

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) merupakan salah satu hasil perikanan yang belum dimanfaatkan dengan baik. Sebagian besar masyarakat menganggap moluska ini sebagai hama tanaman padi. Selain dibasmi alternatif lain untuk mengurangi populasi keong mas yakni dengan memanfaatkan agar lebih bernilai ekonomis (Mualim *et al.*, 2013). Keong mas segar mengandung protein 14,04% (Dewi, 2012). Kandungan protein yang tinggi pada keong mas berpotensi sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim protease. Bahan baku yang dapat digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein antara lain kerang hijau (Amalia, 2007), kerang mas ngur (Purbasari, 2008), dan ikan ekor kuning (Bernadeta *et al.*, 2012). Hidrolisat protein merupakan suatu proses pemutusan ikatan peptida pada struktur protein menjadi ikatan yang lebih sederhana melalui proses hidrolisis baik menggunakan enzim, asam, maupun basa (Nurhayati *et al.*, 2011). Enzim mikroba menjadi alat yang paling menjanjikan untuk proses hidrolisis. Sehingga pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim mikroba dapat dilakukan dengan cara fermentasi.

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia yang disebabkan oleh aktivitas mikroba ataupun oleh aktivitas enzim yang dihasilkan mikroba (Sebayang, 2006). Pada proses fermentasi mikroba mengubah bahan baku menjadi produk yang bernilai lebih tinggi, seperti asam-asam organik, protein sel tunggal, antibiotika dan biopolimer. Protein mikroba ini kemudian dikenal dengan sebutan *Single Cell Protein* (SCP) atau protein sel tunggal. Protein sel tunggal adalah istilah yang digunakan untuk protein kasar atau murni yang berasal dari

mikroorganisme, seperti bakteri, khamir, kapang, ganggang dan protozoa (Muhiddin *et al.*, 2001).

Faktor yang mempengaruhi proses fermentasi diantaranya adalah derajat keasaman (pH), suhu, mikroorganisme, waktu dan nutrisi mikroorganisme (Endah *et al.*, 2007). Penggunaan lama fermentasi yang tepat dapat menghasilkan hidrolisat protein yang optimal karena bahan baku akan dipecah menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Beberapa penelitian tentang lama fermentasi optimum pada pembuatan hidrolisat protein dengan bahan baku hasil perikanan telah dilakukan, kondisi optimum proses hidrolisis protein dari ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) pada konsentrasi enzim papain 5%, pH 7, dan waktu hidrolisis 6 jam (Hidayat, 2005), konsentrasi enzim papain 5%, pH 6, dan waktu hidrolisis 24 jam adalah kondisi optimum untuk hidrolisis protein kerang hijau (*Mytilus viridis*) (Amalia, 2007).

Khamir merupakan salah satu jenis mikroorganisme dari golongan jamur penghasil protease ekstraseluler. Enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase dan fosfatase sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein (Sukoso, 2012). Pada penelitian sebelumnya penambahan khamir laut sebagai biokatalisator dengan dosis 0,04% memberikan pengaruh terbaik terhadap pencernaan protein 81,607% (Afandi, 2009).

Khamir laut membutuhkan nutrisi dalam menopang pertumbuhannya, misalnya sumber karbon dan oksigen. Molase banyak mengandung gula sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi dan sumber karbon (Febriani, 2008). Molase merupakan media fermentasi yang baik, karena masih mengandung kadar gula sekitar 48-58 % sehingga diharapkan sebagai media atau sumber energi bagi mikroba asam laktat maupun khamir (Bata dan Nur, 2010). Kandungan gula yang tinggi pada molase merupakan sumber karbon bagi

A. *Niger* untuk metabolisme dan pertumbuhan, sehingga dapat ditambahkan pada proses fermentasi (Pangesti *et al.*, 2012).

Selama ini molase yang digunakan dalam keadaan segar dan belum ada yang menggunakan perlakuan perebusan. Perebusan molase dapat menyebabkan sebagian sukrosa dalam molase akan terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu gula invert (fruktosa dan glukosa) yang merupakan gula pereduksi (Susanto dan Setyohadi, 2011). Penggunaan molase rebus dengan jumlah yang tepat dapat mengoptimalkan pertumbuhan khamir laut pada saat fermentasi berlangsung. Penambahan konsentrasi molase rebus sampai 50% selama fermentasi 72 jam dapat meningkatkan hasil biomassa sel khamir laut (Rohim, 2014). Sari (2014) menambahkan bahwa molase rebus dengan konsentrasi 45% dapat meningkatkan sel khamir laut. Disamping itu, hasil analisis komposisi kimia molase rebus antara lain 24,04% kadar protein, 0,05% kadar lemak, 64,63% kadar air, 4,95% kadar abu, dan 5,73% kadar karbohidrat.

Sejauh ini belum ada penelitian mengenai khamir laut sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan karbon berupa molase rebus. Dengan demikian perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut. Dari paparan yang telah dijelaskan diatas maka diperlukan kajian yang membahas tentang pemanfaatan khamir laut sebagai biokatalisator dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus.

## 1.2 Rumusan Masalah

Keong mas memiliki kandungan protein yang cukup besar, namun pemanfaatan keong selama ini masih belum optimal, sehingga diperlukan adanya diversifikasi dalam pengolahan keong mas, misalnya hidrolisat protein keong mas rebus. Adanya pengolahan keong mas menjadi hidrolisat protein dengan cara fermentasi berpeluang dalam penyediaan pangan dengan nilai nutrisi tinggi. Pemanfaatan khamir laut yang mengandung berbagai enzim (enzim protease) dalam fermentasi berpotensi untuk meningkatkan kandungan protein dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas. Penggunaan volume molase rebus dan lama fermentasi menentukan kualitas hidrolisat protein yang didapatkan. Dari uraian diatas dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus?
- Bagaimana pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus?
- Bagaimana profil asam amino dan perlakuan terbaik hidrolisat protein keong mas rebus?

## 1.3 Tujuan Penelitian

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

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

- Untuk mengetahui profil asam amino pada perlakuan terbaik hidrolisat protein keong mas rebus

#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

- Diduga volume molase rebus berpengaruh terhadap kualitas hidrolisat protein keong mas rebus.
- Diduga lama fermentasi berpengaruh terhadap kualitas hidrolisat protein keong mas rebus.
- Diduga perlakuan terbaik menghasilkan asam amino yang optimal.

#### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam penggunaan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas hidrolisat protein keong mas rebus.

#### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Ikan, dan Laboratorium Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan Maret - Juli 2015.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Keong Mas

Keong mas (*Pomacea canaliculata* Lamarck) (Gastropoda; Ampullariidae) ada juga yang menyebutnya siput murbei adalah salah satu jenis keong air tawar yang berasal dari benua Amerika, namun tidak jelas mulai kapan keong ini masuk ke wilayah Indonesia (Budiyono, 2006). Taksonomi keong mas menurut Suharto *et al.*, (2010), dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: Molluska
Kelas	: Gastropoda
Ordo	: Mesogastropoda
Famili	: Ampullariidae
Genus	: Pomacea



Gambar 1. Keong Mas (*Pomacea canaliculata*)

Keong mas hidup pada suhu berkisar antara 23-32 °C, oksigen terlarut berkisar antara 0-5,27 ppm, meskipun oksigen terlarut mendekati nol atau bahkan nol ternyata keong mas masih mampu hidup. Keong mas hidup pada pH air berkisar antara 5-8. Moluska dapat hidup pada pH dibawah 6 (Riyanto, 2003).

Keong mas dapat digunakan keseluruhan bagian tubuh sebagai sumber protein dan mineral. Keong mas ini cukup potensial sebagai sumber protein untuk pakan ternak. Hasil uji proksimat dapat diketahui bahwa kandungan protein keong mas bisa mencapai 40-60% ( Zainudin, 2012).

Analisis proksimat secara umum menunjukkan persentase dari unsur pokok berupa air, abu, protein, dan lemak. Kandungan nutrisi yang terkandung dalam suatu bahan pangan berbeda-beda karena adanya perbedaan makanan, spesies, jenis kelamin, dan umur bahan. Hasil analisis komposisi nutrisi daging keong mas disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Nutrisi Daging Keong Mas (*Pomacea canaliculata*)

Parameter	Kandungan (%bb)			
	Segar	Rebus	Rebus air garam	Kukus
Kadar Air	77,40	68,36	67,20	64,23
Kadar Abu	5,44	4,40	6,67	4,00
Kadar Protein	14,04	10,86	8,36	11,71
Kadar Lemak	0,99	0,70	0,40	0,79

Sumber : Dewi (2012)

Melihat kandungan nutrisi keong mas dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein keong mas.

## 2.2 Perendaman dengan Larutan Garam

Fungsi garam menurut Apriantono (2004), adalah sebagai garam yang menarik air dari jaringan bahan dan merupakan media yang baik bagi pertumbuhan bakteri asam laktat, timbulnya asam laktat menghambat timbulnya bakteri perusak yang merugikan. Konsentrasi garam yang digunakan dalam fermentasi asam laktat mempengaruhi jenis mikroorganisme yang tumbuh. Bila konsentrasi garam kurang dari 5% maka bakteri proteolitik dapat tumbuh yang menyebabkan peruraian protein yang ditandai adanya aroma busuk. Sedangkan bila konsentrasi garam lebih dari 15% maka dapat menghambat pertumbuhan

bakteri asam laktat dan membiakkan bakteri halofilik tumbuh sehingga proses fermentasi menjadi gagal (Huda dan Drajat, 2000).

NaCl sebagai suatu garam dapat menyebabkan atau merupakan induser protein-protein substrat maupun protein terlarut atau gugus amino bebas hasil proses hidrolisis untuk mengalami *salting-in* atau peningkatan kelarutan dalam suatu larutan garam terjadinya *salting-in* hanya berlangsung hingga peningkatan konsentrasi 15% b/b NaCl, atau dengan kata lain kadar garam optimum untuk kadar protein terlarut adalah sebesar 15,0% (Handayani *et al.*, 2007). Didukung oleh Hadiwiyoto (2000) bahwa kadar garam optimum pada proses hidrolisis ikan kembung dan ikan merah sebesar 10% b/b.

### 2.3 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki dengan bantuan mikroba. Fermentasi dapat dibedakan menjadi dua yakni fermentasi aerob yaitu jika membutuhkan oksigen dalam merubah substrat gula dan hasil akhirnya asam piruvat dan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) sedangkan fermentasi anaerob jika tidak memerlukan oksigen, gula akan dirubah menjadi asam piruvat, kemudian asetaldehida dan akhirnya menjadi alkohol, etanol atau methanol dan asam laktat (Nurcahyo, 2011).

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia yang disebabkan oleh aktivitas mikroba atau oleh aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Jalur metabolisme karbohidrat yang pernah diselidiki adalah sistem fermentasi etanol oleh khamir (Sebayang, 2006). Perubahan kimia yang terjadi adalah merubah gula menjadi asam laktat, sedang perubahan fisik yang terjadi adalah bahan pangan menjadi lebih mudah dicerna salah satu contoh bakteri asam laktat yang aktif dalam fermentasi karbohidrat adalah *Leuconoctoc mesenteroides*,

*Pediococcus cereviceae*, *Laktobacillus plantarum* dan *Laktobacillus brevis* (Dahlan dan Handono, 2005).

Perbedaan lama fermentasi dapat menghasilkan perbedaan pertumbuhan mikroorganisme. Semakin lama waktu fermentasi maka mikroorganisme yang tumbuh semakin banyak sampai nutrisi disubstrat habis. Proses pemecahan karbohidrat dipengaruhi aktivitas mikroorganisme (Hidayati *et al.*, 2013).

Lama waktu fermentasi dipengaruhi oleh faktor-faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi. Ada banyak faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen, dan mikroba yang digunakan. Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrien-nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat (Azizah *et al.*, 2012).

Lama fermentasi yang dibutuhkan untuk fermentasi biasanya ditentukan pada jenis bahan, jenis ragi dan jenis gula. Pada umumnya diperlukan waktu 4 – 20 hari untuk memperoleh hasil fermentasi yang sempurna. Fermentasi berlangsung dua sampai tiga minggu dan ditandai dengan tidak diproduksinya CO<sub>2</sub> (Osvaldo *et al.*, 2012).

Kegiatan industri fermentasi memanfaatkan mikroorganisme dalam menghasilkan produknya (Rahman, 1992). Enzim mikroba akan memecah karbohidrat, lemak, protein atau komponen makanan lainnya sehingga dapat meningkatkan daya cerna dan serap unsur hara dalam pencernaan manusia. Pada pertumbuhan dan metabolisme mikroba dalam bahan makanan fermentasi menghasilkan beberapa komponen, seperti asam organik, alkohol, aldehid, ester, dan lain sebagainya. Pertumbuhan mikroba juga menyebabkan meningkatnya biomassa selnya sehingga menambah nilai nutrisinya seperti : ekstrak khamir

laut (Adams dan Nout, 2001). Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa khamir laut sebagai biokatalisator dengan dosis 0,04% memberikan pengaruh terbaik terhadap pencernaan protein (81,607% SD + 0,208) secara in vitro (Afandi, 2009).

Setiap mikroorganisme membutuhkan karbon dan oksigen dalam jumlah yang berbeda untuk proses pertumbuhannya. Substrat yang digunakan harus mengandung sumber karbon yang merupakan sumber energi untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pemanfaatan limbah sisa produksi gula tebu (molase) sebagai substrat dalam fermentasi telah banyak dikembangkan dewasa ini (Kusmiati *et al.*, 2011). Khamir laut pada umumnya membutuhkan oksigen dalam jumlah besar untuk memacu pertumbuhan sel-sel khamir (Machfud *et al.*, 1989).

#### 2.4 Khamir Laut

Khamir adalah organisme selluler dari golongan jamur, bersifat kemoorganotrof, bereproduksi secara seksual dengan spora dan aseksual dengan pertunasan atau disebut pembelahan. Di dalam saluran pencernaan khamir mampu memproduksi berbagai enzim seperti protease, lipase, amilase, yang akan membantu pencernaan zat makanan dalam tubuh hewan. Selama pertumbuhannya khamir menghasilkan senyawa seperti nukleotida, asam amino, faktor tumbuh yang belum teridentifikasi (*unidentified growth factor*), yang menstimulir pertumbuhan dan enzim (Febriani, 2006). Kisaran pertumbuhan khamir adalah pada pH 3,5 - 6,5 sementara pada kondisi basa khamir tidak dapat tumbuh (Azizah, 2012).

Karakteristik fisiologis untuk mengklasifikasikan ragi adalah terutama kemampuan untuk (a) Fermentasi an aerob, (b) tumbuh aerobik dengan berbagai senyawa seperti satu-satunya sumber karbon atau nitrogen, (c) tumbuh tanpa pasokan eksogen vitamin, (d) tumbuh dihadapan NaCl atau glukosa, (e) tumbuh pada suhu 37 °C, (f) tumbuh pada cycloheximide, (g) lemak perpecahan, (h) menghasilkan pati seperti zat, (i) menghidrolisis urea, dan (j) bentuk sitrat acid. (Sreedevi *et al.*, 2008).

Khamir laut mengandung nutrisi antara lain, asam amino, asam lemak, dan mineral. Adapun kandungan nutrisi dari khamir laut menurut Febriani (2010) dapat dilihat pada Tabel 2:

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Khamir Laut

Kandungan	Persentase (%)	Mg/100g
Analisa proksimat :		
Bahan kering oven	71,85	-
Protein	28,29	-
Lemak	0,34	-
BETN	4,33	-
Serat kasar	0,95	-
Abu	66,09	-
Asam amino esensial :		
Arginin	0,206	-
Histidin	0,262	-
Isoleusin	0,310	-
Leucin	0,318	-
Lisin	0,463	-
Threonin	0,187	-
Metionin + sistin	0,773	-
Valin	0,342	-
Phenylalanin	0,274	-
Asam lemak :		
Oleat	14,447	-
Linoleat	7,469	-
Linolenat	0,875	-
Stearat	28,726	-
Laurat	1,842	-
Palmitat	17,437	-
Mineral :		
Ca		2,161
P		2,276
Cl		7,452,459
Mn		2,844
Zn		266,241
Mg	0,09	-

Sumber : Febriani (2010)

Selama pertumbuhannya, sel khamir laut menghasilkan senyawa seperti nukleotida, asam amino, faktor tumbuh yang belum teridentifikasi (*unidentified growth factor*), yang menstimulir pertumbuhan dan enzim. Khamir mengandung vitamin B kompleks (thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin) (Febriani, 2006).

Khamir laut sudah sejak lama dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia. Khamir yang terkandung dalam kultur yeast setelah sampai pada alat pencernaan, dengan kondisi yang sesuai kehidupannya akan hidup dan aktif kembali sehingga akan memproduksi berbagai enzim seperti enzim protease, amylase, lipase yang akan membantu pencernaan zat-zat makanan dalam tubuh ikan (Afandi, 2009). Suatu enzim dari khamir akan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Deliani, 2008).

Dalam proses fermentasi peningkatan jumlah massa mikroba akan menyebabkan meningkatnya kandungan protein produk fermentasi yang merupakan refleksi dari jumlah massa sel. Mikroba menghasilkan enzim yang akan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks menjadi lebih sederhana serta mensintesis protein. Mikroba jenis khamir laut dapat meningkatkan kandungan protein yang ada dalam bahan dengan adanya aktifitas enzimatik dari enzim protease yang dimiliki, serta dengan lamanya waktu fermentasi memberikan kesempatan pada khamir untuk tumbuh dan berkembang sehingga mampu meningkatkan massa mikrobial yang kaya protein (Anggorowati *et al.*, 2012).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan aktifitas khamir antara lain : kelembaban, konsentrasi oksigen, suhu, nutrien, ph dan ada tidaknya senyawa penghambat (Yurliasni *et al.*, 2014). Dalam kultur yang sama, ukuran dan bentuk sel khamir mungkin berbeda karena pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan (Kusmiati *et al.*, 2011).

Mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi akan memberikan hasil optimum apabila ditambahkan pada substrat ketika memasuki fase log. Fase log adalah fase dimana terjadi lonjakan peningkatan biomassa sel (Zahara, 2011). Pada waktu pembiakan jam ke-72 khamir menunjukkan pertumbuhan jumlah sel terbanyak (Purwitasari *et al.*, 2004). Pada hari ke-3 khamir laut telah memasuki fase stasioner, yaitu tidak melakukan pembiakan sel lagi (Kusmiati, 2011).

Nutrien yang memadai bagi khamir tergantung pada komposisi makanan dimana khamir tumbuh (Yurliasni *et al.*, 2014). Khamir memerlukan substrat dan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya. Salah satu unsur dasar yang dibutuhkan khamir dalam substrat tersebut yaitu karbon, dan karbon berasal dari gula pereduksi (Sari *et al.*, 2013). Kandungan glukosa yang cukup tinggi yaitu sekitar 4% - 9% dalam molase, menjadi dasar pemikiran untuk dimanfaatkan sebagai sumber karbon pengganti glukosa dalam media fermentasi (Kusmiati *et al.*, 2011).

Gula yang pada umumnya dapat difermentasi oleh khamir adalah golongan glukosa, galaktosa, maltosa, sukrosa, laktosa, trehalosa, melibiosa dan raffinosa. Khamir akan merubah gula tersebut menjadi alkohol dan karbondioksida, khamir juga memproduksi metabolit-metabolit lain dalam jumlah yang kecil, yaitu gliserol, asam suksinat, alkohol rantai panjang, 2,3-butana-diol, dan sedikit asetaldehida, asam asetat dan asam laktat ( Fardiaz, 1992).

## 2.5 Molase

Molase adalah limbah dari pengolahan tebu yang berbentuk cairan kental berwarna coklat tua kehitaman, berbau manis dan harum khas (Noviati, 2007). Molase diperoleh setelah sukrosa dikristalkan dan dipisahkan dari niranya. Molase mengandung kadar gula sekitar 50%-60%, sejumlah asam amino, dan mineral (Febrianti, 2013). Dumbrepatil (2008), menjelaskan bahwa di dalam molase terkandung 40%-60% sukrosa, juga glukosa dan fruktosa dalam konsentrasi yang lebih rendah.

Molase sebagai media fermentasi digunakan sebagai sumber bahan makanan bagi khamir laut selama proses fermentasi berlangsung. Bakteri akan menggunakan sumber karbohidrat sebagai sumber makanannya. Ketika sumber karbohidrat di dalam medium telah habis terpakai, maka khamir laut beralih menggunakan sumber nitrogen. Penambahan karbohidrat seperti molase dimaksudkan untuk mempercepat terbentuknya energi yang cepat tersedia bagi khamir laut (Nurul, 2005).

Perebusan molase juga dapat mempengaruhi kerusakan pada molase akibat mikroorganisme kontaminan. Pemanasan molase pada suhu 120 – 125 °C selama kurang lebih 1 jam setelah mendidih dapat mengendapkan beberapa material organik dan material tersuspensi lainnya yang dapat menghambat pertumbuhan khamir seperti: nitrit, zat pewarna, koloid, asam butirat, ion kalsium (Ca) dan asam sulfat (Fajarwati, 2002).

Molase merupakan *by product* dari industri gula yang didapat setelah sukrosanya dikristalkan dan dipisahkan dari niranya. Molase merupakan campuran kompleks yang mengandung sukrosa, gula invert, garam-garam, dan bahan non gula. Molase bersifat asam, mempunyai pH 5,5 - 6,5 (Rosyadi *et al.*, 2013). Menurut Rohim (2014), komposisi kimia molase rebus dan molase segar sebagai berikut:

Tabel 3. Komposisi Kimia Molase

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

Sumber : Rohim (2014).

Keberadaan molase sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan khamir, karena penambahan molase mempercepat tercapainya fase eksponensial pada pertumbuhan khamir. Gula invert yang terkandung dalam molase, memungkinkan khamir untuk langsung menggunakannya sebagai sumber karbon tanpa diperlukan proses pemecahan terlebih dahulu (Noviati, 2007).

Dalam proses fermentasi kebutuhan nutrisi sangat penting untuk pertumbuhan mikroorganisme, sehingga sumber karbon dan sumber nitrogen sangat mempengaruhi terhadap proses tersebut. Pemanfaatan limbah sisa produksi gula tebu seperti molase merupakan salah satu sumber karbon yang telah banyak dikembangkan saat ini. Molase merupakan hasil samping dari pabrik gula tebu, berbentuk cairan berwarna coklat hitam dan merupakan sumber

karbohidrat termurah, kaya akan gula, mengandung nitrogen, vitamin dan elemen lainnya. Penggunaan molase sebagai salah satu sumber karbon dalam fermentasi karena adanya kandungan gula dan berbagai nutrisi yang diperlukan bagi mikroorganisme untuk pertumbuhan dan berkembang biak. Komposisi molase bervariasi tergantung pada bahan baku yang digunakan untuk produksi gula. Pada umumnya molase mengandung glukosa, fruktosa, dan sukrosa, selain itu trisakarida seperti rafinosa sebesar 2% dari berat kering (Kusmiati *et al.*, 2011).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sarlin dan Philip (2013), mengungkapkan bahwa molase ditemukan menjadi sumber karbon terbaik untuk pertumbuhan maksimum dari empat jenis khamir yakni *Debaryomyces hansenii* (S8), *Debaryomyces hansenii* (S100), *Candida sake* (S165) dan *Candida tropicalis* (S186). Diketahui bahwa molase merupakan sumber karbon yang paling disukai oleh ragi laut dibandingkan glukosa, sukrosa dan air beras. Molase dengan (jumlah total gula mg/ml) ditambah dengan pepton (0,75%), ekstrak ragi (0,5%) dan  $MgSO_4$  (0,25%) ditemukan untuk mendukung pertumbuhan maksimum dari empat jenis ragi yang diuji.

## 2.6 Hidrolisat Protein Ikan

Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi senyawa-senyawa berantai pendek karena adanya proses hidrolisis baik oleh enzim, asam, maupun basa (Bernadeta *et al.*, 2012). Proses hidrolisis yaitu proses pemecahan substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan molekul air. Substrat yang paling banyak mengalami perubahan pada proses hidrolisis ini adalah protein yang melibatkan aktifitas enzim proteolitik serta mikroorganisme (Iskandar dan Widyasrini, 2009).

Ikatan peptida pada protein dapat dihidrolisis untuk menghasilkan komponen asam amino dalam bentuk bebas. Secara teoritis hidrolisis protein yang paling efisien adalah menggunakan enzim, karena enzim dapat menghasilkan peptida-peptida yang kurang kompleks dan mudah dipecah. Disamping itu hidrolisis enzim dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk yang bersifat non hidrolitik (Hidayat, 2005).

Hidrolisat protein ikan memiliki potensi pada industri pangan yakni dapat ditambahkan ke dalam suplemen makanan diet. Sementara pada industri farmasi digunakan untuk pembuatan produk-produk dermatologis, seperti krim pembersih muka dan pelembab kulit. Selain itu, hidrolisat protein ikan dapat digunakan secara fungsional sebagai bahan pengemulsi (Bernadeta *et al.*, 2012).

Salah satu karakteristik dari hidrolisat protein yakni daya buih. Daya buih didefinisikan sebagai sistem dua fase yang terdiri dari sel udara yang dipisahkan oleh lapisan cairan tipis. Busa bahan pangan merupakan sistem yang sangat kompleks yang terdiri dari gas, cair, dan padat. Pembentukan dan stabilitas busa dipengaruhi oleh pH, suhu, garam, gula, lemak dan sumber protein. Volume stabilitas busa akan bertambah dengan meningkatnya konsentrasi protein yang diuji. Buih yang terbentuk pada konsentrasi tinggi bersifat padat dan stabil karena lapisan permukaan lebih tebal (Sanapi, 2013). Daya buih merupakan menunjukkan pertambahan busa atau buih yang terbentuk setelah dilakukan pengocokan dan merupakan dispersi koloid dari fase gas dalam fase cair (Said, 2013).

Didukung oleh penelitian terdahulu mengenai daya buih HPI lele sebesar 66,4% dengan waktu 30 menit (Nurhayati *et al.*, 2013). Daya busa tertinggi terjadi pada lama fermentasi 1 jam disebabkan oleh kadar air yang rendah (Puspitasari, 2006).

Karakteristik dari hidrolisat protein lainnya yakni kapasitas emulsi. Produk hidrolisat mempunyai kemampuan mengikat senyawa yang berbeda yaitu antara air dan minyak karena mempunyai golongan peptida hidropobik dan hidropilik. Kemampuan kapasitas emulsi sangat bergantung pada peptida hidropobik dan muatan asam aminonya (Koesoemawardani, 2011).

Sifat pengemulsi dari hidrolisat protein ikan dijelaskan berdasarkan sifat permukannya, efektivitas menurunkan tegangan antar komponen hidrofobik dan hidrofilik dalam makanan. Mekanisme proses emulsifikasi adalah daya serap protein terhadap permukaan minyak yang tecampur. Produk hidrolisat merupakan bahan aktif karena mudah larut dalam air dan mengandung gugus fungsional hidrofobik dan hidrofilik (Sanapi, 2013).

Nilai kapasitas emulsi untuk hidrolisat protein ikan lele adalah 66,90%. Nilai uji tersebut tidak jauh berbeda dengan nilai kapasitas emulsi HPI lele Amerika (*Ictalurus punctatus*) yaitu 64,5% (Sathivel *et al.*, 2009). Sifat molekuler dan panjang rantai peptida pada hidrolisat yang berbeda dapat menentukan kemampuan emulsifikasi. Faktor-faktor lain misalnya derajat hidrolisis, ekstraksi pelarut, pH, ion, kekuatan, suhu juga dapat mempengaruhi kemampuan emulsifikasi hidrolisat protein (Amiza *et al.*, 2012).

Kestabilan emulsi akan lebih baik pada derajat hidrolisis yang rendah. Hal ini karena peptida panjang yang terbentuk terserap dalam lapisan minyak dan memicu terbentuknya tetesan minyak yang kecil, akibatnya kestabilan emulsinya lebih tinggi (Gbogouri *et al.*, 2004). Perbedaan stabilitas emulsi pada hidrolisat yang dihasilkan oleh masing-masing enzim yang digunakan bergantung pada sifat spesifik enzim dalam memecah protein dan gugus aktifnya. Meningkatnya protein terlarut juga dapat menurunkan kapasitas pengikatan lemak (Koesoemawardani *et al.*, 2011).

Selain warna hidrolisat protein mempunyai rasa pahit. Rasa pahit pada produk hidrolisat protein disebabkan oleh peptida berantai pendek sebagai produk hasil pemecahan protein. Sedangkan rasa manis pada hidrolisat protein ikan kemungkinan disebabkan oleh asam amino glisin selama proses hidrolisis. Rasa gurih disebabkan oleh pembentukan oligopeptida yang mempunyai proporsi molaritas yang tinggi dari asam glutamat selama proses hidrolisis (Bernadeta *et al.*, 2012).

Kelarutan adalah salah satu karakteristik paling penting dalam sifat fisikokimia dan sifat fungsional dari hidrolisat protein ikan. Kelarutan protein yang baik penting dalam banyak aplikasi fungsional terutama untuk emulsi, busa dan gel. Kelarutan protein yang tinggi pada hidrolisat menunjukkan aplikasi potensial dalam industri makanan (Amiza *et al.*, 2012). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gbogouri *et al.*, (2004) bahwa, hidrolisat protein mempunyai sifat kelarutan yang tinggi seiring dengan meningkatnya nilai derajat hidrolisis. Namun berbanding terbalik pada kapasitas pengemulsi, stabilitas emulsi, dan peningkatan lemak yang meningkat seiring dengan penurunan nilai derajat hidrolisis.

Telah banyak produk perikanan yang diolah menjadi produk hidrolisat protein dengan metode yang berbeda-beda. Beberapa contoh HPI seperti hidrolisat protein tinta cumi-cumi dengan penambahan enzim papain (Kurniawan *et al.*, 2012). Hidrolisat protein ikan lemuru dengan metode enzimatik menggunakan enzim protease dari ekstrak nanas juga pernah dilakukan pada penelitian (Handayani *et al.*, 2007).

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk kultur khamir laut terdiri dari air laut, gula pasir, pupuk daun (*hortigro*), starter khamir laut, kapas, plastik wrap, dan plastik. Bahan-bahan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari stok khamir laut, gula pasir, pupuk daun (*hortigro*), kapas, dan tissue. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein terdiri dari keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang didapatkan dari kolam-kolam masyarakat yang terletak di Desa Kauman Kabupaten Tulungagung Jawa timur sebagai bahan dasar pembuatan hidrolisat protein, bahan lain yang digunakan yaitu molase, akuades, dan inokulan khamir laut.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisa kimia terdiri dari silika gel, benang kasur, kertas saring, n-heksan,  $H_2SO_4$ , tablet kjeldahl, akuades,  $H_3BO_3$ , NaOH, HCl, indikator metil orange, larutan OPA (O-Phtaldehyde), NaCl,  $Na_2SO_4$  anhidrous, kertas label, dan minyak jagung.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan kultur khamir laut terdiri dari botol kaca, kompor, panci perebusan, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, *aerator*, selang, corong dan *beaker glass*. Peralatan yang digunakan untuk perhitungan kepadatan sel khamir laut terdiri dari mikroskop (*Haemocytometer*), mikropipet, *cover glass*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, *vortex mixer*, bola hiap, pipet volume, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan digital, spatula, sprayer, dan corong. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus terdiri dari kompor, panci, *waterbath*, *beaker glass*, timbangan digital, piring, bola hisap, pipet volume, botol, sentrifuse, selang, *aerator*, kuvet, blender, dan *food processor*.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia terdiri dari pH meter, oven, desikator, botol timbang, loyang, *crushable tang*, *gold fish*, sampel tube, gelas piala, gelas ukur, corong, timbangan digital, kuvet, sentrifuse, pipet tets, pipet volume, bola hisap, cawan petri, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, cawan porselen, destruksi, destilasi, statif, buret, *hot plate*, *muffle*, dan *High Performance Liquid Chromatography*.

### 3.2 Metode Penelitian

#### 3.2.1 Metode

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang secara sengaja dilakukan oleh peneliti terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna diamati pengaruhnya (Jaedun, 2011).

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu pembuatan kultur khamir untuk mengetahui fase logaritmik dari khamir laut. Pada fase log diasumsikan bahwa pertumbuhan khamir laut sangat pesat. Selanjutnya dilakukan pemanenan pada fase logaritmik. Inokulan yang didapat digunakan sebagai starter khamir laut pada pembuatan hidrolisat protein keong mas. Tahap selanjutnya yakni dilakukan penentuan volume molase terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein keong mas. Tujuannya adalah untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam proses pembuatan hidrolisat protein keong mas. Setelah diperoleh dilanjutkan dengan analisa kimia berupa analisis proksimat, pH, emulsi, daya buih, dan profil asam amino untuk perlakuan yang terbaik.

### 3.2.2 Variabel

Variabel penelitian merupakan suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya. Variabel dibagi menjadi dua yakni variabel terikat dan variabel bebas. Variabel terikat adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat. Sedangkan variabel bebas merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2009).

Penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah volume molase rebus dan lama fermentasi. Volume molase yang digunakan yaitu 200 mL, 300 mL, 400 mL. Lama fermentasi yang digunakan yakni 0 hari, 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah analisis proksimat (meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), pH, daya buih, kapasitas emulsi, dan profil asam amino. Pemberian inokulum khamir laut sebanyak 20 mL pada semua perlakuan.

### 3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

#### 3.3.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut

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

Berdasarkan penelitian oleh Jannah (2012), hasil tingkat kekeruhan dan pengamatan dibawah mikroskop menunjukkan bahwa pertumbuhan khamir laut pada hari ke-3 mempunyai tingkat kekeruhan yang paling tinggi, dimana khamir laut mengalami pembelahan sangat cepat dan dikenal dengan istilah fase log. Sedangkan menurut Akili (2012), menyatakan bahwa pertumbuhan khamir laut yang paling tinggi terdapat pada hari ke-2. Oleh karena itu, dilakukan pengamatan kultur khamir laut mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-4 untuk mengetahui tingkat pertumbuhan khamir laut yang paling optimum.

Prosedur pertama yang dilakukan dalam penentuan fase log yaitu mengkultur khamir laut. Tahapan dalam mengkultur khamir laut menurut Sukoso (2012), yaitu disiapkan bahan-bahan yang diperlukan seperti air laut, gula pasir, pupuk daun, dan biakan/ stok khamir laut. Air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Air laut steril yang sudah dingin kemudian dimasukkan kedalam botol 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. Setelah media khamir laut diperoleh ditambahkan starter khamir laut sebanyak 0,2% dari air laut yang digunakan (v:v) dan dihomogenkan. Kultur khamir yang sudah siap kemudian ditutup dengan kapas dan plastik *wrap* untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan yang sebelumnya telah 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. Perhitungan dan diagram alir kultur khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

Prosedur perhitungan kepadatan sel khamir laut yaitu pada hari pertama sampai hari ke-empat kultur khamir laut yang telah diaerasi diambil sebanyak 1 mL untuk dilakukan pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ , namun terlebih dahulu disiapkan media yang akan digunakan. Adapun pembuatan media khamir laut yaitu air laut sebanyak 100 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar lalu diambil air laut steril sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 0,25% (b/v) dan pupuk daun sebanyak 0,1% (b/v) serta dihomogenkan. Perhitungan dan diagram alir pembuatan media pengenceran khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 3 dan 4.

Setelah media yang akan digunakan siap, langkah selanjutnya adalah perhitungan kepadatan sel khamir laut dengan menggunakan *haemocytometer*. Prosedur kerja yang digunakan yaitu diambil 9 mL media khamir laut dan dimasukkan pada masing-masing empat tabung reaksi untuk diberi perlakuan tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Tabung reaksi  $10^{-1}$  yang telah berisi media diberi dengan kultur khamir laut sebanyak 1 mL yang telah diaerasi, lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex mixer*. Setelah itu, dari tabung reaksi  $10^{-1}$  yang telah dihomogenkan diambil sebanyak 1 mL untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi  $10^{-2}$  dan dihomogenkan, serta dilakukan dengan cara yang sama sampai tabung reaksi  $10^{-4}$ . Selanjutnya, dari hasil pengenceran  $10^{-4}$  diuji kepadatan khamir laut dengan *haemocytometer*.

Pengamatan kepadatan khamir laut juga dilakukan setiap hari dengan menggunakan mikroskop, menurut Jannah (2012) menyatakan bahwa dengan mengambil kultur khamir laut yang telah diaerasi dengan menggunakan pipet tetes lalu diteteskan di *objek glass* dan ditutup dengan *cover glass*, serta *preparate* kultur khamir laut selanjutnya diamati dibawah mikroskop.

Pada pengamatan tingkat kepadatan khamir laut, ada fase log yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang paling tinggi dibandingkan dengan fase lainnya. Fase log sendiri yakni fase dimana mikroorganisme mengalami pertumbuhan yang sangat cepat dan dapat dikatakan sebagai pertumbuhan eksponensial. Pada fase log ini kebutuhan energi lebih tinggi dan sel menjadi lebih sensitif terhadap lingkungannya. Oleh karena itu pada fase ini mikroba termasuk didalamnya khamir laut banyak memproduksi zat-zat metabolit yang dibutuhkan dalam memenuhi kebutuhan nutrisinya (Waluyo, 2007).

Setelah diamati dibawah mikroskop dan *haemocytometer* didapatkan data kepadatan khamir laut. Data kepadatan khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 5. Data jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 6. Perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 7. Dari hasil data menunjukkan bahwa kepadatan khamir laut yakni fase logaritmik terdapat pada hari ke-3 dengan kepadatan khamir laut sebanyak  $7,65 \times 10^{10}$  sel/ mL. Dari hasil pengamatan kepadatan khamir laut ini nantinya digunakan sebagai landasan pada penelitian utama. Sehingga pada pembuatan hidrolisat protein keong mas menggunakan khamir laut sebanyak 20 mL pada setiap perlakuan dengan kepadatan khamir laut  $7,65 \times 10^{10}$  sel/ mL.

### **3.3.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus**

Prosedur pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus pertama yang dilakukan yaitu sampel keong mas dikeluarkan dari cangkang kemudian disiangi dengan cara organ dalam dan kotorannya dipisahkan sedang dagingnya digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein. Daging keong dicuci bersih sampai sebagian lendir hilang. Daging keong mas mempunyai karakteristik salah satunya yakni mengandung banyak lendir sehingga dengan mencucinya saja tidak cukup untuk menghilangkan lendir. Sehingga dilakukan perendaman dalam larutan garam dengan perbandingan garam setengah dari berat daging keong

selama 30 menit. Selanjutnya dicuci bersih dan direbus dalam *waterbath* suhu 60 °C selama 30 menit. Didukung penelitian Firdus dan Muchlisin (2005) menyatakan bahwa, keong mas yang diperoleh terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeluarkan dari cangkangnya dengan cara memecahkan cangkang. Daging dan jeroannya dipisahkan, selanjutnya daging yang diperoleh direndam dengan air garam selama 30 menit untuk membersihkan lendir dan menetralkan sifat asamnya. Selanjutnya daging dipanaskan selama 30 menit dengan suhu 60 °C agar protein tidak rusak.

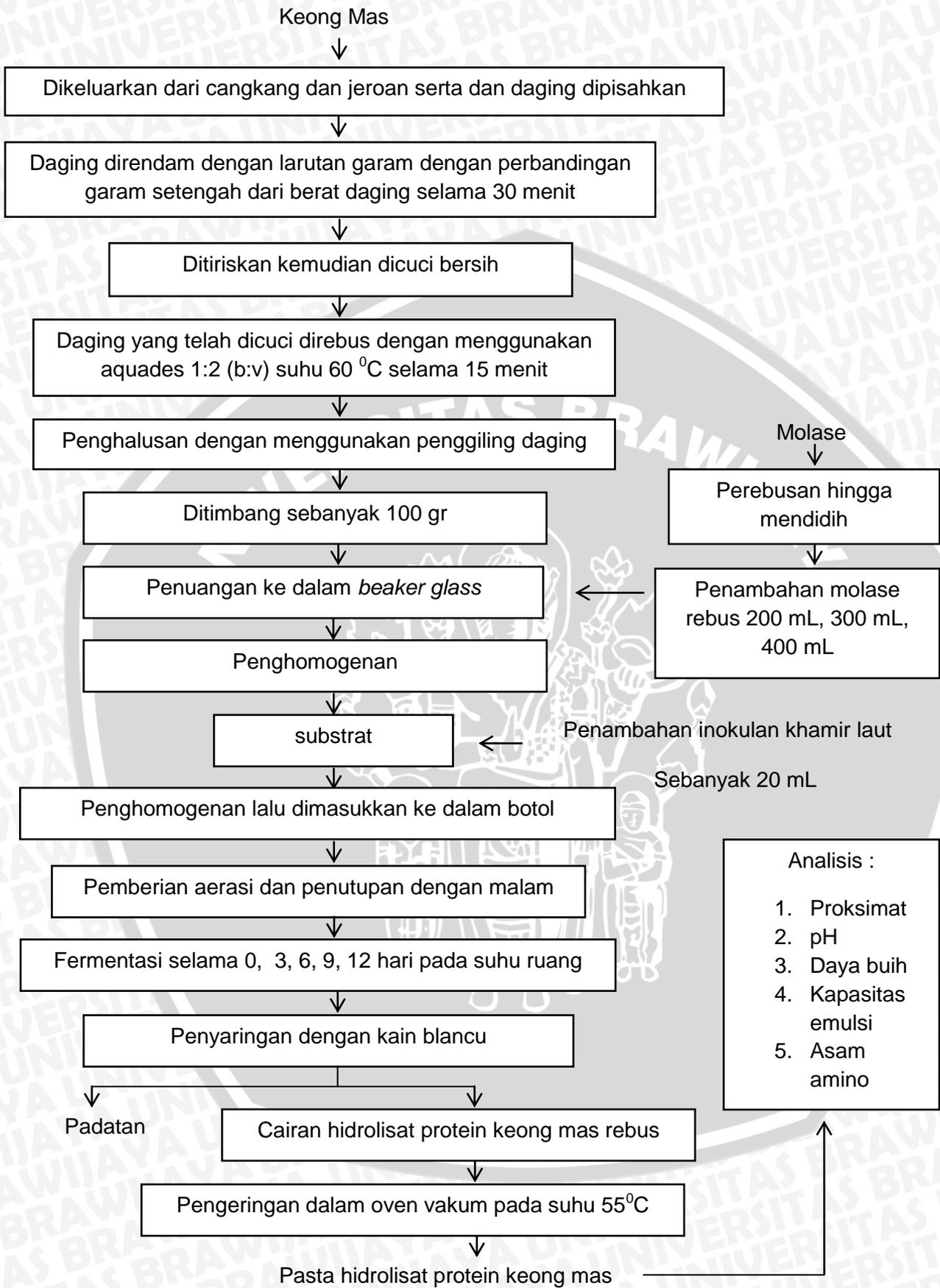
Pada penelitian ini juga menggunakan molase (tetes tebu) rebus, dimana prosedur perebusannya dilakukan sampai mendidih karena sifat dari molase adalah sumber karbon yang dapat digantikan penggunaan gula sehingga mudah mengalami karamelisasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Winarno (2004) bahwa karamelisasi merupakan salah satu reaksi pencoklatan non enzimatis. Apabila gula cair dipanaskan secara terus menerus melampaui suhu titik leburnya (160°C). Pada penelitian ini menggunakan penambahan molase rebus dan lama fermentasi berbeda. Perlakuan penelitian dengan berbagai variabel dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perlakuan Penelitian dengan Berbagai Variabel

Perlakuan	Molase Rebus			
	1	2	3	
Lama Fermentasi	A	A1	A2	A3
	B	B1	B3	B3
	C	C1	C2	C3
	D	D1	D2	D3
	E	E1	E2	E3

Keterangan : A = lama fermentasi 0 hari      1 = volume molase rebus 200 mL  
 B = lama fermentasi 3 hari                    2 = volume molase rebus 300 mL  
 C = lama fermentasi 6 hari                    3 = volume molase rebus 400 mL  
 D = lama fermentasi 9 hari  
 E = lama fermentasi 12 hari

Prosedur pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus yaitu keong mas dikeluarkan dari cangkang dengan cara memecahkannya. Dipisahkan antara daging dan jeroannya kemudian dicuci bersih dan direndam dengan larutan garam selama 30 menit, perbandingan garam yang digunakan adalah setengah dari berat daging keong mas. Selanjutnya direbus dengan menggunakan akuades perbandingan 1:2 (b:v) pada suhu 60 °C selama 15 menit. Setelah itu ditiriskan dan dihaluskan dengan menggunakan pengiling daging. Lalu ditimbang sebanyak 100 g untuk masing-masing perlakuan dan dimasukkan ke dalam botol. Kemudian ditambahkan molase rebus dengan konsentrasi berbeda yaitu 200 mL, 300 mL, 400 mL, dan dihomogenkan. Substrat yang telah siap, ditambah inokulan khamir laut sebanyak 20 mL, kemudian ditutup dan diberi aerasi yang cukup untuk menambah suplai oksigen dalam pertumbuhan khamir laut. Lalu difermentasi selama 0, 3, 6, 9, dan 12 hari pada suhu ruang. Kemudian sampel disaring dengan menggunakan kain putih hingga didapatkan cairan hidrolisat protein. Lalu dikeringkan dengan menggunakan oven vakum pada suhu 55°C ± selama 15 menit sampai menjadi pasta hidrolisat protein keong mas dan dilakukan pengujian yang meliputi analisis proksimat, pH, daya buih, dan kapasitas emulsi. Sampel dengan hasil terbaik digunakan dalam uji profil asam amino. Prosedur pembuatan hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Keong Mas

### 3.3.3 Prosedur Pengujian pH Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus

Pada penelitian pendahuluan dilakukan pengujian pH pada hidrolisat protein keong mas dengan penambahan volume molasse dan lama fermentasi yang berbeda. Pengujian pH dilakukan antara lain campuran filtrat dan residu hidrolisat keong mas, residu (ampas) hidrolisat protein keong mas dan filtrat hidrolisat keong mas. Pengujian pH ini bertujuan untuk mengetahui bahwa keong mas telah terhidrolisis oleh khamir laut. Prosedur pengujian pH yaitu elektroda dibilas dengan menggunakan aquadest dan dikeringkan dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan kedalam larutan penyangga (buffer) pH 4 dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka 4. Elektroda dicuci lagi dengan aquades dan dikeringkan dengan tissue. Lalu elektroda dicelupkan ke dalam larutan penyangga (buffer) pH 7 dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sampel yang akan diuji dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap. Lalu dicatat hasil pada tampilan pH meter.

### 3.4 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga perlakuan dan lima kelompok dengan 3 kali ulangan. Perlakuan A=molase 200 mL, B=molase 300 mL, C=400 mL serta dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu hari ke-0, hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-12. Rancangan penelitiannya adalah sebagai berikut dan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan Percobaan Penelitian

Perlakuan Volume molase	Kelompok				Rerata	Total
	0	3	6	9		
200 mL						
300 mL						
400 mL						

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 yang didapatkan perbedaan yang nyata ( $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ ) maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% menggunakan microsoft excel untuk mencari perlakuan yang terbaik.

### 3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi rendemen, analisa proksimat (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat (*by difference*), pH, daya buih, kapasitas emulsi dan profil asam amino.

#### 3.5.1 Rendemen

Rendemen merupakan persentase bahan baku utama yang menjadi produk akhir atau perbandingan produk akhir dengan bahan baku utama.

Persamaan yang dapat digunakan untuk menghitung rendemen adalah:

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

Keterangan : A = berat hidrolisat setelah dikeringkan (g)

B = berat basah sampel awal (g)

### 3.5.2 Analisa Proksimat

#### 3.5.2.1 Analisis Kadar Air Metode Termogravimetri (Legowo, 2007)

Analisis kadar air yang digunakan adalah dengan cara pengeringan. Metode pengeringan dengan oven didasarkan atas prinsip perhitungan selisih bobot bahan (sampel) sebelum dan sesudah pengeringan. Selisih bobot tersebut merupakan air yang teruapkan dan dihitung sebagai kadar air bahan. Prinsip metode ini adalah mengeringkan sampel dalam oven dengan suhu 100 – 105 °C sampai bobot konstan dan selisih bobot awal dengan bobot akhir dihitung sebagai kadar air. Prosedur dan perhitungan kadar air metode pengeringan oven adalah sebagai berikut:

- Siapkan cawan porselin yang telah diberi kode sesuai kode sampel, panaskan dalam oven dengan suhu 100 – 105 °C selama ± 1 jam.
- Ambil cawan porselin, masukkan dalam desikator ± 15 menit, kemudian cawan ditimbang.
- Timbang sampel sebanyak 1 - 2 g dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya.
- Keringkan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama 4 – 6 jam. Ditimbang, dioven kembali dan ditimbang hingga konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg.
- Masukkan dalam desikator ± 15 menit, dilanjutkan dengan penimbangan.
- Kadar air dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\% DB)} = \frac{(A+B) - C}{C} \times 100 \%$$

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

### 3.5.2.2 Analisis Kadar Lemak Metode *Goldfish* (Sudarmadji et al., 1989)

Analisis dengan metode *goldfish* merupakan metode yang digunakan untuk ekstraksi lemak, dimana labu ekstraksinya dirancang agar pelarutnya hanya melewati sampel tanpa merendam sampel. Prinsip dari metode ini adalah sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam thimble dan dipasang dalam tabung penyangga yang memiliki lubang pada bagian bawahnya. Pelarut yang digunakan ditempatkan dalam *beaker glass* di bawah tabung penyangga. Pada saat dipanaskan uap pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga akan mengembun dan menetes pada sampel, sehingga sampel akan dibasahi oleh pelarut dan lemak akan terekstraksi yang selanjutnya akan tertampung kedalam *beaker glass* kembali. Prosedur dan perhitungan analisis kadar abu adalah sebagai berikut:

- Ditimbang  $\pm 5$  g sampel kering dan halus serta dipindahkan ke dalam kertas saring kemudian dibungkus sampai sampel terbungkus.
- Pasanglah sampel pada sampel tube, yakni gelas penyangga yang bagian bawahnya terbuka tepat di bawah kondensor alat destilasi *Goldfish*.
- Dimasukkan pelarut (petroleum-ether) secukupnya dalam gelas piala.
- Pasanglah gelas piala berisi pelarut pada kondensor sampai tepat, dan tak dapat diputar lagi.
- Hidupkan aliran air pendingin dan kondensor.
- Naikkan pemanas listrik sampai menyentuh bagian bawah gelas piala dan nyalakan pemanas listriknya.

- Proses ekstraksi 3 – 4 jam.
- Setelah selesai ekstraksi, pemanas dimatikan dan diturunkan. Setelah sekiranya tidak ada tetesan pelarut, ambil thimble dan sisa bahan dalam gelas penyagga.
- Kemudian residu yang ada dalam beaker glasss yang dipasang dikeringkan dalam oven 100 °C sampai berat konstan. Berta residu ini dinyatakan sebagai minyak atau lemak yang ada pada bahan.
- Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus :

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

### 3.5.2.3 Analisis Kadar Protein Metode Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Analisis kadar protein dengan cara kjeldahl pada dasarnya dapat dibagi menjadi tiga yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Pada dasarnya prinsip dari metode ini adalah penerapan jumlah protein dalam bahan makanan umumnya dilakukan berdasarkan penerapan empiris (tidak langsung), yaitu melalui penentuan kandungan N yang ada dalam bahan. Prosedur penentuan kadar protein dengan metode kjeldahl sebagai berikut:

- Diambil bahan yang telah dihaluskan sebanyak 0,2 – 0,5 g dan dimasukkan kedalam labu kjeldahl.
- Ditambah 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 2 g tablet kjeldahl sebagai katalisator.
- Dipanaskan dalam ruang asam selama 2-3 jam pada suhu 370 °C sampai jernih kehijauan.
- Setelah dingin ditambahkan akuades 100 mL dan 50 mL NaOH
- Dilakukan destilasi dan menampung destilas dalam erlenmeyer yang telah diberi 50 mL H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dan 1 tetes indikator MO (*Metyl Orange*).
- Destilasi berakhir dan dilakukan titrasi dengan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N hingga warna merah muda tidak pudar.

- Kadar protein dapat dihitung dengan rumus:

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

#### 3.5.2.4 Analisis Kadar Abu Metode secara Langsung (Cara Kering) (Sudarmadji *et al.*, 1989)

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Analisis penentuan kadar abu dilakukan secara langsung atau cara pengeringan. Prinsip dari analisis kadar abu adalah mengoksidasi semua zat organik pada suhu yang tinggi, yaitu sekitar 500-600 °C dan kemudian melakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut. Prosedur dan perhitungan analisis kadar abu adalah sebagai berikut:

- Ambil cawan yang digunakan terlebih dahulu dioven selama 30 menit pada suhu 100-105 °C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang sebagai beratnya.
- Sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dioven.
- Sampel dibakar diatas hotplate sampai tidak berasap.
- Dilakukan pengabuan sampel di dalam muffle bersuhu 550 – 600 °C sampai pengabuan sempurna. Lama pengabuan berbeda-beda dan berkisar antara 2-8 jam.
- Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang.
- Kadar abu dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{\text{Berat akhir-berat kurs porselen}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

### 3.5.2.5 Analisis Kadar Karbohidrat *by Difference* (Andarwulan *et al.*, 2011)

Penentuan kadar karbohidrat biasanya menggunakan perhitungan karbohidrat total *by difference*, artinya kandungan tersebut diperoleh dari hasil pengurangan 100% dengan % komponen lain yakni (air, abu, lemak, dan protein).

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

### 3.5.3 Nilai pH

Menurut Hidayat *et al.*, (2013), pengujian pH dilakukan dengan pH meter elektronik. Sebelum pH meter elektronik digunakan ujung katoda indikator dicuci dengan aquades, kemudian dibersihkan dengan tissue. Selanjutnya pH meter elektronik dikalibrasi dengan ujung katoda dicelupkan kedalam larutan buffer 4 dan 7. Kemudian ujung katoda dicelupkan dalam sampel. Hasil pengukuran dibaca pada pH meter.

### 3.5.4 Kapasitas Emulsi (Reuwpassa *et al.*, 2013)

Kapasitas emulsi yang baik adalah bila bahan dapat menyerap air dan minyak secara seimbang. Kapasitas emulsi protein bergantung pada keseimbangan ikatan hidrofilik dan lipofilik. Pengukuran kapasitas emulsi dilakukan dengan cara 5 g sampel ditambahkan 20 mL akuades dan 20 mL minyak jagung, kemudian dihomogenkan selama 1 menit dan disentrifuse pada 7500 rpm selama 5 menit. Sehingga kapasitas emulsi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kapasitas emulsi} = (\text{volume emulsi setelah disentrifuse} / \text{volume awal}) \times 100 \%$$

### 3.5.5 Daya Buih (Reuwpassa *et al.*, 2013)

Kekuatan protein dalam memerangkap gas merupakan faktor utama yang menentukan karakteristik dari buih protein. Pada prinsipnya kapasitas buih bergantung pada fleksibilitas molekul dan sifat fisiko kimia protein. Pengukuran kapasitas emulsi dilakukan dengan cara sebanyak 1 g sampel ditambahkan 10 mL akuades dan dihomogenkan selama 1 menit. Kapasitas busa dapat dilihat dari busa yang terbentuk dibandingkan dengan kapasitas volume awal. Stabilitas busa merupakan rasio dari kapasitas busa selama waktu observasi dibandingkan dengan kapasitas busa awal.

### 3.5.6 Analisis Profil Asam Amino

Untuk mengidentifikasi adanya asam amino pertama diawali dengan hidrolisis ikatan amin dengan sempurna. 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 dihidrolisis, hidrolisat yang diperoleh kemudian didinginkan pada suhu kamar. Kemudian isi tabung dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas. Hasil dari proses hidrolisis menghasilkan larutan hitam kecoklatan sehingga tidak bisa langsung diinjeksikan 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 membran 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  $\mu$ l AccQ fluor borate dan 20  $\mu$ l reagen fluor A ke dalam 10  $\mu$ l filtrat. Kemudian vortex dan didiamkan selama 1 menit serta diinkubasi pada suhu 55  $^{\circ}$ C 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 derivat fluoresen dengan eksitasi 250 nm dan emisi 395 nm.

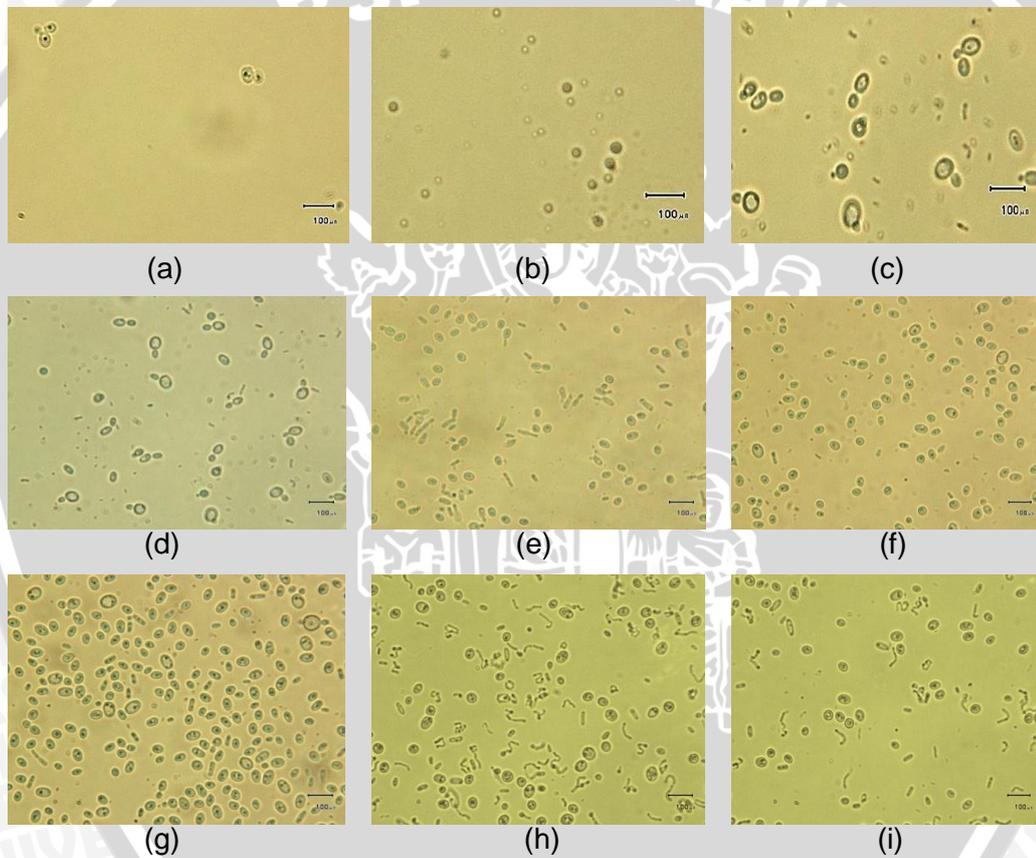
*High Performance Chromatography (HPLC)* adalah salah satu cara pemisahan komponen dari campuran berdasarkan perbedaan distribusi/absorpsi/adsorpsi komponen di antara dua fase yang berbeda, yakni fase diam (stasioner) dan fase gerak (mobil). Secara umum dapat dikatakan bahwa kromatografi adalah suatu proses migrasi difrensial dimana komponen-komponen sampel ditahan secara selektif oleh fase diam (Chairunisah, 2011).

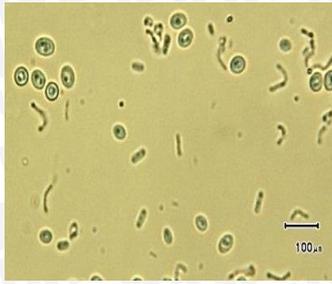
## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Pendahuluan

#### 4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Pertumbuhan khamir laut ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan khamir laut pada berbagai lama waktu pengkulturan. Mengingat kepadatan sel khamir laut pada berbagai lama waktu pengkulturan dengan perbesaran 1000x dapat dilihat pada Gambar 3.





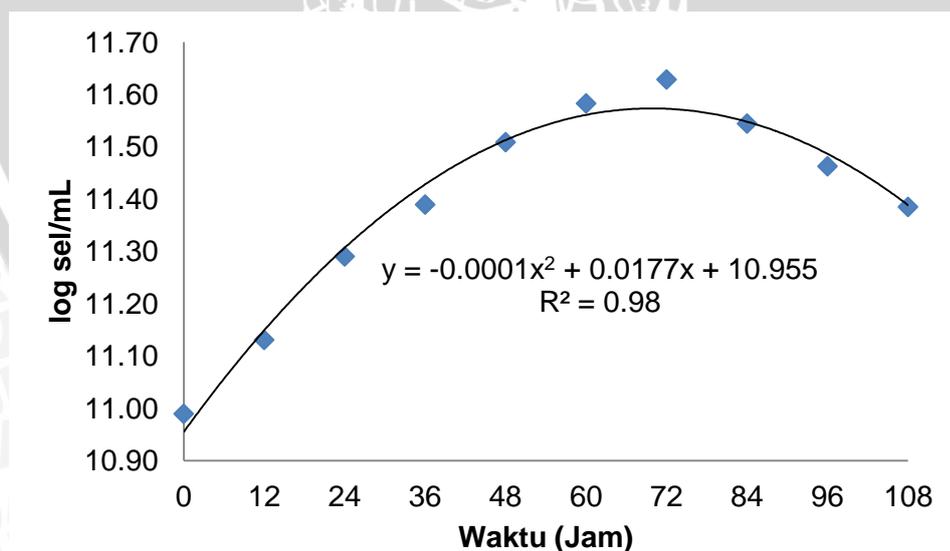
(j)

Gambar 3. Foto Khamir Laut dengan Pembesaran 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), jam ke-108 (j).

Pada gambar 3 menunjukkan bahwa khamir laut berbentuk bulat atau oval pada gambar muncul gelembung kecil dari permukaan sel khamir laut. Gelembung ini secara bertahap membesar dan mencapai ukuran yang sama dengan induk khamir. gelembung kecil pada sel khamir disebut dengan konodia. Banyaknya konodia menunjukkan bahwa khamir laut tumbuh dengan cara memebentuk tunas (*budding*) pada jam ke-72 terlihat bahwa khamir laut mengalami fase logaritmik dimana sel tumbuh dengan melakukan pertunasan dengan cepat. Pertunasan merupakan cara reproduksi yang paling umum terjadipada khamir laut. Dalam proses pertunasan, suatu saluran terbentuk dari vakuola di dekat nukleus menuju didnding sel yang terdekat dengan vakuola. Karena penipisan dinding sel, maka pada dinding sel tersebut protoplasma akan tesembul keluar keumudian membesar dan diisi dengan komponen-komponen nukleus dan sitoplasma dari induknya melalui saluran yang terbentuk. Tunas terus tumbuh dan membentuk dinding sel baru, dan jika ukuran tunas sudah hampir sama besar dengan induknya, komponen-komponen nukleus terpisah menjadi dua dan terbentuk dinding penyekat. Kemudian anak sel melepaskan diri dari induknya dan membentuk tunas baru (Fardiaz, 1992).

Pada gambar (h) terlihat bahwa khamir laut mulai menurun pada jam ke-84 hingga jam ke-108. Hal tersebut dikarenakan pertumbuhan khamir laut yang cepat tidak diimbangi dengan tersedianya nutrisi yang cukup dan pada akhirnya menyebabkan pertumbuhan khamir laut menjadi lambat dan menuju pada fase kematian. Menurut Novianti (2007) menambahkan bahwa fase kematian sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yakni nutrisi dalam medium sudah habis dan energi cadangan dalam sel habis. Jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak, dan kecepatan dipengaruhi oleh kondisi nutrisi, lingkungan dan jenis mikroba.

Fase logaritmik adalah fase dimana sel-sel khamir laut mengalami pembelahan dengan cepat hingga mencapai populasi yang maksimal. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan khamir laut sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi. Grafik hasil pengamatan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Gambar 4. Sedangkan untuk data pengamatan dan analisis kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 9.



Gambar 4. Kepadatan Sel Khamir Laut dengan Pengamatan Tiap 12 Jam Sekali Selama 4 Hari

Pada gambar 4 menunjukkan pertumbuhan khamir laut mulai dari fase adaptasi hingga fase menuju kematian. Fase adaptasi atau fase lag pada khamir laut terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-12, pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena pada fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitarnya. Pertumbuhan dengan cepat menunjukkan bahwa khamir laut dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan tempat hidupnya dan memanfaatkan nutrisi yang terdapat pada medium yaitu pupuk sebagai sumber nitrogen dan gula pasir sebagai sumber karbon.

Noviati (2007) menambahkan bahwa lama fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni medium dan lingkungan pertumbuhan. Sel yang ditempatkan dalam medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak memerlukan fase adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan lingkungan yang baru sangat berbeda dengan yang sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesis enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme. Jumlah inokulan, jumlah awal sel yang semakain tinggi akan mempercepat fase adaptasi.

Pertumbuhan khamir laut terus mengalami peningkatan pada jam ke-36 hingga jam ke-72 yang ditandai dengan banyaknya khamir laut yang tumbuh dan membelah diri sehingga jumlah khamir laut meningkat dengan cepat. Pertumbuhan khamir laut yang cepat juga ditandai dengan adanya kekeruhan dan bau khas fermentasi pada kultur khamir laut. Kultur khamir laut yang akan digunakan sebagai starter dalam fermentasi hidrolisat protein keong mas adalah pada jam ke-72. Pada jam ke-72 khamir laut mengalami pembelahan secara cepat sehingga didapatkan populasi khamir laut paling tinggi dan menyebabkan tingkat kekeruhan dari kultur. Sehingga fase logaritmik terjadi pada jam ke-72.

#### 4.1.2 Penentuan Volume Molase Rebus dan Lama fermentasi

Penentuan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi bertujuan untuk menentukan berapa range optimal yang akan digunakan sebagai landasan dalam menjalankan penelitian utama. Pada penentuan volume molase dan lama waktu fermentasi dilakukan beberapa percobaan. Percobaan pertama didasari oleh percobaan Budy (2014) yang menyatakan dalam pembuatan fermentasi cangkang udang ditimbang sebanyak 50 g untuk setiap perlakuan kemudian ditambah starter khamir laut sebanyak 10 mL. Pada percobaan pertama untuk menentukan volume molase dilakukan beberapa kali percobaan dengan jumlah bahan baku (keong mas rebus 50 dan 100 g). Percobaan pertama menggunakan volume molase rebus 10 mL, 20 mL dan 30 mL. Percobaan kedua menggunakan volume molase rebus 40 mL, 50 mL dan 60 mL. Percobaan ketiga menggunakan volume molase rebus 100 mL, 150 mL dan 200 mL.

Pada awal pelaksanaan penelitian substrat yang akan digunakan berupa molase rebus dan keong mas rebus. Percobaan pertama bahan baku (keong mas) yang digunakan sebanyak 50 g, volume molase yang digunakan yaitu 10 mL, 20 ml dan 30 mL. Hasil percobaan pertama Lampiran 8 mengalami pembusukan setelah bertahan 2 hari di dalam cairan hidrolisat protein keong tumbuh jamur, berbuih dan bau busuk. Hal ini dimungkinkan karena molase yang berfungsi sebagai nutrisi atau sumber karbon bagi khamir tersedia dalam jumlah yang sedikit, sehingga fermentasi berlangsung secara singkat. Disamping itu volume molase yang terlalu sedikit menyebabkan saat proses aerasi tidak berjalan dengan maksimal. Khamir laut yang mengandung protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat dan akan menyulitkan proses aerasi. Pemberian aerasi ini bertujuan sebagai penyuplai oksigen untuk sel khamir laut dalam bentuk gelembung gas. Menurut Edhawati (2009), proses penambahan oksigen aerasi merupakan suatu usaha penambahan konsentrasi oksigen yang

terkandung didalam air, agar proses oksidasi oleh mikroba dapat berjalan dengan baik.

Pada percobaan kedua, volume molase yang digunakan ditingkatkan menjadi 40 mL, 50 mL dan 60 mL dengan bahan baku keong mas yang digunakan sebanyak 50 g. Hasil percobaan kedua Lampiran 12 bertahan hanya 3 hari dan terbentuk busa yang berlebih sehingga sampai menyembur keluar tempat aerasi. Proses fermentasi menggunakan botol aqua kecil. Hal ini dimungkinkan karakteristik dari keong mas yang mengandung lendir sehingga pada saat proses aerasi banyak terbentuk busa yang banyak. Namun pada volume molase 60 mL dapat bertahan hingga 9 hari, berbau khas fermentasi.

Pada percobaan ketiga dengan volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL dan bahan baku keong mas yang digunakan adalah 100 g. Dilakukan percobaan ketiga dimaksudkan untuk menentukan batas bawah dalam penentuan volume molase yang menjadi landasan pada penelitian utama. Hasil dari percobaan ketiga dengan volume molase 200 mL, 300 mL dan 400 mL dapat bertahan 12 hari dan tidak mengalami pembusukan atau keluar buih yang berlebih pada hidrolisat protein keong mas. Tempat untuk fermentasi menggunakan botol aqua ukuran 1,5 L.

Dari hasil percobaan yang ketiga volume molase yang sesuai yakni 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan lama fermentasi 12 hari yang digunakan sebagai landasan penelitian utama. Untuk mendapatkan hidrolisat protein keong mas yang banyak guna pengujian selanjutnya maka volume molase dinaikkan menjadi 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan sampel keong mas sebanyak 100 g.

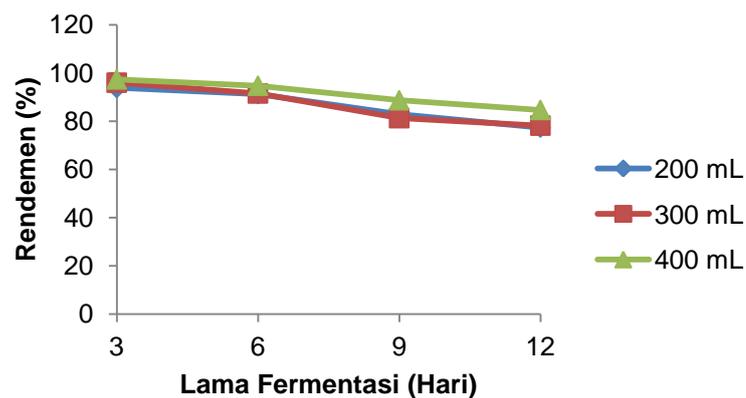
#### 4.1.3 Volume Khamir Laut

Penentuan volume khamir laut yang digunakan sebagai landasan melakukan penelitian utama dalam menghidrolisis keong mas rebus. Volume khamir laut yang ditambahkan merupakan hasil kultur pada fase log. Pada penentuan volume khamir laut digunakan volume khamir sebanyak 10 ml dan 20 mL dengan bahan baku keong mas sebanyak 50 g.

Hasil percobaan volume khamir laut 10 mL dapat bertahan hingga 2 hari. Hal ini dimungkinkan karena volume molase yang sedikit sehingga sel khamir kekurangan nutrisi dan sumber karbon. Sehingga fermentasi berlangsung secara singkat. Namun volume khamir 20 mL fermentasi dapat bertahan 9 samapai 12 hari Hal ini dimungkinkan karena volume khamir yang lebih tinggi menyebabkan sel lebih cepat tumbuh sehingga sumber karbon yang terdapat pada molase rebus akan cepat berkurang dibanding volume khamir laut 10 mL. Volume khamir yang lebih banyak akan lebih cepat menghidrolisis substrat serta meningkatkan senyawa nitrogen yang bersifat larut. Menurut Jannah (2012) penambahan volume khamir laut memiliki batas maksimum dan apabila melebihi dapat menyebabkan khamir laut jenuh terhadap substrat sehingga tidak dapat menghidrolisis dengan baik. Dengan demikian, volume khamir laut yang digunakan untuk penelitian utama yaitu volume khamir 20 mL.

#### 4.1.4 Pengukuran Rendemen Hidrolisat Protein Keong Mas

Rendemen yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein keong mas dengan penambahan molase segar dan lama fermentasi yang berbeda dengan menggunakan 20 mL khamir dapat dilihat pada Gambar 5.

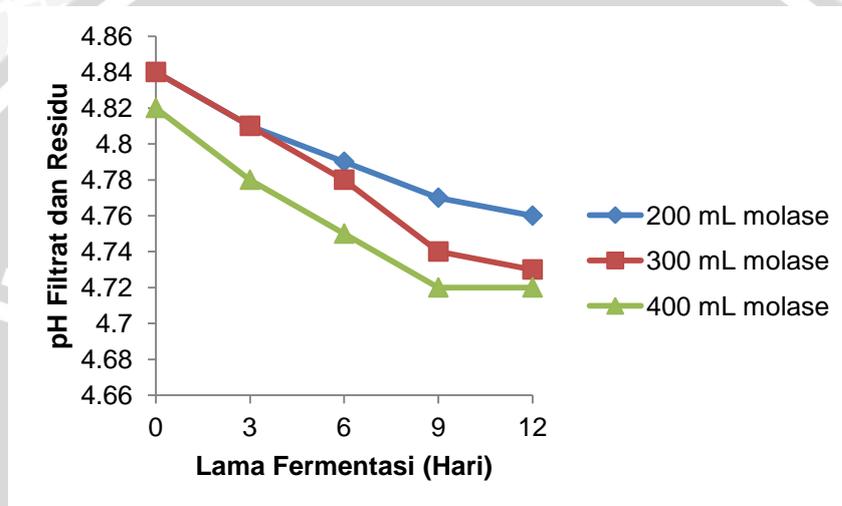


Gambar 5. Rendemen Hidrolisat Protein Keong Mas dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.

Pada gambar 5 memeperlihatkan bahwa rendemen hidrolisat protein keong mas dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Data rendemen hidrolisat protein keong mas dapat dilihat pada Lampiran 9. Semakin menurunnya rendemen cairan dimungkinkan karena semakin lama metabolisme khamir laut dalam fermentasi maka semakin banyak enzim protease yang dihasilkan oleh khamir laut. Sehingga menjadikan enzim menjadi jenuh terhadap substrat pada akhirnya tidak dapat menghidrolisis dengan baik. Menurut Arief *et al.*, (2011), Pada tahan awal fermentasi, mikroba menguraikan karbohidrat atau pati untuk menghasilkan glukosa, sehingga glukosa meningkat dan kadar karbohidrat atau pati menurun. Glukosa dimetabolisme oleh mikroba menghasilkan air pada proses pengeringan akan menguap sehingga karbohidrat yang dihidrolisis pada akhirnya akan menjadi air yang menguap atau glukosa yang larut, akibatnya karbohidrat menurun dan rendemen juga akan menurun.

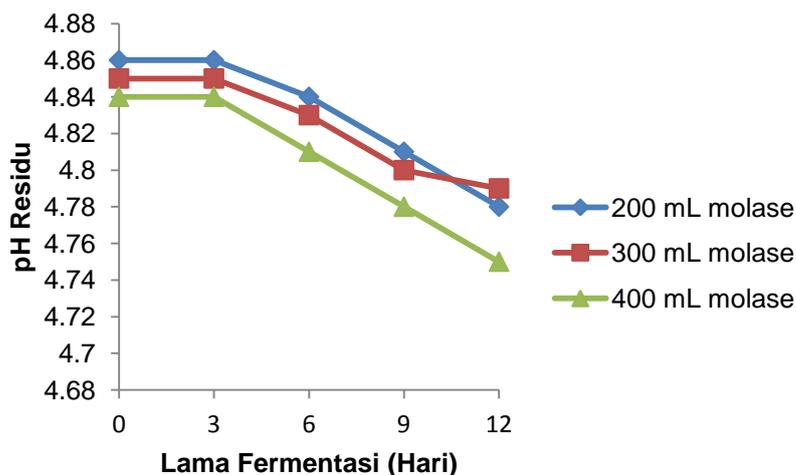
#### 4.1.5 Pengukuran pH Hidrolisat Protein Keong Mas

Data pH yang dihasilkan pada penelitian pendahuluan dari hidrolisat protein keong mas dengan penambahan molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda dengan menggunakan 20 mL khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 10. Sedangkan gambar grafik hasil pengukuran pH campuran (filtrat dan residu), pH residu dan pH filtrat hidrolisat protein keong mas dapat dilihat pada Gambar 6, 7 dan 8.



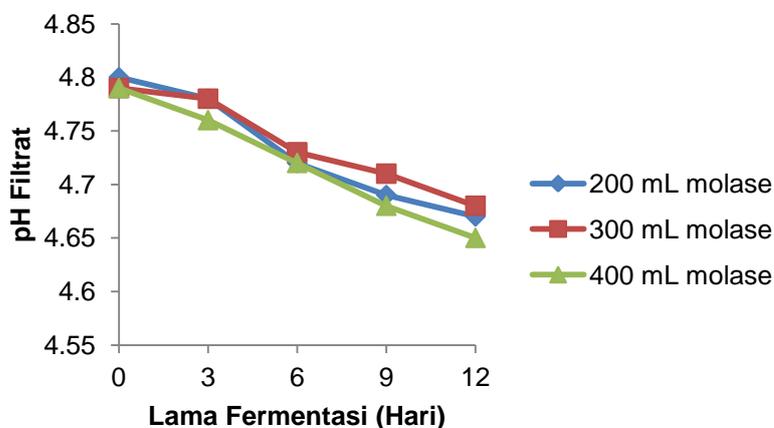
Gambar 6. pH Campuran (Filtrat dan Residu) Hidrolisat Protein Keong Mas

Gambar 6 menunjukkan bahwa pH dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. Namun penurunan tidak terlalu drastis. pH campuran untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,84 – 4,76. pH campuran untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,84 – 4,73. Dan pH campuran untuk volume molase 400 mL berkisar antara 4,82 – 4,72. pH yang didapatkan menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik. Menurut Novianti (2007) dalam penelitiannya bahwa tingkat pertumbuhan *S. Cerevisiae* biasanya sedikit dipengaruhi oleh perubahan pH antara 3,5-7,5. Namun pertumbuhannya mengalami penurunan pH dibawah 3,5 dan hampir terhenti di bawah pH 2 atau di atas pH 8. Kisaran pH tersebut berada dalam kisaran yang dapat mendukung pertumbuhan khamir.



Gambar 7. pH Residu Hidrolisat Protein Keong Mas

Gambar 7 menunjukkan bahwa pH residu dengan lama fermentasi yang berbeda semakin mengalami penurunan yang tidak terlalu banyak. pH ampas untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,85 – 4,75. pH ampas untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,84 – 4,79. pH ampas untuk volume molase 400 mL berkisar antara 4,84 – 4,75. Hal ini dimungkinkan karena khamir menghasilkan produk sampingan metabolisme dan dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi sehingga ampas tidak menghasilkan perubahan pH yang terlalu banyak.



Gambar 8. pH Filtrat Hidrolisat Protein Keong Mas

Pada gambar 8 menunjukkan bahwa pH cairan dengan lama fermentasi yang berbeda semakin menurun. pH cairan untuk volume molase 200 mL berkisar antara 4,80 – 4,67 . pH cairan untuk volume molase 300 mL berkisar antara 4,79 – 4,68. pH cairan untuk volume molase 400 mL berkisar antara 4,79 – 4,65. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi maka khamir laut menghasilkan produk sampingan metabolisme yang dikeluarkan kedalam larutan fermentasi. Novianti (2007) melaporkan bahwa penurunan pH disebabkan produksi asam-asam seperti asam laktat dan asam piruvat hasil fermentasi oleh khamir secara aerob. VFA (*volatile fatty acid*) yang dihasilkan khamir juga dapat menurunkan pH medium. Selain itu penurunan pH juga karena terbentuknya asam dengan dihasilkannya CO<sub>2</sub> yang terbentuk dari perombakan glukosa yang tersedia melalui proses respirasi.

## **4.2 Penelitian Utama**

Berdasarkan penelitian pendahuluan didapatkan hasil bahwa proses pembuatan hidrolisat protein keong mas dilakukan dengan penambahan volume molase segar sebanyak 200 mL, 300 mL dan 400 mL dengan lama fermentasi yang digunakan yaitu 0, 3, 6, 9, dan 12 hari. Penambahan inokulan khamir laut fase logaritmik sebanyak 20 mL dengan  $11,379 \times 10^{10}$  sel. Produk hidrolisat protein keong mas pada penelitian ini dalam bentuk pasta.

### **4.2.1 Komposisi Kimia Keong Mas Rebus**

Bahan baku dalam penelitian ini adalah keong mas rebus. Bahan baku didapatkan berasal dari Desa Kauman Kabupaten Tulung Agung, Jawa Timur. Informasi mengenai kandungan gizi yang terdapat dalam bahan pangan dapat diketahui dengan analisis komposisi kimia atau proksimat bahan pangan tersebut. Analisis proksimat secara umum menunjukkan persentase dari unsur

pokok berupa air, abu, protein dan lemak. Kandungan gizi yang terkandung dalam suatu bahan pangan berbeda-beda karena adanya makanan, spesies, jenis kelamin, dan umur bahan. Menurut Dewi (2012), Hasil analisis kimia daging keong mas rebus dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Analisis Kimia Keong Mas

Parameter	Kandungan (%bb)			
	Segar	Rebus	Rebus air garam	Kukus
Kadar Air	77,40	68,36	67,20	64,23
Kadar Abu	5,44	4,40	6,67	4,00
Kadar Protein	14,04	10,86	8,36	11,71
Kadar Lemak	0,99	0,70	0,40	0,79

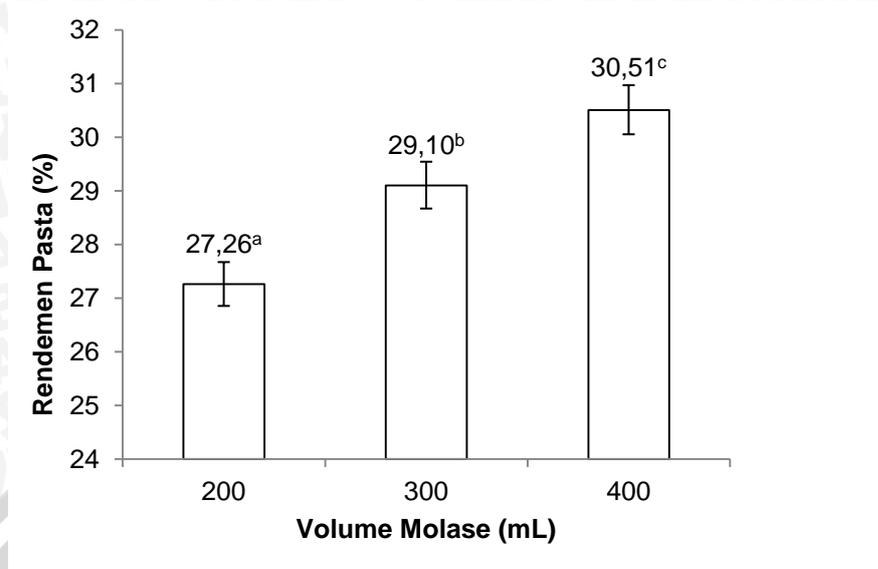
Berbeda dengan penelitian oleh Nurjanah *et al.*, (1996), Komposisi kimia dari keong mas tanpa dilakukan perlakuan adalah sebagai berikut :

Tabel 7. Komposisi Kimia Keong Mas

Komposisi	% (bb)
Kadar air	84,70
Kadar protein	9,33
Kadar lemak	0,91
Kadar abu	1,43

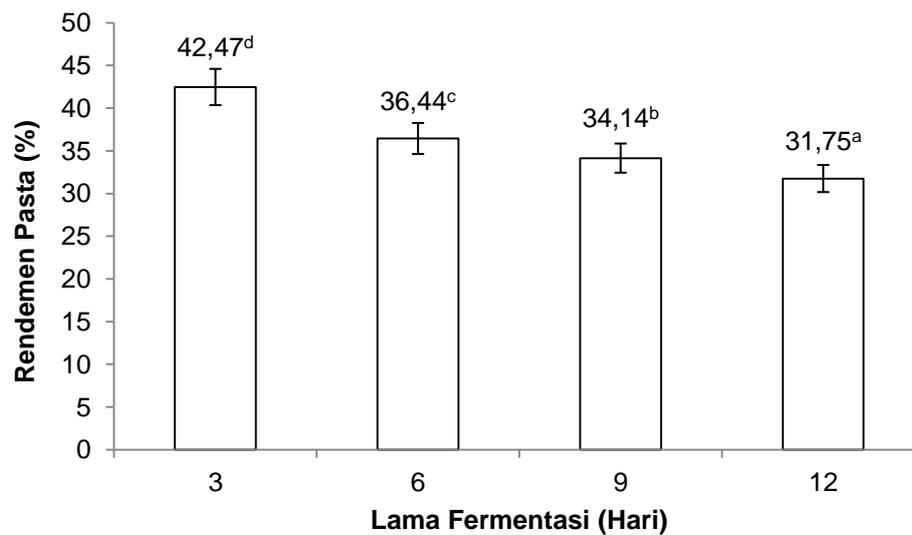
#### 4.2.2 Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dan Volume Molase Rebus

Data pengamatan rendemen pada pasta hidrolisat protein keong mas rebus dan volume molase rebus dengan perlakuan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa rendemen hidrolisat protein keong mas rebus pada tiap perlakuan berbeda nyata ( $p < 0,05\%$ ) dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Rendemen hidrolisat protein keong mas rebus dengan perlakuan volume molase rebus dengan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 9 dan 10.



Gambar 9. Rendemen Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus yang berbeda

Gambar 9 menunjukkan bahwa semakin banyak volume molase rebus yang ditambahkan, rata-rata rendemen hidrolisat protein keong mas rebus yang dihasilkan mengalami peningkatan. Peningkatan rendemen dimungkinkan karena proses perebusan pada molase rebus menyebabkan sukrosa pada molase mengalami hidrolisis menjadi monosakarida glukosa dan fruktosa yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna oleh khamir laut. Semakin banyak nutrisi yang tersedia oleh khamir laut, maka kemampuan dari khamir laut untuk menghidrolisis substrat lebih tinggi sehingga dapat meningkatkan kadar rendemen yang dihasilkan. Romantica *et al.*, (2014), nilai rendemen yang semakin besar menunjukkan makin efektif dan efisiennya proses yang dilakukan terhadap bahan baku. Nilai rendemen dipengaruhi oleh protein yang dapat mengikat air. Air yang semakin banyak ditahan oleh protein, maka air yang keluar akan semakin sedikit sehingga nilai rendemen yang dihasilkan semakin rendah.



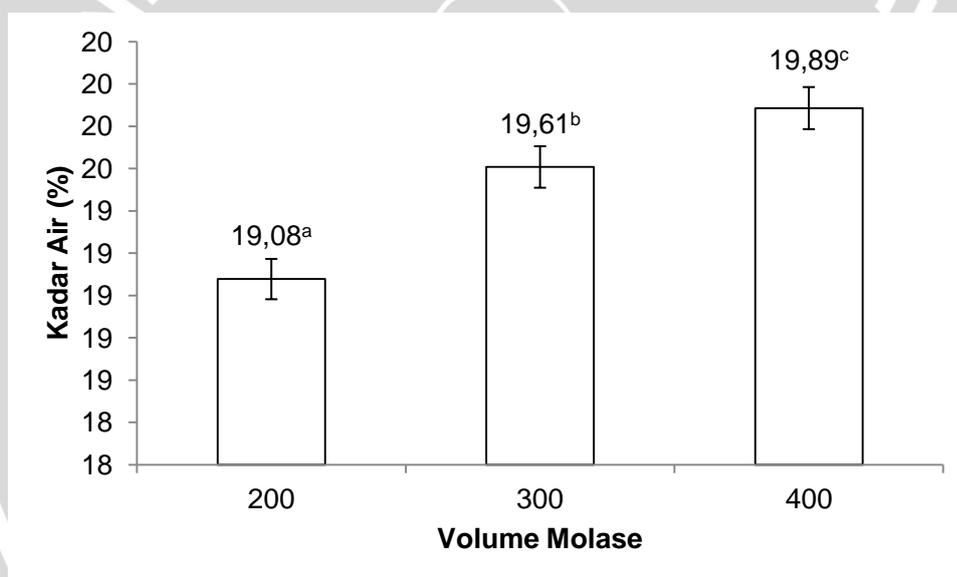
Gambar 10. Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 10 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, kadar rendemen pasta hidrolisat protein keong mas rebus semakin mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama proses fermentasi maka semakin banyak bahan organik yang digunakan khamir laut untuk metabolisme sehingga senyawa senyawa- senyawa volatil yang dibebaskan juga semakin banyak. Didukung oleh penelitian Said *et al.*, (2008) bahwa, adanya proses fermentasi oleh ragi yang menghilangkan glukosa, sehingga akan mengurangi berat rendemen yang dihasilkan. Terjadinya penurunan rendemen dengan meningkatnya lama fermentasi dapat disebabkan oleh pada perlakuan proses perombakan glukosa menjadi karbondioksia ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

#### 4.2.3 Analisa Proksimat Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus

##### a. Kadar Air

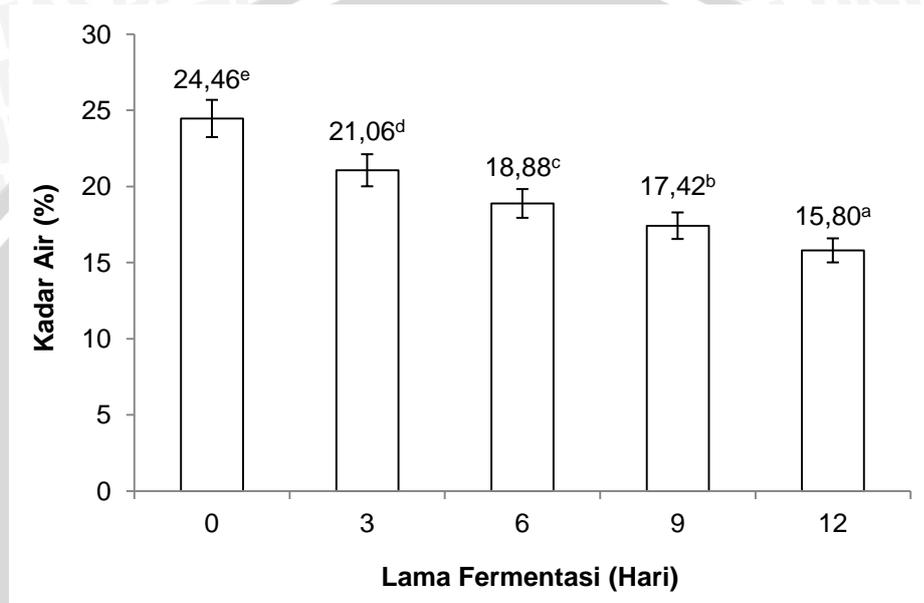
Data pengamatan dan analisis data kadar air kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar air pasta hidrolisat protein keong mas dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan volume molase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



Gambar 11. Rata-rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 11 memperlihatkan bahwa volume molase dapat meningkatkan kadar air pasta hidrolisat protein keong mas. Faharuddin (2014) melaporkan bahwa meningkatnya level aditif (mloase, urea) pada silase pucuk tebu memacu aktivitas fermentasi sehingga menyebabkan produksi  $H_2O$  juga meningkat. Meningkatnya kadar air ini dimungkinkan karena semakin besar ketersediaan

karbohidrat terlarut menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas fermentasi oleh bakteri untuk menghasilkan asam laktat dan air. Rahmadi (2003) bahwa, pada proses fermentasi mikroorganisme mulai memanfaatkan karbohidrat yang mudah terfermentasi adalah gula-gula sederhana yang kemudian diubah menjadi energi dengan hasil sampingan berupa metabolit, alkohol, asam CO<sub>2</sub>, dan air.



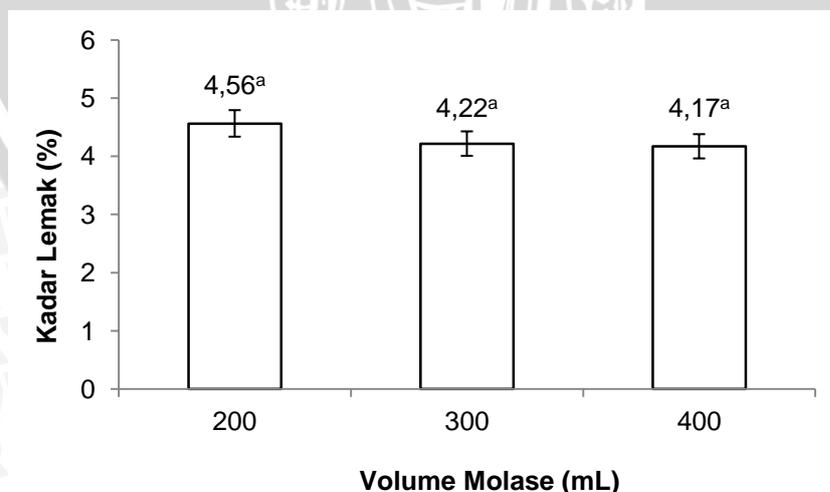
Gambar 12. Rata-rata Kadar Air Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 12 menunjukkan bahwa rata-rata kadar air pasta hidrolisat protein keong mas rebus mengalami penurunan kadar air selama proses fermentasi. Tifani *et al.*, (2014) kadar air menurun selama proses fermentasi selama 12 jam. Hamid *et al.*, (1999) melaporkan bahwa terjadi kehilangan bobot air selama fermentasi 4 hari, hal ini disebabkan pada proses fermentasi terjadi reaksi dimana senyawa kompleks dirubah menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan membebaskan molekul air. Penurunan kadar air hidrolisat protein keong mas rebus dimungkinkan karena adanya pelepasan ion (H<sup>+</sup>) dan (OH<sup>-</sup>) saat proses metabolisme. Didukung dengan pernyataan Anggraeni dan Yuwono (2014) bahwa, semakin lama fermentasi kadar air semakin menurun, hal ini

disebabkan karena pada proses fermentasi terjadi degradasi pati oleh mikroorganisme yang menyebabkan turunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air. Pada proses fermentasi, semakin lama fermentasi maka aktivitas enzim dalam mendegradasi pati semakin meningkat. Sehingga semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan, akibatnya tekstur bahan menjadi lunak dan berpori. Keadaan ini dapat menyebabkan penguapan air selama proses pengeringan, dengan begitu kadar air akan semakin menurun dalam jangka pengeringan yang sama.

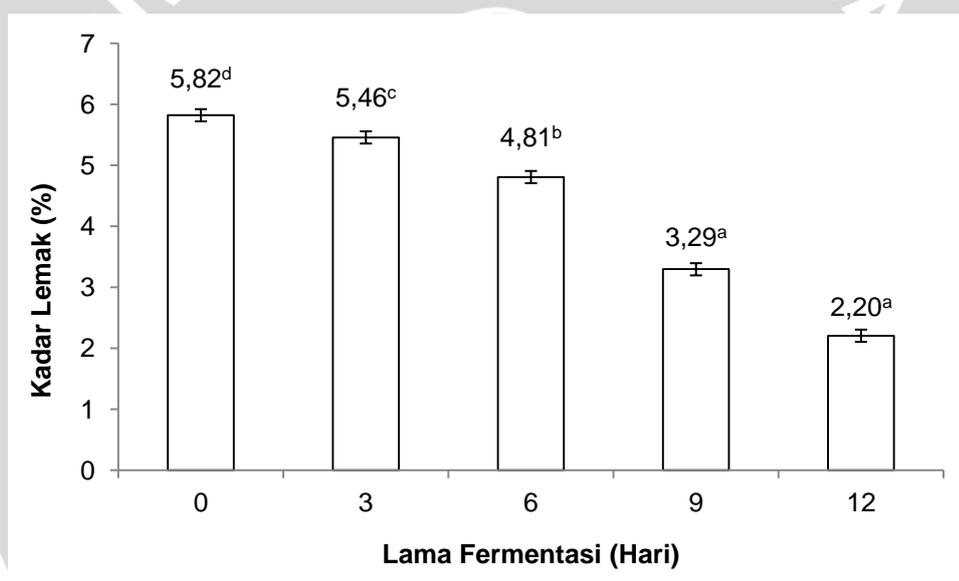
#### b. Kadar Lemak

Data pengamatan dan analisis data kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $p > 0,05$ ) dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar lemak kontrol dan pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 13 dan 14.



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

Gambar 13 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal ini diduga karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan biomassa khamir yang mengakibatkan produksi enzim lipase semakin banyak untuk memecah lemak. Menurut Budy (2014) dalam penelitiannya bahwa semakin meningkatnya jumlah molase dapat menurunkan kadar lemak. Hal ini menunjukkan bahwa khamir laut menghasilkan zat bioaktif termasuk enzim lipase. Bharathi *et al.*, (2011) melaporkan bahwa enzim lipase akan memecah lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol.



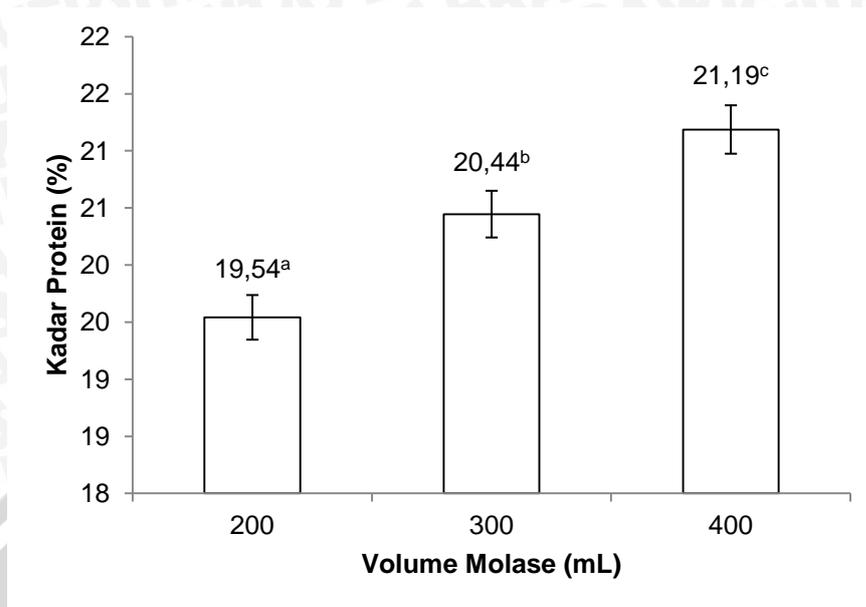
Gambar 14. Rata-rata Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Pada 14 gambar menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi dapat menurunkan kadar lemak pasta hidrolisat protein keong mas. Herawati dan Andang (2014) melaporkan bahwa terjadi penurunan kandungan lemak pada *soyghurt*. Hamid *et al.*, (1999) dalam penelitiannya pada fermentasi bukil kelapa selama 4 hari dan enzimatis 2 hari presentase penurunan kadar lemak lebih besar yaitu 61,6 dan 52,3%. Hal ini diduga karena meningkatnya aktivitas enzim

lipase yang dihasilkan oleh khamir untuk memecah kandungan lemak substrat sebagai sumber energi bagi pertumbuhannya. Menurut Hamid (1999), penurunan kadar lemak disebabkan karena aktivitas enzim lipase yang dihasilkan khamir atau kapang yang berperan dalam menghidrolisis lemak (gliserida) menjadi gliserol dan asam lemak dengan adanya molekul air. selain itu dimungkinkan terjadi penguraian asam lemak oleh enzim yang diproduksi kapang. Terjadi penurunan kadar lemak dengan semakin lamanya fermentasi disebabkan karena jamur bersifat lipolitik yang dapat menghidrolisis lemak. Jamur menggunakan lemak dari substrat sebagai sumber energinya (Deliani, 2008).

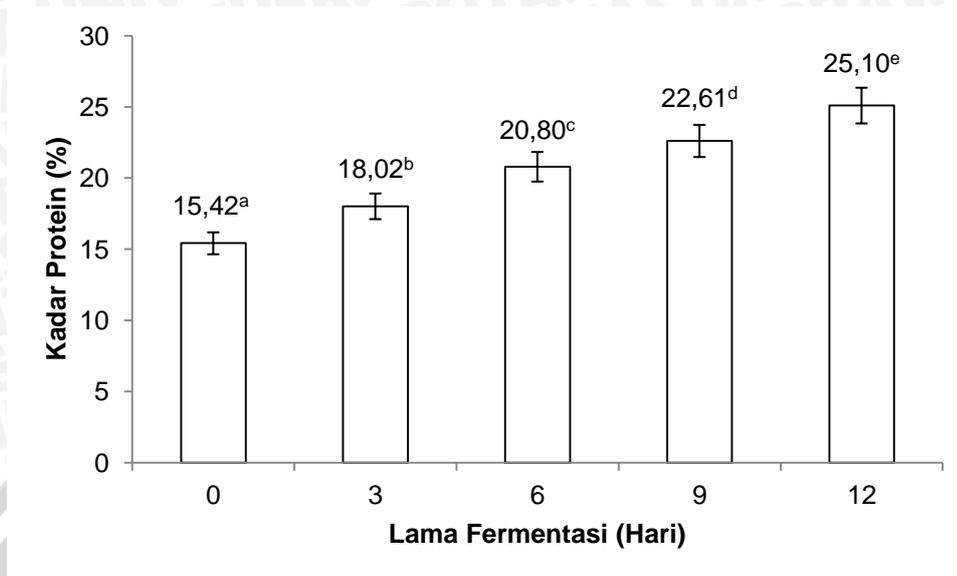
### **c. Kadar Protein**

Data pengamatan dan analisis data kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil analisis menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar protein kontrol dan pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 15 dan 16.



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

Gambar 15 memperlihatkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan pula kadar protein pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal ini dimungkinkan karena peningkatan volume molase akan memacu pertumbuhan khamir laut, khamir laut merupakan penghasil protein sel tunggal. Selain itu adanya molase sebagai substrat pertumbuhan khamir dapat memicu menghasilkan metabolit berupa enzim protease untuk menghidrolisis protein dari keong mas rebus. Semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktivitas dari khamir laut semakin meningkat dan semakin meningkat pula enzim yang dihasilkan oleh khamir. Sukoso (2010), menyatakan bahwa khamir laut menghasilkan enzim antar lain proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase dan fosfatase. Ditambahkan oleh Nurul *et al.*, (2013), menyatakan bahwa penambahan molase sebagai sumber energi mikroba sehingga mikroba berkembang lebih banyak dalam proses fermentasi dan dengan bertambahnya mikroba maka bermanfaat sebagai penyumbang kadar protein kasar.



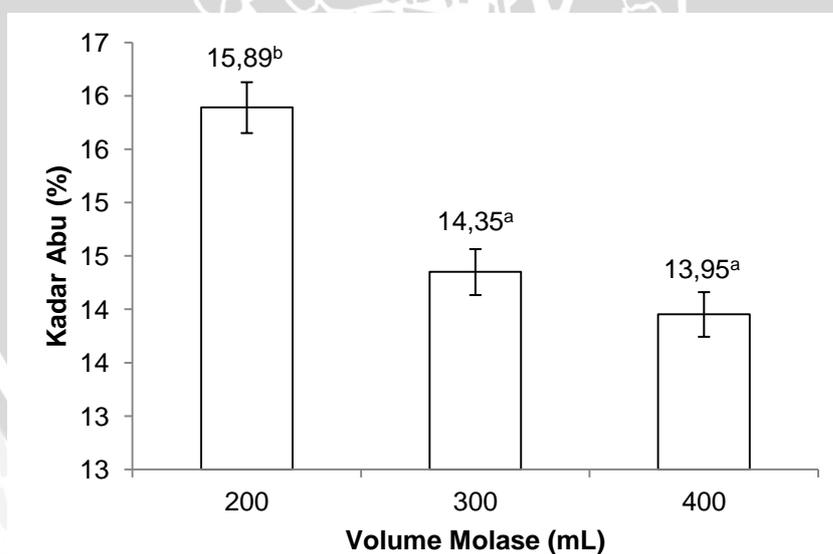
Gambar 16. Rata-rata Kadar Protein Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 16 menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi dapat meningkatkan kadar protein dari pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Kurniadi *et al.*, (2013), Rahman (1992) dan Ibrahim *et al.*, (2005) melaporkan bahwa semakin tinggi konsentrasi starter dan lama fermentasi berakibat pada meningkatnya kadar protein terlarut pada tepung sorghum terfermentasi. Hal ini dimungkinkan karena terjadinya hidrolisis protein pada keong mas oleh enzim enzim hasil metabolit dari khamir laut. Fransistika *et al.*, (2012), melaporkan bahwa, semakin lama waktu fermentasi maka kandungan protein kasar semakin tinggi. Peningkatan protein diduga karena adanya penambahan protein yang disumbangkan oleh sel mikroba akibat pertumbuhannya yang menghasilkan produk protein sel tunggal atau biomassa sel yang mengandung sekitar 40-65% protein. Peningkatan kadar protein karena adanya aktivitas bakteri yang menghasilkan enzim protease yang memecah protein menjadi peptida atau asam amino sehingga total nitrogen terlarut cenderung mengalami peningkatan dan kadar protein meningkat (Anwar *et al.*, 2014).

Anggorowati *et al.*, (2012) menyatakan bahwa peningkatan jumlah massa mikroba akan menyebabkan meningkatnya kandungan protein produk fermentasi, dimana kandungan protein merupakan refleksi dari jumlah massa sel. Sehingga pada lama fermentasi 12 hari kadar protein mengalami kenaikan.

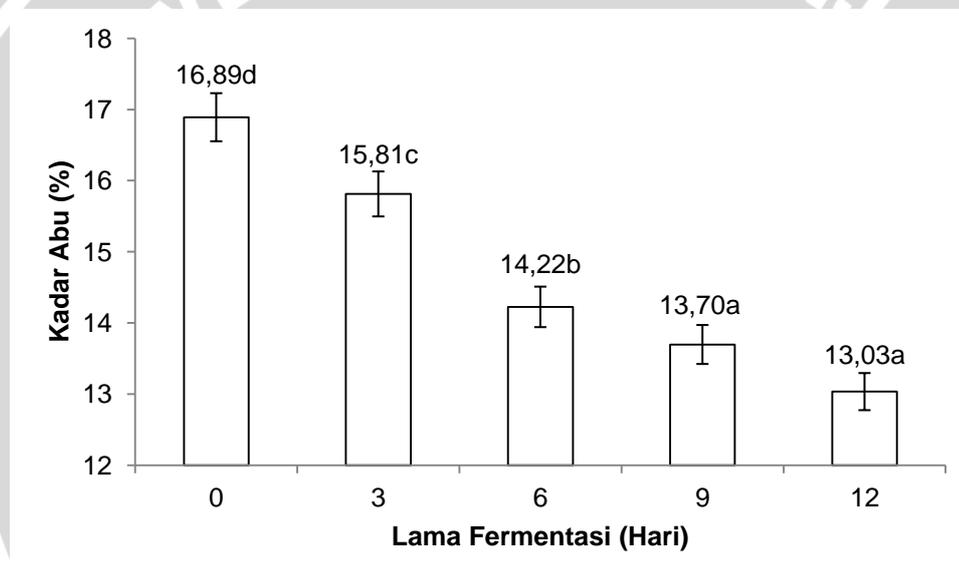
#### d. Kadar Abu

Data pengamatan data analisis data kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar abu pasta hidrolisat protein keong mass rebus dengan volume penambahan molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan penambahan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar abu pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar abu kontrol dan pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 17 dan 18.



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

Pada gambar 17 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan kadar abu pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal ini diduga karena adanya pemanfaatan mineral yang ada pada substrat oleh khamir untuk pertumbuhan dan perkembangan khamir laut. Rohim (2014), mengungkapkan molase rebus mengandung kadar abu sebesar 4,95%. Menurut Sutrisno (2004), melaporkan bahwa peningkatan lama fermentasi menurunkan kadar abu karena terlepasnya ikatan fosfor pada ikatan asam fitat oleh enzim fitase. Fosfor yang terlepas digunakan oleh bakteri dalam fosforilasi pada metabolisme monosakarida.



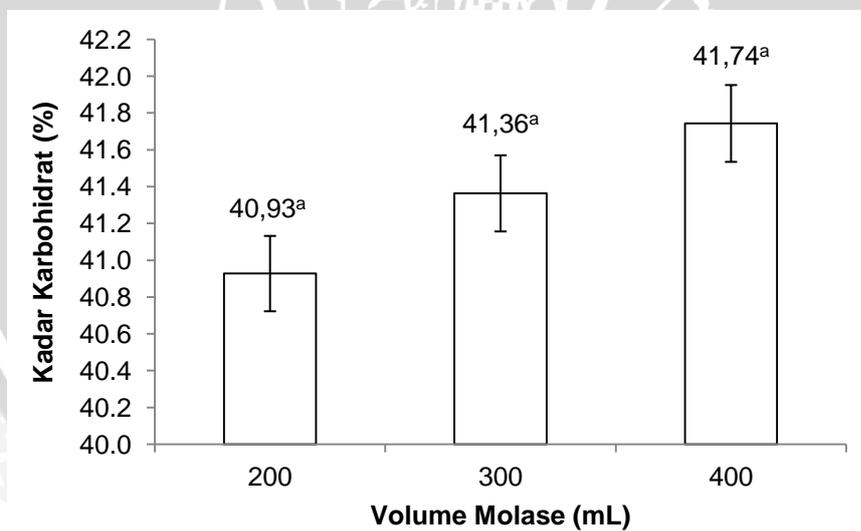
Gambar 18. Rata-rata Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 18 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi dapat menurunkan kadar abu dari hidrolisat protein keong mas rebus. Rahmadi (2003) melaporkan bahwa kadar abu limbah kubis terfermentasi menurun akibat pengaruh lama fermentasi. Hal ini dimungkinkan bahwa semakin lama fermentasi jumlah khamir semakin meningkat, khamir juga membutuhkan mineral untuk metabolisme hidupnya untuk diubah menjadi energi. Didukung penelitian oleh

Nisa dan Agustin (2015) melaporkan bahwa, penurunan kadar abu selama proses fermentasi dipengaruhi oleh penggunaan mineral untuk mempertahankan hidup mikroorganisme. Karena mikroorganisme membutuhkan mineral untuk mempertahankan hidupnya meskipun dalam jumlah yang sedikit.

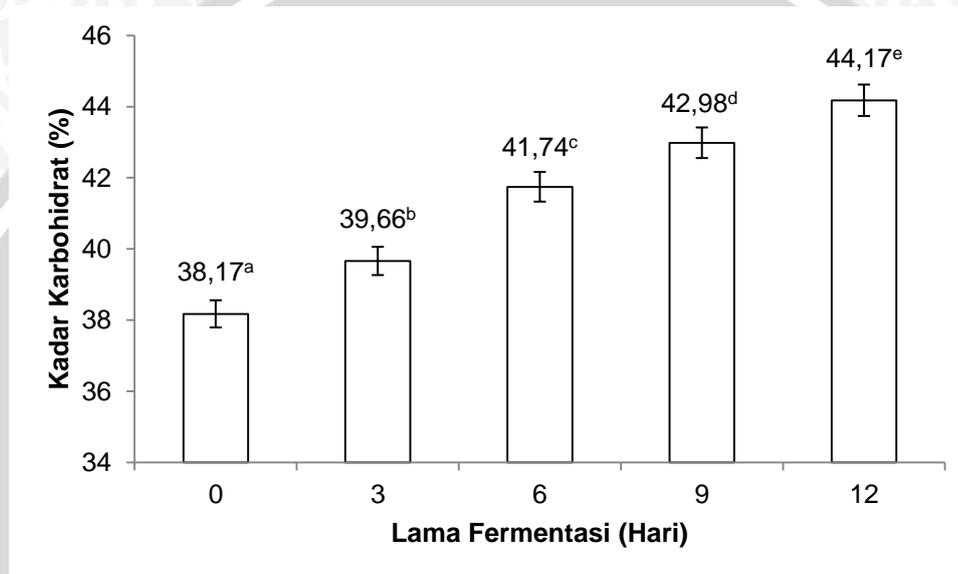
#### e. Kadar Karbohidrat

Data pengamatan dan analisis data kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil analisis data menunjukkan bahwa lama fermentasi dan penambahan volume molase rebus memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata kadar karbohidrat kontrol dan pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 19 dan 20.



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

Gambar 19 menunjukkan bahwa semakin banyak volume molase akan meningkatkan kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal ini diduga karena kandungan karbohidrat yang ada pada molase. Dan juga molase yang banyak mengandung glukosa banyak disukai khamir laut. Fauzi (2012), melaporkan bahwa kadar molase mengandung 2-5% karbohidrat. Sehingga peningkatan molase akan diimbangi dengan peningkatan kadar karbohidrat.

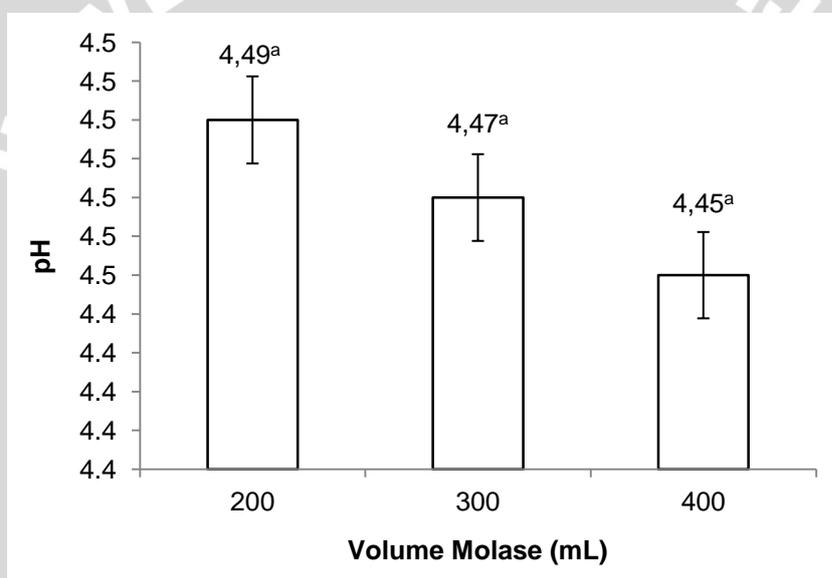


Gambar 20. Rata-rata Kadar Karbohidrat Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 20 menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi kadar karbohidrat pasta hidrolisat protein keong mas rebus meningkat pula. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi maka semakin meningkat pula khamir laut yang tumbuh sehingga enzim amilase yang diproduksi khamir digunakan untuk menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Sehingga kadar karbohidrat meningkat. Bertambahnya lama fermentasi maka semakin lama waktu untuk hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa, maka semakin meningkat kadar glukosanya karena waktu kontak antara enzim dan karbohidrat semakin lama (Risnoyatiningih, 2011).

#### 4.2.4 Analisa Derajat Keasaman (pH)

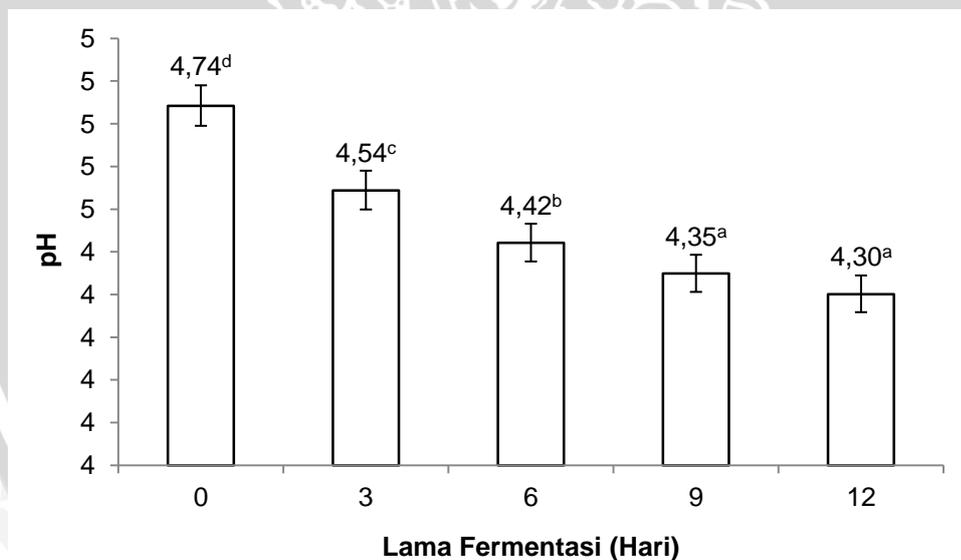
Data pengamatan dan analisis data pH kontrol (fermentasi 0 hari) dan pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molse rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan penamabahan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata pH kontrol dan pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Rata-rata pH Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 21 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat menurunkan pH pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Jasin (2014) melaporkan bahwa semakin tinggi penambahan molases maka semakin rendah rata-rata pH silase rumput gajah. Hal ini dimungkinkan semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka aktivitas dari khamir laut untuk memecah kandungan karbohidrat dari molase semakin meningkat. Menurut Jasin (2014),

semakin tinggi level molase semakin rendah pula kandungan  $\text{NH}_3$ . Hal ini dikarenakan asam laktat yang dihasilkan pada penambahan level molase semakin meningkat sedangkan pH yang dihasilkan semakin rendah. Artinya kandungan karbohidrat terlarut yang terkandung dalam molase mampu menstimulir pertumbuhan bakteri asam untuk membentuk asam laktat untuk mencapai kondisi asam. Sumber karbohidrat terlarut yang tersedia akan mempermudah proses fermentasi, menambah keasaman dan cenderung mengurangi kerusakan protein. Menurut Riswandi (2014), penambahan sejumlah sumber nutrisi (molase, dedak padi, dan bukil kelapa) dapat meningkatkan ketersediaan karbohidrat mudah larut, sehingga mendorong pertumbuhan bakteri asam laktat untuk menghasilkan asam laktat lebih banyak dan menghasilkan pH akhir yang lebih rendah.

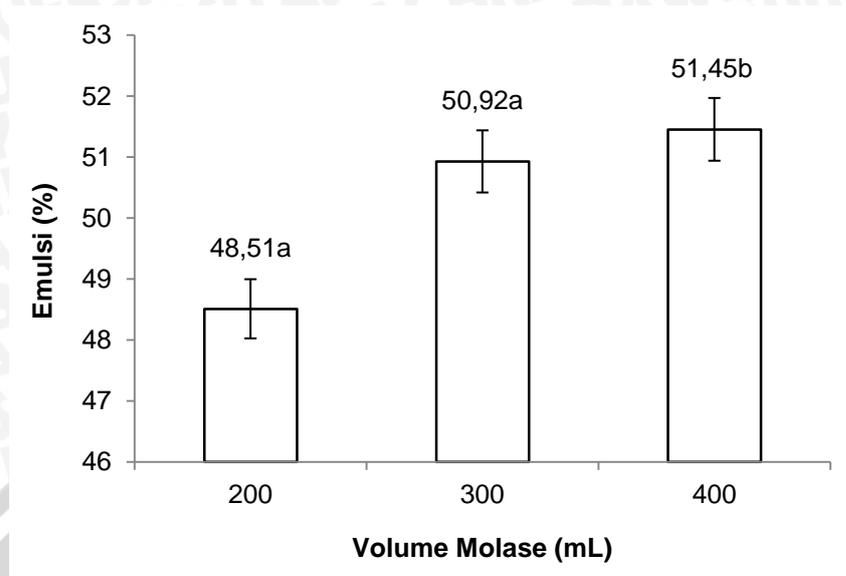


Gambar 22. Rata-rata pH Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 22 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka nilai pH hidrolisat protein keong mas rebus semakin menurun. Hal ini dimungkinkan karena hasil dari fermentasi adalah asam. Semakin lama fermentasi maka asam yang dihasilkan semakin banyak. Proses terjadinya penurunan pH dapat terjadi dari awal fermentasi diakibatkan karena terbentuknya asam-asam selama proses fermentasi berlangsung. Asam-asam yang terbentuk seperti asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat yang dapat menurunkan pH (Juwita, 2012). Oktavia (2012) menyebutkan bahwa, penurunan pH terjadi karena selama fermentasi berlangsung terdapat produk sampingan metabolisme ragi yang dikeluarkan ke dalam larutan fermentasi. pH yang didapatkan masih berkisar 4-5 menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan cukup baik karena pertumbuhan khamir yang baik adalah 3-6. Perubahan pH dapat terjadi karena  $H^+$  dilepas selama konsumsi  $NH_4^+$  dan dikonsumsi selama metabolisme  $NO_3^-$  dan penggunaan asam amino sebagai sumber karbon (Fardias, 1992). Oleh karena itu seiring dengan semakin besar jumlah khamir dan bertambahnya waktu fermentasi maka nilai pH akan semakin menurun dan semakin bersifat asam.

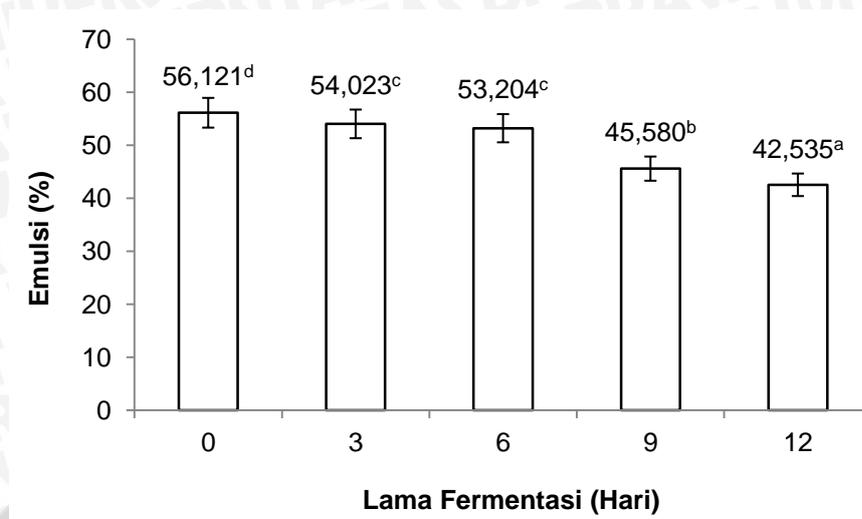
#### 4.2.5 Analisa Emulsi

Data pengamatan dan analisis data emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 19. Hasil dari analisis data menunjukkan bahwa antara lama fermentasi dan volume molase memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Rata-rata emulsi kontrol dan pasta hidrolisat protein keong mas dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Rata-rata Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase yang Berbeda

Gambar 23 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan emulsi pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal ini dimungkinkan karena semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan khamir laut untuk hidrolisis menghasilkan asam amino. Emulsi berkaitan dengan banyaknya asam amino yang terdapat pada saat proses fermentasi berlangsung. Asam amino memiliki dua gugus yakni polar dan non polar, gugus polar asam amino akan berikatan dengan gugus polar air dan gugus nonpolar pada asam amino akan berikatan dengan gugus nonpolar pada minyak sehingga terbentuk emulsi. Menurut Gbogouri *et al.*, (2004), hidrolisat adalah bahan yang memiliki permukaan aktif dan dapat mengikat minyak dalam air. Karena hidrolisat protein larut dalam air dan mengandung kelompok fungsional hidrofilik dan hidrofobik.



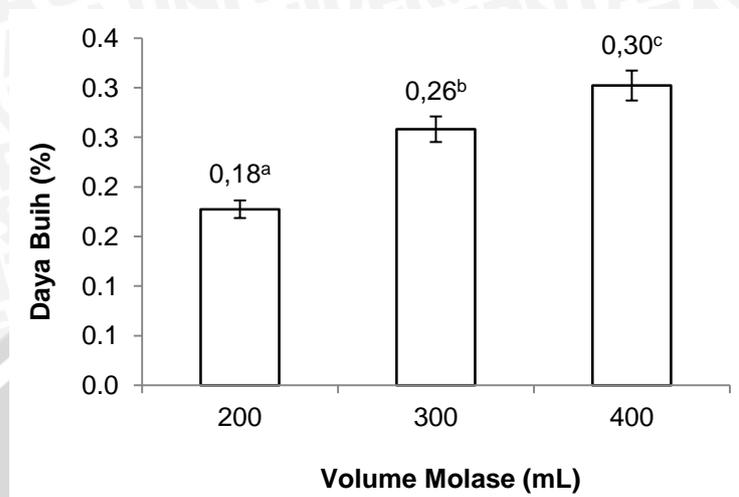
Gambar 24. Rata-rata Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 24 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi emulsi pasta hidrolisat protein keong mas semakin menurun. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama fermentasi maka asam amino yang dihasilkan semakin banyak sehingga mampu berikatan dengan air dan minyak. Koesoemawardhani *et al.*, (2012) melaporkan bahwa hidrolisat protein mempunyai kemampuan mengikat senyawa yang berbeda (air dan minyak) karena mempunyai golongan peptida hidrofobik dan hidrofilik. Kemampuan kapasitas pengikat lemak bergantung pada peptida hidrofobik (non polar) dan muatan dari asam aminonya. Meningkatnya jumlah protein maka kapasitas pengikat lemak akan menurun.

#### 4.2.6 Analisa Daya Buih

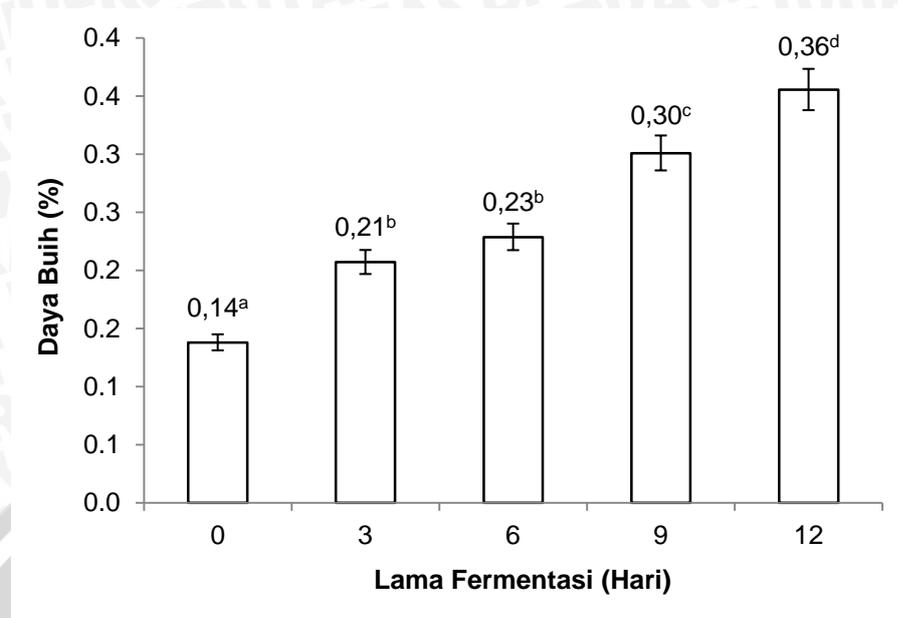
Data pengamatan dan analisis daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan daya buih pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 20. Hasil data menunjukkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap daya buih pasta hidrolisat protein keong mas rebus yang dihasilkan. Rata-rata

daya buih pasta hidrolisat protein keong mas rebus dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 25.



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

Gambar 25 menunjukkan bahwa peningkatan volume molase dapat meningkatkan daya buih pasta hidrolisat protein keong mas rebus. Hal ini diduga karena daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi. Siregar (2012) menyatakan bahwa kenaikan daya buih dikarenakan karena protein mengikat air masih kuat sehingga kestabilan buihnya tinggi. Daya buih terbentuk dari peptida hidropobik yang dapat mengabsorpsi antara fase udara-air, sehingga dapat membentuk buih yang banyak. Jika waktu hidrolisis bertambah peptida hidropobiknya berkurang dan diduga terjadi pengurangan berat.



Gambar 26. Rata-rata Daya Buih Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Lama Fermentasi yang Berbeda

Gambar 26 menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi daya buih pasta hidrolisat protein keong mas semakin meningkat pula. Hal ini diduga karena semakin lama fermentasi semakin banyak peptida hidrofobik yang dihasilkan dan dapat mengabsorpsi antara dua fase yakni fase udara dan fase air, sehingga dapat terbentuk buih yang banyak. Daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama proses fermentasi, tetapi tidak dapat untuk menentukan stabilitas buih. Buih adalah bentuk dispersi koloida gas dalam cairan. Daya buih protein sangat dipengaruhi sifat kimia dan sifat permukaan protein (surface Protein). Selain itu, sifat fisiko kimia terutama dari sifat molekul proteinnya juga menentukan keberhasilan terbentuknya kondisi sifat fungsional (Koesoemawardani *et al.*, 2011). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Reed (1975), bahwa hidrolisat yang mempunyai nilai protein terlarut tinggi maka daya buihnya juga tinggi. Kemampuan enzim dalam

menghidrolisis protein bergantung pada sifat spesifik dan gugus aktifnya, sehingga peptida yang dihasilkan juga berbeda.

#### 4.2.7 Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus Terbaik

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein keong mas diperoleh hasil tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume 400 mL. Hal ini dilihat dari kandungan protein tertinggi yang diperoleh dari pasta hidrolisat protein keong mas antar perlakuan. Purbasari (2008), melaporkan hidrolisat terbaik dapat dilihat dari hasil kadar protein yang tertinggi. Komposisi kimia dari hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Keong Mas

Parameter	Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas *	Keong Mas Segar **	Keong Mas Rebus **
Kadar Protein (%)	21,48	14,04	10,86
Kadar Air (%)	16,13	77,40	68,36
Kadar Lemak(%)	1,93	0,99	0,77
Kadar Abu(%)	13,07	5,44	4,4
Kadar Karbohidrat(%)	47,40	-	-
pH (%)	4,28	-	-
Emulsi(%)	41,81	-	-
Daya Buih(%)	0,42	-	-

Sumber : \* Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (2015)

\*\* Dewi (2012)

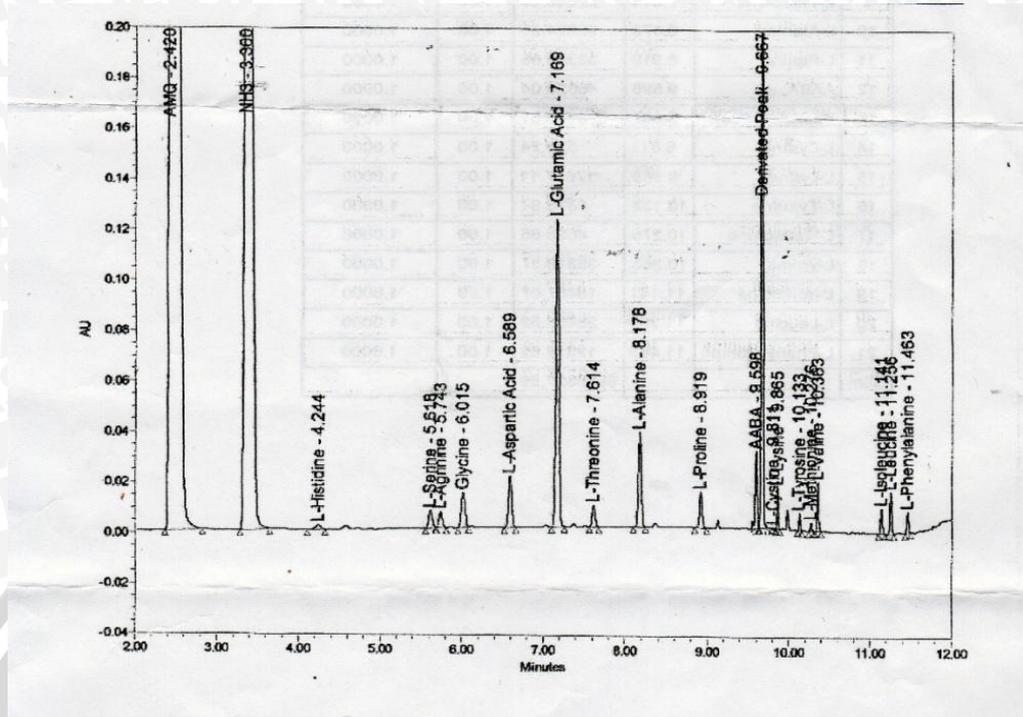
Tabel 8 menunjukkan bahwa kandungan pasta hidrolisat protein keong mas rebus lebih tinggi bila dibandingkan dengan bahan baku awal. Hal ini menunjukkan terjadinya hidrolisis protein dari keong mas oleh enzim protease yang dihasilkan oleh khamir laut. Konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam produk hidrolisat protein (Haslaniza *et al.*, 2010). Adanya kenaikan kadar protein diperoleh dari aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh mikroba yang ada dalam fermentasi. Lamanya waktu fermentasi membuat

populasi mikroba semakin meningkat, sehingga membuat kadar protein terlarut juga meningkat (Tandrianto *et al.*, 2014).

#### 4.2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi untuk mengirim fase gerak masuk melalui kolom ke detektor. Dengan cara memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan dengan besar. Metode pemisahan umum HPLC tergantung berdasarkan 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 nonpolar. Fase gerak berupa zat 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%.

Kromatogram HPLC merupakan hubungan antara waktu sebagai absis dan tanggap detektor sebagai ordinat pada sistem cartesian, dimana titik nol dinyatakan sebagai saat dimulainya injeksi sampel. Kromatogram sampel yang keluar dapat dibandingkan dengan kromatogram standar asam amino yang telah diketahui jenis dan kadarnya. Untuk mengetahui jenis asam amino dapat dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar. Untuk mengetahui banyaknya asam amino dapat dibandingkan antara luasan puncak sampel dengan standar (Sudarmadji *et al.*, 1989). Hasil kromatogram standar, waktu retensi dan luas area dari kromatogram asam amino hidrolisat keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran 31, 32 dan Gambar 33. Hasil waktu retensi dan luas area dari kromatogram asam amino hidrolisat keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran 35.



Gambar 27. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus

Pada gambar 27 menunjukkan bahwa asam amino produk hidrolisat protein keong mas rebus nilai 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 sehingga asam amino yang paling polar akan terelusi terlebih dahulu. Prinsip kerja HPLC adalah sebagai berikut dengan bantuan pompa, fase gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor, cuplikan dimasukkan ke dalam fase gerak dengan penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan kepolaran, dimana terdapat fase gerak dan fase diam. Fase gerak berupa zat cair yang disebut eluen atau pelarut, sedangkan fase diam berupa silika gel yang mengandung hidrokarbon (Syafiqoh, 2014).

#### 4.2.9 Analisa Total Asam Amino

Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis dan kadar asam amino yang terdapat pada hidrolisat protein keong mas. Berdasarkan analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein keong mas rebus diperoleh hasil tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase 400 mL. Hasil tertinggi hidrolisat protein keong mas rebus dianalisis profil asam amino. Analisis profil asam amino hidrolisat protein keong mas rebus dapat dilihat pada Lampiran. Kandungan asam amino hidrolisat protein keong mas rebus dibandingkan hidrolisat protein kerang mas ngur dan hidrolisat protein kerang hijau.

Tabel 9. Kandungan Asam Amino pada Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus, hidrolisat protein kerang mas ngur dan kerang hijau.

Asam Amino	Komponen Asam Amino		
	Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus (%)	Hidrolisat Protein Kerang Mas Ngur (%) <sup>1</sup>	Hidrolisat Protein Kerang Hijau (%) <sup>2</sup>
<b>Esensial</b>			
1. Lisin	0,29	3,30	1,23
2. Histidin	0,13	1,78	1,60
3. Arginin	0,35	1,09	1,12
4. Leusin	0,44	4,19	1,87
5. Isoleusin	0,25	4,20	0,92
6. Threonin	0,34	3,29	0,79
7. Methionin	0,08	1,75	0,76
8. Valin	0,35	2,29	1,60
9. Phenialanin	0,24	2,27	0,68
<b>Non Esensial</b>			
10. Glutamat	7,86	13,08	5,54
11. Sistin	-	1,02	0,63
12. Aspartat	1,24	6,78	1,89
13. Alanin	1,09	2,47	0,97
14. Serin	0,28	1,64	1,02
15. Glisin	0,39	1,81	1,08
16. Prolin	0,48	1,29	0,61
17. Tirosin	0,17	3,15	0,94
<b>Total</b>	<b>14,00</b>	<b>55,4</b>	<b>23,25</b>

Sumber : <sup>1</sup> Purbasari *et al.*, (2008)

<sup>2</sup> Amalia (2007)

Keterangan : -: tidak teridentifikasi

Tabel 9 menunjukkan bahwa hidrolisat protein keong mas memiliki 16 jenis asam amino yang terdiri dari 9 asam amino esensial dan 7 asam amino non esensial. Asam amino esensial yaitu lisin, histidin, arginin, leusin, isoleusin, threonin, methionin, valin dan phenilalanin. Asam amino non esensial yaitu glutamat, aspartat, alanin, serin, glisin, prolin dan tirosin. Hal ini menunjukkan bahwa asam amino pada hidrolisat protein keong mas rebus diperoleh hampir semua jenis asam amino kerang mas ngur kecuali sistin. Asam amino yang tidak teridentifikasi (sistin) dimungkinkan karena kandungan asam amino tersebut sangat rendah sehingga tidak terdeteksi atau telah terjadi kerusakan pada saat hidrolisis dan pengeringan. Amalia (2007) menyatakan bahwa asam amino termasuk ke dalam senyawa volatil. Senyawa tersebut dapat berubah menjadi senyawa volatil apabila terjadi degradasi dan interaksi dengan panas.

Tabel 9 menunjukkan bahwa kadar asam amino pada hidrolisat protein keong mas rebus mengandung asam amino non esensial tertinggi yaitu glutamat. Sedangkan asam amino dengan kadar terendah, yaitu asam amino methionin. Hal ini dimungkinkan karena dengan hidrolisis asam, glutamin akan terhidrolisis sempurna menjadi asam glutamat. Purbasari (2008) menyatakan bahwa asam glutamat merupakan asam amino nonesensial, berperan dalam menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan.

Tabel 9 menunjukkan bahwa produk hidrolisat protein keong mas rebus mengandung asam amino esensial tertinggi yaitu valin dan leusin. Razi (2009) menyatakan bahwa fungsi dari valin yaitu membentuk proses perbaikan jaringan. Fungsi leusin yaitu membantu meningkatkan produksi hormon pertumbuhan, mempercepat proses penyembuhan pada tulang, jaringan dan kulit.

Tabel 9 menunjukkan bahwa nilai total hidrolisat protein keong mas lebih rendah dibandingkan dengan total hidrolisat protein kerang mas ngur hal ini dimungkinkan bahwa pada pembuatan hidrolisat protein keong mas menggunakan enzim yang dihasilkan oleh khamir laut. Disamping itu kandungan protein dari keong mas masih sedikit.

Perlakuan keong mas rebus dengan penambahan volume molase rebus didapatkan hasil terkecil jika dibandingkan dengan perlakuan keong mas segar dengan penambahan volume molase segar, keong mas segar dengan penambahan volume molase rebus serta keong mas rebus dengan penambahan volume molase segar. Perbedaan dari tiap perlakuan ini adalah hasil dari uji profil asam amino. Dengan sampel yang sama yakni sampel dengan lama fermentasi selama 12 hari dan penambahan volume molase 400 mL. Penurunan asam amino dimungkinkan karena terjadi denaturasi protein akibat perebusan pada sampel keong mas dan molase. Nurjanah *et al.*, (2014), hasil asam amino kupang rebus mengalami penurunan akibat perebusan. Sejalan dengan hasil penelitian Jacob *et al.*, (2008) yang menyatakan bahwa asam amino pada udang ronggeng juga mengalami penurunan setelah perebusan. Penurunan dapat disebabkan oleh proses denaturasi yang terjadi akibat pengolahan dengan suhu tinggi. Ikram dan Ismail (2004) menyatakan proses perebusan dapat menyebabkan terlarutnya protein pada air sebagai media perebusan, sehingga pada saat bahan dipisahkan dari air perebusan menyebabkan turunnya kandungan protein dan asam amino pada bahan saat dianalisis.

## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

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

- Volume molase rebus yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus adalah sebanyak 400 mL dengan kandungan nutrisi 19,89% kadar air, 4,17% kadar lemak, 21,19% kadar protein, 13,95% kadar abu, 41,74% kadar karbohidrat, 4,45 pH, 51,45 kapasitas emulsi dan 0,30 daya buih.
- Lama fermentasi yang tepat terhadap karakteristik hidrolisat protein keong mas rebus adalah pada hari ke-12 dengan kandungan nutrisi sebesar 15,80% kadar air, 2,20% kadar lemak, 21,19% kadar protein, 13,03% kadar abu, 44,17% kadar karbohidrat, 4,30% pH, 42,53% kapasitas emulsi dan 0,36% daya buih.
- Total kandungan asam amino hidrolisat protein keong mas terbaik pada perlakuan lama fermentasi 12 hari dan penambahan volume molase 400 mL yaitu 14,00%.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu apabila ingin membuat hidrolisat protein keong mas rebus dapat menggunakan penambahan volume molase rebus 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 keong mas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M. R., dan M. J. R. Nout. 2001. *Fermentation and Food Safety*. Aspen Publishers, Inc. Maryland. 290 hlm.
- Afandi, M. 2009. Aplikasi Pakan Komersil yang Disubstitusi Tepung Silase Daun Mengkudu dengan Inokulan Khamir Laut sebagai pakan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*). *Skripsi*. Jurusan Perikanan Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan. Universitas Hang Tuah Surabaya.
- Akili, Y. R. R. 2012. Karakteristik Ekstraseluler Khamir Laut yang dipanen pada Fase Log dan Aktivitas Hidrolisisnya terhadap Kualitas Protein Ikan Peperek (*Leiognathus sp.*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 97 hlm.
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Amiza, M. A., Kong, Y. L. Dan Faazaz, A. L. 2012. Effect of Degree of Hydrolysis on Physicochemical Properties of Cobia (*Rachycentron canadum*) Frame Hydrolysate. *International Food Research Journal*. 19(1): 199-206.
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawari. 2011. *Analisi Pangan*. Dian Rakyat: Jakarta.
- Anggorowati, D. A. H; Setyawati dan Purba. A. B. P. 2012. Peningkatan Kandungan Protein Abon Nangka Muda. *Jurnal Teknik Kimia*. 7(1): 17-21.
- Anggraeni, Y.P dan S.S. Yuwono. 2014. Pengaruh Fermentasi Alami pada *Chips Ubi Jalar (Ipomoea batatas)* terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Terfermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2).
- Arief, R. W., Irma, I., dan Yusmasarani. 2011. Penurunan Kadar Asam Fitat Tepung Jagung selama Proses Fermentasi Menggunakan Ragi Tape. *Seminar Nasional Serealia 2011*.
- Anwar, L. O; Linawati. H; Desniar. 2014. Fermentasi Tambelo dan Karakteristik Produknya. *JPHPI*. 17(3): 1-9.
- Apriantono, 2004. *Pengolahan Berbagai Makanan*, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Azizah, N., A.N. Al-Baarri., dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi GAs pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1 (2).

- Bata, M; Nur. H. 2010. Penambahan Molase untuk Meningkatkan Kualitas Amoniasi Jerami Padi Pengaruh terhadap Produk Fermentasi Rumen Secara *In-Vitro*. *Agripet*. 10 (2): 3-7.
- Bernadeta; Ardiningsih. P; Silalahi. I. H. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. *JKK*. 1(1):26-30.
- Bharathi, S; D. Saravanan; M. Radhakrishnan. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Reference to Inulinase Production. *International Journal of ChemTech Research*. 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. Universitas Brawijaya.
- Budiyono, S. 2006. Teknik Pengendalian Keong Mas pada Tanaman Padi. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. Volume 2(2): 129.
- Chairunisah, Rizky. 2011. Karakteristik Asam Amino Daging Kerang Tahu (*Meretrix meretrix*), Kerang Salju (*pholas dactylus*) dan Keong Macan (*Babylonia spirata*). Institut Pertanian Bogor. *Skripsi*.
- Dahlan dan Sriwulan Handono, 2005. *Fermentasi Sayur dan Buah*, Departemen Perindustrian Bogor.
- Deliani, 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein, Lemak, Komposisi Asam Lemak dan Asam Fitat pada Pembuatan Tape. *Thesis*. Universitas Sumatera Utara Medan.
- Dewi, Y. P. 2012. Perubahan Kandungan Asam Lemak dan Kolesterol Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) Akibat Proses Pengolahan. *Skripsi*. Intitut Pertanian Bogor.
- Dumbrepatil A, M. Adsul, Chaudhari, J. Khire, dan Gokhale, 2008, Utilization of Molasses Sugar for Lactic Acid Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* Mutant Uc-3 in Batch Fermentation, *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 333-335.
- Endah, R.D., D. Sperisa., A. Nur., Paryanto. 2007. Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut. *Gema Teknik*. 2 (10).
- Faharuddin. 2014. Analisis Kandungan Bahan Kering, Bahan Organik dan Protein Kasar Silase Pucuk Tebu (*Saccharum officinarum* L) yang Difermentasi dengan Urea, Molase dan Kalsium. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin Makasar.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 308 hlm.

- Febriani, M. 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 2010.
- Febriani, Mivida. 2006. Substitusi Protein Hewan dengan Tepung Kedelai dan Khamir Laut untuk Pakan Patin (*Pangasius sp*) dan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan*. VIII (2): 169-176.
- Febrianti, N. 2013. Biosintesis Selulosa oleh *Acetobacter xylinum* Menggunakan Limbah Cair Tahu sebagai Media Pertumbuhan dengan Penambahan Molase. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Ahmad Dahlan.
- Firdus; Muchlisin. 2005. Pemanfaatan Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) sebagai Pakan Alternatif dalam Budidaya Ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus tauvina*). *ENVIRO*. 5 (1): 64-66.
- Fransistika. R., Nora. I., Lia. D. 2012. Pengaruh Waktu Fermentasi Campuran *Trichoderma reesei* Dan *Aspergillus niger* Terhadap Kandungan Protein dan Serat Kasar Ampas Sagu. *JKK*. Vol 1(1): 35-39.
- Gbogouri, G. A., M. Linder, J. Fanni, dan M. Parmentier. 2004. Influence of Hydrolysis Degree on the Functional Properties of Salmon Byproducts Hydrolysates. *J. Food Sci.* 69 (8): 615-622.
- Hadiwiyoto, S. 2000. Optimasi Aktivitas Proteolitik Daging Ikan Untuk Produksi Protein Hidrolisat. *Laporan Penelitian*. Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hamid, H., Purwadaria, T., Haryati, T., dan Sinurat, A.P. 1999. Perubahan Nilai Bilangan Peroksida Bungkil Kelapa dalam Proses Penyimpanan dan Fermentasi dengan *Aspergillus Niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 4 (2).
- Handayani, W, Anak. A. I. R dan Agung. B. S. 2007. Pengaruh Variasi Konsentrasi Sodium Klorida terhadap Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru* Bleeker, 1853) oleh Protease Ekstrak Nanas (*Ananas comosus* L. Merr. Var. *Dulcis*). *Jurnal Teknologi Proses*. 6 (1): 1-9.
- Haslaniza, H., Maskat, M.Y., Wan, A. W. M., dan Mamot, S. 2010. The Effects of Enzyme Concentration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipitate from Cockle (*Anadara granosa*) Meat Wash Water. *International Food Research Journal*. 17: 147-152.
- Herawati. D. A dan Andang. A. W. 2014. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Waktu Fermentasi terhadap Hasil Pembuatan *Soyghurt*. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan*. 1(2): 1-11.

- Hidayati, L.R ; Kusrahayu dan Mulyani. S. 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH dan Sifat Organoleptik *Drink yoghurt* dari Susu Sapi yang Diperkaya dengan Ekstrak Buah Mangga. *Animal Agriculture Journal*. 2(1): 160-167.
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 70 hlm.
- Ibrahim, F.S., Babiker, E.E., Yousif, N.E. dan El Tinay, A.H. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry* 92: 285 – 292.
- Ikram, E.H.K., A. Ismail. 2004. Effects of cooking practices (boiling and frying) on the protein and amino acids contents of four selected fishes. *Journal of Science Food Nutrition*, 34(2): 54-59.
- Jacob, A.M., N.W. Cakti, Nurjanah. 2008. Perubahan komposisi protein dan asam amino daging udang ronggeng (*Harpisquilla raphidea*) akibat perebusan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 6(1): 1-20.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Pelatihan Penulisan Artikel Ilmiah. LPMP Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. 13 hlm.
- Jannah, A. K. 2012. Pengaruh Khamir Laut Jenis Campuran yang Dipanen Pada Fase Log dalam Menghidrolisis Protein Kerang Darah (*Anadara granosa*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Jasin, I. 2014. Pengaruh Penambahan Molases dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi PO Terhadap Kualitas Silase Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*). *Agripeternakan*. 14(1).
- Juwita, R. 2012. Studi Produksi Alkohol dari Tetes Tebu (*Saccharum officinarum*) Selama Proses Fermentasi. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Makasar.
- Koesoemawardani, D; Fibr. N; Sri, H. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Rucah. *Jurnal Nature Indonesia*. 13(3): 256-261.
- Kurniadi. M; Martina. A; Faris. F; Ema. D. 2013. Karakteristik Fisikokimia Tepung Biji Sorghum (*Sorghum bicolor* L) Terfermentasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus acidophilus*. *Agritech*. 33(3): 1-8.
- Kurniawan; Susi, L. Siti, H. 2012. Hidrolisis Protein Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp*) dengan Enzim Papain. *Fishtech*. 1(1): 1-14.
- Kusmiati, Ahmad. T, Sukma. N. 2011. Efek Sumber Karbon terhadap Produksi α-Glukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *Jurnal Nature Indonesia* 13 (2): 138-145.
- Legowo, A. M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. Analisis Pangan. Buku Ajar Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. 56 hlm.

- Machfud, E., S. Gembira, dan Krisnani. 1989. Petunjuk Laboratorium, Fermentor. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Mualim, A., Susi. L., Siti. H. 2013. Kandungan Gizi dan Karakteristik Mi Basah dengan Substitusi Daging Keong Mas (*Pomacea canaliculata*). *Jurnal Fishtech*. Volume 2, No. 1.
- Muhidin, N. H; Nuryati. J; I Nyoman. P. A. 2001. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *JMS*. 6(1): 1-12.
- Nisa. A. K., Agustin. K. W. Pengaruh Lama Pengasapan dan Lama Fermentasi terhadap Sosis Fermentasi Ikan Lele (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 4(1): 367-376.
- Nurchahyo, H. 2011. Diktat Bioteknologi. Jurusan Pendidikan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Nurhayati, T; Nurjanah; Sanapi. C. H. 2013. Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *JPHPI*. 16 (3): 1-8.
- Nurhayati, T; Ella. S; Alin, A. 2011. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. *Jurnal Sumberdaya Perairan*. 2-4.
- Nurjanah ; Agoes. M. J; Reza. N. U; Shinta. P; Taufik. H. 2014. Komposisi Kimia Kupang Merah (*Musculista senhousia*) Segar dan Rebus. 3 (3): 241-249.
- Nurjanah; Yuspihana. F; Ruddy. S; Ema. S. D. 1996. Pembuatan Kerupuk Keong Mas (*Pomacea sp*) dengan Penambahan Tepung Beras Ketan dan Flavor Udang. *Teknologi Hasil Perikanan*. 2(2): 1-9.
- Nurul, A., Junus, M., dan Nasich, M. 2013. Pengaruh Penambahan Molase Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Padatan Lumpur Organik Unit Gas Bio. Artikel Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar Untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Fermentor Air- Lift 18 Liter. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- 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.
- Oswaldo, Z. S; Panca. P; Faizal. S. M. 2012. Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu pada Proses Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-alang. *Jurnal Teknik Kimia*. 18(2): 1-11.

- Pangesti, N. W. I; Artini. P; Estu. R. N. 2012. Pengaruh Penambahan Molase Pada Produksi Enzim Xilanase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi. *Bioteknologi*.9(2): 41-48.
- Purbasari, dian. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Acetactodea striata*). Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Institut Pertanian Bogor.
- Purwitasari, E; Artini. P; Ratna. S. 2004. Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Bioteknologi*. 1(2): 37-42.
- Puspitasari. N. 2014. Uji Protein dan Organoleptik Tape dari Bahan Dasar Biji Nangka dengan Penambahan Ekstrak Daun Katuk sebagai Pewarna Alami dan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahman, A. 1992. Pengantar Teknologi Fermentasi. Bahan Pengajaran. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahmadi, R. 2003. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Kultur Mikroorganisme Campuran terhadap Komposisi Kimiawi Limbah Kubis. *J.Indon.Trop. Anim. Agric*. 28(2): 1-5.
- Razi, M. A. 2009. Pemanfaatan Hidrolisat Protein Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*), Karagenan, Kitosan, dan Ekstrak Pemphis acidula pada Pembuatan Skin Lotion. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Reed, G. 1975. Enzymes in Food Processing. Academic Press. New York.
- Riani, E. 2011. Kemampuan Reproduksi Keong Mas (*Pomacea* sp.) Daging Kuning dan Daging Hitam. *Jurnal Moluska Indonesia*. Volume 2(1) :9-13.
- Rieuwpassa, F.J., J. Santoso, dan W. Trilaksani. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Konsentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*K. pelamis*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5 (2): 299-309.
- Riswandi. 2014. Kualitas Silase Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dengan Penambahan Dedak Halus dan Ubi Kayu. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. 3(1): 1-6.
- Risnoyatingsih, Sri. 2011. Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa secara Enzimatis. *Jurnal Teknik Kimia*. (5) (2).
- Riyanto. 2003. Aspek-Aspek Biologi Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L. 8(1): 20-26.
- Rohim. 2014. Pengaruh Perbedaan Penambahan Kadar Molase Rebus pada Medium Gula terhadap Biomassa Sel Khamir Laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

- Romantica, E; Imam. T; Lilik, E. R. 2014. Effect on Fermentation Time to Water Content, Rendement, Foaming Capacity an Foaming Stability of Pan Drying Egg Powder. Faculty of Animal Husbandry. Brawijaya University.
- Rostini, Iis. 2013. Pemanfaatan Daging Limbah Ikan Kakap Merah sebagai Bahan Baku Surimi untuk Produk Perikanan]B# Molases Menggunakan Teknik Fermentasi- Ekstraktif. *Jurnal Teknik Pomits*. Vol. 3, No. 2 : 2337-3539.
- Rosyadi, F. A; Kurnia, P. P; Tri, W. 2013. Optimasi Proses Produksi Etanol dari Molases Menggunakan Teknik Fermentasi-Ekstraktif. *Jurnal Teknik POMITS*. 3(2): 2301-9271.
- Said, M. I; Johana, C. L; Asteria. 2013. Karakteristik Tepung Telur Ayam Ras yang Difermentasi dengan Ragi Tape Secara Aerob. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Sanapi, C. H. 2013. Karakteristik Sifat Fungsional Hidrolisat Protein Ikan Lele Bumbo (*Clarias gariepinus*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Sari, R. N; Sugiyono; Luthfi, A. 2013. Optimasi Waktu Proses Hidrolisis dan Fermentasi dalam Produksi Bioetanol dari Limbah Pengolahan Agar (*Gracilaria sp.*) Industri. *JBP Perikanan*. 8(2): 133-142.
- Sarlin, P. J., Rosamana. P. 2013. A Molasses Based Fermentation Medium For Marine Yeast Biomass Production. *Journal of Research in Marine Sciences*. 2 (2): 39-44.
- Sathivel S, Yin H, Bechtel PJ, King JM. 2009. Physical and nutritional properties of catfish roe spray dried protein powder and its application in an emulsion system. *Journal of Food Engineering* 95(1): 76–81.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses*. 5 (2): 75-80.
- 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. *Juornal of Research and Application*. 2(1): 15-19.
- 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*. 1(1): 512-528.
- Sreedevi, N. Kutty dan Philip. R. 2008. Marine Yeasts. Departemen of Marine Biology, Microbiology and Biochemistry. University of Science and Technology fine Arts Avenue Kochi India. 465-483.
- Suharto, H; Nia. K. 2010. Keong Mas dari Hewan Peliharaan Menjadi Hama Utama Padi Sawah. *Balai Besar Penelitian Tanaman Padi*. 1-20.

- Subagyo, W.C, Ni Ketut. S, I Nyoman. S. 2015. Karakteristik Protein Daging Sapi Bali dan Wagyu Setelah Direbus. Buletin Veteriner Udayana. 7 (01): 1-9.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta Bekerjasama dengan Pusat Antar Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sugiyono. 2009. Metode Penelitian Bisnis. Penerbit Alfabeta CV : Bandung. 540 halaman.
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB. Malang. 72 hlm.
- 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.
- Sutrisno, C.I; Pujaningsih, R.I; Sumarsih, S. 2004. Utilitas Pisang pada Proses Fermentasi dengan Penambahan Tetes. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro.
- Syafiqoh, F. 2014. Analisis Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada Produk Cangkang Kapsul Keras Obat dan Vitamin Menggunakan FTIR dan KCKT. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Tandrianto, J; Doniarta. K. M; Setiyo. G. 2014. Pengaruh Fermentasi pada Pembuatan Mocaf (*Modified Cassava Flour*) dengan Menggunakan *Lactobacillus plantarum* Terhadap Kandungan Protein. *Jurnal Teknik POMITS*. 3(2): 2301-9271.
- Tifani, M. A; Sri. K; Arief. F. M. 2014. Produksi Bahan Pakan Rernak Dari Ampas Tahu dengan Fermentasi Menggunakan EM4 (Kajian pH Awal dan Lama Waktu Fermentasi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Waluyo, L. 2007. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang. 372 hlm.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Yurliasni; Yusdar. Z; Yunasri. U. 2014. Nilai Nutrisi Dadih yang Ditambahkan Khamir Asal Dadih. *Agripet*. 14(2): 139-145.
- Zahara, N. C. 2011. Pemanfaatan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Sistem Microbial Fuel Cell untuk Produksi Energi Listrik. *Skripsi*. Prodi Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. Depok.
- Zainudin. S; Syahrudin. 2012. Pemanfaatan Tepung Keong Mas sebagai Substitusi Tepung Ikan dalam Ransum Terhadap Performa dan Produksi Telur Puyuh. Universitas Gorontalo.

**Lampiran 1. Perhitungan dalam Kultur Khamir Laut**

Air laut = 1 liter = 1000 mL

Gula pasir 0,5 %

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

Jadi, gula pasir yang dibutuhkan sebanyak 5 gram

Pupuk daun 0,2 %

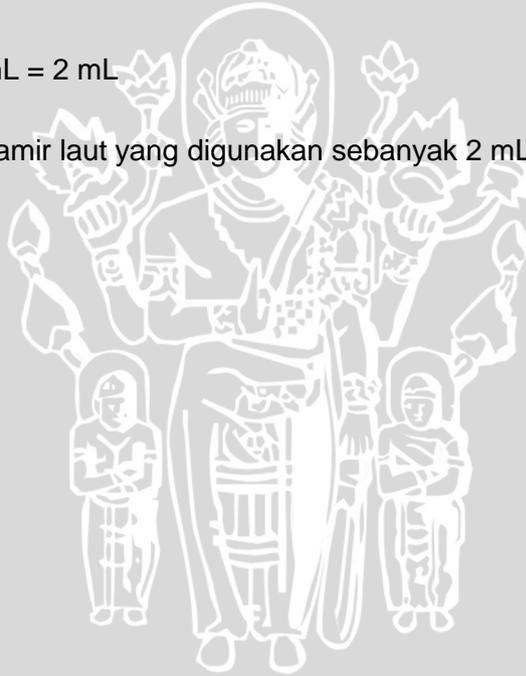
$$= \frac{0,2}{100} \times 1000 \text{ mL} = 2 \text{ mL} = 2 \text{ cc} = 2 \text{ cm}^3 = 2 \text{ gram}$$

Jadi, pupuk daun yang digunakan sebanyak 2 gram

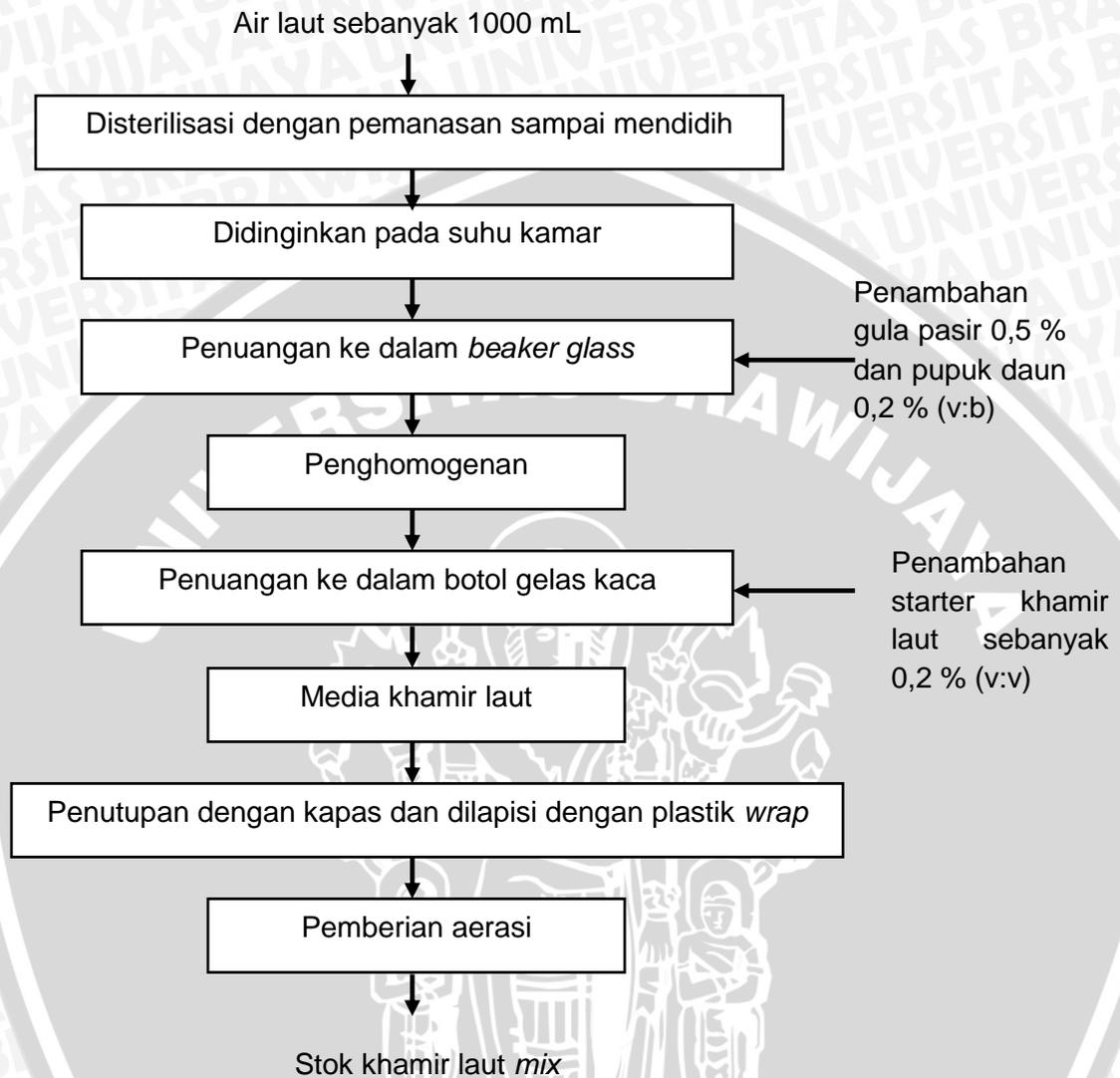
Starter khamir laut 0,2 %

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

Jadi, starter khamir laut yang digunakan sebanyak 2 mL



## Lampiran 2. Diagram Alir Kultur Khamir Laut



### Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut

Air laut = 50 mL

Gula pasir 0,25 %

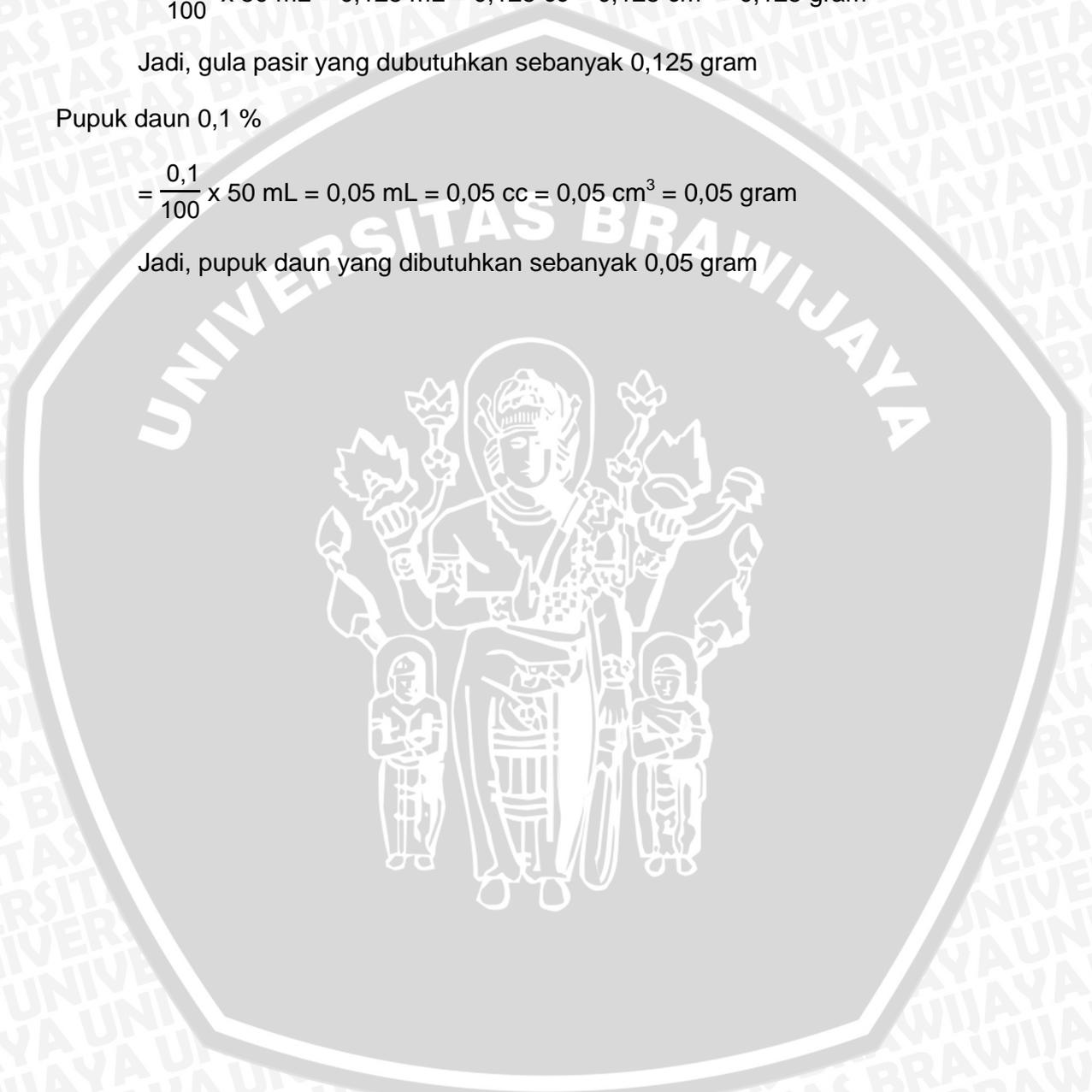
$$= \frac{0,25}{100} \times 50 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL} = 0,125 \text{ cc} = 0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ gram}$$

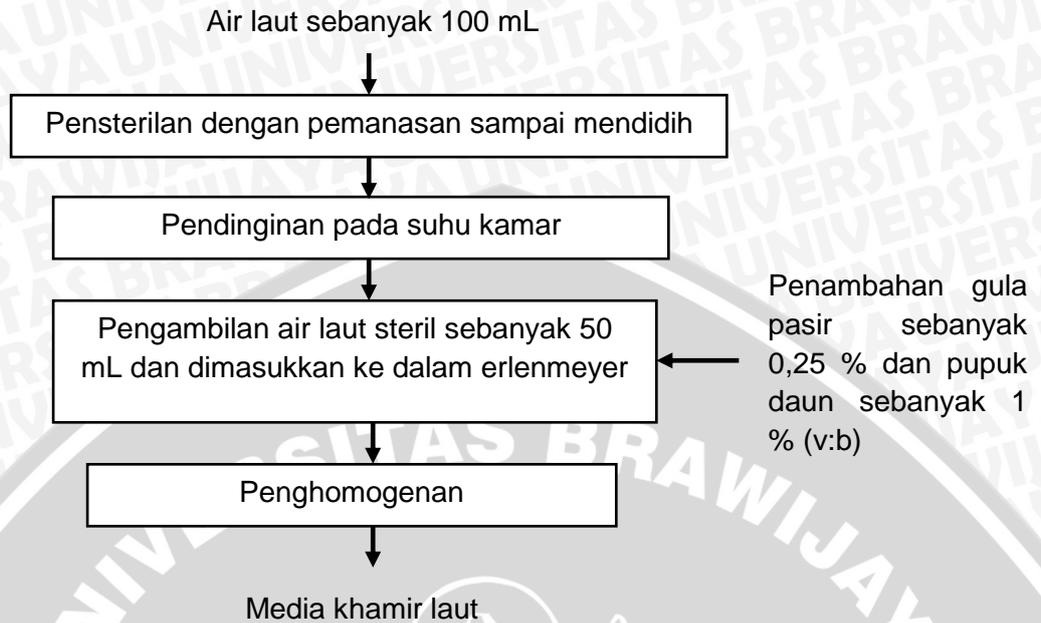
Jadi, gula pasir yang dibutuhkan sebanyak 0,125 gram

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 dibutuhkan sebanyak 0,05 gram



**Lampiran 4. Diagram Alir Pembuatan Media Pengenceran Khamir Laut**

## Lampiran 5. Data Kepadatan Khamir Laut

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	20	26	
Pojok Kiri Atas	1	5	24	23	32	38	49	21	20	25	
Pojok Kiri Bawah	2	2	5	26	29	30	35	26	28	11	
Tengah	11	17	18	15	26	36	30	47	15	19	
Jumlah	39	54	78	98	129	153	170	140	116	97	
Log Sel/MI	10,99	11,13	11,29	11,39	11,51	11,58	11,63	11,54	11,46	11,38	
Jumlah Sel (Kotak Sedang)	1,E+11	1,35E+11	1,95E+11	2,45E+11	3,225E+11	3,825E+11	4,25E+11	3,5E+11	2,9E+11	2,425E+11	

### Lampiran 6. Jumlah Kepadatan Sel Khamir Laut Saat Dilakukan 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

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

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

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

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

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

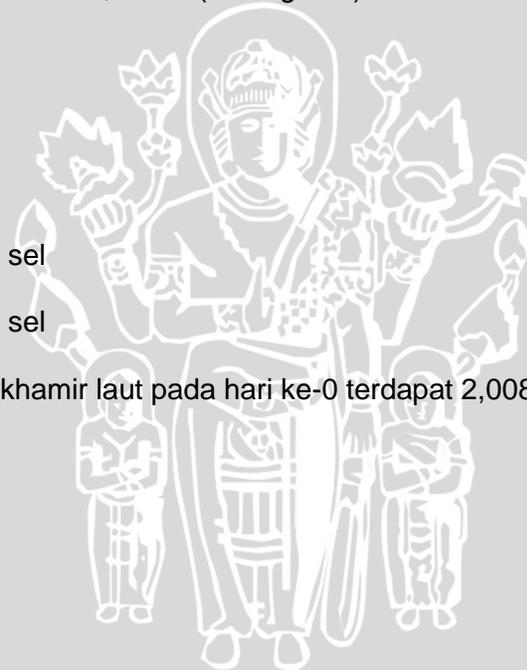
$$10^{-2} = 200828 \text{ sel}$$

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

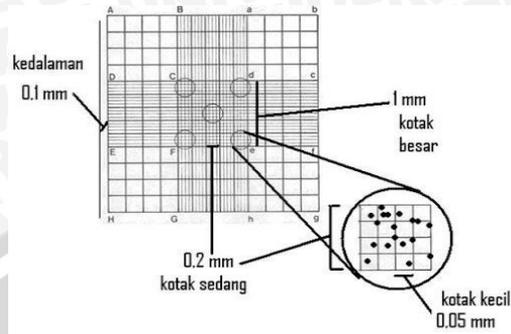
$$1 \text{ mL} = 2,00828 \times 10^6 \text{ sel}$$

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

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



Lampiran 7. Perhitungan Kepadatan Sel Khamir Laut



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

Luas kotak sedang =  $p \times l$

=  $0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ mm}$

=  $0,04 \text{ mm}^2$

Volume kotak sedang =  $0,04 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}$

=  $0,004 \text{ mm}^3$

Karena  $1 \text{ mL} = 1 \text{ cm}^3$

maka, =  $0,04 \text{ mm}^3$

=  $0,000004 \text{ cm}^3$

=  $4 \times 10^{-6} \text{ mL}$

Jadi, formula dalam menentukan jumlah sel yaitu :

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

Atau

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

Pengamatan jam ke 0

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 7,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 1,95 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,290$$

Pengamatan jam ke 12

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 10,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 2,7 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,431$$

Pengamatan jam ke 24

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 15,6 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 3,9 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,591$$

Pengamatan jam ke 36

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 19,6 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 4,9 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,690$$

Pengamatan jam ke 48

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 25,8 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 6,45 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,809$$

Pengamatan jam ke 60

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 30,6 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 7,65 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,883$$

Pengamatan jam ke 72

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 34 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 8,5 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,929$$

Pengamatan jam ke 84

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 28 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 7 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,845$$

Pengamatan jam ke 96

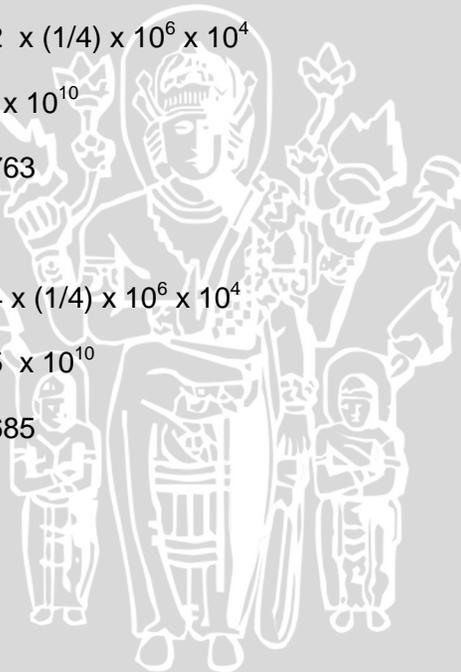
$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 23,2 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 5,8 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,763$$

Pengamatan jam ke 108

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= 19,4 \times (1/4) \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 4,85 \times 10^{10}\end{aligned}$$

$$\text{Log sel/mL} = 10,685$$



### Lampiran 8. Data Pengamatan Volume Molase dan Lama Fermentasi pada Penelitian Pendahuluan

- Penelitian Pendahuluan Pertama

Keterangan	Foto
<p>Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 10 mL dan khamir laut 10 mL</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 2 hari</li><li>• Berwarna coklat kehitaman</li><li>• Bau busuk</li><li>• Berjamur</li></ul>	
<p>Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 20 mL dan khamir laut 10 mL</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 2 hari</li><li>• Berwarna coklat kehitaman</li><li>• Bau busuk</li><li>• Berjamur</li></ul>	
<p>Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 30 mL dan khamir laut 10 mL</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bertahan selama 2 hari</li><li>• Berwarna coklat kehitaman</li><li>• Bau busuk</li><li>• Sedikit berjamur</li></ul>	

- Penelitian Pendahuluan Kedua

---

Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 40 mL dan khamir laut 10 mL

- Bertahan selama 2 hari
- Berwarna coklat
- Bau busuk
- Sedikit berjamur, volume molase habis dan
- Berbusa



---

Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 50 mL dan khamir laut 10 mL

- Bertahan selama 2 hari
- Berwarna coklat
- Bau busuk
- Sedikit berjamur, volume molase habis, dan
- Berbusa



---

Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 60 mL dan khamir laut 10 mL

- Bertahan selama 6 hari
- Berwarna coklat tua
- Bau busuk
- Sedikit berjamur, volume molase berkurang, dan
- Berbusa



- Penelitian Pendahuluan Ketiga

---

Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 200 mL dan khamir laut 20 mL

- Bertahan selama 12 hari
- Berwarna coklat
- Bau molase
- Sedikit berjamur , volume molase berkurang dan
- Berbusa



---

Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 300 mL dan khamir laut 20 mL

- Bertahan selama 12 hari
- Berwarna coklat pekat
- Bau khas molase dan fermentasi
- Sedikit berjamur, volume molase berkurang
- Sedikit berbusa



---

Hidrolisat protein keong mas dengan molase rebus 400 mL dan khamir laut 20 mL

- Bertahan selama 12 hari
- Berwarna coklat pekat
- Bau khas molase
- Sedikit berjamur, volume molase berkurang dan
- Sedikit berbusa



**Lampiran 9. Data Pengamatan Rendemen Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan**

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	I	II	III			
3 Hari	200	93,81	94,32	94,07	282,20	94,07	0,26
	300	95,95	94,91	95,43	286,29	95,43	0,52
	400	97,31	98,27	97,78	293,36	97,79	0,48
6 Hari	200	91,25	91,80	91,52	274,57	91,52	0,28
	300	91,47	91,51	91,49	274,46	91,49	0,02
	400	94,70	92,99	93,84	281,53	93,84	0,86
9 Hari	200	82,85	83,17	83,01	249,03	83,01	0,16
	300	81,23	81,47	81,35	244,06	81,35	0,12
	400	88,66	88,26	88,46	265,38	88,46	0,20
12 Hari	200	77,37	77,30	77,34	232,01	77,34	0,03
	300	78,14	77,86	78,00	234,00	78,00	0,14
	400	84,63	84,30	84,47	253,40	84,47	0,17
Total		1057,36	1056,17	1056,76	3170,29	1056,76	0,60

Perlakuan	Kelompok				Total
	3	6	9	12	
200 mL	282,20	274,57	249,03	232,01	1037,81
300 mL	286,29	274,46	244,06	234,00	1038,81
400 mL	293,36	281,53	265,38	253,40	1093,67
Total	861,85	830,56	758,47	719,41	3170,29

FK	279186,85
JK Total	1628,74
JK Perlakuan	170,29
JK Kelompok	1417,50
JK Galat	40,96

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	3	1417,50	472,50	346,92	2,92	4,51	Beda nyata
Perlakuan	2	170,29	85,15	62,52	3,32	5,39	Beda nyata
Galat	30	40,86	1,362				
Total	35	1628,65					

Perlakuan	Kelompok				Total	Rerata	Std. Dev
	3	6	9	12			
200 mL	94,07	91,52	83,01	77,34	345,94	69,19	7,72
300 mL	95,43	91,49	81,35	78,00	346,27	69,25	8,23
400 mL	97,79	93,84	88,46	84,47	364,56	72,91	5,86
Total	287,28	276,85	252,82	239,80	1056,76		
Rerata	95,76	92,28	84,27	79,93			

Nilai t Tabel	2,04
BNT 0,05	1,95

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		69,19	69,25	72,91	
200 mL	69,19	0	0	0	a
300 mL	69,25	0,07	0	0	b
400 mL	72,91	<b>3,72</b>	<b>3,66</b>	0	c

Kelompok	Rataan	12hari	9hari	6hari	3hari	Notasi
		79,93	84,27	92,28	95,76	
12 hari	79,93	0	0	0	0	a
9 hari	84,27	<b>4,34</b>	0	0	0	b
6 hari	92,28	<b>12,35</b>	<b>8,01</b>	0	0	c
3 hari	95,76	<b>15,83</b>	<b>11,49</b>	<b>3,48</b>	0	d

**Lampiran 10. Data Pengamatan pH Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan**

Lama Fermentasi	Perlakuan		pH	
	Volume Molase	Ampas	Cairan	Campuran
0 hari	200 mL	4,86	4,8	4,84
	300 mL	4,85	4,79	4,84
	400 mL	4,84	4,79	4,82
3 hari	200 mL	4,86	4,78	4,81
	300 mL	4,85	4,78	4,81
	400 mL	4,84	4,76	4,78
6 hari	200 mL	4,84	4,72	4,79
	300 mL	4,83	4,73	4,78
	400 mL	4,81	4,72	4,75
9 hari	200 mL	4,81	4,69	4,77
	300 mL	4,8	4,71	4,74
	400 mL	4,78	4,68	4,72
12 hari	200 mL	4,78	4,67	4,76
	300 mL	4,79	4,68	4,73
	400 mL	4,75	4,65	4,72

**Lampiran 11. Hasil Analisis Nilai Rendemen dan Kandungan Nutrisi Kontrol dan Hidrolisat Keong Mas dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Perlakuan		Hasil Analisis								
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	Rendemen	Kadar Air (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Karbohidrat (%)	pH	Kapasitas Emulsi (%)	Daya Buih (mL)
0 Hari	200 mL		23,46	6,51	18,16	13,84	38,03	4,85	51,70	0,09
	300 mL		24,46	5,33	16,42	15,65	38,14	4,73	57,34	0,14
	400 mL		25,46	5,63	16,09	16,78	38,34	4,65	59,32	0,19
3 Hari	200 mL	40,89	20,53	5,64	17,44	17,09	39,29	4,53	50,97	0,13
	300 mL	42,19	21,14	5,08	15,82	18,32	39,64	4,57	55,28	0,22
	400 mL	44,32	21,49	5,65	14,18	18,64	40,04	4,53	55,82	0,27
6 Hari	200 mL	35,24	18,33	4,77	15,64	20,09	41,16	4,36	50,44	0,17
	300 mL	36,79	19,19	4,76	13,50	20,55	41,90	4,46	53,74	0,25
	400 mL	37,28	19,12	4,89	13,53	21,75	42,16	4,44	55,44	0,27
9 Hari	200 mL	31,78	17,37	3,48	14,77	22,10	42,28	4,35	46,03	0,23
	300 mL	34,47	17,64	3,64	13,12	22,44	43,15	4,34	45,84	0,31
	400 mL	36,16	17,23	2,76	13,19	23,30	43,52	4,36	44,86	0,36
12 Hari	200 mL	28,39	15,70	2,41	13,44	24,58	43,87	4,35	43,38	0,28
	300 mL	32,07	15,59	2,28	12,88	25,26	43,99	4,27	42,41	0,36
	400 mL	34,79	16,13	1,93	12,78	25,46	44,66	4,28	41,81	0,42

**Lampiran 12. Data Pengamatan dan Analisis Data Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
3 Hari	200	40,98	40,31	41,38	122,67	40,89	0,54
	300	42,01	42,53	42,04	126,58	42,19	0,29
	400	44,16	44,49	44,32	132,96	44,32	0,16
6 Hari	200	34,90	35,01	35,83	105,73	35,24	0,51
	300	36,63	36,94	36,79	110,36	36,79	0,16
	400	37,32	37,23	37,28	111,83	37,28	0,05
9 Hari	200	31,22	31,53	32,59	95,34	31,78	0,72
	300	34,40	34,53	34,47	103,41	34,47	0,07
	400	36,07	36,25	36,16	108,48	36,16	0,09
12 Hari	200	28,10	28,67	28,38	85,16	28,39	0,28
	300	31,79	32,35	32,07	96,21	32,07	0,28
	400	34,88	34,70	34,79	104,37	34,79	0,09
Total		432,47	434,53	436,10	1303,10	434,37	1,82

Perlakuan	Kelompok				Total
	3	6	9	12	
200 mL	122,67	105,73	95,34	85,16	408,90
300 mL	126,58	110,36	103,41	96,21	436,56
400 mL	132,96	111,83	108,48	104,37	457,64
Total	382,21	327,92	307,22	285,75	1303,10

FK	47168,58
JK Total	689,50
JK Perlakuan	99,61
JK Kelompok	570,70
JK Galat	19,19

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	3	570,70	190,23	297,40	2,92	4,51	Beda nyata
Perlakuan	2	99,61	49,80	77,86	3,32	5,39	Beda nyata
Galat	30	19,19	0,64				
Total	35	689,50					

Perlakuan	Hari				Total	Rerata	Std. Dev
	3	6	9	12			
200 mL	40,89	35,24	31,78	28,39	136,30	27,26	5,34
300 mL	42,19	36,79	34,47	32,07	145,52	29,10	4,33
400 mL	44,32	37,28	36,16	34,79	152,55	30,51	4,25
Total	127,40	109,31	102,41	95,25	434,37		
Rerata	42,47	36,44	34,14	31,75			
Std. Dev	2	1,06	2,21	3,22			

Nilai t Tabel	2,04
BNT 0,05	1,33

Kelompok	Rataan	12hari	9hari	6hari	3hari	Notasi
		31,75	34,14	36,44	42,47	
12 hari	31,75	0	0	0	0	a
9 hari	34,14	<b>2,39</b>	0	0	0	b
6 hari	36,44	<b>4,69</b>	<b>2,30</b>	0	0	c
3 hari	42,47	<b>10,72</b>	<b>8,33</b>	<b>6,03</b>	0	d

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		27,26	29,10	30,51	
200 mL	27,26	0	0	0	a
300 mL	29,10	1,84	0	0	b
400 mL	30,51	<b>3,25</b>	1,41	0	c

**Lampiran 13. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Air Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	23,64	23,29	23,46	70,39	23,46	0,18
	300	24,37	24,54	24,48	73,39	24,46	0,09
	400	25,41	25,51	25,44	76,37	25,46	0,05
3 Hari	200	20,62	20,45	20,51	61,58	20,53	0,09
	300	21,10	21,20	21,13	63,43	21,14	0,05
	400	21,54	21,47	21,48	64,48	21,49	0,04
6 Hari	200	18,31	18,35	18,33	54,99	18,33	0,02
	300	19,26	19,13	19,20	57,58	19,19	0,06
	400	18,77	19,50	19,10	57,37	19,12	0,36
9 Hari	200	17,36	17,39	17,36	52,11	17,37	0,02
	300	17,73	17,57	17,63	52,93	17,64	0,08
	400	16,52	17,95	17,22	51,70	17,23	0,71
12 Hari	200	15,46	15,57	16,06	47,10	15,70	0,32
	300	15,08	16,15	15,54	46,77	15,59	0,54
	400	15,18	16,29	16,91	48,38	16,13	0,88
Total		290,35	294,36	293,85	878,57	292,86	2,18

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	70,39	61,58	54,99	52,11	47,10	286,16
300 mL	73,39	63,43	57,58	52,93	46,77	294,11
400 mL	76,37	64,48	57,37	51,70	48,38	298,29
Total	220,15	189,50	169,94	156,74	142,24	878,57

FK	17153,00
JK Total	421,96
JK Perlakuan	5,06
JK Kelompok	408,68
JK Galat	8,21

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	408,68	102,17	472,68	2,62	3,86	Beda nyata
Perlakuan	2	5,06	2,53	11,70	3,24	5,21	Beda nyata
Galat	38	8,21	0,22				
Total	44	421,96					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	23,46	20,53	18,33	17,37	15,70	95,39	19,08	3,01
300 mL	24,46	21,14	19,19	17,64	15,59	98,04	19,61	3,40
400 mL	25,46	21,49	19,12	17,23	16,13	99,43	19,89	3,72
Total	73,38	63,17	56,65	52,25	47,41	292,86		
Rerata	24,46	21,06	18,88	17,42	15,80			
Std. Dev	1,00	0,49	0,48	0,21	0,28			

Nilai t Tabel	2,02
Nilai BNT	0,77

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		15,80	17,42	18,88	21,06	24,46	
12 hari	15,80	0	0	0	0	0	a
9 hari	17,42	<b>1,61</b>	0	0	0	0	b
6 hari	18,88	<b>3,08</b>	<b>1,47</b>	0	0	0	c
3 hari	21,06	<b>5,25</b>	<b>3,64</b>	<b>2,17</b>	0	0	d
0 hari	24,46	<b>8,66</b>	<b>7,05</b>	<b>5,58</b>	<b>3,41</b>	0	e

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		95,39	98,04	99,43	
200 mL	95,39	0	0	0	a
300 mL	98,04	<b>2,65</b>	0	0	b
400 mL	99,43	<b>4,04</b>	1,39	0	c

**Lampiran 14. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Lemak Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Perlakuan	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	6,45	6,57	6,51	19,52	6,51	0,06
	300	5,28	5,38	5,33	15,98	5,33	0,05
	400	5,73	5,52	5,63	16,88	5,63	0,10
3 Hari	200	5,69	5,59	5,64	16,93	5,64	0,05
	300	5,01	5,14	5,08	15,23	5,08	0,06
	400	5,33	5,97	5,65	16,95	5,65	0,32
6 Hari	200	4,59	4,95	4,77	14,31	4,77	0,18
	300	4,78	4,74	4,76	14,27	4,76	0,02
	400	4,94	4,85	4,89	14,68	4,89	0,05
9 Hari	200	3,40	3,57	3,48	10,45	3,48	0,09
	300	3,69	3,59	3,64	10,93	3,64	0,05
	400	2,89	2,63	2,76	8,27	2,76	0,13
12 Hari	200	2,31	2,51	2,41	7,23	2,41	0,10
	300	2,34	2,21	2,28	6,83	2,28	0,06
	400	1,94	1,91	1,93	5,78	1,93	0,02
Total		64,37	65,12	64,75	194,24	64,75	0,38

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	19,52	16,93	14,31	10,45	7,23	68,45
300 mL	15,98	15,23	14,27	10,93	6,83	63,23
400 mL	16,88	16,95	14,68	8,27	5,78	62,55
Total	52,38	49,11	43,26	29,65	19,84	194,24

FK	838,40
JK Total	88,79
JK Perlakuan	1,39
JK Kelompok	83,73
JK Galat	3,67

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	83,73	20,933	216,69	2,62	3,86	beda nyata
Perlakuan	2	1,39	0,693	7,18	3,24	5,21	beda nyata
Galat	38	3,67	0,097				
Total	44	88,79					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	6,51	5,64	4,77	3,48	2,41	22,82	4,56	1,64
300 mL	5,33	5,08	4,76	3,64	2,28	21,08	4,22	1,26
400 mL	5,63	5,65	4,89	2,76	1,93	20,85	4,17	1,72
Total	17,46	16,37	14,42	9,88	6,61	64,75	12,95	
Rerata	5,82	5,46	4,81	3,29	2,20			
Std. Dev	0,61	0,33	0,07	0,47	0,25			

Nilai t Tabel	2,02
Nilai BNT	1,21

Perlakuan	Rataan	400mL	300 mL	200 mL	Notasi
		4,17	4,22	4,56	
400 ml	4,17	0	0	0	a
300 mL	4,22	0,05	0	0	a
200 mL	4,56	0,39	0,35	0	a

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		2,20	3,29	4,81	5,46	5,82	
12 hari	2,20	0	0	0	0	0	a
9 hari	3,29	1,09	0	0	0	0	a
6 hari	4,81	<b>2,60</b>	1,51	0	0	0	b
3 hari	5,46	<b>3,25</b>	<b>2,16</b>	0,65	0	0	c
0 hari	5,82	<b>3,62</b>	<b>2,53</b>	<b>1,01</b>	<b>0,36</b>	0	d

**Lampiran 15. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Protein Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	13,98	13,74	13,80	41,52	13,84	0,13
	300	15,69	15,61	15,64	46,94	15,65	0,04
	400	16,80	16,76	16,77	50,33	16,78	0,02
3 Hari	200	17,05	17,15	17,09	51,28	17,09	0,05
	300	18,31	18,35	18,32	54,97	18,32	0,02
	400	18,65	18,63	18,63	55,92	18,64	0,01
6 Hari	200	20,11	20,10	20,07	60,28	20,09	0,02
	300	20,58	20,57	20,51	61,66	20,55	0,03
	400	21,74	21,77	21,75	65,26	21,75	0,02
9 Hari	200	22,13	22,08	22,09	66,30	22,10	0,03
	300	22,47	22,42	22,43	67,32	22,44	0,03
	400	23,33	23,28	23,29	69,90	23,30	0,02
12 Hari	200	24,58	24,59	24,57	73,74	24,58	0,01
	300	25,23	25,29	25,25	75,78	25,26	0,03
	400	25,49	25,44	25,45	76,38	25,46	0,03
Total		306,13	305,77	305,68	917,58	305,86	0,23

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	41,52	51,28	60,28	66,30	73,74	293,11
300 mL	46,94	54,97	61,66	67,32	75,78	306,67
400 mL	50,33	55,92	65,26	69,90	76,38	317,79
Total	138,79	162,17	187,20	203,53	225,90	917,58

FK	18710,05
JK Total	543,63
JK Perlakuan	20,36
JK Kelompok	518,41
JK Galat	4,85

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	518,41	129,60	1014,47	2,62	3,86	beda nyata
Perlakuan	2	20,36	10,18	79,70	3,24	5,21	beda nyata
Galat	38	4,85	0,13				
Total	44	543,63					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	13,84	17,09	20,09	22,10	24,58	97,70	19,54	4,21
300 mL	15,65	18,32	20,55	22,44	25,26	102,22	20,44	3,70
400 mL	16,78	18,64	21,75	23,30	25,46	105,93	21,19	3,50
Total	46,26	54,06	62,40	67,84	75,30	305,86		
Rerata	15,42	18,02	20,80	22,61	25,10			
Std.Dev	1,48	0,82	0,86	0,62	0,46			

Nilai t Tabel	2,02
Nilai BNT	0,59

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		19,54	20,44	21,19	
200 mL	19,54	0	0	0	a
300 mL	20,44	0,90	0	0	b
400 mL	21,19	1,65	0,74	0	c

Kelompok	Rataan	0 Hari	3 Hari	6 Hari	9 Hari	12 Hari	Notasi
		15,42	18,02	20,80	22,61	25,10	
0 Hari	15,42	0	0	0	0	0	a
3 Hari	18,02	2,60	0	0	0	0	b
6 Hari	20,80	<b>5,38</b>	2,78	0	0	0	c
9 Hari	22,61	<b>7,19</b>	<b>4,60</b>	1,81	0	0	d
12 Hari	25,10	<b>9,68</b>	<b>7,08</b>	<b>4,30</b>	<b>2,49</b>	0	e

**Lampiran 16. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Abu Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Perlakuan	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	18,07	18,25	18,16	54,48	18,16	0,09
	300	16,45	16,40	16,42	49,26	16,42	0,02
	400	15,83	16,35	16,09	48,27	16,09	0,26
3 Hari	200	17,50	17,38	17,44	52,33	17,44	0,06
	300	15,84	15,79	15,82	47,45	15,82	0,02
	400	13,79	14,56	14,18	42,53	14,18	0,38
6 Hari	200	15,59	15,69	15,64	46,93	15,64	0,05
	300	13,52	13,49	13,50	40,51	13,50	0,02
	400	13,59	13,46	13,53	40,58	13,53	0,06
9 Hari	200	14,73	14,80	14,77	44,31	14,77	0,03
	300	13,15	13,10	13,12	39,37	13,12	0,02
	400	13,23	13,16	13,19	39,58	13,19	0,04
12 Hari	200	13,42	13,46	13,44	40,32	13,44	0,02
	300	12,87	12,90	12,88	38,65	12,88	0,01
	400	12,72	12,84	12,78	38,33	12,78	0,06
Total		220,30	221,64	220,97	662,91	220,97	0,67

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	54,48	52,33	46,93	44,31	40,32	238,36
300 mL	49,26	47,45	40,51	39,37	38,65	215,25
400 mL	48,27	42,53	40,58	39,58	38,33	209,30
Total	152,01	142,31	128,02	123,26	117,30	662,91

FK	9765,51
JK Total	129,23
JK Perlakuan	31,43
JK Kelompok	90,34
JK Galat	7,46

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	90,34	22,58	115,01	2,62	3,86	beda nyata
Perlakuan	2	31,43	15,71	80,02	3,24	5,21	beda nyata
Galat	38	7,46	0,20				
Total	44	129,23					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	18,16	17,44	15,64	14,77	13,44	79,45	15,89	1,93
300 mL	16,42	15,82	13,50	13,12	12,88	71,75	14,35	1,64
400 mL	16,09	14,18	13,53	13,19	12,78	69,77	13,95	1,30
Total	50,67	47,44	42,67	41,09	39,10	220,97		
Rerata	16,89	15,81	14,22	13,70	13,03			
Std.Dev	1,11	1,63	1,23	0,93	0,36			

Nilai t Tabel	2,02
Nilai BNT	0,73

Perlakuan	Rataan	400 mL	300 mL	200 ml	Notasi
		13,95	14,35	15,89	
400 mL	13,95	0	0	0	a
300 mL	14,35	0,43	0	0	a
200 mL	15,89	1,94	2	0	b

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		13,03	13,70	14,22	15,81	16,89	
12 hari	13,03	0,00	0	0	0	0	a
9 hari	13,70	0,66	0	0	0	0	a
6 hari	14,22	<b>1,19</b>	0,53	0	0	0	b
3 hari	15,81	<b>2,78</b>	<b>2,12</b>	1,59	0	0	c
0 hari	16,89	<b>3,86</b>	<b>3,19</b>	<b>2,67</b>	<b>1,08</b>	0	d

**Lampiran 17. Data Pengamatan dan Analisis Data Kadar Karbohidrat Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	37,87	38,16	38,07	114,10	38,03	0,15
	300	38,22	38,07	38,13	114,42	38,14	0,07
	400	38,35	38,30	38,37	115,02	38,34	0,04
3 Hari	200	39,14	39,43	39,31	117,88	39,29	0,15
	300	39,74	39,52	39,66	118,92	39,64	0,11
	400	40,68	39,37	40,06	120,11	40,04	0,65
6 Hari	200	41,40	40,90	41,19	123,49	41,16	0,25
	300	41,87	41,80	42,03	125,70	41,90	0,12
	400	42,19	42,10	42,20	126,49	42,16	0,06
9 Hari	200	42,38	42,15	42,29	126,83	42,28	0,12
	300	42,95	43,32	43,17	129,44	43,15	0,19
	400	44,03	42,99	43,53	130,55	43,52	0,52
12 Hari	200	44,23	43,87	43,52	131,61	43,87	0,36
	300	44,48	43,44	44,05	131,97	43,99	0,52
	400	44,68	44,60	44,70	133,98	44,66	0,05

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	114,10	117,88	123,49	126,83	131,61	613,91
300 mL	114,42	118,92	125,70	129,44	131,97	620,45
400 mL	115,02	120,11	126,49	130,55	133,98	626,15
Total	343,54	356,92	375,68	386,82	397,56	1860,51

FK	76921,92
JK Total	222,47
JK Perlakuan	5,00
JK Kelompok	213,79
JK Galat	3,68

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	213,79	53,45	551,65	2,62	3,86	beda nyata
Perlakuan	2	5,00	2,50	25,79	3,24	5,21	beda nyata
Galat	38	3,68	0,10				
Total	44	222,47					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	38,03	39,29	41,16	42,28	43,87	204,64	40,93	2,32
300 mL	38,14	39,64	41,90	43,15	43,99	206,82	41,36	2,44
400 mL	38,34	40,04	42,16	43,52	44,66	208,72	41,74	2,56
Total	114,51	118,97	125,23	128,94	132,52	620,17		
Rerata	38,17	39,66	41,74	42,98	44,17			
Std.Dev	0,16	0,37	0,52	0,64	0,42			

Nilai t Tabel	2,02
Nilai BNT	1,21

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		40,93	41,36	41,74	
200 mL	40,93	0	0	0	a
300 mL	41,36	0,44	0	0	a
400 mL	41,74	0,82	0,38	0	a

Kelompok	Rataan	0 Hari	3 Hari	6 Hari	9 Hari	12 Hari	Notasi
		38,17	39,66	41,74	42,98	44,17	
0 Hari	38,17	0	0	0	0	0	a
3 Hari	39,66	1,49	0	0	0	0	b
6 Hari	41,74	<b>3,57</b>	2,08	0	0	0	c
9 Hari	42,98	<b>4,81</b>	<b>3,32</b>	1,24	0	0	d
12 Hari	44,17	<b>6,00</b>	<b>4,52</b>	<b>2,43</b>	<b>1,19</b>	0	e



**Lampiran 18. Data Pengamatan dan Analisis Data pH Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Lama Fermentasi	Vol. Molase Segar	Ulangan			Total	Rerata	Std. Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	4,81	4,88	4,85	14,54	4,85	0,04
	300	4,74	4,67	4,78	14,19	4,73	0,06
	400	4,66	4,61	4,68	13,95	4,65	0,04
3 Hari	200	4,53	4,51	4,56	13,60	4,53	0,03
	300	4,54	4,59	4,57	13,7	4,57	0,03
	400	4,50	4,56	4,54	13,60	4,53	0,03
6 Hari	200	4,39	4,37	4,33	13,09	4,36	0,03
	300	4,43	4,47	4,49	13,39	4,46	0,03
	400	4,42	4,44	4,45	13,31	4,44	0,02
9 Hari	200	4,30	4,37	4,37	13,04	4,35	0,04
	300	4,38	4,32	4,33	13,03	4,34	0,03
	400	4,39	4,33	4,35	13,07	4,36	0,03
12 Hari	200	4,38	4,32	4,36	13,06	4,35	0,03
	300	4,27	4,29	4,25	12,81	4,27	0,02
	400	4,29	4,27	4,28	12,84	4,28	0,01

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	14,54	13,60	13,09	13,04	13,06	67,33
300 ml	14,19	13,70	13,39	13,03	12,81	67,12
400 mL	13,95	13,60	13,31	13,07	12,84	66,77
Total	42,68	40,9	39,79	39,14	38,71	201,22

FK	899,77
JK Total	1,25
JK Perlakuan	0,01
JK Kelompok	1,13
JK Galat	0,11

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	1,13	0,28	98,24	2,62	3,86	Beda Nyata
Perlakuan	2	0,01	0,01	1,86	3,24	5,21	Beda Nyata
Galat	38	0,11	0,00				
Total	44	1,25					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	4,85	4,53	4,36	4,35	4,35	22,44	4,49	0,21
300 ml	4,73	4,57	4,46	4,34	4,27	22,37	4,47	0,18
400 mL	4,65	4,53	4,44	4,36	4,28	22,26	4,45	0,15
Total	14,23	13,63	13,26	13,05	12,90	67,07		
Rerata	4,74	4,54	4,42	4,35	4,30			
Std. Dev	0,10	0,02	0,05	0,01	0,05			

Nilai t tabel	2,02
BNT 5%	0,09

Perlakuan	Rataan	400 mL	300 mL	200 mL	Notasi
		4,45	4,47	4,49	
400 mL	4,45	0	0	0	a
300 mL	4,47	0,02	0	0	a
200 mL	4,49	0,04	0,01	0	a

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		4,301	4,349	4,421	4,544	4,742	
12 hari	4,301	0	0	0	0	0	a
9 hari	4,349	0,048	0	0	0	0	a
6 hari	4,421	<b>0,120</b>	0,072	0	0	0	b
3 hari	4,544	<b>0,243</b>	<b>0,196</b>	<b>0,123</b>	0	0	c
0 hari	4,742	<b>0,441</b>	<b>0,393</b>	<b>0,321</b>	<b>0,198</b>	0	d

**Lampiran 19. Data Pengamatan dan Analisis Data Kapasitas Emulsi Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	I	II	III			
0 Hari	200	51,83	51,57	51,71	155,11	51,70	0,13
	300	57,89	56,80	57,33	172,03	57,34	0,55
	400	59,26	59,37	59,32	177,95	59,32	0,05
3 Hari	200	51,10	50,84	50,97	152,92	50,97	0,13
	300	55,56	55,00	55,28	165,83	55,28	0,28
	400	56,67	55,00	55,79	167,46	55,82	0,83
6 Hari	200	50,10	50,76	50,45	151,31	50,44	0,33
	300	53,68	53,79	53,74	161,21	53,74	0,05
	400	55,05	55,81	55,45	166,31	55,44	0,38
9 Hari	200	46,42	45,66	46,02	138,10	46,03	0,38
	300	45,89	45,80	45,84	137,53	45,84	0,04
	400	44,67	45,05	44,87	134,59	44,86	0,19
12 Hari	200	43,33	43,43	43,39	130,15	43,38	0,05
	300	42,75	42,10	42,39	127,24	42,41	0,33
	400	41,68	41,93	41,81	125,42	41,81	0,12
Total		755,90	752,91	754,36	2263,16	754,39	1,50

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	155,11	152,92	151,31	138,10	130,15	727,60
300 mL	172,03	165,83	161,21	137,53	127,24	763,84
400 mL	177,95	167,46	166,31	134,59	125,42	771,73
Total	505,09	486,21	478,84	410,22	382,81	2263,16

FK	113820,304
JK Total	1432,99
JK Perlakuan	73,85
JK Kelompok	1248,79
JK Galat	110,35

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	1248,79	312,20	107,51	2,62	3,86	Beda Nyata
Perlakuan	2	73,85	36,93	12,72	3,24	5,21	Beda Nyata
Galat	38	110,35	2,90				
Total	44	1432,99					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	51,70	50,97	50,44	46,03	43,38	242,53	48,51	3,62
300 mL	57,34	55,28	53,74	45,84	42,41	254,61	50,92	6,45
400 mL	59,32	55,82	55,44	44,86	41,81	257,24	51,45	7,64
Total	168,36	162,07	159,61	136,74	127,60	754,39		
Rerata	56,12	54,02	53,20	45,58	42,53			
Std. Dev	3,95	2,66	2,54	0,63	0,79			

Nilai t tabel	2,024
BNT 5%	2,817

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		48,51	50,92	51,45	
200 mL	48,51	0	0	0	a
300 mL	50,92	2,42	0	0	a
400 mL	51,45	<b>2,94</b>	0,53	0	b

Kelompok	Rataan	12 hari	9 hari	6 hari	3 hari	0 hari	Notasi
		42,535	45,580	53,204	54,023	56,121	
12 hari	42,535	0	0	0	0	0	a
9 hari	45,580	<b>3,045</b>	0	0	0	0	b
6 hari	53,204	<b>10,669</b>	<b>7,6242</b>	0	0	0	c
3 hari	54,023	<b>11,488</b>	<b>8,4431</b>	0,819	0	0	c
0 hari	56,121	<b>13,586</b>	<b>10,5412</b>	<b>2,917</b>	<b>2,098</b>	0	d

**Lampiran 20. Data Pengamatan dan Analisis Data Daya Buih Kontrol dan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dengan Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda**

Lama Fermentasi	Volume Molase Segar	Ulangan			Total	Rata-rata	Std Dev
		I	II	III			
0 Hari	200	0,09	0,08	0,09	0,26	0,09	0,00
	300	0,15	0,14	0,14	0,43	0,14	0,00
	400	0,19	0,18	0,19	0,56	0,19	0,00
3 Hari	200	0,13	0,12	0,14	0,39	0,13	0,01
	300	0,22	0,21	0,24	0,66	0,22	0,02
	400	0,26	0,28	0,27	0,81	0,27	0,01
6 Hari	200	0,19	0,14	0,17	0,50	0,17	0,02
	300	0,26	0,23	0,25	0,75	0,25	0,01
	400	0,29	0,26	0,27	0,81	0,27	0,02
9 Hari	200	0,24	0,22	0,23	0,68	0,23	0,01
	300	0,30	0,33	0,31	0,94	0,31	0,02
	400	0,35	0,36	0,37	1,08	0,36	0,01
12 Hari	200	0,29	0,27	0,28	0,84	0,28	0,01
	300	0,36	0,37	0,36	1,09	0,36	0,00
	400	0,41	0,42	0,44	1,27	0,42	0,01
Total		3,71	3,62	3,74	11,07	3,69	0,06

Perlakuan	Kelompok					Total
	0	3	6	9	12	
200 mL	0,26	0,39	0,50	0,68	0,84	2,66
300 mL	0,43	0,66	0,75	0,94	1,09	3,87
400 mL	0,56	0,81	0,81	1,08	1,27	4,53
Total	1,24	1,86	2,06	2,71	3,20	11,07

FK	2,72
JK Total	0,38
JK Perlakuan	0,12
JK Kelompok	0,26
JK Galat	0,01

SK	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	Keterangan
Kelompok	4	0,26	0,06	314,85	2,62	3,86	Beda Nyata
Perlakuan	2	0,12	0,06	294,76	3,24	5,21	Beda Nyata
Galat	38	0,01	0,00				
Total	44	0,38					

Perlakuan	Hari					Total	Rerata	Std. Dev
	0	3	6	9	12			
200 mL	0,09	0,13	0,17	0,23	0,28	0,89	0,18	0,08
300 mL	0,14	0,22	0,25	0,31	0,36	1,29	0,26	0,09
400 mL	0,19	0,27	0,27	0,36	0,42	1,51	0,30	0,09
Total	0,41	0,62	0,69	0,90	1,07	3,69		
Rerata	0,14	0,21	0,23	0,30	0,36			
Std.Dev	0,05	0,07	0,06	0,07	0,07			

Nilai t tabel	2,02
BNT 5%	0,02

Perlakuan	Rataan	200 mL	300 mL	400 mL	Notasi
		0,18	0,26	0,30	
200 mL	0,18	0	0	0	a
300 mL	0,26	0,08	0	0	b
400 mL	0,30	<b>0,22</b>	<b>0,04</b>	0	c

Kelompok	Rataan	0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	Notasi
		0,14	0,21	0,23	0,30	0,36	
0 hari	0,14	0	0	0	0	0	a
3 hari	0,21	<b>0,07</b>	0	0	0	0	b
6 hari	0,23	<b>0,09</b>	0,02	0	0	0	b
9 hari	0,30	<b>0,16</b>	<b>0,09</b>	<b>0,07</b>	0	0	c
12 hari	0,36	<b>0,22</b>	<b>0,15</b>	<b>0,13</b>	<b>0,05</b>	0	d

Lampiran 21. Dokumentasi Pembuatan Kultur Khamir Laut



Air Laut Sebanyak 1000 mL



Penimbangan gula pasir sebanyak 5 g



Perebusan air



Pensterilan dengan pemanasan sampai mendidih



Penimbangan pupuk daun sebanyak 2 g



Sterilisasi peralatan, pipet volume



Pendinginan pada suhu kamar



Sterilisasi botol kaca



Penuangan pada beaker glass



Sterilisasi selang



Penambahan



Penambahan



Penghomogenan



Penutupan dengan kapas



Penuangan ke dalam botol gelas

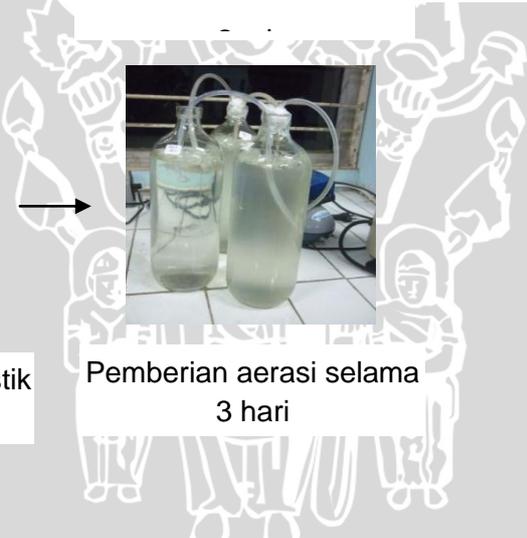
Penambahan Starter khamir laut sebanyak



Penutupan dengan plastik wrap



Pemberian aerasi selama 3 hari



Lampiran 22. Dokumentasi Pengamatan Kepadatan Khamir Laut



Sterilisasi peralatan



Penimbangan gula pasir seanyak 0,125 g



Penimbangan pupuk daun seanyak 0,05 g



Penambahan gula pasir dan pupuk daun



Penuangan ke dalam erlenmeyer



Pengukuran volume air laut steril sebanyak 50 mL



Penghomogenan



Penuangan media ke dalam tabung reaksi



Penambahan kultur khamir laut mix sebanvak 1 mL



Hasil pengenceran



Penghomogenan dengan vortex mixer



Pengenceran bertingkat

Lampiran 23. Dokumentasi Pembuatan Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Pemisahan dari cangkang



Pemisahan dari cangkang



Pencucian sampai bersih



Pecucian sampai busa hilang



Perendaman dengan air garam selama 30 menit



Penimbangan garam sebanyak 3,5% dari daging keong mas



perebusan dalam waterbath selama 15 menit suhu 55°C



Penggilingan daging keong



Penimbangan daging keong sebanyak 100 g



Pencampuran daging keong mas dengan molase



Peambahan molase rebus 200 mL, 300 mL dan 400 mL



Perebusan molase



Penghomogenan



Penuangan dalam botol



Penambahan inokulan khamir laut sebanyak 20 mL



Penuangan dalam cawan petri



Penyaringan dengan kain blacu



Pemasangan aerasi dan fermentasi



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



Pasta hidrolisat keong mas

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



Pengeringan cawan petri dalam oven bersuhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Penimbangan cawan beserta tutup



Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



Pengeringan cawan petri dalam oven bersuhu 105°C selama 3 jam dengan tutup setengah terbuka



Penimbangan sampel sebanyak 15 g



Penimbangan berat akhir kadar air

**Lampiran 25. Dokumentasi Analisis Kadar Lemak Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus**



Pengeringan kertas saring dan benang kasuri dalam oven bersuhu 105°C selama 24 jam



Pendinginan dalam desikator selama



Penimbangan berat kertas saring



Penimbangan berat sampel



Penghalusan sampel dari kadar air



Penimbangan berat benang kasur



Pembungkusan sampel



Ekstraksi lemak pada *goldfish*



Pengeringan sampel pada suhu 105°C selama 24 jam



Penimbangan berat akhir



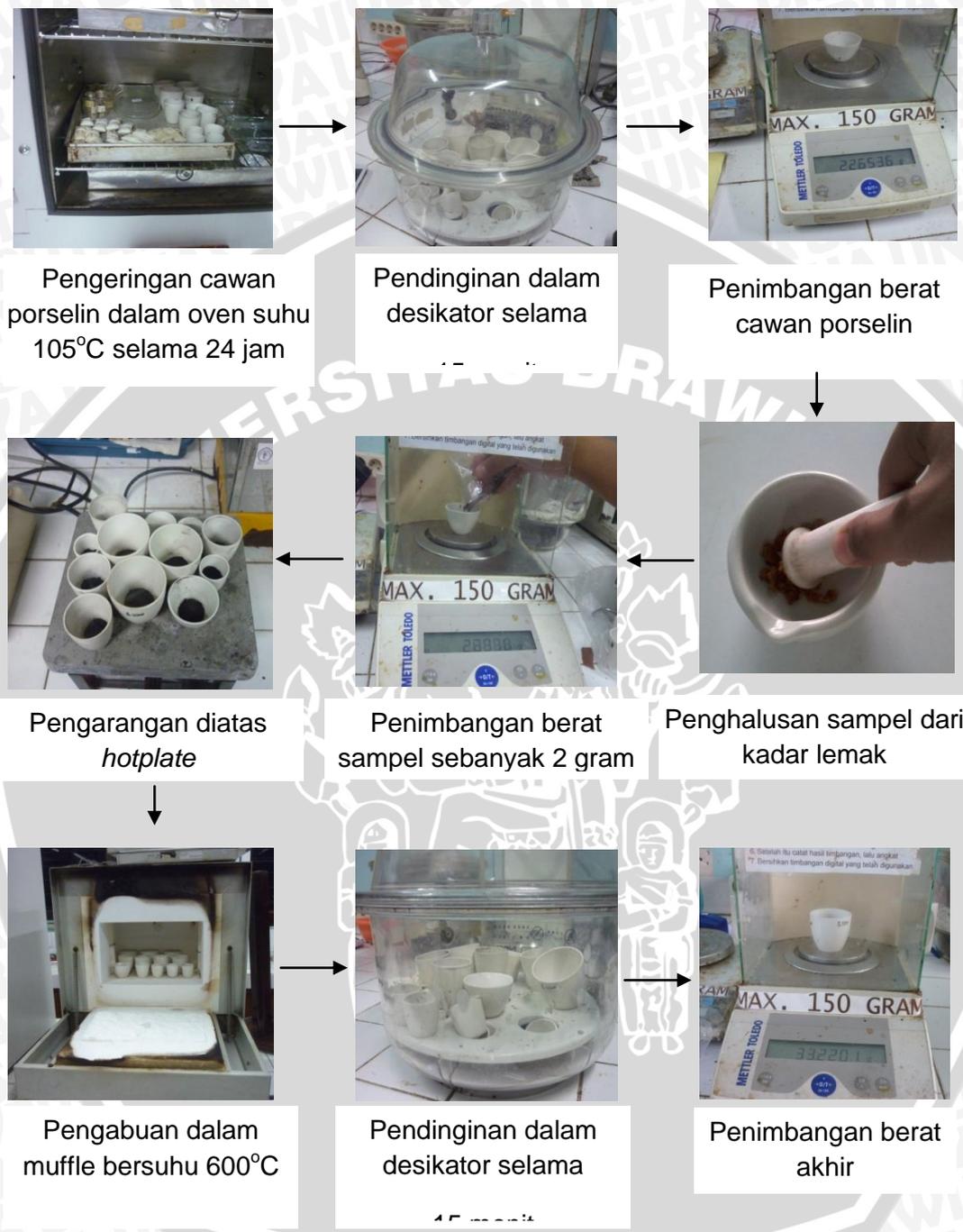
Pendinginan dalam desikator selama 15 menit



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



**Lampiran 27. Dokumentasi Analisis Kadar Abu Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus**



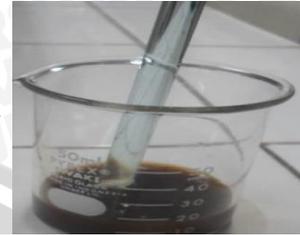
**Lampiran 28. Dokumentasi Analisis pH Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus**



Penimbangan sampel sebanyak 1 gram



Penambahan akuades sebanyak 10 mL



Penghomogenan



Pencelupan elektroda pada sampel



Hidupkan pH meter



Pembilasan elektroda pH meter menggunakan akuades



Pengukuran nilai pH hingga nilai stabil



## Lampiran 29. Dokumentasi Analisis Kapasitas Emulsi Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1 g



Penuangan kedalam cuvet



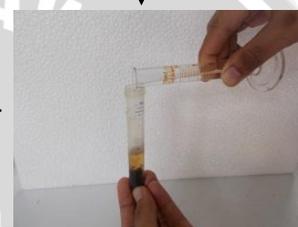
Pengukuran akuades sebanyak 5 mL



Penambahan minyak jagung kedalam cuvet



Pengukuran minyak jagung sebanyak 5 mL



Penambahan akuades dalam cuvet



Peletakan ke dalam sentrifuse



Penghomogenan dengan sentrifuse dengan kecepatan 7500 rpm selama 5 menit



Hasil sentrifuse



Pengukuran volume emulsi



Penghilangan fase minyak pada sampel

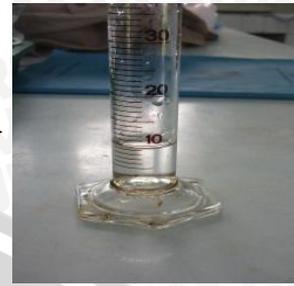
### Lampiran 30. Dokumentasi Analisis Buih Pasta Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus



Penimbangan sampel sebanyak 1g



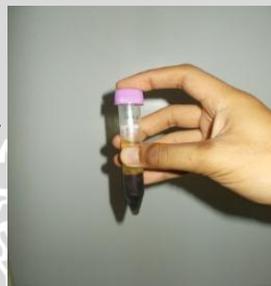
Penuangan ke dalam cuvet



pengukuran akuades sebanyak 10 mL



Daya buih yang terbentuk



Pengocokan sampel selama 1 menit



Penambahan akuades

### Lampiran 31. Hasil Uji Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dan Molase Rebus



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>

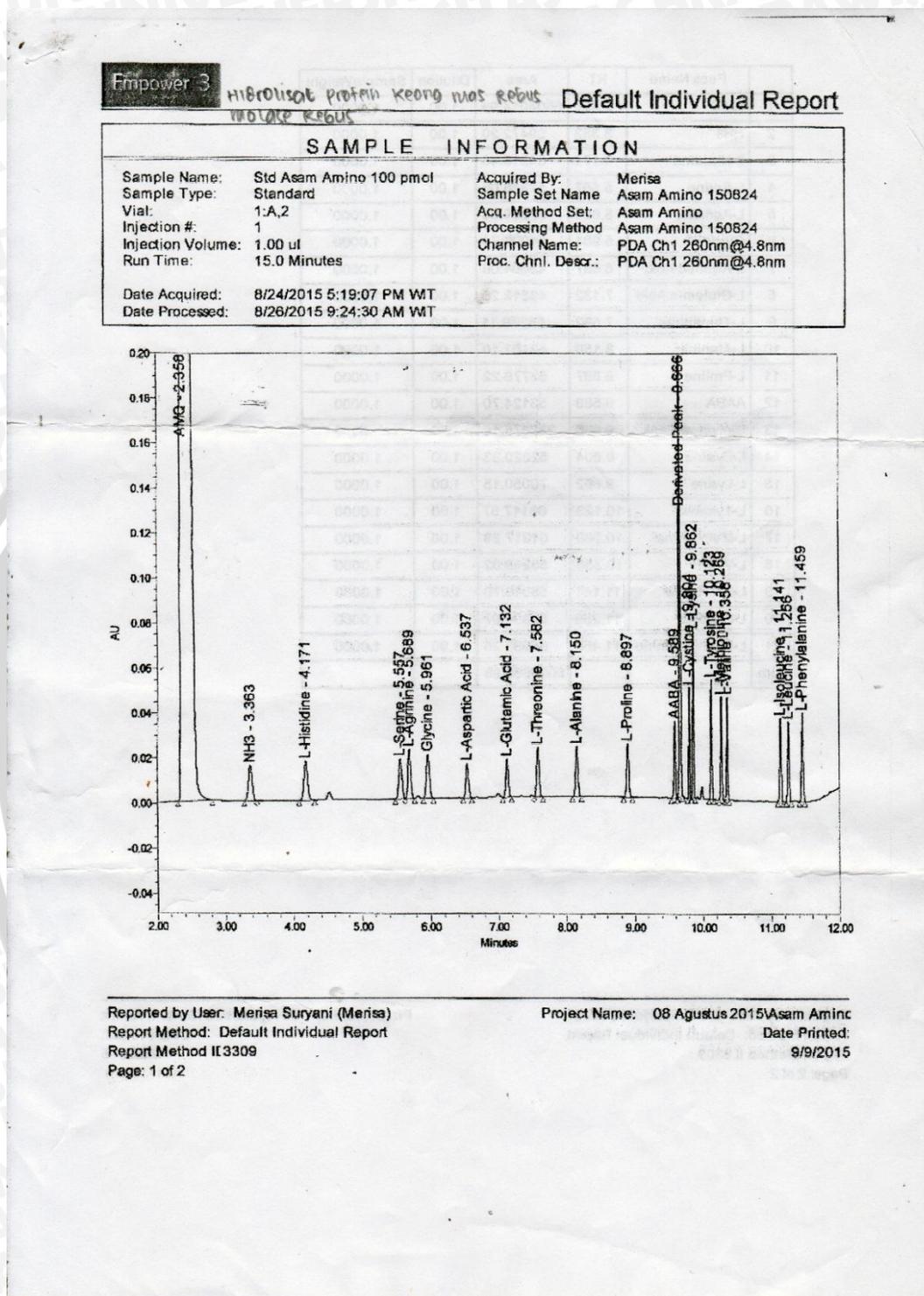
Lampiran No: 089/LSIH-UB/3-LU/VIII/2015

- Kode sampel Uji : Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus molase rebus

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Valin	%	0.35
	Threonin	%	0.34
	Lisin (Lysine HCl)	%	0.29
	Serin	%	0.28
	Isoleusin	%	0.25
	Alanin	%	1.09
	Histidin	%	0.13
	Phenilalanin	%	0.24
	Glutamat	%	7.86
	Tirosin	%	0.17
	Prolin	%	0.48
	Arginin	%	0.35
	Glisin	%	0.39
	Leusin	%	0.44
	Aspartat	%	1.24
	Metionin	%	0.08
	Sistin	%	Not detected
<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>14.00</b>	

Lampiran 32. Kromatogram Asam Amino Standar



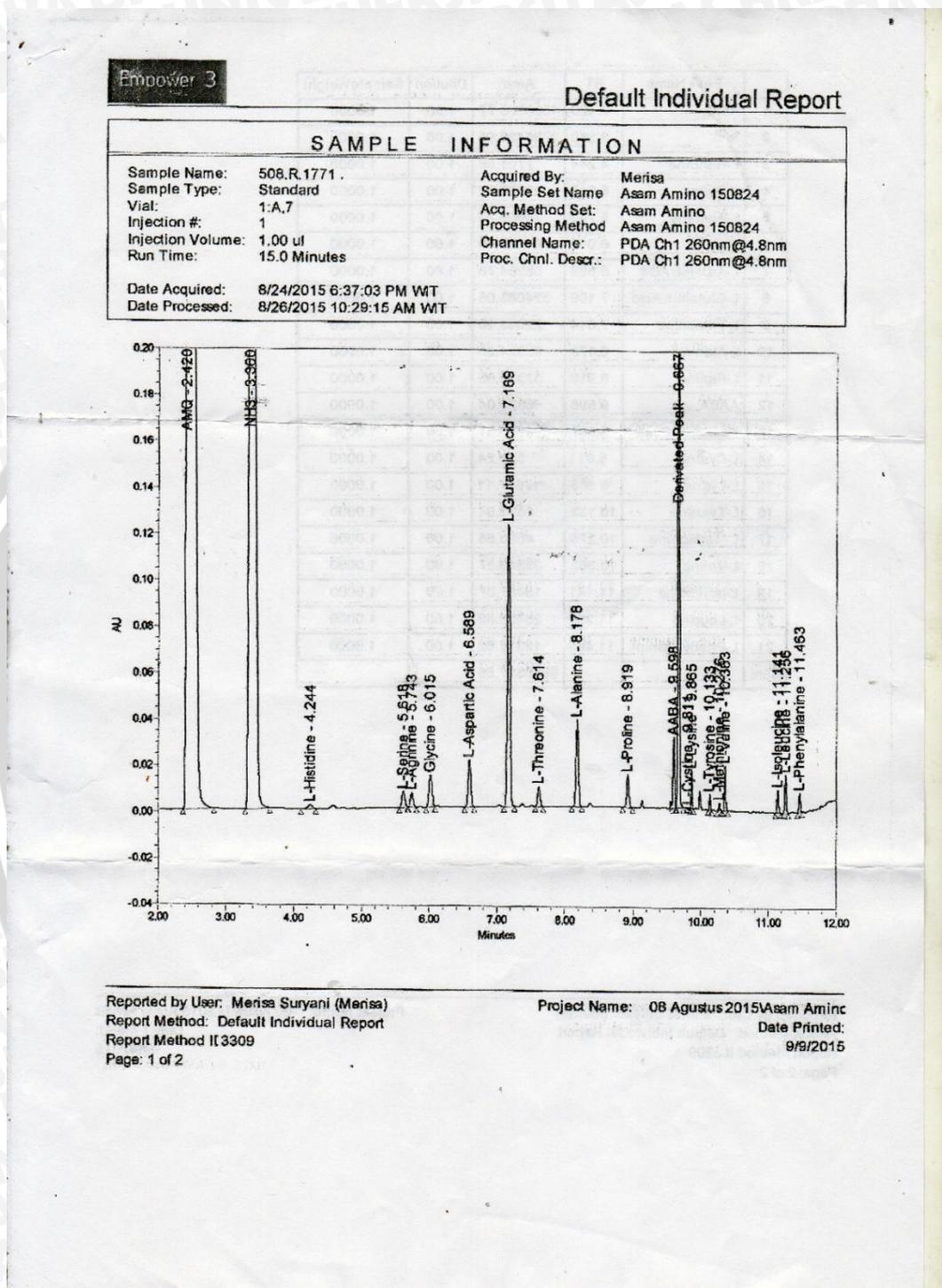
## Lampiran 33. Waktu Retensi dan Luas Area dari Kromatogram Standar

	Peak Name	RT	Area	Dilution	SampleWeight
1	AMQ	2.358	6604014.93	1.00	1.0000
2	NH3	3.363	59472.20	1.00	1.0000
3	L-Histidine	4.171	64316.45	1.00	1.0000
4	L-Serine	5.557	57386.05	1.00	1.0000
5	L-Agrinine	5.689	62229.93	1.00	1.0000
6	Glycine	5.961	61006.74	1.00	1.0000
7	L-Aspartic Acid	6.537	43094.09	1.00	1.0000
8	L-Glutamic Acid	7.132	43513.26	1.00	1.0000
9	L-Threonine	7.582	55269.11	1.00	1.0000
10	L-Alanine	8.150	53103.10	1.00	1.0000
11	L-Proline	8.897	53779.22	1.00	1.0000
12	AABA	9.589	53124.70	1.00	1.0000
13	Derivated Peak	9.666	320876.15	1.00	1.0000
14	L-Cystine	9.804	52320.33	1.00	1.0000
15	L-Lysine	9.862	79050.15	1.00	1.0000
16	L-Tyrosine	10.123	66117.57	1.00	1.0000
17	L-Methionine	10.269	61317.39	1.00	1.0000
18	L-Valine	10.358	58249.62	1.00	1.0000
19	L-Isoleucine	11.141	58013.70	1.00	1.0000
20	L-Leucine	11.256	57094.97	1.00	1.0000
21	L-Phenylalanine	11.459	65037.25	1.00	1.0000
Sum			8028386.90		

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

Lampiran 34. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dan Molase Rebus



Lampiran 35. Waktu Retensi dan Luas Area dari Kromatogram Hidrolisat Protein Keong Mas Rebus dan Molase Rebus

	Peak Name	RT	Area	Dilution	SampleWeight
1	AMQ	2.420	4606983.77	1.00	1.0000
2	NH3	3.360	2786428.95	1.00	1.0000
3	L-Histidine	4.244	7791.58	1.00	1.0000
4	L-Serine	5.618	22300.34	1.00	1.0000
5	L-Agrinine	5.743	18099.77	1.00	1.0000
6	Glycine	6.015	44280.49	1.00	1.0000
7	L-Aspartic Acid	6.569	58264.78	1.00	1.0000
8	L-Glutamic Acid	7.169	324083.05	1.00	1.0000
9	L-Threonine	7.614	22093.90	1.00	1.0000
10	L-Alanine	8.178	90824.35	1.00	1.0000
11	L-Proline	8.919	32398.85	1.00	1.0000
12	AABA	9.598	46625.04	1.00	1.0000
13	Derivated Peak	9.667	594938.31	1.00	1.0000
14	L-Cystine	9.811	520.24	1.00	1.0000
15	L-Lysine	9.865	17657.11	1.00	1.0000
16	L-Tyrosine	10.133	8673.94	1.00	1.0000
17	L-Methionine	10.276	4825.85	1.00	1.0000
18	L-Valine	10.363	25310.57	1.00	1.0000
19	L-Isoleucine	11.141	15487.07	1.00	1.0000
20	L-Leucine	11.256	26423.82	1.00	1.0000
21	L-Phenylalanine	11.463	13315.82	1.00	1.0000
Sum			8969327.59		

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

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