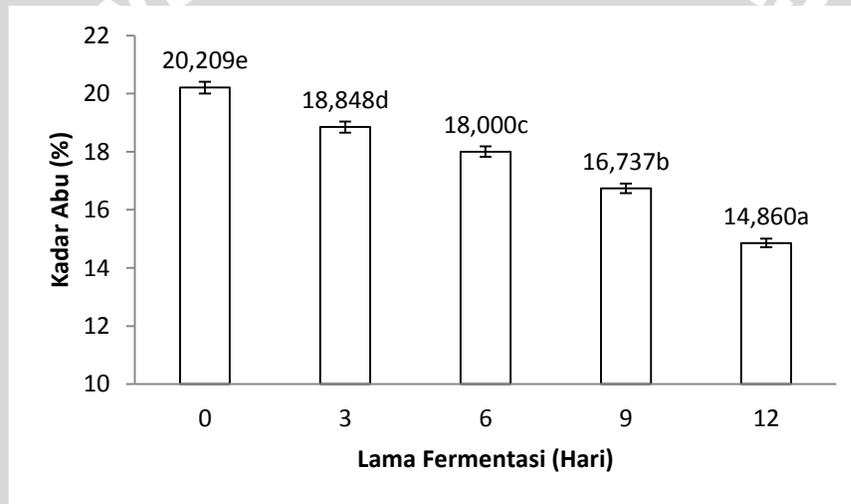


Gambar 15. Rata- Rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus yang Berbeda.

Pada Gambar 15 menunjukkan bahwa kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar yang berbeda menunjukkan adanya penurunan. Penurunan kadar lemak dimungkinkan karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan biomassa khamir yang mengakibatkan produksi enzim lipase semakin banyak untuk merombak lemak. Budy (2014), menyatakan bahwa peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan khamir laut akan semakin banyak sehingga kemampuan untuk menghidrolisis lemak juga tinggi. Pada khamir laut terdapat enzim lipase yang berfungsi untuk mendegradasi lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Dan semakin lama waktu fermentasi akan menyebabkan sumber energi dari molase akan habis sehingga khamir laut akan memecah lemak untuk memenuhi kebutuhan energi dalam pertumbuhannya.

c. Kadar Abu

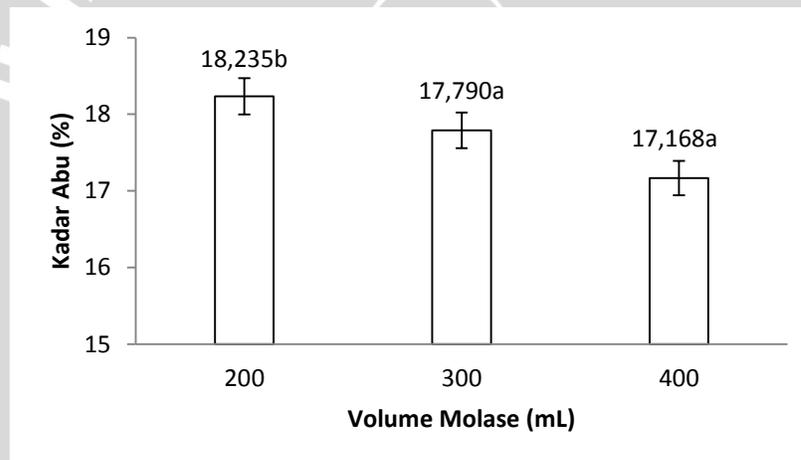
Data pengamatan dan analisis data kadar abu pasta hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar abu pasta hidrolisat protein pasta keong mas rebus. Rata-rata Kadar abu pasta dari hidrolisat protein keong mas rebus molase segar dengan perlakuan lama fermentasi dan volume molase berbeda dapat dilihat pada Gambar 16 dan Gambar 17.



Gambar 16. Rata-Rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Pada Gambar 16 menunjukkan bahwa kadar abu hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi berbeda semakin menurun dibanding dengan fermentasi hari ke-0. Hal tersebut dikarenakan kandungan bahan organik semakin meningkat. Fathony (2014) melaporkan bahwa fermentasi hari ke-0 belum terjadi hidrolisis atau degradasi terhadap unsur mineral atau unsur-unsur lain. Rahmadi (2003) menambahkan penurunan kadar abu dikarenakan adanya peningkatan bahan organik selama proses fermentasi. Hasil fermentasi BETN (bahan ekstrak tanpa nitrogen) diubah menjadi komponen organik. Peningkatan bahan organik

dapat menurunkan presentase bahan anorganik (kadar abu). Menurut Kurniati *et al.*, (2012), semakin lama waktu fermentasi kadar abu akan mengalami penurunan. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi akan terjadi peningkatan bahan organik karena terjadi proses degradasi bahan (substrat) oleh mikroba. Semakin sedikit bahan organik yang terdegradasi, maka semakin sedikit juga terjadi penurunan kadar abu. Savitri (2011), melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi dapat menyebabkan kadar abu mengalami penurunan. Hal tersebut diduga karena komponen mineral digunakan oleh khamir laut saat proses fermentasi sehingga kadar abu cenderung menurun.



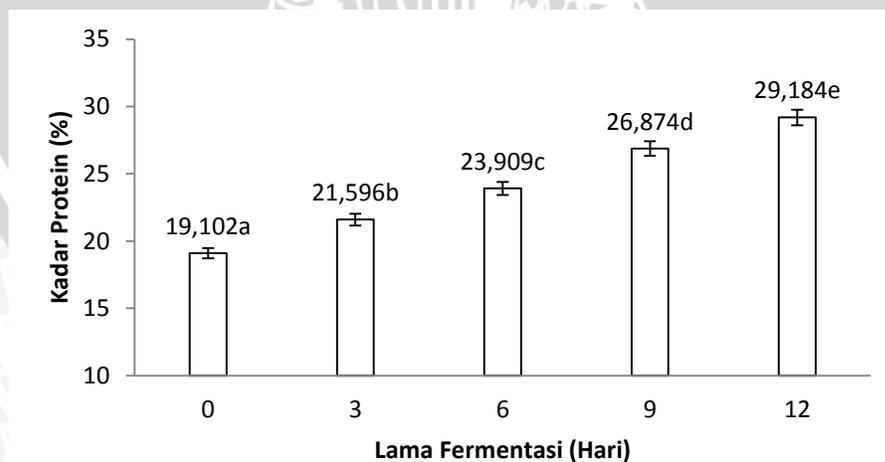
Gambar 17. Rata- Rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Pada Gambar 17 menunjukkan kandungan kadar abu pasta hidrolisat protein keong mas rebus menurun seiring dengan penambahan volume molase yang berbeda. Hal tersebut dikarenakan pemanfaatan mineral oleh substrat untuk perkembangan khamir laut. Budy (2014), melaporkan kadar abu hidrolisat protein mengalami penurunan seiring dengan penambahan volume molase yang berbeda. Hal tersebut dimungkinkan meningkatnya volume molase rebus yang ditambahkan menyebabkan bertambahnya jumlah khamir laut sehingga selama fermentasi

berlangsung banyak khamir laut yang menggunakan mineral pada molase atau daging keong mas rebus. Komponen mineral dalam molase antara lain bentuk anion (magnesium, aluminium, kalsium, nitrogen dan kalium) dan bentuk kation (silikat, sulfat, fosfat, sulfid dan klorida). Sedangkan kandungan mineral pada daging keong mas adalah mineral makro (kalsium, natrium, fosfor dan magnesium) dan mineral mikro (besi, seng, selenium dan tembaga) (Pambudi, 2011).

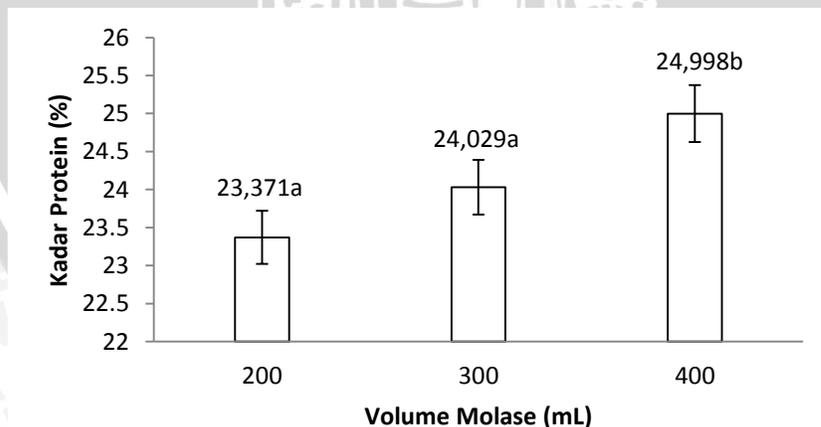
d. Kadar Protein

Data pengamatan dan analisis data kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus kontrol atau hari ke-0 yang dibandingkan dengan lama fermentasi dan volume molase berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar protein kontrol hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 18 dan Gambar 19.



Gambar 18. Rata-Rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Pada Gambar 18 menunjukkan bahwa kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus kontrol atau hari ke-0 lebih rendah apabila dibandingkan dengan kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi berbeda. Hal tersebut dimungkinkan karena pada fermentasi hari ke- 0 belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut pada bahan baku keong mas rebus. Seiring dengan lama waktu fermentasi kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas semakin tinggi dibanding dengan kontrol. Budy (2014) dan Prasetyo *et al.*, (2012) menyatakan bahwa lama waktu fermentasi hidrolisat protein menyebabkan kandungan protein semakin meningkat. Kurniawan (2012) melaporkan bahwa selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida-peptida, asam amino dan amonia. Sehingga konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein keong mas.

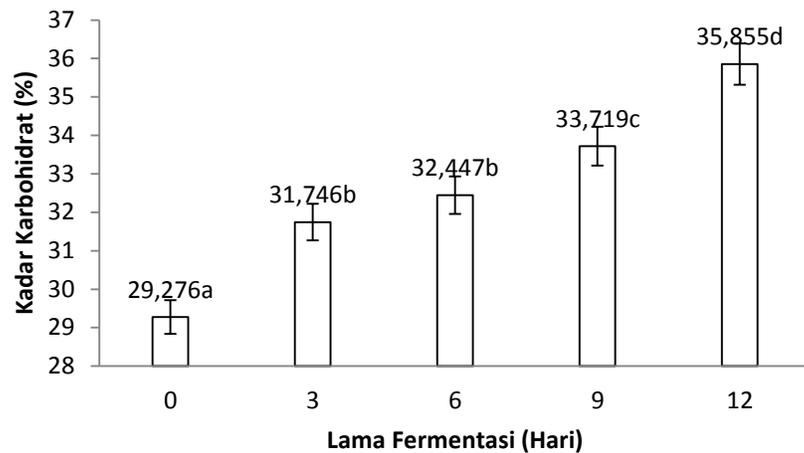


Gambar 19. Rata-Rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Pada Gambar 19 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal tersebut dikarenakan peningkatan volume molase dapat memacu pertumbuhan khamir laut. Dimana khamir laut adalah penghasil protein sel tunggal. Molase dapat juga dimanfaatkan sebagai substrat tunggal untuk pertumbuhan khamir laut sehingga memicu metabolit berupa enzim untuk menghidrolisis protein keong mas rebus. Sari (2015), menyatakan semakin banyak volume molase yang ditambah pada pembuatan hidrolisat protein maka aktivitas dari khamir laut semakin meningkat dan memicu keluarnya enzim lebih banyak. Menurut Sukoso (2012) Khamir laut dapat menghasilkan enzim proteinase. Nurul *et al.*, (2012) menambahkan bahwa penambahan molase sebagai sumber energi mikroba sehingga mikrobia dapat berkembang lebih banyak dalam proses fermentasi dan dengan bertambahnya mikrobia maka akan bermanfaat sebagai penyumbang protein kasar.

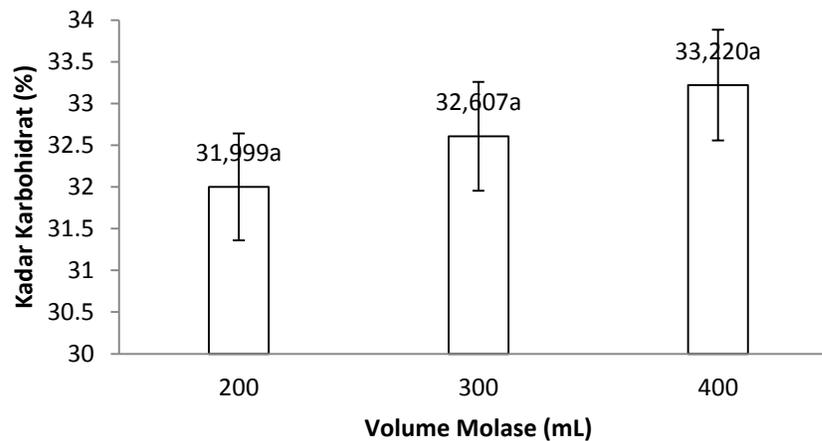
e. Kadar Karbohidrat

Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein keong mas rebus hari ke-0 atau kontrol yang dibandingkan dengan kadar karbohidrat hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi dan volume molase yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar karbohidrat hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 20 dan Gambar 21.



Gambar 20. Rata-Rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Pada Gambar 20 Menunjukkan bahwa kadar karbohidrat kontrol atau fermentasi hari ke-0 lebih rendah dibandingkan dengan hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi yang berbeda. Hal tersebut dimungkinkan pada fermentasi hari ke-0 belum terjadi hidrolisis oleh aktifitas khamir laut. Budy (2014), menyatakan bahwa fermentasi hari ke-0 belum terjadi aktifitas khamir laut. Khamir laut menggunakan media dengan penambahan molase mengalami fase log pada jam ke-48. Hal ini menunjukkan perlakuan kontrol atau fermentasi hari ke-0 belum terjadi pemecahan molase rebus untuk sumber energi khamir laut dalam pertumbuhannya sehingga karbohidrat pada fermentasi hari ke-0 kadar karbohidrat hidrolisat protein keong mas rebus menurun. Seiring dengan lama waktu fermentasi hidrolisat protein keong mas rebus semakin meningkat. Purbasari (2008), menambahkan bahwa meningkatnya kadar karbohidrat saat proses hidrolisis ini dikarenakan adanya kandungan karbohidrat ekstrak awal yang ikut larut pada saat proses hidrolisis.



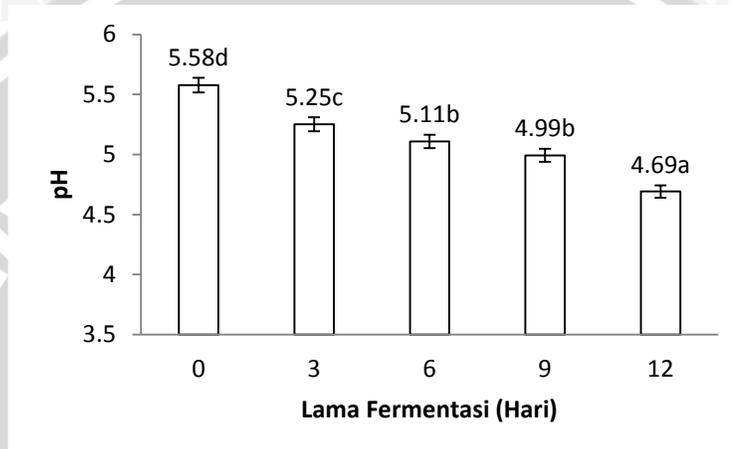
Gambar 21. Rata-Rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Pada Gambar 21 menunjukkan bahwa kadar karbohidrat dengan penambahan volume molase yang berbeda mengalami peningkatan seiring dengan semakin banyak penambahan volume molase. Kandungan karbohidrat pada molase yaitu sebesar 42-71% karbohidrat. Menurut Nurhayati *et al.*, (2014), bahwa penurunan kadar abu dan kadar lemak selama waktu fermentasi dapat meningkatkan jumlah kadar karbohidrat. Sari (2015), melaporkan peningkatan karbohidrat hidrolisat protein dapat juga dilihat dari metode perhitungan karbohidrat itu sendiri. Dalam penelitiannya perhitungan karbohidrat berdasarkan metode *by difference* dimana perhitungan tersebut tidak menghitung jumlah total karbohidrat secara utuh. Selain itu, selama proses hidrolisis karbohidrat terfraksi menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga seluruh gula sederhana ikut terdeteksi.

4.2.3 Analisis Derajat Keasaman (pH)

Data pengamatan dan analisis data pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus hari ke-0 atau kontrol yang dibandingkan dengan pH hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi dan volume molase yang berbeda dapat dilihat

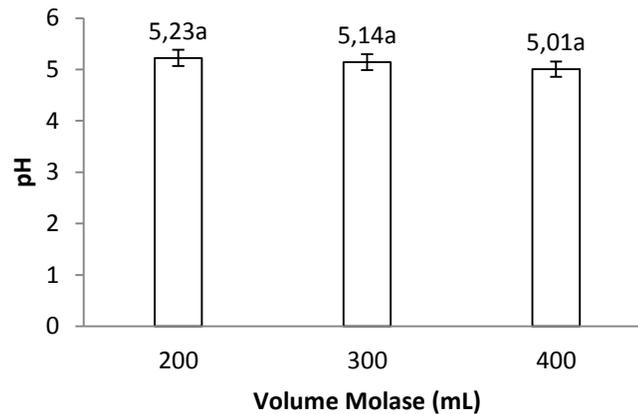
pada Lampiran 16 . Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata- rata pH hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 22 dan Gambar 23.



Gambar 22. Rata- Rata Kadar pH Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 22 Menunjukkan bahwa pH hari ke-0 lebih tinggi bila dibandingkan pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi yang berbeda. Hal tersebut dimungkinkan karena fermentasi hari ke-0 belum terjadi fermentasi yang menghasilkan asam- asam hasil dari degradasi/ hidrolisis sehingga pH masih tinggi atau mendekati netral. Semakin lama proses fermentasi maka akan semakin banyak jumlah asam yang dihasilkan sehingga pH lingkungan akan semakin menurun. Simanjorang *et al.*, (2012), menyatakan bahwa aktivitas khamir laut meningkat seiring dengan lama fermentasi dan dapat memicu pengeluaran enzim yang lebih banyak. Enzim yang banyak akan meningkatkan proses hidrolisis hidrolisat protein pada substrat yang menghasilkan peptida dan asam- asam amino sehingga pH menurun. Produk hasil samping metabolisme khamir laut dikeluarkan

dalam bentuk larutan fermentasi. pH yang didapat antara kisaran 4-5 hal tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik karena pertumbuhan khamir yang baik yaitu pada pH 3-6 (Oktavia *et al.*, 2012).

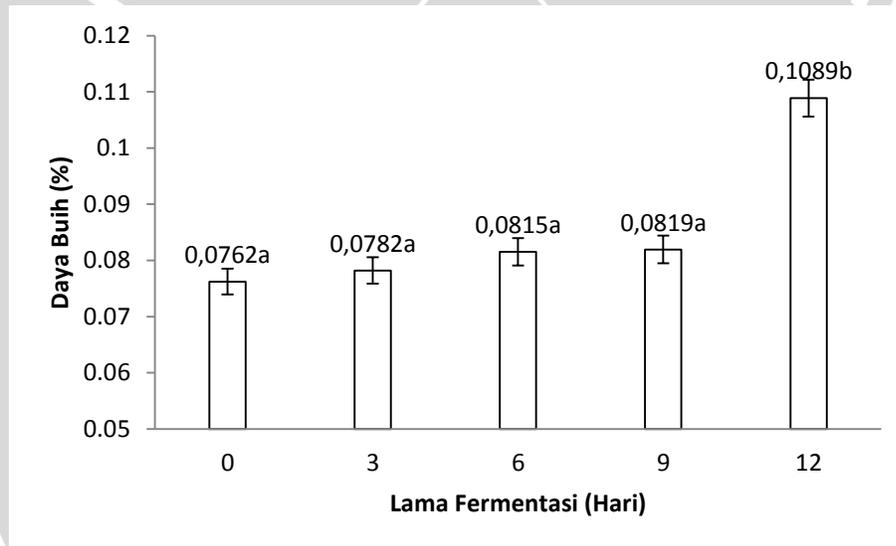


Gambar 23. Rata- Rata Kadar pH Pasta Hidrolisis Protein Keong Mas Rebus dengan Penambahan Volume Molase yang Berbeda.

Pada Gambar 23 menunjukkan bahwa semakin bertambahnya volume molase dapat menurunkan pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus. menurut Nurul *et al.*, (2013), Kejadian tersebut dapat diduga karena semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktifitas 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 laktat dan asam piruvat. Novianti (2007), menambahkan selama terbentuknya asam dari perombakan glukosa akan menghasilkan CO_2 . Terlarutnya CO_2 dalam air akan menghasilkan ion bikarbonat dan ion hydrogen menjadi asam karbonat yang menyebabkan hidrolisat protein menjadi asam seiring dengan penambahan volume molase yang berbeda.

4.2.4 Analisis Daya Buih

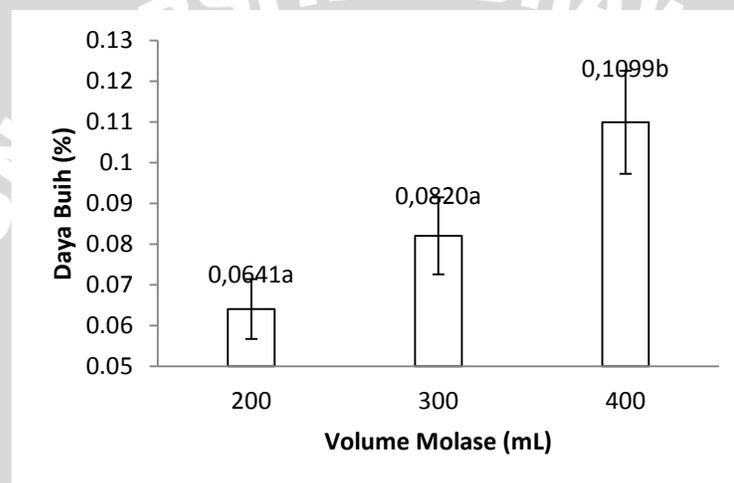
Data pengamatan dan analisis data daya buih pasta hidrolisat protein keong mas rebus hari ke-0 atau kontrol yang dibandingkan dengan daya buih hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi dan volume molase yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap daya buih pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata daya buih hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 24 dan Gambar 25.



Gambar 24. Rata-Rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Gambar 24 Menunjukkan analisis daya buih kontrol atau fermentasi hari ke-0 lebih rendah dibandingkan dengan hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi yang berbeda. Hal tersebut diduga selama proses hidrolisis terbentuk peptida hidrofobik yang dapat mengabsorpsi antara dua fase yaitu udara dan air, sehingga dapat terbentuk buih yang banyak. Dan dapat dilihat bahwa lama fermentasi berpengaruh karena semakin lama fermentasi protein semakin banyak

yang terhidrolisis sehingga semakin banyak asam amino hidrofobik yang terbentuk dan berpengaruh pada semakin banyaknya daya buih. Kadar protein berbanding lurus dengan daya buih dan berbanding terbalik dengan kapasitas emulsi. Hal tersebut berkaitan dengan sifat amfoter asam amino dimana daya buih berkaitan dengan asam amino hidrofobik. Sedangkan kapasitas emulsi berkaitan dengan asam amino hidrofobik (nonpolar) dan hidrofilik (polar) (Budy, 2014).



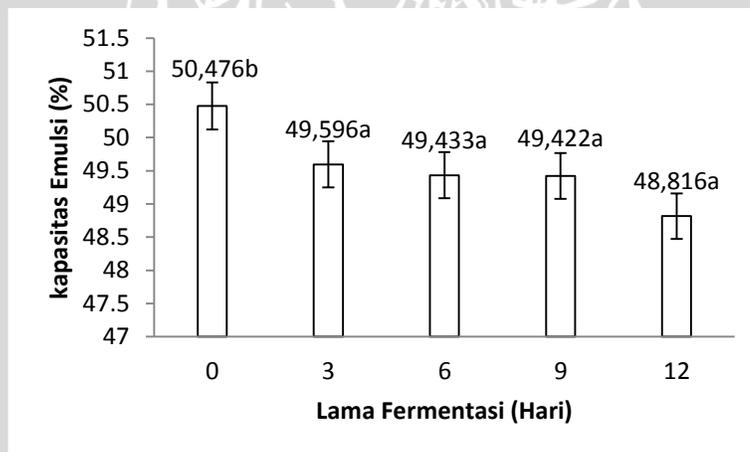
Gambar 25. Rata- Rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Penambahan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Pada Gambar 25 menunjukkan bahwa kadar daya buih hidrolisat protein semakin meningkat seiring dengan penambahan volume molase segar yang berbeda. Hal ini dimungkinkan bahwa molase dapat membantu menyediakan energi bagi khamir laut dalam proses hidrolisis protein. Siregar (2012) menyatakan bahwa kenaikan daya buih dikarenakan protein mengikat air masih kuat sehingga kestabilan buihnya tinggi. Daya buih terbentuk dari peptida hidropobik yang dapat mengabsorpsi antara dua fase yaitu fase udara dan fase air, sehingga dapat membentuk buih yang banyak. Koesoemawardhani (2011) menambahkan Jika waktu hidolisis bertambah peptida hidropobiknya berkurang dan diduga terjadi

pengurangan berat molekulnya yang dapat meningkatkan kestabilan buih yang dihasilkan.

4.2.5 Analisis Emulsi

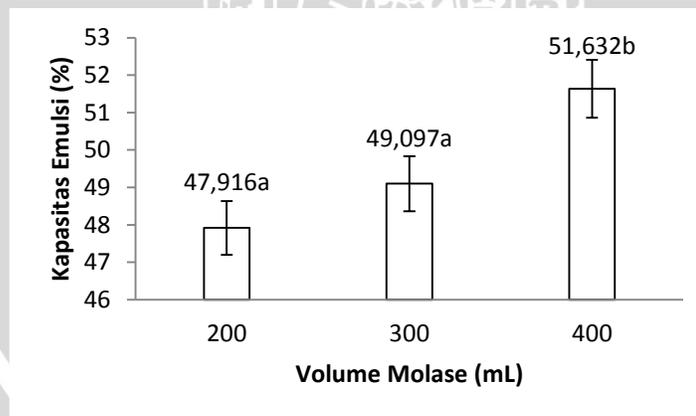
Data pengamatan dan analisis data emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus hari ke-0 atau kontrol yang dibandingkan dengan emulsi hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama fermentasi dan volume molase yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 26 dan Gambar 27.



Gambar 26. Rata-Rata Analisis Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 26 menunjukkan bahwa analisis emulsi kontrol atau fermentasi hari ke-0 lebih tinggi dibanding emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan lama waktu fermentasi yang berbeda. Hal tersebut diduga pada fermentasi hari ke-0 belum mengalami hidrolisis yang menghasilkan asam- asam amino. Suriati (2015),

melaporkan bahwa pada kapasitas emulsi hidrolisat protein kontrol cenderung lebih tinggi bila dibandingkan kapasitas emulsi hidrolisat protein dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda. Hal tersebut dimungkinkan karena hidrolisat protein kontrol memiliki asam- asam amino yang lebih banyak. Asam amino ini memiliki gugus polar (hidrofilik) dan gugus non polar (hidrofobik). Maka gugus polar asam amino akan berikatan dengan gugus non polar dari minyak, sehingga terbentuk emulsi. Penurunan emulsi dikarenakan adanya kemampuan hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan sejumlah peptida yang panjang sehingga memicu menurunkan kadar emulsi pada hidrolisat protein dan semakin rendah kadar lemak pada hidrolisat protein maka emulsi yang terbentuk akan semakin rendah. Koesoemawardani *et al.*, (2011), menyatakan bahwa asam amino hasil hidrolisis sebagian akan diserap oleh minyak yang memicu kestabilan emulsi pada jangka waktu lama fermentasi. Fathony (2014), melaporkan bahwa pada penelitiannya semakin lama waktu fermentasi maka kapasitas emulsi semakin menurun.



Gambar 27. Rata-Rata Analisis Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Penambahan Volume Molase Segar yang Berbeda.

Sedangkan pada Gambar 27 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan kapasitas emulsi hidrolisat protein keong mas rebus.

Menurut Husen (2015), melaporkan pada penelitiannya bahwa semakin banyak volume molase yang digunakan maka terjadi peningkatan kapasitas emulsi. Banyaknya volume molase yang ditambah akan menyediakan nutrisi yang semakin banyak untuk pertumbuhan khamir laut sehingga hidrolisis dapat berjalan optimal untuk menghasilkan asam amino. Sari (2015), menyatakan asam amino memiliki gugus polar (hidrofilik dan gugus non polar (hidrofobik). Sehingga gugus polar yang terdapat pada asam amino akan berikatan dengan gugus non polar pada air dan gugus non polar pada asam amino akan berikatan dengan gugus non polar pada minyak dan dapat terbentuk emulsi.

4.2.6 Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus Terbaik

Hidrolisat protein keong mas terbaik didapat berdasarkan hasil analisis uji proksimat dan parameter hidrolisat protein yaitu pada lama fermentasi 12 hari volume molase 400 mL. hasil tersebut berdasarkan kandungan protein hidrolisat keong mas yang paling tertinggi di antara perlakuan lainnya. Komposisi kimia hidrolisat protein terbaik dibandingkan dengan bahan baku dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Terbaik dibandingkan dengan Bahan Baku.

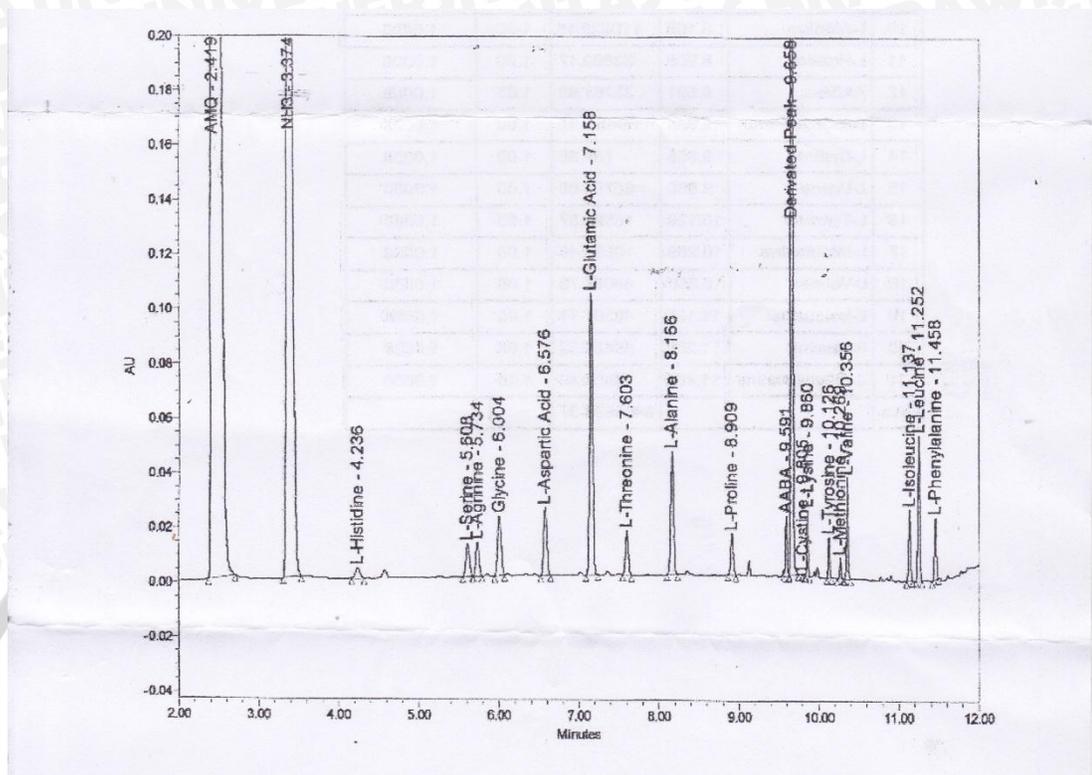
Komposisi Kimia	Daging keong mas segar*	Daging Keong Mas Rebus*	Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus
Kadar Air (%)	77,40	68,36	18,242
Kadar Lemak (%)	0,99	0,70	1,859
Kadar Abu (%)	5,44	4,40	14,860
Kadar Protein (%)	14,04	10,86	29,184
Kadar Karbohidrat (%)	-	-	35,855
pH	-	-	4,69
Kapasitas Emulsi (%)	-	-	48,816
Daya Buih (mL)	-	-	0,109

Sumber : *Dewi (2012)

Tabel 9 menunjukkan bahwa kandungan protein hidrolisat protein keong mas rebus lebih tinggi bila dibandingkan dengan bahan baku awal. Kejadian tersebut dikarenakan terjadinya proses hidrolisis protein keong mas rebus oleh khamir laut. Kenaikan protein pada hidrolisat protein diperoleh dari aktivitas enzimatik oleh khamir laut sebagai enzim protease selama waktu fermentasi berlangsung.

4.2.7 Analisis Asam Amino

Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui kandungan asam amino yang terkandung dalam hidrolisat protein keong mas rebus karena asam amino merupakan unsur penyusun protein. Analisis data total asam amino hidrolisat protein keong mas rebus dilakukan dengan metode HPLC (*High Performace Liquid Cromatogram*). Hasil kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dapat dilihat pada Gambar 29.



Gambar 29. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus

Pada Gambar 29 menunjukkan bahwa asam amino produk hidrolisat protein keong mas rebus tertinggi yaitu glutamat. Mekanisme deteksi asam amino didasarkan pada kepolarannya. Asam amino yang bersifat non polar akan tertahan lebih lama pada kolom yang bersifat non polar. Senyawa non polar akan bereaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals sehingga asam amino yang paling polar akan terelusi lebih dahulu. Lestari (2014) menyatakan bahwa didalam kolom terjadi pemisahan komponen- komponen cairan karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut- solut terhadap fase diam. Solut- solut yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih dahulu dan sebaliknya. Setiap komponen yang keluar dari kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah *peak* menyatakan jumlah

komponen sedangkan luas *peak* menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran. Analisis data total asam amino hidrolisat protein keong mas dapat dilihat pada tabel 10 yang dibandingkan dengan total asam amino tepung keong mas dan hidrolisat protein kerang mas ngur.

Tabel 10. Kandungan Asam Amino

No.	Jenis As. Amino	Kandungan Asam Amino (%)		
		Hidrolisat protein keong mas	Hidrolisat protein kerang hijau ¹	Hidrolisat kerang mas ngur ²
Esensial				
1	Histidin	0,31	1,60	1,78
2	Leusin	1,83	1,87	4,19
3	Arginin	0,84	1,12	1,096
4	Valin	0,88	1,60	2,29
5	Lisin	0,56	1,23	3,30
6	Isoleusin	0,85	0,92	4,20
7	Metionin	0,24	0,76	1,75
8	Threonin	0,82	0,79	3,29
9	Triptofan	-	-	-
10	Phenilalanin	0,85	0,68	2,27
Non Esensial				
11	Aspartat	1,96	1,89	6,78
12	Glutamat	8,56	5,54	13,08
13	Prolin	0,65	0,61	
14	Serin	0,61	1,02	1,64
15	Glisin	0,77	1,08	1,81
16	Alanin	1,73	0,97	2,47
17	Sistin	0,01	0,63	1,02
18	Tirosin	0,48	0,94	3,15
Total		21,96	23,25	54,116

Sumber : 1. Pemanfaatan kerang hijau (*Mytilus viridis*) dalam pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim papain (Amalia, 2007).

2. Produksi dan karakteristik hidrolisat protein dari kerang mas ngur (*Atactodea striata*) (Purbasari, 2008).

Tabel 10 menunjukkan bahwa asam amino yang diperoleh hidrolisat protein keong mas rebus dan molase segar dan mengandung 16-18 macam asam amino.

Hal ini dimungkinkan hidrolisis yang terjadi pada produk hidrolisat tersebut berjalan mendekati sempurna. Hidayat (2011) menyatakan bahwa hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan 18-20 macam asam amino. Namun jika dilihat dari jumlah asam amino untuk setiap jenisnya, hidrolisat protein keong mas rebus molase segar pada penelitian ini mengandung asam amino lebih rendah bila dibandingkan dengan hidrolisat lainnya. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan prosedur yang digunakan dalam pembuatan masing-masing hidrolisat protein tersebut. Perbedaan dari beberapa produk tersebut ditinjau dari enzim, lama fermentasi, dan bahan baku yang digunakan dalam pembuatan produk hidrolisat. Pada penelitian ini tidak menggunakan enzim protease murni, melainkan menggunakan khamir laut yang menghasilkan metabolit salah satunya berupa enzim protease. Sukoso (2012) melaporkan bahwa enzim yang dihasilkan oleh khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Bueno *et al.*, (2008) menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar protein atau asam-asam amino yang dihasilkan.

Asam amino yang penting dan perlu mendapat perhatian khusus yaitu asam amino esensial. Mutu protein juga dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut. Pada prinsipnya, protein yang menyediakan asam amino esensial dalam komposisinya berarti protein tersebut memiliki mutu yang tinggi dan dapat digunakan dalam kebutuhan manusia (Purbasari, 2008). Tabel 10 memaparkan bahwa terdapat 9 asam amino esensial yaitu lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonine, methionine, valin, dan phenilalanin. Selain itu juga terdapat 8 asam amino non esensial antara lain glutamat, sistin, aspartate, alanine, serin, glisin, prolin, dan tirosin. Pada produk hidrolisat hampir semua jenis asam

amino esensial dihasilkan kecuali triptofan. Hal ini dikarenakan triptofan akan mengalami kerusakan jika dianalisis pada saat proses hidrolisis asam. Untuk menganalisis asam amino tersebut harus menggunakan hidrolisis basa. Hidrolisis basa yang biasanya dilakukan menggunakan NaOH 2-4 N dan tidak merusak triptofan tetapi menyebabkan deaminasi terhadap asam amino lainnya (Hidayat, 2011).

Produk hidrolisat protein keong mas rebus molase segar dan hidrolisat lainnya, jika diamati mengandung asam amino non esensial tertinggi yaitu glutamat. Hal ini dimungkinkan karena proses analisis menggunakan hidrolisis asam yang mempunyai derajat analisis yang lebih tinggi yang menyebabkan asam amino glutamin mengalami deaminasi membentuk asam glutamat. Hidayat (2011) melaporkan bahwa pada umumnya kandungan asam amino non esensial yang paling banyak ditemukan yaitu asam glutamat, asam aspartat, alanin, dan taurin. Selain itu asam glutamat merupakan komponen penting dalam pembentukan cita rasa pada makanan hasil laut sehingga makanan terasa lebih gurih. Hidayat (2005) menambahkan bahwa asam glutamat dapat disertakan dalam menu penderita gangguan pencernaan, mempercepat penyembuhan luka pada usus, meningkatkan kesehatan mental, dan meredakan depresi. Amalia (2007) menambahkan bahwa sebagai bahan pangan, asam amino serin, glisin, alanin, serin, 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.

Kadar asam amino hidrolisat protein keong mas rebus dan molase segar lebih tinggi dibanding perlakuan hidrolisat protein keong mas segar dan molase rebus. Hal tersebut yang membedakan adalah dari kandungan nutrisi awal yang sebelum di

uji asam amino yaitu dari kadar proteinnya. Kadar protein keong mas rebus dan molase segar sebesar 29,184%, kadar protein keong mas segar dan molase rebus sebesar 26,614%, Kadar protein hidrolisat protein keong mas rebus dan molase segar lebih tinggi karena proses pengolahan seperti perebusan dapat mempengaruhi kandungan asam amino yang terdapat dalam suatu bahan pangan. Sejalan dengan berlangsungnya perebusan, protein akan mengalami denaturasi sehingga membentuk struktur yang lebih sederhana sehingga lebih mudah untuk dihidrolisis (Nurjanah *et al.*, 2008).



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian tentang pengaruh volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas hidrolisat protein keong mas rebus adalah sebagai berikut :

- Volume molase segar yang terbaik terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus adalah sebanyak 400 mL dengan kandungan nutrisi sebesar 20,92% kadar air, 3,745% kadar lemak, 17,168% kadar abu, 24,998% kadar protein, 33,220% kadar karbohidrat, pH 5,01, daya buih 0,1099%, kapasitas emulsi 51,632%.
- Lama fermentasi yang terbaik terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus adalah lama fermentasi 12 hari dengan kandungan nutrisi sebesar 18,242% kadar air, 1,859% kadar lemak, 14,860% kadar abu, 29,184% kadar protein, 35,855% kadar karbohidrat, pH 4,69, daya buih 0,1089%, kapasitas emulsi 48,816%.
- Profil asam amino terbaik pada perlakuan lama fermentasi 12 dengan penambahan volume molase 400 mL yaitu sebesar 21,96%.

5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu apabila ingin membuat hidrolisat protein keong mas rebus dapat menggunakan penambahan volume molase 400 mL dan lama fermentasi 12 hari. Perlu dilakukan pengujian kadar

protein setelah proses fermentasi (sebelum dipastakan) serta perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus menggunakan enzim protease murni dengan harapan dapat meningkatkan kandungan asam amino dalam hidrolisat protein keong mas rebus tersebut.



DAFTAR PUSTAKA

- Aditiwati, P. dan Kusnadi. 2003. Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi "Tea-Cider". *Proceedings Institut Teknologi Bandung Sains & Teknologi*. 35 A(2):147-162
- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* Untuk Ternak. *Wartazoa*. 15(1): 49-55.
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawari. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat: Jakarta
- Ardiansyah, Wiryanto, dan E. Mahajoeno. 2002. Toksisitas Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica a. juss*) Pada Anakan Siput Murbei (*Pomacea canaliculata*). *jurnal.jurusan biologi FMIPA UNS Surakarta*. Surakarta. Vol.4. No.1. Hal 29-34.
- Arifin, Z. 2008. Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro dalam System Biologi dan Metode Analisisnya. *J. penelitian dan pengembangan pertanian*. 27 (3): 99-105.
- Ariyani, F., 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.
- Bekatorou, A., C. Psarianos, and A.A. Koutinas. 2006. Production Of Food Grade Yeast. *J. Food Technol. Biotech*. 44 (3): 407-415.
- Bernadeta, P. Ardiningsih, dan I.H. silalahi. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisa Protein dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Organoleptik. *JKK*. 1(1):26-30.
- Bharathi, S., D. Saravanan, M. Radhakrishnan, and R. Balagurunathan. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Reference to Insulinase Production. *Int. J. ChemTech Res*. 3 (3): 1514-1519.
- 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.

- Buckle, K.A., R. A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wootton. 1978. Ilmu Pangan. UI press: Jakarta.
- Bueno-Solano, C., J. L. Cervantes, O. N. C. Baypoli, R. L. Garcia, N. P. A. Bante, and D. I. S. Machado. 2008. Chemical and Biological Characteristics of Protein Hydrolysates from Fermented Shrimp by-products. Article. Mexico
- Dewi, Y.P. 2012. Perubahan Kandungan Asam Lemak dan Kolesterol Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) Akibat Proses Pengolahan. Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fajarwati, S. 2002. Produksi Protein Sel Tunggal *Candida utilis* pada Media Molase dengan Penambahan Glukosa dan Urea. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fathony, A. 2011. 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. 2006. Substitusi Protein Hewani dengan Tepung Kedelai Dan Khamir Laut Untuk Pakan Patin (*Pangasius sp.*) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). J.Fish.Sci. 8(2):169-176.
- Febriani. 2001. Pemanfaatan Fungi Sebagai Sumber Protein Nabati Alternative Untuk Pertumbuhan dan Konversi Pakan Juvenile Ikan Kerapu Tikus. J. agritek. 11 (2): 2764-2769.
- _____. 2010. Penggunaan Khamir Laut Sebagai Biokatalisator dalam Pembuatan Silase Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Salah Satu Bahan Alternatif Pakan Ikan. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Hlm 775-780.
- Firdus, Muchlisin.Z.A. 2005. Pemanfaatan Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) Sebagai Pakan Alternative Dalam Budidaya Ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus tauvina*). Jurusan biologi FMIPA universitas Sylah Kuala. Banda Aceh. 5(1):64-66.
- Haslina, S. F. Muis dan Suyatno. 2004. Nilai Gizi, Daya Cerna Protein dan Daya Terima Patilo Sebagai Makanan Jajanan Yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). Jurnal Gizi Indonesia. 1(2):34-40.
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx ioptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Hidayat, T. 2011. Profil Asam Amino Kerang Bulu. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- 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.
- Jannah, A.K.2012. Pengaruh Khamir Laut Jenis Campuran yang Dipanen Pada Fase Log Dalam Menghidrolisis Protein Kerang Darah (*Anadora granosa*). Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang
- Jannah, A.M. 2010. Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi Untuk Menghasilkan Bioethanol. Jurnal teknik kimia. 17(1).
- Koesoemawardani,D. dan S. Hadiwiyoto. 2001. Produksi Hidrolisat Protein Ikan Kembung. Himpunan Makalah Seminar Teknologi Pangan Buku A. teknologi pangan dan rekayasa . Semarang.
- Kurniati, L. I., N. Aida, S. Gunawan dan T. Widjaja. 2012. Pembuatan MOCAF (Modified Cassava Flour) dengan Proses Fermentasi Menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cereviseae*, dan *Rhizopus oryzae*. Jurnal Teknik Pomits. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Vol. 1. No. 1, 1-6
- Kurniawan, S. Lestari, S. Hanggita RJ. 2012. Hidrolisat Protein Tinta Cumi (*Loligo sp.*) dengan Enzim Papain. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Sriwijaya.
- Legowo, A. M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. Analisis Pangan. Buku Ajar Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. 56 hlm.
- Lestari, S.W. 2014. Validasi Metode Penetapan Kadar Aliskiren dalam Plasma Darah Secara In Vitro Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- 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.
- Mangisah, I., Maulana, H. N., dan Sri, S. 2003. Evaluasi Nilai Nutrisi Eceng Gondok Terfermentasi *Aspergillus niger* Sebagai Alternatif Pakan. Laporan Penelitian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Muhiddin, N. H., Juli, N. dan Aryantha, I. N. P. 2001. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Kayu Melalui Proses Fermentasi. JMS, Vol.06 (01) : 11-12.
- Nagahama, T., M. Hamamoto, T. Nakse, H. Takami, and K. Hoikhosi. 2006. Distribution And Identification Of Red Yest In Deep Sea Environment Around The Northwest Pacific Ocean. J. Anthony van leuwenhoek. 80: 101-171.
- Noviana, Y.N, L. Susi dan S. Hanggita. RJ. 2012. Karakteristik Kimia dan Mikrobiologi Silase Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) dengan Penambahan Asam Format dan Bakteri Asam Laktat 3B104. Jurnal. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan . Universitas Sriwijaya. Vol 1. No. 1. November 2012
- 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.
- Nurjannah., R. Suwady., G. Pratama. 2014. Perubahan Karakteristik Asam Amino Ikan Buntal Pisang (*Tetraodon lunaris*) Perairan Cirebon Akibat Penggorengan. Department Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institute Pertanian Bogor: Bogor.
- Nurhayati, Betty, S.L., Sri, W., dan Harsi, D.K. 2014. Komposisi Kimia dan Kristalinitas Tepung Pisang Termodifikasi Secara Fermentasi Spontan dan Siklus Pemanasan Bertekanan- Pendinginan. Jurnal-agritech. Vol. 34. No. 2: 146-150.
- Nurul, A., Junus, M., dan Nasich, M. 2012. Pengaruh Penambahan Molase Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Padatan Lumpur Organik Unit Gas Bio. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Nurul, A.F, M. Junus dan M. Nasich. 2011. The Effects Of Molasses Addition On Crude Protein And Crude Fibre Content Of Biogas Sludge Solids. Student Of Animal Husbandry Faculty, University Of Brawijaya. Malang.
- Oktavia, H. T., Sri, S., Endro, S. 2012. Pemanfaatan Limbah Air Cucian Beras Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Padat Secara Fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Artikel Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Pambudi, N.D. 2011. Pengaruh Metode Pengolahan Terhadap Kalarutan Mineral Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) dari Perairan Situ Gede, Bogor. Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Pelzar ,M.J, Chan,E.C.S.2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi.UI-Press, Penerbit : Universitas Indonesia.
- Prasetyo, M. N., N. Sari dan C.S. Budiayati. 2012. Pembuatan Kecap Dari Ikan Gabus Secara Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Sari Nanas. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industry*. 1(1): 270-276.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Pertanian Bogor. Bogor.
- Pusparani, T dan Sudarminto, S. Y. 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.
- Putra, H.P., Fitri, G. N., dan N. Awaludin. 2013. Optimalisasi Waktu Fermentasi dan Penggunaan Ragi dalam Pembuatan Bioethanol dan Kulit Singkong. *Prosiding Seminar Nasional Menuju Masyarakat Madani dan Lestari*. ISBN: 978-979-9843-8-3
- Rahmadi, D. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganism Campuran Terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *Jurnal. Indonesia. Tropis. Animalia. Agric.* 28 (2): 90-94.
- Rieuwpassa, F.J.,J. Santoso, dan W. Trilaksana. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Koentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*K.pelamis*). *J. Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(2):299-309.
- Rohim, A. 2014. Pengaruh Perbedaan Penambahan Kadar Molase Rebus pada Medium Gula terhadap Biomassa Sel Khamir Laut. Skripsi .Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Shahidi, F. B. J. R. 1994. *Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie Academic and Professional. Glasgow.
- Sari, R. P. 2015. Hidrolisat Protein Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Segar Menggunakan Starter Khamir Laut dengan Molase Segar dengan Proses Fermentasi. Skripsi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang
- 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.
- Seniman, M.S.M., Yusop, S.M dan Babji,A.S.2014. Biochemical Properties and Proximate Composition Of Catfish Enzymatic Protein Hydrolysates Made Using Subtilisin.School Of Chemical Sciences And Food Technology. University Kebangsaan Malaysia. Bangi. Selangor. Malaysia.vol. 2. 15-19.

- Simanjorang, E., Nia, K., dan Zahidah, H. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Volume 3, Nomor 4: 209-220.
- Siregar, R. F., A. Hintono dan S. Mulyani. 2012. Perubahan Sifat Fungsional Telur Ayam Ras Pasca Pasteurisasi. Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang. *Animal Agriculture Journal*, Vol. 1. 2012, 512-528
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta Bekerjasama dengan Pusat Antar Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Suharto, H., Nia, K. 2009. Keong Mas, dari Hewan Peliharaan menjadi Hama Utama Padi Sawah. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi.
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB:Malang.
- Suriati S. 2015. Pengaruh Penambahan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kerang Hijau (*Perna viridis*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Susanto, Agus. 2009. Uji Kolerasi Kadar Air Kadar Abu Wateractivity dan Bahan Organic Pada Jagung Di Tingkat Petani, Pedagang Pengumpul dan Pedagang Besar. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Susanto, W. H. dan B. R. Setyohadi. 2011. Pengaruh Varietas Apel (*Malus sylvestris*) dan Lama Fermentasi oleh Khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Pra-Pengolahan Terhadap Karakteristik Sirup. *J. Teknologi Pertanian*. 12 (3): 135-142.
- Sutardi, T. 1981. Sapi Perah dan Pemberian Makanannya. Departemen Ilmu Makanan Ternak. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Syahputri, D. A dan A. K. Wardani. 2015. Pengaruh Fermentasi Jail (*Coix lacryma jobi-l*) Pada Proses Pembuatan Tepung Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Cookies dan Roti Tawar. *Jurnal pangan dan agroindustry*. 3 (3): 984-995.
- Tampoebolon. 2009. Kajian Perbedaan Aras dan Lama Pemeraman Fermentasi Ampas Sagu dengan *Aspergillus niger* Terhadap Kandungan Protein Kasar Dan Serat Kasar. Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan. 235-243 hlm.
- Tetelepta L. D. 2011. Pertumbuhan Kultur *Chlorella spp* Skala Laboratorium pada Beberapa Tingkat Kepadatan Inokulum. Prosiding Seminar Nasional: Pengembangan Pulau- Pulau Kecil.

- Wardana. 2008. Hidrolisis Protein Keong Mas (*Pomaceae canaliculata lanmarck*) Menggunakan Papain Untuk Menghasilkan Pepton. Skripsi. Program Studi Teknologi Industry Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Widadi, I.R.2011. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias mossambicus*) Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Williams.2007. Teori Pengembangan Konsep dan Aplikasi. Pustaka Belajar. Yogyakarta.
- Winarno,F.G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz. 1984. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Gramedia. Jakarta. 83hlm.
- 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
- Yuwono, S.S dan Anggraeni, Y.P. 22014. Pengaruh Fermentasi Alami pada Chips Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Terfermentasi. J. Pangan dan Agroindustri. 2 (2): 59-70
- Zhenming, C., L. Zhiqiang, G. Lingmei, G. Fang, M. Chunling, W. Xianghong, dan L. Haifeng. 2006. Marine Yeast and Their Applications in Mariculture. J. *Ocean University of China (Oceanis and Coastal Sea Research)*. 5 (3): 251-256.

Lampiran 1. Perhitungan Kultur Khamir Laut

- Air laut = 1 liter = 1000 mL
- Gula pasir 0,5%

$$= \frac{0,5}{100} \times 1000 \text{ mL} = 5 \text{ mL} = 5 \text{ cc} = 5 \text{ cm}^3 = 5 \text{ g}$$

Jadi , gula pasir yang digunakan sebanyak 5 g

- Pupuk daun 0,2%

$$= \frac{0,2}{100} \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL} = 2 \text{ cc} = 2 \text{ cm}^3 = 2 \text{ g}$$

Jadi, pupuk daun yang digunakan sebanyak 2 g

- Starter khamir laut 0,2%

$$= \frac{0,2}{100} \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL}$$

Jadi, starter khamir laut yang digunakan sebanyak 2 mL

Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut

- Air laut = 50 mL
- Gula pasir 0,25%

$$= \frac{0,25}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

Jadi, gula pasir yang digunakan sebanyak 0,125 gram

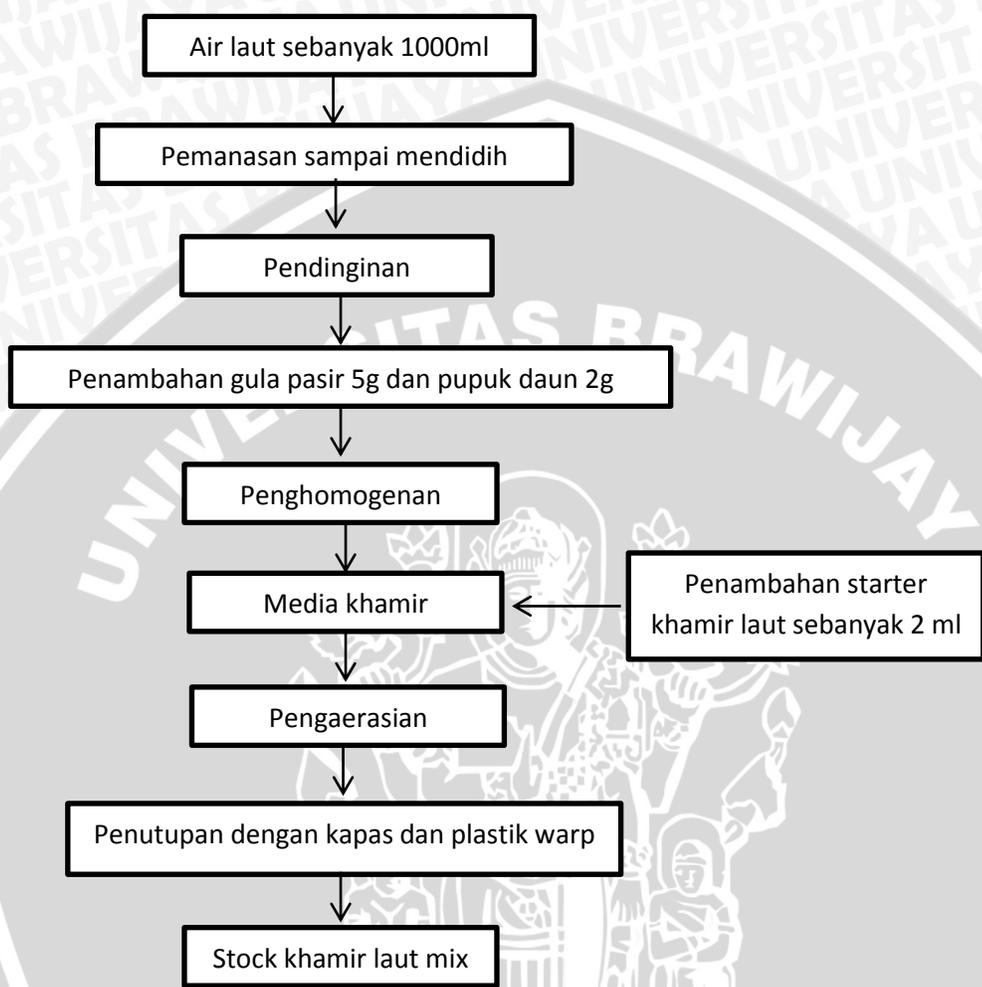
- Pupuk daun 0,1%

$$= \frac{0,1}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,05 \text{ mL} = 0,05 \text{ cc} = 0,05 \text{ cm}^3 = 0,05 \text{ gram}$$

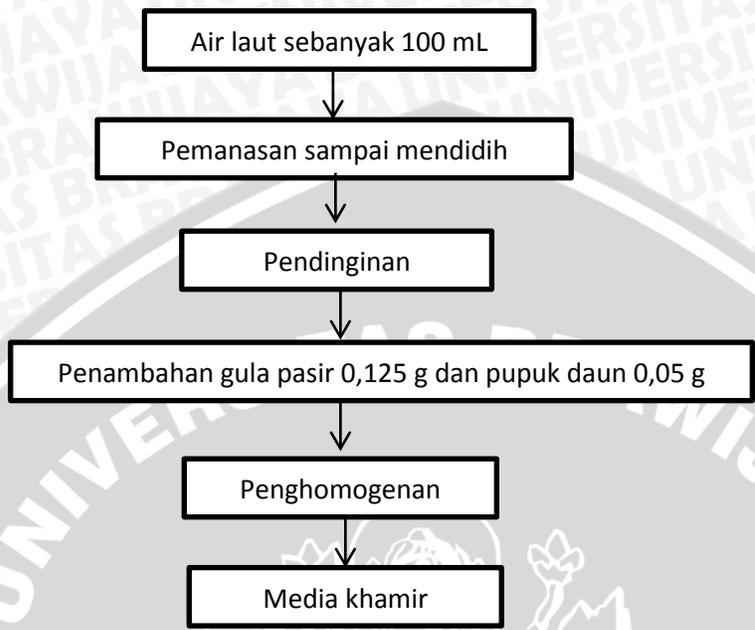
Jadi, pupuk daun yang digunakan sebanyak 0,05 gram



Lampiran 3. Diagram Alir Pembuatan Kultur Khamir



Lampiran 4. Diagram Alir Pembuatan Pengenceran Media Khamir Laut



Lampiran 5. Data Pengamatan Kepadatan Sel Khamir

Kolom	Jam ke									
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108
pojok kanan atas	6	17	13	13	20	29	31	25	33	16
pojok kiri bawah	19	13	18	21	22	20	25	21	17	26
pojok kiri atas	1	5	24	23	32	38	29	21	20	25
pojok kiri bawah	2	2	5	26	29	30	35	26	28	11
tengah	11	17	18	15	26	26	30	47	15	19
jumlah	39	54	78	98	129	143	150	140	113	97
jumlah sel (kotak sedang)	7.8	10.8	15.6	19.6	25.8	28.6	30	28	22.6	19.4
jumlah sel/ml	1.95	2.7	3.9	4.9	6.45	7.15	7.5	7	5.65	4.85
jumlah sel/ml 10 ¹⁰	5.E+09	7.E+09	1.E+10	1.E+10	2.E+10	2.E+10	2.E+10	2.E+10	1.E+10	1.E+10
log sel	9.68797462	9.829304	9.989005	10.08814	10.2075	10.25225	10.273	10.24304	10.14999	10.08368

Lampiran 6. Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Saat Pengenceran

Pengamatan Jam ke-0

Hasil kepadatan sel khamir laut pada pengenceran 10^{-4} menggunakan hemositometer pada mikroskop dan pengambilan sampel menggunakan mikropipet ukuran 50 mikrolit = 0,05 mL yaitu 10,0414 sel

$$0,05 \text{ mL} \approx 10,0414 \text{ sel}$$

$$5 \text{ mL} = 1004,14 \text{ sel}$$

$$1 \text{ mL} = 200,828 \text{ sel}$$

$$1 \text{ tabung reaksi} = 10 \text{ mL} \approx 2008,28 \text{ sel (tabung } 10^{-4}\text{)}$$

$$10^{-3} = 20082,8 \text{ sel}$$

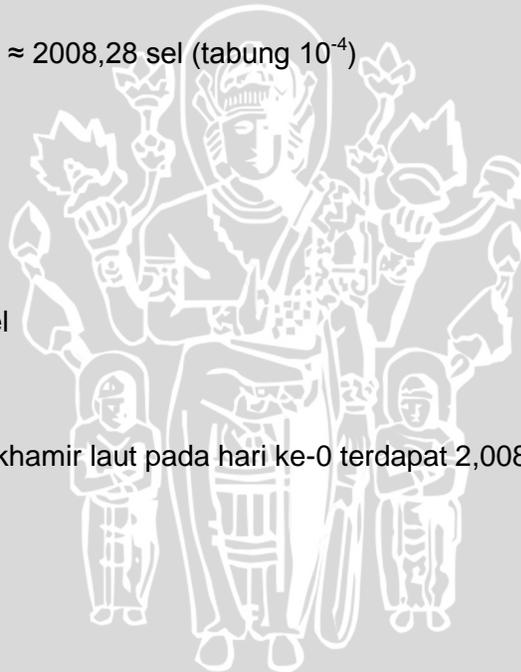
$$10^{-2} = 200828 \text{ sel}$$

$$10^{-1} = 2008280 \text{ sel}$$

$$1 \text{ mL} = 2,00828 \times 10^6 \text{ sel}$$

$$1 \text{ Lt} = 2,00828 \times 10^9 \text{ sel}$$

Jadi dalam 1 liter kultur khamir laut pada hari ke-0 terdapat $2,00828 \times 10^9$ sel khamir laut.



Lampiran 7. Perhitungan Data Kepadatan Sel Khamir

Luas kotak sedang = p x l

= 0,2 x 0,2

= 0,04 mm²

Volume kotak sedang = 0,04 mm² x 0,1 mm

= 0,004 mm³

Karena 1 mL = 1 cm³

Maka = 0,004 mm³

= 0,000004 cm³

= 4 x 10⁻⁶ mL

Rumus kotak sedang :

Jumlah sel/mL = jumlah sel x (1/4) x 10⁶ x faktor pengenceran

Jam ke-0

Jumlah sel/mL = 7,8 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 1,95 x 10¹⁰

Log sel/mL = 9,687

Jam ke-12

Jumlah sel/mL = 10,8 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 2,7 x 10¹⁰

Log sel/mL = 9,829

Jam ke-24

Jumlah sel/mL = 15,6 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 3,9 x 10¹⁰

Log sel/mL = 9,989

Jam ke-36

Jumlah sel/mL = 19,6 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 4,9 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,088

Jam ke-48

Jumlah sel/mL = 25,8 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 6,45 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,207

Jam ke-60

Jumlah sel/mL = 28,6 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 7,15 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,252

Jam ke-72

Jumlah sel/mL = 30 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 7,5 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,273

Jam ke-84

Jumlah sel/mL = 28 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 7 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,243

Jam ke-96

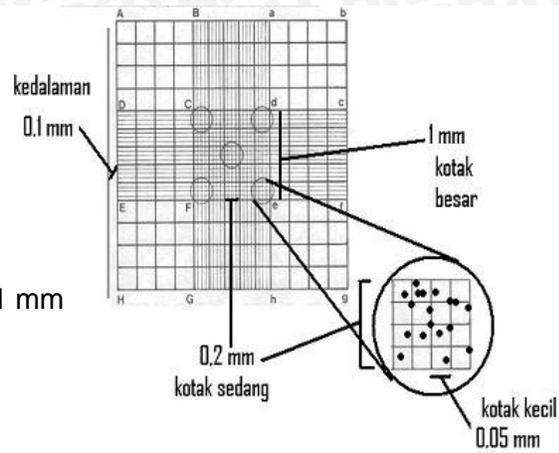
Jumlah sel/mL = 22,6 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 5,65 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,15

Jam ke-108

Jumlah sel/mL = 19,4 x (1/4) x 10⁶ x 10⁴
= 4,85 x 10¹⁰

Log sel/mL = 10,083



Lampiran 8. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi

• **Percobaan pertama**

Menggunakan formulasi sebagai berikut :

Volume molase : 10 mL, 20 mL, 30 mL

Daging keong mas rebus : 50 g

Khamir laut : 10 mL

Foto Penelitian	Keterangan
	<p>HPI dengan molase segar 10 mL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fermentasi bertahan 1 hari • Berwarna coklat muda • Bau busuk • Tumbuh jamur
	<p>HPI dengan molase segar 20 mL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fermentasi bertahan 2 hari • Berwarna coklat • Tumbuh jamur • Bau busuk
	<p>HPI dengan molase segar 30 mL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fermentasi bertahan 4 hari • Berwarna coklat • Bau busuk • Tumbuh jamur

- **Percobaan kedua**

Menggunakan formulasi sebagai berikut :

Volume molase segar : 40 mL, 50 mL, 60 mL

Daging keong mas rebus : 50 g

Kultur khamir laur : 10 mL

Foto Penelitian

Keterangan

HPI dengan volume molase 40 mL, 50 mL, dan 60 mL

Fermentasi hari pertama :

- Bau molase
- Berwarna coklat
- Volume molase tetap

HPI dengan volume molase 40 mL, 50 mL, dan 60 mL

Fermentasi hari kedua :

- Pada fermentasi hari kedua hidrolisat keong mas rebus dengan penambahan molase segar mengalami kegagalan. dikarenakan terbentuk buih berlebihan pada hidrolisat protein keong mas rebus.

- **Percobaan Ketiga**

Menggunakan formulasi sebagai berikut :

Volume molase segar : 200 mL, 300 mL dan 400 mL

Daging keong mas rebus : 100 g

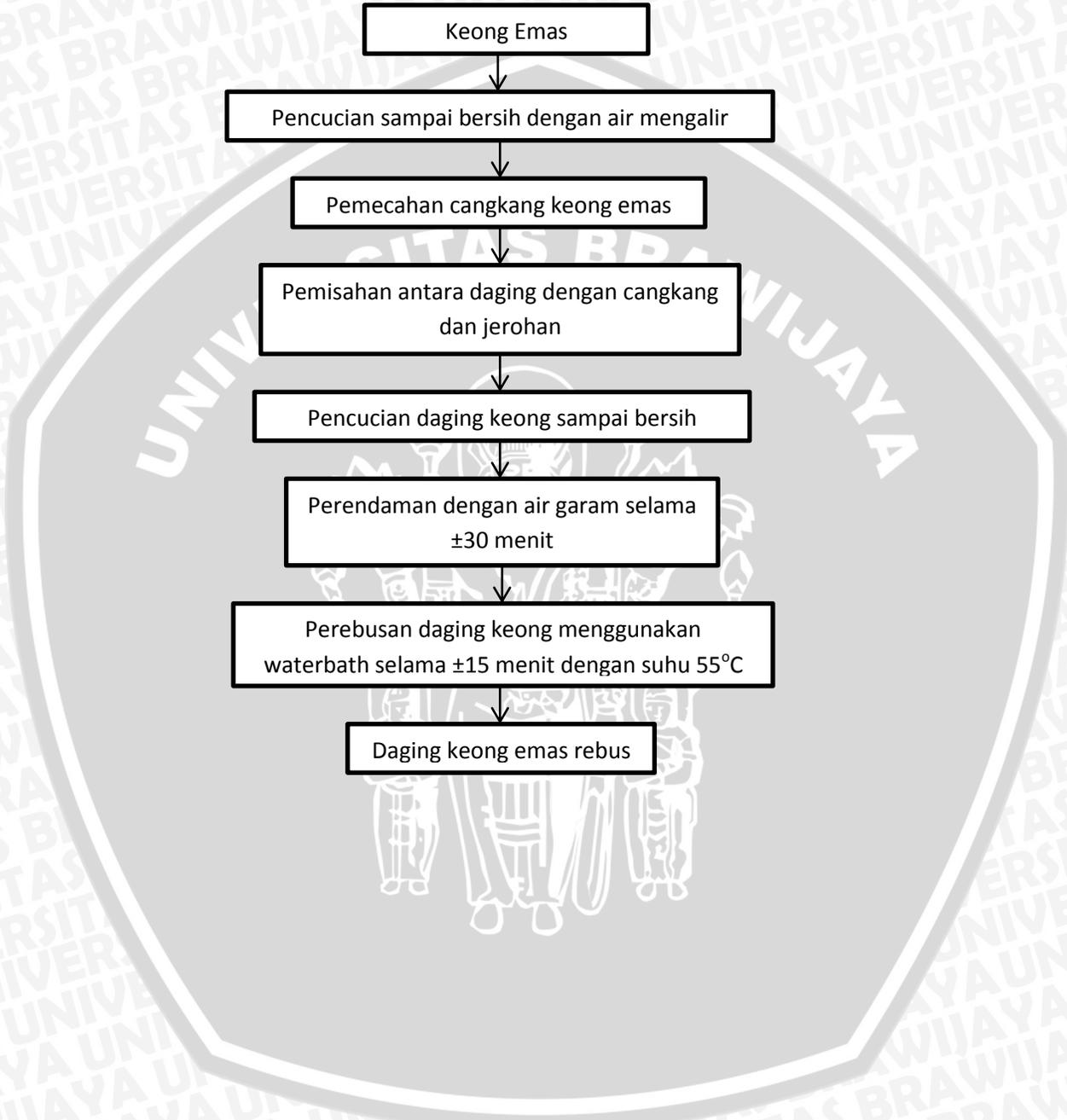
Kultur khamir laut : 20 mL

Foto penelitian	Keterangan
	<p>HPI keong mas rebus volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pada hidrolisat protein keong mas rebus dengan volume molase segar 200 mL, 300 mL dan 300 mL bertahan hingga fermentasi hari ke 12 hari dengan bau khas fermentasi dan berwarna coklat pekat.

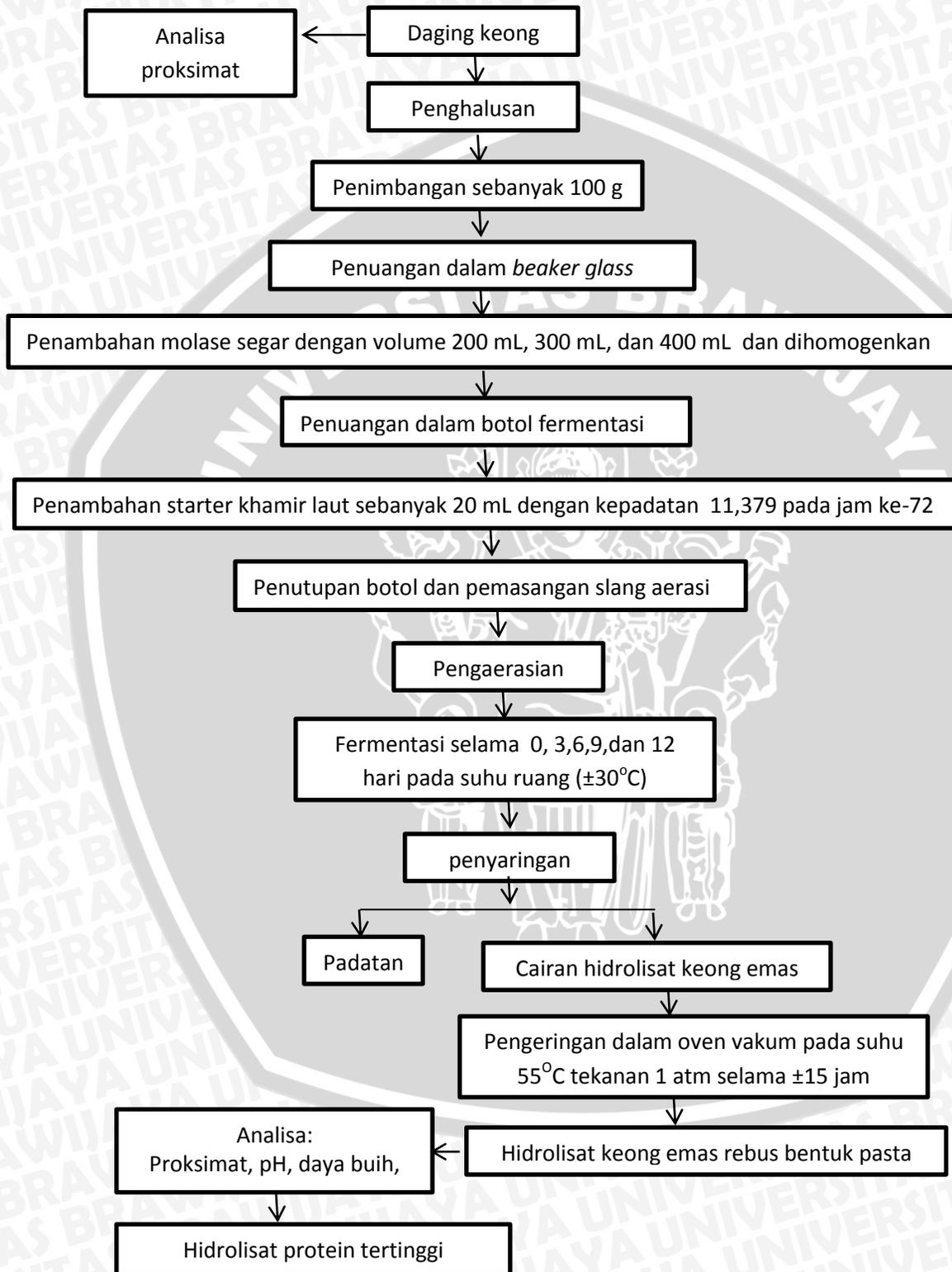


Lampiran 9. Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein

- Pembersihan daging keong mas rebus



- Hidrolisat Protein keong mas rebus molase segar



Lampiran 10. Data Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Lama fermentasi	Perlakuan Vol molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
		I	II	III			
3 hari	200	43,94	45,83	44,68	13,44	44,68	0,95
	300	45,26	46,34	45,88	137,48	45,88	0,54
	400	49,26	49,32	49,29	147,86	49,29	0,03
6 hari	200	36,12	36,24	36,18	108,53	36,18	0,06
	300	37,55	38,39	37,97	113,91	37,97	0,42
	400	40,21	40,38	40,29	120,88	40,29	0,09
9 hari	200	33,72	33,66	33,69	101,06	33,69	0,03
	300	35,42	35,61	35,51	106,54	35,51	0,09
	400	39,66	41,65	40,64	121,94	40,19	1,00
12 hari	200	28,69	29,53	29,11	87,34	29,11	0,42
	300	31,55	32,39	31,98	95,91	31,98	0,42
	400	38,62	39,43	39,03	117,09	39,03	0,41

Perlakuan	Kelompok				Total
	3	6	9	12	
200 mL	134,44	108,53	101,06	87,34	431,37
300 mL	137,48	113,91	106,54	95,91	453,84
400 mL	147,86	120,88	121,94	117,09	507,77
Total	419,78	343,32	329,54	300,33	1392,98

FK	53899,81
JK Total	1164,05
JK Perlakuan	256,94
JK Kelompok	865,23
JK Galat	41,89

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	3	54765,03	18255,01	13075,09	2,71	4,07	Beda nyata
PERLAKUAN	2	54156,74	27078,37	19394,79	3,34	5,45	Beda nyata
GALAT	30	41,88	1.396,67				
TOTAL	35	1164,05					

Perlakuan	Hari				Total	Rerata	S.Dev
	3	6	9	12			
200 mL	44,81	36,18	33,69	29,11	143,79	28,76	6,60
300 mL	45,83	37,97	35,51	31,97	151,28	30,26	5,88
400 mL	49,29	40,29	40,65	39,03	169,26	33,85	4,70
Total	139,93	114,44	109,85	100,11	464,33		
Rerata	46,64	38,15	36,62	33,37			
S.Dev	2,34	2,06	3,61	5,10			

Nilai t tabel	2,042
BNT 5%	1,970

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	Notasi
		33,37	36,62	38,15	46,64	
12 hari	33,37	0	0	0	0	a
9 hari	36,62	3,25	0	0	0	b
6 hari	38,15	4,78	1,53	0	0	b
3 hari	46,64	13,27	10,03	8,50	0	c

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		28,76	30,26	33,85	
200 mL	28,76	0	0	0	a
300 mL	30,26	1,50	0	0	a
400 mL	33,85	5,09	3,60	0	b

Lampiran 11. Data Kadar Air Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	Lama Fermentasi	Vol Molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
			I	II	III			
0 hari		200	25,74	25,34	25,54	76,61	25,54	0,20
		300	25,15	24,04	24,59	73,78	24,59	0,56
		400	25,00	23,95	24,47	73,41	24,47	0,52
3 hari		200	22,37	23,95	23,16	69,47	23,16	0,79
		300	21,87	23,85	22,87	68,59	22,86	0,99
		400	21,61	22,82	22,22	66,64	22,21	0,61
6 hari		200	21,57	22,82	22,20	66,58	22,19	0,62
		300	21,42	21,52	21,47	64,41	21,47	0,05
		400	20,53	21,07	20,80	62,39	20,80	0,27
9 hari		200	19,74	20,33	20,03	60,10	20,03	0,30
		300	19,43	20,09	19,76	59,27	19,76	0,33
		400	18,95	19,68	19,32	57,94	19,31	0,36
12 hari		200	18,89	18,42	18,66	55,97	18,66	0,23
		300	18,84	18,21	18,52	55,56	18,52	0,31
		400	17,36	17,74	17,55	52,64	17,55	0,19

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	76,61	69,47	66,58	60,10	55,97	328,74
300 mL	73,78	68,59	64,41	59,27	55,56	321,61
400 mL	73,41	66,64	62,39	57,94	52,64	313,04
Total	223,80	204,71	193,38	177,32	164,17	963,38

FK	20624,60
JK Total	256,79
JK Perlakuan	8,24
JK Kelompok	240,27
JK Galat	8,28

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	240,27	60,07	275,70	2,62	3,86	Beda nyata
PERLAKUAN	2	8,24	4,12	18,91	3,25	5,21	Beda nyata
GALAT	38	8,28	0,22				
TOTAL	44	256,79					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	25,54	23,16	22,19	20,03	18,66	109,58	21,92	2,69
300 mL	24,59	22,86	21,47	19,76	18,52	107,20	21,44	2,41
400 mL	24,47	22,21	20,80	19,31	17,55	104,35	20,87	2,66
Total	74,60	68,24	64,46	59,11	54,72	321,13		
Rerata	24,87	22,75	21,49	19,70	18,24			
S.Dev	0,58	0,48	0,70	0,36	0,60			

Nilai t tabel	2,024
BNT 5%	0,771

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		18,24	19,70	21,49	22,75	24,87	
12 hari	18,24	0	0	0	0	0	a
9 hari	19,70	1,46	0	0	0	0	b
6 hari	21,49	3,24	1,78	0	0	0	c
3 hari	22,75	4,50	3,04	1,259	0	0	d
0 hari	24,87	6,63	5,17	3,381	2,12	0	e

Perlakuan	Rataan	400 mL	300 mL	200 mL	Notasi
		20,87	21,44	21,92	
400 mL	20,87	0	0	0	a
300 mL	21,44	0.57	0	0	a
200 mL	21,92	1.05	0.48	0	b

Lampiran 12. Data Kadar Lemak Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	Ulangan	Total	Rata-rata	SD			
					Lama Fermentasi	Vol Molase	I
0 hari	200	6,84	6,60	6,72	20,16	6,72	0,12
	300	6,71	6,57	6,64	19,92	6,64	0,07
	400	6,08	6,66	6,37	19,11	6,37	0,29
3 hari	200	5,71	5,72	5,71	17,14	5,71	0,00
	300	5,21	4,50	4,85	14,56	4,85	0,36
	400	4,81	4,45	4,63	13,88	4,63	0,18
6 hari	200	4,79	4,18	4,48	13,45	4,48	0,31
	300	4,52	4,05	4,28	12,85	4,28	0,24
	400	4,24	3,17	3,70	11,12	3,71	0,54
9 hari	200	3,06	3,14	3,10	9,30	3,10	0,04
	300	3,13	3,01	3,07	9,21	3,07	0,06
	400	2,71	2,76	2,73	8,20	2,73	0,02
12 hari	200	2,01	2,75	2,38	7,13	2,38	0,37
	300	1,18	2,65	1,92	5,74	1,91	0,74
	400	1,06	1,51	1,28	3,86	1,29	0,22

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	20,16	17,14	13,45	9,30	7,13	67,18
300 mL	19,92	14,56	12,85	9,21	5,74	62,27
400 mL	19,11	13,88	11,12	8,20	3,86	56,17
Total	59,19	45,59	37,41	26,71	16,73	185,62

FK	765,70
JK Total	128,38
JK Perlakuan	4,06
JK Kelompok	120,31
JK Galat	4,01

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	120,31	30,08	285,01	2,62	3,86	Beda nyata
PERLAKUAN	2	4,06	2,03	19,24	3,25	5,21	Beda nyata
GALAT	38	4,01	0,11				
TOTAL	44	128,38					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	6,72	5,71	4,48	3,10	2,38	22,39	4,48	1,79
300 mL	6,64	4,85	4,28	3,07	1,91	20,76	4,15	1,79
400 mL	6,37	4,63	3,71	2,73	1,29	18,72	3,74	1,92
Total	19,73	15,20	12,47	8,90	5,58	61,87		
Rerata	6,58	5,07	4,16	2,97	1,86			
S.Dev	0,18	0,57	0,40	0,20	0,55			

Nilai t tabel	2,024
BNT 5%	0,536

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		1,86	2,97	4,16	5,07	6,58	
12 hari	1,86	0	0	0	0	0	a
9 hari	2,97	1,11	0	0	0	0	b
6 hari	4,16	2,30	1,19	0	0	0	c
3 hari	5,07	3,21	2,10	0,91	0	0	d
0 hari	6,58	4,72	3,61	2,42	1,51	0	e

Perlakuan	Rataan	400 mL	300 mL	200 mL	Notasi
		3,74	4,15	4,48	
400 mL	3,74	0	0	0	a
300 mL	4,15	0,41	0	0	a
200 mL	4,48	0,73	0,33	0	b

Lampiran 13. Data Kadar Abu Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan lama fermentasi	vol molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
		I	II	III			
0 hari	200	20,62	20,63	20,62	61,87	20,62	0,01
	300	20,34	20,42	20,38	61,14	20,38	0,04
	400	19,76	19,49	19,62	58,87	19,62	0,13
3 hari	200	19,63	19,44	19,54	58,61	19,54	0,10
	300	18,93	18,19	18,56	55,69	18,56	0,37
	400	18,92	17,98	18,44	55,34	18,45	0,47
6 hari	200	18,67	17,83	18,25	54,76	18,25	0,42
	300	18,24	17,75	17,99	53,97	17,99	0,24
	400	18,20	17,32	17,75	53,27	17,76	0,44
9 hari	200	18,05	17,18	17,61	52,83	17,61	0,43
	300	16,70	17,05	17,37	51,12	17,04	0,34
	400	15,31	15,81	15,56	46,68	15,56	0,25
12 hari	200	14,94	15,36	15,15	45,46	15,15	0,21
	300	14,75	15,20	14,98	44,93	14,98	0,23
	400	14,05	14,85	14,44	43,35	14,45	0,40

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	61,87	58,61	54,76	52,83	45,46	273,52
300 mL	61,14	55,69	53,97	51,12	44,93	266,85
400 mL	58,87	55,34	53,27	46,68	43,35	257,51
Total	181,88	169,63	162,00	150,64	133,74	797,89

FK	14147,23
JK Total	164,77
JK Perlakuan	8,62
JK Kelompok	150,23
JK Galat	5,92

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	keterangan
KELOMPOK	4	14297,46	3574,37	22958,03	2,62	3,86	beda nyata
PERLAKUAN	2	14155,85	7077,92	45461,28	3,25	5,21	beda nyata
GALAT	38	5,92	0,16				
TOTAL	44	164,77					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	20,62	19,54	18,25	17,61	15,15	91,17	18,23	2,08
300 mL	20,38	18,56	17,99	17,04	14,98	88,95	17,79	1,99
400 mL	19,62	18,45	17,76	15,56	14,45	85,84	17,17	2,12
Total	60,63	56,54	54,00	50,21	44,58	265,96		
Rerata	20,21	18,85	18,00	16,74	14,86			
S.Dev	0,52	0,60	0,25	1,06	0,37			

nilai t tabel	2,024
BNT 5%	0,652

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		14,86	16,74	18,00	18,85	20,21	
12 hari	14,86	0	0	0	0	0	a
9 hari	16,74	1,88	0	0	0	0	b
6 hari	18,00	3,14	1,26	0	0	0	c
3 hari	18,85	3,99	2,11	0,85	0	0	d
0 hari	20,21	5,35	3,47	2,21	1,36	0	e

Perlakuan	Rataan	400 mL	300 mL	200 mL	Notasi
		17,168	17.790	18,235	
400 mL	17,168	0	0	0	a
300 mL	17,790	0,62	0	0	a
200 mL	18,235	1,07	0,44	0	b

Lampiran 14. Data Kadar Protein Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	vol molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
		I	II	III			
0 hari	200	18,06	18,51	18,71	55,28	18,43	0,33
	300	19,16	18,61	19,06	56,83	18,94	0,29
	400	20,30	19,23	20,28	59,81	19,94	0,61
3 hari	200	20,54	20,26	21,23	62,04	20,68	0,50
	300	21,68	20,30	21,26	63,25	21,08	0,71
	400	22,54	22,73	23,81	69,08	23,03	0,69
6 hari	200	23,68	22,86	23,97	70,51	23,50	0,58
	300	24,01	23,10	24,09	71,20	23,73	0,55
	400	24,09	24,17	25,20	73,46	24,49	0,62
9 hari	200	25,21	25,13	26,54	76,88	25,63	0,79
	300	26,07	27,05	27,99	81,11	27,04	0,96
	400	27,56	28,03	28,28	83,87	27,96	0,37
12 hari	200	28,98	28,54	28,34	85,86	28,62	0,33
	300	29,42	29,76	28,87	88,05	29,35	0,45
	400	29,75	29,98	29,02	88,75	29,58	0,50

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
A	55,28	62,04	70,51	76,88	85,86	350,57
B	56,83	63,25	71,20	81,11	88,05	360,44
C	59,81	69,08	73,46	83,87	88,75	374,97
Total	171,92	194,36	215,18	241,86	262,66	1085,99

FK	26208,11
JK Total	617,87
JK Perlakuan	20,09
JK Kelompok	583,41
JK Galat	14,37

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	26791,51	6697,88	17717,40	2,62	3,86	beda nyata
PERLAKUAN	2	26228,20	13114,10	34689,75	3,25	5,21	beda nyata
GALAT	38	14,37	0,38				
TOTAL	44	617,87					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	18,43	20,68	23,50	25,63	28,62	116,86	23,37	4,01
300 mL	18,94	21,08	23,73	27,04	29,35	120,15	24,03	4,24
400 mL	19,94	23,03	24,49	27,96	29,58	124,99	25,00	3,86
Total	57,31	64,79	71,73	80,62	87,55	362,00		
Rerata	19,10	21,60	23,91	26,87	29,18			
S.Dev	0,77	1,26	0,51	1,17	0,50			

nilai t tabel	2,024
BNT 5%	1,016

Kelompok	Rataan	0 hari	3hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		19,10	21,60	23,91	26,87	29,18	
0 hari	19,10	0	0	0	0	0	a
3 hari	21,60	2,49	0	0	0	0	b
6 hari	23,91	4,81	2,31	0	0	0	c
9 hari	26,87	7,77	5,28	2,97	0	0	d
12 hari	29,18	10,08	7,59	5,28	2,31	0	e

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		23,37	24,03	25,00	
200 mL	23,37	0	0	0	a
300 mL	24,03	0,66	0	0	a
400 mL	25,00	1,63	0,97	0	b

Lampiran 15. Data Kadar Karbohidrat Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata	SD
lama fermentasi	vol molase	I	II	III			
0 hari	200	28,74	28,92	28,41	86,08	28,69	0,26
	300	28,64	30,36	29,61	88,61	29,54	0,86
	400	28,87	30,67	29,26	88,80	29,60	0,95
3 hari	200	31,74	30,63	30,36	92,74	30,91	0,73
	300	32,31	33,16	32,45	97,92	32,64	0,45
	400	32,13	32,02	30,90	95,06	31,69	0,68
6 hari	200	31,29	32,32	31,10	94,71	31,57	0,66
	300	31,82	33,59	32,17	97,57	32,52	0,94
	400	32,93	34,27	32,55	99,75	33,25	0,91
9 hari	200	33,95	34,22	32,72	100,89	33,63	0,80
	300	34,67	32,81	31,81	99,28	33,09	1,45
	400	35,46	33,73	34,11	103,30	34,43	0,91
12 hari	200	35,18	34,93	35,47	105,58	35,19	0,27
	300	35,82	34,18	35,72	105,72	35,24	0,92
	400	37,78	35,92	37,70	111,40	37,13	1,05

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	86,08	92,74	94,71	100,89	105,58	479,98
300 mL	88,61	97,92	97,57	99,28	105,72	489,11
400 mL	88,80	95,06	99,75	103,30	111,40	498,31
Total	263,49	285,71	292,03	303,47	322,70	1467,40

FK	47850,19
JK Total	254,55
JK Perlakuan	11,19
JK Kelompok	212,85
JK Galat	30,51

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	48063,04	12015,76	14965,65	2,62	3,86	beda nyata
PERLAKUAN	2	47861,38	23930,69	29805,72	3,25	5,21	beda nyata
GALAT	38	30,51	0,80				
TOTAL	44	254,55					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	28,69	30,91	31,57	33,63	35,19	159,99	32,00	2,51
300 mL	29,54	32,64	32,52	33,09	35,24	163,04	32,61	2,04
400 mL	29,60	31,69	33,25	34,43	37,13	166,10	33,22	2,84
Total	87,83	95,24	97,34	101,16	107,57	489,13		
Rerata	29,28	31,75	32,45	33,72	35,86			
S.Dev	0,51	0,87	0,84	0,67	1,11			

nilai t tabel	2,024
BNT 5%	1,481

Kelompok	Rataan	0 hari	3hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		29,276	31,746	32,447	33,719	35,855	
0 hari	29,276	0	0	0	0	0	a
3 hari	31,746	2,47	0	0	0	0	b
6 hari	32,447	3,17	0,70	0	0	0	b
9 hari	33,719	4,44	1,97	1,27	0	0	c
12 hari	35,855	6,58	4,11	3,41	2,14	0	d

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		31,999	32,607	33,220	
200 mL	31,999	0	0	0	a
300 mL	32,607	0,61	0	0	a
400 mL	33,220	1,22	0,61	0	a

Lampiran 16. Data pH Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	Vol Molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
		I	II	III			
0 hari	200	5,56	5,86	5,71	17,13	5,71	0,15
	300	5,52	5,67	5,60	16,79	5,60	0,08
	400	5,20	5,66	5,43	16,29	5,43	0,23
3hari	200	5,17	5,47	5,32	15,96	5,32	0,15
	300	5,16	5,37	5,27	15,80	5,27	0,11
	400	5,06	5,28	5,17	15,51	5,17	0,11
6 hari	200	5,03	5,27	5,15	15,45	5,15	0,12
	300	5,01	5,21	5,11	15,33	5,11	0,10
	400	4,97	5,16	5,07	15,20	5,07	0,10
9 hari	200	4,96	5,13	5,05	15,14	5,05	0,09
	300	4,91	5,04	4,98	14,93	4,98	0,06
	400	4,90	5,02	4,96	14,88	4,96	0,06
12 hari	200	4,89	4,91	4,90	14,70	4,90	0,01
	300	4,77	4,76	4,77	14,30	4,77	0,00
	400	4,73	4,09	4,41	13,23	4,41	0,32

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	17,13	15,96	15,45	15,13	14,71	78,37
300 mL	16,78	15,79	15,33	14,92	14,29	77,13
400 mL	16,29	15,51	15,19	14,88	13,23	75,10
Total	50,20	47,26	45,97	44,94	42,22	230,61

FK	1181,799
JK Total	4,958
JK Perlakuan	0,363
JK Kelompok	3,842
JK Galat	0,753

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	1185,642	296,410	14957,11	2,62	3,86	Beda nyata
PERLAKUAN	2	1182,163	591,081	29826,43	3,24	5,21	Beda nyata
GALAT	38	0,753	0,019				
TOTAL	44	4,958					

Nilai t tabel	2,024
BNT 5%	0,233

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	5,71	5,32	5,15	5,05	4,90	26,13	5,23	0,31
300 mL	5,60	5,27	5,11	4,98	4,77	25,71	5,14	0,31
400 mL	5,43	5,17	5,07	4,96	4,41	25,04	5,01	0,38
Total	16,74	15,76	15,33	14,98	14,08	76,87		
Rerata	5,58	5,25	5,11	4,99	4,69			
S.Dev	0,14	0,08	0,04	0,05	0,25			

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		4,69	4,99	5,11	5,25	5,58	
12 hari	4,69	0	0	0	0	0	a
9 hari	4,99	0,30	0	0	0	0	b
6 hari	5,11	0,42	0,12	0	0	0	b
3 hari	5,25	0,56	0,26	0,14	0	0	c
0 hari	5,58	0,89	0,59	0,47	0,33	0	d

Perlakuan	Rataan	400 mL	300 mL	200 mL	Notasi
		5,01	5,14	5,23	
400 mL	5,01	0	0	0	a
300 mL	5,14	0,14	0	0	a
200 mL	5,23	0,22	0,08	0	a

Lampiran 17. Data Daya Buih Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	Vol Molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
		I	II	III			
0 hari	200	0,050	0,050	0,064	0,164	0,055	0,008
	300	0,069	0,064	0,077	0,210	0,070	0,006
	400	0,075	0,114	0,123	0,312	0,104	0,025
3 hari	200	0,050	0,065	0,065	0,179	0,060	0,009
	300	0,055	0,082	0,083	0,219	0,073	0,016
	400	0,076	0,120	0,109	0,305	0,102	0,023
6 hari	200	0,050	0,057	0,048	0,154	0,051	0,005
	300	0,067	0,088	0,090	0,245	0,082	0,013
	400	0,096	0,126	0,112	0,335	0,112	0,015
9 hari	200	0,083	0,076	0,049	0,208	0,069	0,018
	300	0,091	0,083	0,056	0,229	0,076	0,018
	400	0,112	0,115	0,073	0,300	0,100	0,024
12 hari	200	0,068	0,105	0,083	0,256	0,085	0,018
	300	0,078	0,130	0,119	0,327	0,109	0,027
	400	0,124	0,136	0,136	0,397	0,132	0,007

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	0,154	0,164	0,208	0,179	0,256	0,961
300 mL	0,245	0,210	0,229	0,219	0,327	1,230
400 mL	0,335	0,312	0,300	0,305	0,397	1,649
Total	0,734	0,686	0,737	0,704	0,980	3,841

FK	0,328
JK Total	0,032
JK Perlakuan	0,016
JK Kelompok	0,006
JK Galat	0,010

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	0,334	0,084	329,755	2,62	3,86	Beda nyata
PERLAKUAN	2	0,344	0,172	678,422	3,25	5,21	Beda nyata
GALAT	38	0,010	0				
TOTAL	44	0,032					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	0,055	0,060	0,051	0,069	0,085	0,320	0,064	0,014
300 mL	0,070	0,073	0,082	0,076	0,109	0,410	0,082	0,016
400 mL	0,104	0,102	0,112	0,100	0,132	0,550	0,110	0,013
Total	0,229	0,235	0,245	0,246	0,327	1,280		
Rerata	0,076	0,078	0,082	0,082	0,109			
S.Dev	0,025	0,021	0,030	0,016	0,023			

Nilai t tabel	2,024
BNT 5%	0,026

Kelompok	Rataan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		0,076	0,078	0,082	0,082	0,109	
0 hari	0,076	0	0	0	0	0	a
3 hari	0,078	0,002	0	0	0	0	a
6 hari	0,082	0,005	0,003	0	0	0	a
9 hari	0,082	0,006	0,004	0,0004	0	0	a
12 hari	0,109	0,033	0,031	0,0271	0,0269	0	b

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		0,064	0,082	0,110	
200 mL	0,064	0	0	0	a
300 mL	0,082	0,0179	0	0	a
400 mL	0,110	0,0458	0,0279	0	b

Lampiran 18. Data Kapasitas Emulsi Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Segar dan Lama Fermentasi yang Berbeda

Perlakuan	Vol Molase	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
		I	II	III			
0 hari	200	49,50	48,57	49,09	147,17	49,06	0,47
	300	50,93	51,40	50,00	152,33	50,78	0,71
	400	51,40	50,91	52,48	154,79	51,60	0,80
3 hari	200	47,83	47,71	48,51	144,05	48,02	0,44
	300	48,18	48,57	49,07	145,83	48,61	0,45
	400	52,29	52,38	51,82	156,49	52,16	0,30
6 hari	200	47,62	48,70	47,57	143,89	47,96	0,64
	300	49,00	49,55	47,66	146,21	48,74	0,97
	400	51,43	51,89	51,49	154,80	51,60	0,25
9 hari	200	47,62	48,15	46,23	141,99	47,33	0,99
	300	47,83	49,53	49,52	146,88	48,96	0,98
	400	51,96	52,00	51,96	155,92	51,97	0,02
12 hari	200	46,36	47,62	47,66	141,65	47,22	0,74
	300	47,62	49,02	48,57	145,21	48,40	0,72
	400	50,00	51,00	51,49	152,49	50,83	0,76

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	147,17	144,05	143,89	141,99	141,65	718,74
300 mL	152,33	145,83	146,21	146,88	145,21	736,46
400 mL	154,79	156,49	154,80	155,92	152,49	774,49
Total	454,28	446,37	444,90	444,80	439,34	2229,69

FK	110478,07
JK Total	142,47
JK Perlakuan	108,16
JK Kelompok	12,85
JK Galat	21,46

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
KELOMPOK	4	110490,93	27622,73	48918,06	2,62	3,86	Beda nyata
PERLAKUAN	2	110586,24	55293,12	97920,52	3,25	5,21	Beda nyata
GALAT	38	21,46	0,56				
TOTAL	44	142,47					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	S.Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	49,06	48,02	47,96	47,33	47,22	239,58	47,92	0,73
300 mL	50,78	48,61	48,74	48,96	48,40	245,49	49,10	0,96
400 mL	51,60	52,16	51,60	51,97	50,83	258,16	51,63	0,51
Total	151,43	148,79	148,30	148,27	146,45	743,23		
Rerata	50,48	49,60	49,43	49,42	48,82			
S.Dev	1,30	2,24	1,92	2,36	1,84			

Nilai t tabel	2,024
BNT 5%	1,242

Kelompok	Rerata	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		48,82	49,42	49,43	49,60	50,48	
12 hari	48,82	0	0	0	0	0	a
9 hari	49,42	0,61	0	0	0	0	a
6 hari	49,43	0,62	0,01	0	0	0	a
3hari	49,60	0,78	0,17	0,16	0	0	a
0 hari	50,48	1,66	1,05	1,04	0,88	0	b

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		47,92	49,10	51,63	
200 mL	47,92	0	0	0	a
300 mL	49,10	1,18	0	0	a
400 mL	51,63	3,72	2,54	0	b

Lampiran 19. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir



Air laut sebanyak 1000mL



Penimbangan gula pasir sebanyak 5 g



Perebusan air



Pensterilan sampai mendidih



Penimbangan pupuk Daun sebanyak 5g



sterilisasi pipet volume



Pendinginan pada suhu kamar



Sterilisasi botol kaca



Penuangan pada beaker glass



Sterilisasi selang





Penambahan gula pasir



Penambahan pupuk daun



Penghomogenan



Pemasangan selang aerasi



Penambahan Starter Khamir laut sebanyak 2mL



Penuangan ke botol kaca



Penutupan dengan kapas dan plastik wrap



Pemberian aerasi selama 3 hari

Lampiran 20. Dokumentasi Pembuatan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Keong mas



pemisahan daging dari cangkang



pencucian sampai bersih



Pecucian sampai busa hilang



Perendaman dengan air garam selama 30 menit



Penimbangan garam sebanyak 3,5% dari berat daging keong



perebusan dalam waterbath selama 15 menit dengan suhu 55°C



Pengilingan daging keong



Penimbangan daging keong sebanyak 100 g



penghomogenan



Pencampuran daging keong rebus dengan molase



Penambahan molase 200 mL, 300 mL, dan 400 mL



Penuangan dalam botol



Penambahan inokulan khamir laut sebanyak 20 mL



Pemasangan aerasi dan di fermentasi selama 3,6,9, dan 12 hari pada suhu ruang



pengeringan dalam oven vakum dengan suhu 55°C selama 12 jam



Penuangan dalam cawan petri



Penyaringan menggunakan kain blacu



pasta hidrolisat keong mas



Lampiran 21. Dokumentasi Analisis Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Pengerinan cawan petri dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam dengan tutup setengah terbuka



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan cawan petri beserta tutupnya sebagai berat awal (A)



pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Pengeringan dalam oven dengan suhu 105°C selama 4 jam dengan tutup setengah terbuka



Penimbangan sampel sebanyak 15 g (B)



Penimbangan berat akhir (C)



Lampiran 22. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Pengeringan kertas saring dan benang kasur pada suhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan benang kasur



Penimbangan berat sampel



Penghalusan sampel kadar air



Penimbangan kertas saring



Pembungkusan sampel



Pengekstraksian lemak pada goldfish selama 3 jam



pengeringan sampel pada suhu 105°C selama 24 jam



Penimbangan berat akhir



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit

Lampiran 23. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Pengeringan cawan porseline pada suhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator



Penimbangan berat cawan porseline



Pengarangan diatas hotplate sampai tidak keluar asap



Penimbangan sampel sebanyak 2 g



Penghalusan sampel dari kadar lemak



Pengabuan dalam muffle pada suhu 600°C



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan berat akhir

Lampiran 24. Dokumentasi Analisis Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 0,5 g



Penghalusan tablet kjeldahl



Penimbangan tablet kjeldahl sebanyak 2 g



Penambahan aquadest sebanyak 30 mL



Pemanasan pada suhu 370°C selama 3 jam



Penuangan sampel, tablet kjeldahl dan 15 mL H₂SO₄ kedalam labu destruksi



penambahan H₂O dan NaOH



Penambahan 1,5g H₃BO₃ dan akuades 50 mL, dan *metyl orange* kedalam erlenmeyer



Pendestilasi selama 3 menit dan destilasi ditampung dalam Erlenmeyer



Hasil titrasi



Pentitrasi dengan H₂SO₄ 0,3 N sampai berubah warna merah muda

Lampiran 25. Dokumentasi analisis pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1g



Penambahan aquadest sebanyak 10 mL



penghomogenan



Pencelupan elektroda pada sampel dan ditunggu beberapa detik sampai nilai pH stabil



pH meter dihidupkan



Pembilasan elektroda pH meter menggunakan aquadest



Lampiran 26. Dokumentasi Analisis Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1g



Penuangan dalam cuvet



Pengukuran akuades sebanyak 5 mL



Penambahan minyak jagung ke dalam cuvet



Pengukuran minyak jagung sebanyak 5 mL



Penambahan akuades ke dalam cuvet



Peletakan ke dalam sentrifuge



Penghomogenan dengan sentrifuge dengan kecepatan 7500 rpm selama 5 menit



Hasil sentrifuge



Pengukuran volume emulsi



Penghilangan fase minyak pada sampel

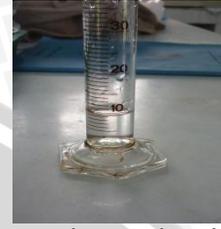
Lampiran 27. Dokumentasi Analisis Buih Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1g



Penuangan ke dalam cuvet



pengukuran akuades sebanyak 10 mL



Daya buih yang terbentuk



Pengocokan sampel selama 1 menit



Penambahan akuades



Lampiran 28. Berita Acara Serah Terima Sertifikat Hasil Analisis



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI (LSIH)
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp./Fax. +62 341 559054
[http : //lsih.ub.ac.id](http://lsih.ub.ac.id) Email : labsentral@ub.ac.id ; labsentralub@gmail.com

**BERITA ACARA SERAH TERIMA
SERTIFIKAT HASIL ANALISA**

No. : 088/LSIH-UB/3-BA/VIII/2015

Malang, 15 SEP 2015

Telah terima dari Laboratorium Sentral Ilmu Hayati UB berupa 1 berkas Sertifikat Hasil Analisa asam amino untuk jenis sampel hidrolisat protein keong mas rebus molase segar.

Mengetahui,
Manajer Teknis

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si.
NIP. 19540823 198103 2 001

Penerima,

Eri Yunita Dismarani

Tembusan:

1. Kustomer
2. Arsip

DP/5.4.0.09/LSIH



Lampiran 29. Uji Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus Dan Molase Segar



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI (LSIH)
 Jl. Veteran Malang
 Telp./Fax. +62 341 559054
 Email: labsentralub@ub.ac.id ; labsentralub@gmail.com http://lsih.ub.ac.id

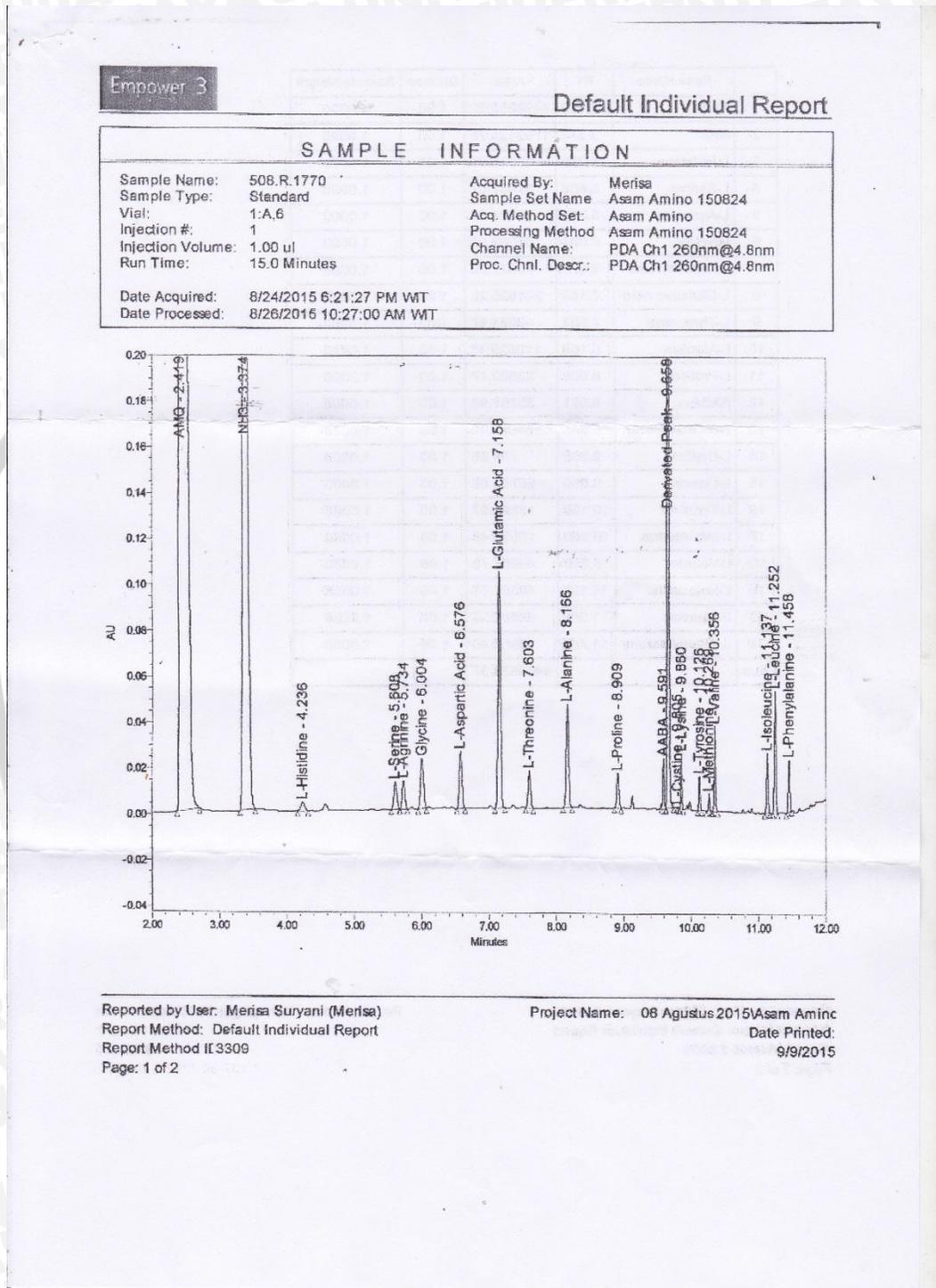
Lampiran No: 088/LSIH-UB/3-LU/VIII/2015

Kode sampel Uji : Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus molase segar

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Valin	%	0.88
	Threonin	%	0.82
	Lisin (Lysine HCl)	%	0.56
	Serin	%	0.61
	Isoleusin	%	0.85
	Alanin	%	1.73
	Histidin	%	0.31
	Phenilalanin	%	0.85
	Glutamat	%	8.56
	Tirosin	%	0.48
	Prolin	%	0.65
	Arginin	%	0.84
	Glisin	%	0.77
	Leusin	%	1.83
	Aspartat	%	1.96
	Metionin	%	0.24
	Sistin	%	0.01
Total	%	21.96	

Lampiran 30. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus Dan Molase Segar



Lampiran 31. Waktu retensi dan lurus area dari kromatogram hidrolisat protein keong mas rebus dan molase Segar

	Peak Name	RT	Area	Dilution	SampleWeight
1	AMQ	2.419	4498858.52	1.00	1.0000
2	NH3	3.374	1792125.79	1.00	1.0000
3	L-Histidine	4.236	13840.09	1.00	1.0000
4	L-Serine	5.608	37437.07	1.00	1.0000
5	L-Agrinine	5.734	33624.85	1.00	1.0000
6	Glycine	6.004	67288.93	1.00	1.0000
7	L-Aspartic Acid	6.576	70827.09	1.00	1.0000
8	L-Glutamic Acid	7.158	271805.26	1.00	1.0000
9	L-Threonine	7.603	40691.97	1.00	1.0000
10	L-Alanine	8.166	110629.15	1.00	1.0000
11	L-Proline	8.909	33600.17	1.00	1.0000
12	AABA	9.591	33761.98	1.00	1.0000
13	Derivated Peak	9.658	1154698.13	1.00	1.0000
14	L-Cystine	9.805	784.38	1.00	1.0000
15	L-Lysine	9.860	25794.05	1.00	1.0000
16	L-Tyrosine	10.126	18894.37	1.00	1.0000
17	L-Methionine	10.269	10538.40	1.00	1.0000
18	L-Valine	10.356	49097.76	1.00	1.0000
19	L-Isoleucine	11.137	40391.71	1.00	1.0000
20	L-Leucine	11.252	85692.22	1.00	1.0000
21	L-Phenylalanine	11.458	36056.49	1.00	1.0000
	Sum		8426636.37		

Reported by User: Merisa Suryani (Merisa)
 Report Method: Default Individual Report
 Report Method ID: 3309
 Page: 2 of 2

Project Name: 08 Agustus 2015/Asam Aminc
 Date Printed: 9/9/2015