

**PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG  
BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS  
HIDROLISAT PROTEIN IKAN KRESEK (*Thryssa mystax*) REBUS**

**SKRIPSI**

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

**Oleh:**

**SLAMET ABDULLAH  
NIM. 105080300111050**



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

**PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS HIDROLISAT PROTEIN IKAN KRESEK (*Thryssa mystax*) REBUS**

**SKRIPSI**

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

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

**Oleh:**

**SLAMET ABDULLAH  
NIM. 105080300111050**



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

**PENGARUH VOLUME MOLASE REBUS DAN LAMA FERMENTAS YANG BERBEDA DENGAN STARTER KHAMIR LAUT TERHADAP KUALITAS HIDROLISAT PROTEIN IKAN KRESEK (*Thryssa mystax*) REBUS**

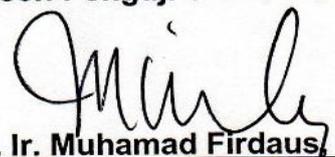
Oleh:

**SLAMET ABDULLAH**  
NIM. 105080300111050

telah dipertahankan didepan penguji pada tanggal 29 Desember 2015 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

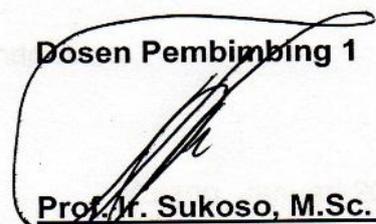
Dosen Penguji 1



Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP  
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 16 MAR 2016

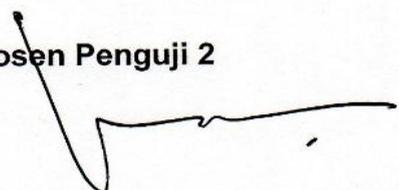
Dosen Pembimbing 1



Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D  
NIP. 19640919 198903 1 002

Tanggal: 16 MAR 2016

Dosen Penguji 2



Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS  
NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal: 16 MAR 2016

Dosen Pembimbing 2



Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS  
NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal: 16 MAR 2016

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP,



Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: 16 MAR 2016

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. TPI (Tempat Pelelangan Ikan) Kenjeran-Surabaya yang telah menyediakan bahan baku penelitian berupa sampel segar ikan Kresek
2. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D selaku dosen pembimbing I, yang telah banyak memberikan bantuan bahan (molase & khamir laut) dan dana penelitian serta pengarahan-pengarahan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP selaku dosen pembimbing II, yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan terkait tentang pendalaman materi dan memberikan pemahaman, aturan penulisan, dan penyusunan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
4. Bapak Dr.Ir. Muhamad Firdaus, MS dan Ibu Dr.Ir. Hartati Kartikaningsih, MS sebagai penguji yang telah memberikan kritikan dan saran-saran yang membangun.
5. Kedua Orang Tuaku yang memberikan doa dan dukungan selama penyusunan laporan skripsi ini.
6. Ustadz Isa Laa Tansa selaku Pengasuh PESMA (Pesantren Mahasiswa) Asy – Syaafiyah Betek Malang telah memberikan motivasi spiritual dan do'a selama penyusunan laporan skripsi.
7. RESMA Camera Rent yang telah membiayai penelitian dari awal sampai akhir.
8. Al Bahri Family , Yusuf A.S, Muh Habib Soleh, Arqi Eka P, Yusuf Khaharudin, Agung Hardianto, Rizal Fadilah, M. Husam Al Hakim, Firda, Mahmud, dan

Luqmanul Hakim yang telah memberi dukungan selama penyusunan laporan skripsi ini.

9. Komunitas TDA Malang yang telah memberi dukungan selama penyusunan laporan skripsi ini.

10. Rekan – Rekan THP “Unity Fitech” 2010 yang telah memberi dukungan semangat mengerjakan skripsi ini.

11. Faiqotul Luthfiah, Ananta Wira Pratama, Priyanto, dan adik tingkat 2011, teman-teman Teknologi Hasil Perikanan yang setia menemani dalam suka maupun duka mulai dari awal penelitian hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.

Malang, Januari 2015

Penulis





## RINGKASAN

**SLAMET ABDULLAH.** Skripsi tentang Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Ikan Kresek (*Thryssa mystax*) Rebus (dibawah bimbingan **Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D** dan **Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP**).

---

Ikan kresek (*Thryssa mystax*) merupakan salah satu jenis ikan laut yang dapat dikonsumsi dalam bentuk rebus, asin, kering, dan juga sebagai bahan dasar terasi ikan serta daerah penyebarannya di sepanjang pantai perairan Indonesia. Di daerah Surabaya, Ikan kresek merupakan jenis ikan yang banyak di olah menjadi ikan asin atau campuran pakan ternak. Ikan kresek merupakan salah satu bahan pangan berprotein yang cukup tinggi, sehingga dapat berpotensi sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein. Hidrolisat protein merupakan cairan atau pasta yang dibuat dengan cara fermentasi menggunakan enzim proteolitik. Enzim proteolitik dapat diperoleh dari khamir laut yang sebarannya cukup melimpah. Khamir laut memerlukan sumber karbon untuk nutrisi kebutuhan hidupnya. Sumber karbon dapat diperoleh dengan adanya penambahan molase.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan lama fermentasi dan volume molase rebus yang optimal terhadap mutu hidrolisat protein ikan kresek. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Penelitian ini terdiri dari penelitian awal atau pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan atau awal ini dilakukan dengan penentuan fase logaritmik khamir laut, penentuan volume molase dan lama fermentasi dalam proses pembuatan hidrolisat protein. Penelitian utama dilakukan dengan pembuatan hidrolisat protein ikan kresek dengan *starter* khamir laut yang dianalisis kimia (analisis proksimat, total asam amino, kadar kalsium, pH, emulsi, dan daya buih) terhadap kualitas hidrolisat protein ikan kresek. Penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor yaitu volume molase segar yang terdiri dari 450mL, 600mL dan lama fermentasi pada hari ke-3, hari ke-6, hari ke-9 dan hari ke-12 serta dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Hasil penelitian diperoleh hidrolisat protein ikan kresek terbaik dengan lama fermentasi 12 hari dan volume molase 450 mL dengan kadar protein 61,92% sedangkan nilai rata-ratanya 58,76%; kadar air 15,87% nilai rata-rata 15,26%; kadar lemak 0,83% nilai rata-rata 0,65%; kadar abu 13,23% nilai rata-rata 11,00% ; kadar karbohidrat 8,15% nilai rata-rata 14,32% ; pH 4 nilai rata-rata 3,97% ; emulsi 34,14% nilai rata-rata 33,08% ; dan daya buih 5,55% nilai rata-rata 7,31%.

Total asam amino yang diperoleh yaitu lisin 0,58%; histidin 0,12%; arginin 1,16%; leusin 0,49%; isoleusin 0,23%; threonin 0,31%; valin 0,5%; phenilalanin 0,18%; glutamat 5,37%; aspartat 0,90%; alanin 1,04%; serin 0,28%; glisin 0,79%; dan prolin 0,43%. Kandungan asam amino tertinggi pada produk hidrolisat protein ikan kresek yaitu asam amino glutamat.

Kualitas hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) melalui proses fermentasi dengan starter khamir laut menggunakan substrat molase rebus dan ikan kresek rebus, masih kurang memenuhi standart kualitas internasional hidrolisat protein yang telah ditetapkan oleh FAO dan NRC.

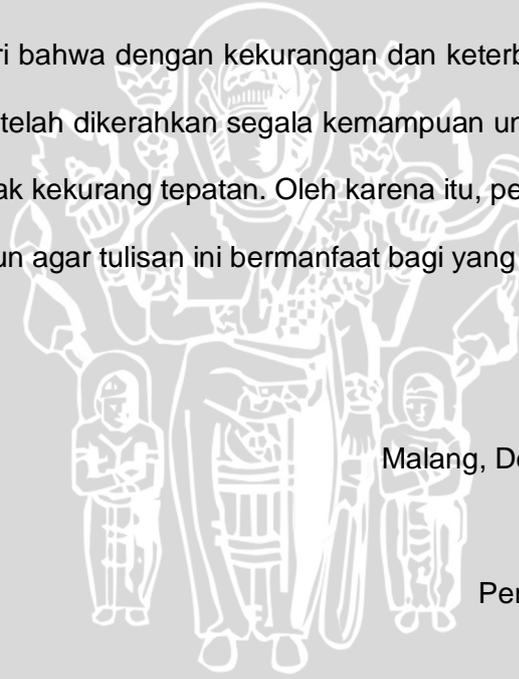
## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-NYA penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi yang Berbeda dengan Starter Khamir Laut terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Ikan Kresek (*Thryssa mystax*) Rebus. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembuatan hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) dan beberapa uji terkait dengan penentuan kualitas dari hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) tersebut.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurang tepatan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Desember 2015

Penulis



## DAFTAR ISI

## Halaman

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iv
<b>RINGKASAN</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Hipotesis .....	4
1.5 Kegunaan .....	5
1.6 Tempat dan Waktu .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ikan Kresek ( <i>Thryssa mystax</i> ) .....	6
2.1.1 Karakteristik Ikan Kresek .....	6
2.1.2 Kandungan Kimia Ikan Kresek .....	8
2.2 Khamir Laut .....	8
2.2.1 Karakteristik Khamir Laut .....	8
2.2.1 Komposisi Kimia Khamir Laut .....	9
2.2.3 Manfaat Khamir Laut .....	11
2.3 Molase .....	12
2.3.1 Karakteristik Molase .....	12
2.3.2 Komposisi Kimia Molase .....	12
2.3.3 Pengaruh Perebusan Terhadap Molase .....	14
2.4 Fermentasi .....	15
2.4.1 Definisi dan Manfaat Fermentasi .....	15
2.4.2 Teknologi Fermentasi .....	16

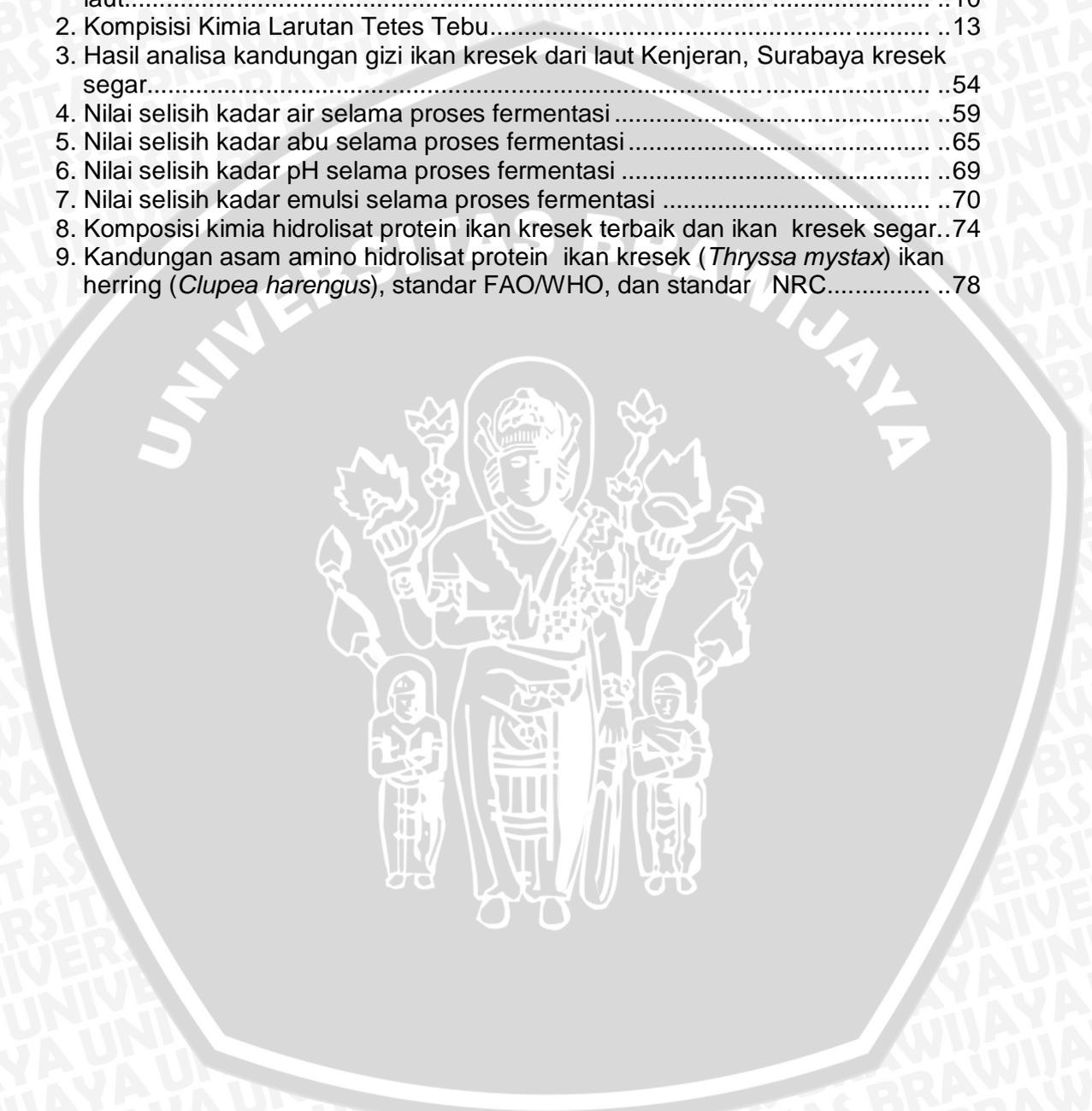
2.4.3 Fermentasi dengan Starter Khamir Laut .....	17
2.5 Hidrolisat Protein .....	18
2.5.1 Definisi dan Manfaat Hidrolisat Protein .....	18
2.5.2 Teknologi Hidrolisat Protein .....	19
2.5.3 Hidrolisat Protein dengan Biokatalisator Khamir Laut .....	20
<b>3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian .....	21
3.1.1 Bahan Penelitian .....	21
3.1.2 Alat Penelitian .....	22
3.2 Metode Penelitian .....	23
3.3 Skema Kerja Penelitian .....	24
3.3.1 Skema Kerja Kultur Khamir Laut .....	24
3.3.2 Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Kresek.....	25
3.4 Prosedur Penelitian .....	26
3.4.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut .....	26
3.4.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Kresek .....	29
3.4.3 Prosedur Uji Proksimat .....	30
a) Kadar Protein .....	30
b) Kadar Lemak .....	32
c) Kadar Air .....	32
d) Kadar Abu .....	33
e) Karbohidrat .....	34
3.4.4 Prosedur Uji PH.....	34
3.4.5 Prosedur Uji Emulsifikasi.....	35
3.4.6 Prosedur Uji Daya Buih.....	36
3.4.7 Prosedur Analisis Kadar Kalsium .....	36
3.4.8 Prosedur Uji Total Asam Amino .....	37
3.4.9 Derajat Hidrolisis.....	41
3.5 Penelitian Pendahuluan .....	42
3.5.1 Penentuan Fase Logaritmik.....	42
3.5.2 Penentuan Volume Molase.....	46
3.6 Analisis Data .....	52
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>53</b>
4.1 Penelitian Utama.....	53
4.1.1 Komposisi Kimia Kepala Ikan Kresek.....	53

4.1.2 Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Ikan Kresek.....	.55
4.2.3 Rendemen Cair Hidrolisat Protein Ikan Kresek.....	.57
4.2.4 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Ikan Kresek.....	.59
a) Kadar Air.....	.59
b) Kadar Lemak.....	.61
c) Kadar Protein.....	.63
d) Kadar Abu.....	.64
e) Kadar Karbohidrat.....	.66
4.2.5 Analisis Derajat Keasaman pH.....	.68
4.2.6 Analisis Emulsi.....	.70
4.2.7 Analisis Daya Buih.....	.72
4.2.8 Hidrolisat Protein Ikan Kresek Terbaik.....	.73
4.2.9 Analisis Total Asam Amino.....	.77
4.2.10 Analisis Derajat Hidrolisis.....	.81
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>.83</b>
5.1 Kesimpulan.....	.83
5.2 Saran.....	.84
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>.85</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>.92</b>



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Nutrisi, asam lemak, asam amino essensial, dan mineral khamir laut.....	10
2. Komposisi Kimia Larutan Tetes Tebu.....	13
3. Hasil analisa kandungan gizi ikan kresek dari laut Kenjeran, Surabaya kresek segar.....	54
4. Nilai selisih kadar air selama proses fermentasi .....	59
5. Nilai selisih kadar abu selama proses fermentasi .....	65
6. Nilai selisih kadar pH selama proses fermentasi .....	69
7. Nilai selisih kadar emulsi selama proses fermentasi .....	70
8. Komposisi kimia hidrolisat protein ikan kresek terbaik dan ikan kresek segar..	74
9. Kandungan asam amino hidrolisat protein ikan kresek ( <i>Thryssa mystax</i> ) ikan herring ( <i>Clupea harengus</i> ), standar FAO/WHO, dan standar NRC.....	78



DAFTAR GAMBAR



<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Ikan kresek ( <i>Thryssa mystax</i> ) diambil dari laut Kenjeran, Surabaya.....	6
2. Reaksi Hidrolisis protein.....	19
3. Skema kerja kultur khamir laut.....	24
4. Skema kerja pembuatan hidrolisat protein ikan kresek.....	25
5. Pengenceran Kultur Khamir Laut.....	27
6. Pertumbuhan sel khamir laut dengan pengamatan setiap 6 jam sekali selama 3 hari.....	42
7. Mikrograf kepadatan khamir laut diamati dari hemositometer dalam berbagai lama kultur dengan perbesaran 1000x.....	44
8. Konodia khamir saat pembelahan sel.....	45
9. Rendemen hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda.....	50
10. Rendemen pasta hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	55
11. Rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	57
12. Kadar air kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	59
13. Kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	61
14. Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	63
15. Kadar abu kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	65
16. Kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	66
17. pH kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	68
18. Emulsi kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	70
19. Daya buih kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	72

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan komposisi kultur khamir laut.....	92
2. Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir laut.....	93
3. Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran.....	94
4. Perhitungan kepadatan sel khamir laut.....	95
5. Perhitungan penelitian pendahuluan rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek dengan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	98
6. Data derajat hidrolisis protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.....	99
7. Perbandingan data penelitian pendahuluan volume cairan dan rendemen hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase segar dan lama fermentasi yang berbeda.....	100
8. Data proksimat sampel ikan kresek segar.....	101
9. Data analisa proksimat pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	102
10. Data analisa proksimat pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	103
11. Data analisa kalsium pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	104
12. Data analisis asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	105
13. Data kromatografi asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	106
14. Data analisis asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	107
15. Data kromatografi asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	108
16. Data analisis asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek.....	109
17. Data pengamatan penelitian awal hidrolisat protein ikan kresek.....	110
18. Foto pengkulturan khamir laut.....	112
19. Foto pengamatan kepadatan sel khamir laut.....	113
20. Foto proses perebusan ikan kresek.....	114
21. Foto proses pembuatan hidrolisat protein ikan kresek.....	115
22. Foto proses analisis kadar air.....	116
23. Foto proses analisis kadar lemak.....	117
24. Foto proses analisis kadar protein.....	118
25. Foto proses analisis kadar abu.....	119
26. Foto proses analisis pH.....	120
27. Foto proses analisis emulsi.....	121
28. Foto proses analisis daya buih.....	122

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perairan ujung pangkah (gresik-jawa timur) memiliki potensi sumberdaya perikanan yang cukup besar. Pada tahun 1995 potensi sumberdaya perikanan laut diperkirakan sebesar 25.190 ton/tahun dengan tingkat pemanfaatan sebesar 18.707,2 ton/tahun. Salah satu jenis ikan yang cukup banyak ditemukan di wilayah perairan ini adalah ikan kresek (*Thryssa mystax*). Jenis ikan ini dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sumber protein hewani yang cukup bergizi dan berharga murah (Sulistiono, *et al.*, 2010).

Ikan kresek (*T. mystax*) merupakan salah satu sumberdaya hayati ikan yang terdapat di Perairan Ujung Pangkah, Kabupaten Gresik, Provinsi Jawa Timur. Berdasarkan hasil wawancara nelayan setempat, keberadaan ikan ini di perairan tersebut cukup banyak. Ikan kresek di perairan Ujung Pangkah merupakan ikan tangkapan sampingan, sedangkan hasil tangkapan utama nelayan adalah ikan belanak (*Mugil* sp). Meningkatnya jumlah penduduk dimasa datang menyebabkan meningkatnya kebutuhan konsumsi protein hewani, untuk itu ikan ini dapat menjadi alternatif untuk pemenuhan kebutuhan protein hewani dan peningkatan ekonomi nelayan (Fatimah, 2006).

Hidrolisat protein merupakan produk yang berupa cairan dibuat dari ikan rucah atau limbah hasil perikanan dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein (Haslina, 2004). Bahan baku jenis ikan yang telah digunakan sebagai hidrolisat protein selama ini meliputi ikan mujair (Widyasari, 2000), jeroan ikan tuna (Salwane *et al.*, 2013), ikan ekor kuning (Bernadeta *et al.*, 2012), ikan selar kuning (Hidayat, 2005), lele dumbo (Widadi, 2011).

Hidrolisat protein ikan juga merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui

proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa (Widadi, 2011). Salah satu cara untuk mengoptimalkan kerja enzim yaitu dengan menggunakan fermentasi. Fermentasi dengan jangka waktu yang tepat dapat menghasilkan hidrolisat protein yang optimal karena komponen kompleks dipecah menjadi bentuk yang lebih sederhana.

Dari penelitian sebelumnya dalam proses pembuatan hidrolisat protein ikan digunakan enzim papain dan khamir laut. Bernadeta, *et al.* (2012) menyampaikan bahwa enzim papain merupakan enzim protease yang ada pada getah papaya. Enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis protein pada substrat seperti limbah ikan ekor kuning. Sedangkan menurut Fathony, (2014) Untuk membuat HPI kepala udang menggunakan mikroorganisme khamir laut bertujuan memecah protein dalam kepala udang. Widadi (2011) menjelaskan bahwa pada proses pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim papain dan waktu fermentasi selama 6 jam yang menghasilkan hidrolisat protein 35,37%. Sedangkan menurut Fathony (2014) menjelaskan bahwa pada proses pembuatan HPI kepala udang menggunakan ekstrak kasar khamir laut selama 12 hari yang menghasilkan hidrolisat protein 65,06%.

Dalam memodifikasi pembuatan hidrolisat protein yaitu dengan cara fermentasi dengan starter khamir laut. Karena diketahui bahwa potensi khamir laut cukup melimpah. Zhenming, *et al.* (2006) menjelaskan bahwa khamir laut merupakan penghasil *single cell protein* (SCP) tertinggi dan juga penghasil substansi bioaktif. Sukoso (2012) menambahkan bahwa khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase, sehingga dapat berperan dalam pembuatan hidrolisat protein.

Khamir laut memerlukan nutrisi untuk kelangsungan hidupnya. Sejauh ini,

nutrisi yang dibutuhkan khamir laut dalam media pertumbuhannya yaitu dengan adanya penambahan gula sederhana seperti glukosa maupun sukrosa sebagai sumber karbon. Biasanya sumber karbon yang digunakan sebagai media pertumbuhannya yaitu diperoleh dari penambahan gula pasir (Ahmad, 2005). Belum ada penelitian yang menggunakan alternatif lain sebagai pengganti gula pasir yaitu dengan penambahan molase pada media pertumbuhan khamir laut. Sulisty, *et al.* (2007) menyampaikan molase banyak mengandung gula yakni 48% - 56% gula yang dapat difermentasi, yang terdiri dari 70% sukrosa dan 30% gula invers.

Penggunaan molase dengan konsentrasi yang tepat dapat mengoptimalkan pertumbuhan khamir laut saat fermentasi berlangsung. Noviaty (2007) melaporkan bahwa penambahan molase 1% yang ditambahkan dalam pembuatan biomassa isolat khamir R1 dan R2 merupakan perlakuan terbaik yang dapat meningkatkan bobot biomassa isolate khamir R1 dan R2. Kebanyakan dari hasil penelitian menunjukkan bahwa molase yang digunakan yaitu menggunakan molase segar. Sari (2014) menyampaikan hasil analisis komposisi kimia molase segar antara lain 23,23% kadar protein, 0,08% kadar lemak, 66,20% kadar air, 4,13% kadar abu, dan 6,36% kadar karbohidrat. Belum ada penelitian yang menggunakan perlakuan molase rebus. Apabila molase dilakukan perebusan maka akan membentuk warna hitam kecoklatan, menghilangkan atau membunuh mikroorganisme lain dalam suatu substansi yang di rebus, dan meningkatkan nutrient bagi pertumbuhan khamir laut (Buckle, 1987). 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.

Selama ini belum ada penelitian yang menunjukkan pembuatan hidrolisat

protein dari ikan Kresek (*Thryssa mystax*) menggunakan starter khamir laut dengan penambahan sumber karbon berupa molase rebus. Oleh sebab itu dalam penelitian ini akan dilakukan kajian mengenai Pemanfaatan ikan Kresek (*Thryssa mystax*) menjadi hidrolisat protein serta pengaruh lama fermentasi dengan penambahan molase rebus dalam pembuatannya.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Adakah pengaruh yang ditimbulkan akibat lama fermentasi dan penambahan molase rebus dengan volume berbeda terhadap kandungan gizi hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) rebus?
2. Berapa lama waktu fermentasi dan volume molase rebus yang optimal dalam pembuatan hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) rebus?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh dan mendapatkan lama fermentasi dan volume molase rebus yang optimal terhadap mutu hidrolisat protein ikan kresek (*T. mystax*) rebus.

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diambil dari penelitian ini yaitu diduga lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda berpengaruh terhadap mutu hidrolisat protein ikan Kresek (*T. mystax*) rebus

### 1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh lama fermentasi dan volume molase rebus yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap mutu hidrolisat protein ikan Kresek (*T. mystax*) rebus

### 1.6 Tempat dan Waktu

Pelaksanaan Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi, Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan; Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya; Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya; dan Laboratorium Pengendalian Mutu serta Teknologi Rekayasa Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya pada bulan September 2014 - Agustus 2015.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Kresek (*Thryssa mystax*)

#### 2.1.1 Karakteristik Ikan Kresek

Ikan kresek atau ikan bulu ayam, glotek (Surabaya), cangkang atau bido (Sulawesi selatan), khoira (India) dan di dunia lebih dikenal dengan Moustached thryssa merupakan jenis ikan bertulang sejati (Teleostei) dan masuk dalam golongan ikan pelagis kecil. Klasifikasi ikan kresek menurut Selvam *et al.*, (2013) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Super class	: Gnathostomata
Class	: Osteichthyes
Sub class	: Actinopterygii
Order	: Clupeiformes
Family	: Engraulidae
Genus	: <i>Thryssa</i>
Spesies	: <i>Thryssa mystax</i> .



Gambar 1. Ikan kresek (*Thryssa mystax*) diambil dari laut Kenjeran, Surabaya

Ikan ini mempunyai bentuk tubuh pipih, sirip ekor bercagak, tidak bersambungan dengan sirip dubur, sisik tebal berada antara sirip dada dan sirip dubur. Panjang ikan 3 sampai 5 kali panjang sirip dubur, dari mulut sampai dubur bersisik tebal. Sirip

dubur terletak di bawah atau sedikit di belakang ujung sirip punggung (Saanin, 1989).

Ikan berbentuk pipih, sisik daerah keel dari isthmus ke anus berjumlah 24 sampai 32. Mata terletak di dekat hidung. Rahang atas panjang hingga sampai ke pangkal sirip pektoral. Supra maxillia berbentuk oval. gill rakers bawah berjumlah 14 sampai 16. Jari-jari sirip anal 29 sampai 37. Bagian atas penutup insang terdapat benjolan berwarna hitam (Whitehead *et al.*, 1988).

Ukuran panjang normal ikan *T.mystax* berkisar 8 sampai 16 cm. Namun berdasarkan data yang telah ditemukan panjang standart maksimalnya tercatat 15.5 cm, meskipun beberapa spesies yang lain mempunyai panjang standart 20.8 cm dan 20.2 cm (Varghese *et al.*, 2013).

Penyebaran ikan kresek di Jawa Timur, salah satu daerah penyebarannya yang terbesar adalah di perairan Kenjeran. Di daerah Surabaya, ikan kresek merupakan jenis ikan yang banyak di olah menjadi ikan asin atau campuran pakan ternak. Menurut Direktorat Jendral Perikanan (1997) dalam Fatimah, (2006) ,ikan kresek (*Thryssa mystax*) merupakan salah satu jenis ikan laut yang dapat dikonsumsi dalam bentuk segar, asin, kering, dan juga sebagai bahan dasar terasi ikan serta daerah penyebarannya di sepanjang pantai perairan Indonesia terutama di Jawa, Sumatra bagian timur, sepanjang Kalimantan, Sulawesi Selatan, dan Teluk Benggala, sepanjang pantai Laut Cina Selatan, serta utara Queensland (Australia).

Secara geografis penyebaran ikan ini di wilayah laut Hindia (bagian barat dan timur dari pesisir Hindia, serta selatan Burma sampai Pinang) dan Pasifik tenggara (Indonesia bagian selatan sampai Jawa). Ikan ini hidup di laut, merupakan pelagis dan suka bergerombol, kebanyakan di jumpai dekat pantai dan muara air payau (Whitehead *et al.*, 1988). Menurut Weber dan de Beaufort (1965) dalam Sulistiono,dkk (2009) daerah penyebaran ikan kresek terdapat di Jawa (Jakarta, Batam, Kalimantan (Singkawang); Sulawesi Utara; serta di Singapura; China dan India.

### 2.1.2 Kandungan Kimia Ikan Kresek

Ikan merupakan salah satu bahan makanan yang mengandung berbagai macam zat, selain harga yang umumnya lebih murah, absorpsi protein ikan lebih tinggi dibandingkan dengan produk hewani lain seperti daging sapi dan ayam, karena daging ikan mempunyai serat-serat protein lebih pendek dari pada serat-serat protein daging sapi atau ayam. Jenisnya pun sangat beragam dan mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya adalah mengandung omega 3 dan omega 6, dan kelengkapan komposisi asam amino (Sadika, 2012).

Dalam pengolahannya ikan kresek masih sangat kurang. Diversifikasi pangan dengan bahan baku ikan ini di wilayah pantai Kenjeran, Surabaya hanya sebatas ikan asin dan ikan rucah sebagai pakan ternak, sekaligus harga jual ikan ini baik segar maupun olahan masih rendah. Oleh sebab itu diperlukan upaya pengolahan lebih lanjut untuk memanfaatkan kandungan gizi yang ada pada ikan tersebut agar optimal dan meningkatkan nilai ekonomisnya. Menurut Vijayakumar *et al.*, (2014) kandungan gizi ikan kresek *T. Mystax* yang diperoleh dari pantai tenggara India tepatnya di estuari Thengaithittu memiliki kandungan protein sebesar 21.3%, kadar karbohidrat 1.4%, kadar lemak 2.7%, kandungan air 69.9% dan kadar abu sebesar 1.42%. terlihat jelas bahwa jenis ikan ini memang memiliki kadar air yang tinggi.

## 2.2 Khamir Laut

### 2.2.1 Karakteristik Khamir Laut

Khamir merupakan organisme uniseluler dari golongan jamur. Khamir dapat berbentuk bulat oval seperti jeruk, silindris, segitiga, memanjang seperti miselium sejati atau miselium palsu, oval yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung. Khamir adalah mikro organisme bersel

tunggal dengan ukuran antara 5 dan 20 mikro. Biasanya berukuran 5 sampai 10 kali lebih besar dari bakteri (Jannah, 2012).

Indratwari (2010), menyatakan bahwa khamir (yeast) merupakan fungi uniselular yang bereproduksi secara seksual maupun aseksual. Apabila berproduksi dengan seksual yaitu menggunakan spora dan apabila aseksual menggunakan pertunasan, pembelahan atau kombinasi keduanya. Habitat khamir cukup luas dan beragam dan sesuai dengan strainnya. Khamir yang dapat hidup pada salinitas tinggi yaitu dikenal dengan nama khamir laut.

Khamir laut (marine yeast) mampu hidup pada lingkungan yang bersalinitas tinggi. Karakteristik khamir laut tidak jauh berbeda dengan khamir pada umumnya (kecuali habitat). Kebutuhan nutrisinya meliputi beberapa mineral, sumber nitrogen dan vitamin (Bamforth, 2005). Suhu optimum pertumbuhannya yaitu berkisar antara 25-30°C, dengan suhu maksimum 35- 47°C. Khamir lebih menyukai hidup pada keadaan asam yaitu pada pH 4-4,5 dan tidak dapat tumbuh pada medium alkali kecuali telah beradaptasi (Fardiaz, 1992). Sukoso (2012) menambahkan bahwa khamir laut dapat menghasilkan berbagai enzim seperti proteinase, amilase, deaminase, sukrose, maltose, fosfolipase, dan fosfatase.

### **2.2.2 Komposisi Kimia Khamir Laut**

Menurut Sukoso (2012) kandungan nutrisi pada khamir laut diketahui mengandung asam amino, sulfurnya rendah tetapi merupakan sumber yang baik akan vitamin B, sedikit mengandung vitamin E, dan provitamin D sedangkan kandungan kimia yang terdapat pada khamir laut yaitu mengandung asam lemak dan mineral.

Tabel 1. Kandungan nutrisi, asam lemak, asam amino essensial, dan mineral khamir laut

Analisa	Kandungan	Presentase(%)	mg / 100 g
Proksimat	Bahan kering oven	71,85	
	Abu	66,09	
	Protein	28,29	-
	Betin	4,33	-
	Serat kasar	0,95	
	Lemak	0,34	
Asam lemak	Stearat	28,726	-
	Palmitat	17,437	-
	Oleat	14,447	-
	Linoleat	7,469	-
	Laurat	1,842	-
	Linolenat	0,875	-
Asam amino essensial	Metionin + Sistin	0,773	
	Lisin	0,463	
	Valin	0,342	
	Leucin	0,318	
	Isoleucin	0,310	
	Phenylalanin	0,274	
	Histidin	0,262	
	Arginin	0,206	
Thereonin	0,187		
Mineral	Ca	-	2,161
	P	-	2,276
	Cl	-	7.452,459
	Mn	-	2.844
	Zn	-	266.241
	Mg	0,09	

Sumber: Febriani, (2001)

Selain itu, vitamin B kompleks seperti thiamin, riboflavin, nicotinat dan biotin juga dimiliki pada khamir laut (Becker, 1994). Selama pertumbuhannya, khamir laut mempunyai daya cerna yang tinggi dan dapat meningkatkan aktivitas tripsin dalam mencerna protein (Febriani, 2001).

Chen *et al.*, (2009) menambahkan, khamir laut yang berhasil diisolasi dari pantai Timur laut Taiwan terdapat 109 kultur dan diklasifikasikan menjadi 9 kelompok dari segi morfologi sel, ukuran dan DNA. Beberapa kelompok tersebut meliputi *Candida tropicalis*, *Pichia anomala*, *Issatchenkia orientalis*, *Candida*

*glabrata*, *Saccharomyces yakushimaensis*, *Kodamea ohmeri*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kazachstania jainicus* dan *Torulaspota delbrueckii*.

### 2.2.3 Manfaat Khamir Laut

Khamir laut dapat menghasilkan beberapa komponen seperti inulinase. Enzim ini dapat diterima di kalangan masyarakat karena telah diterapkan dalam produksi bahan bakar etanol dan sirup yang mempunyai kandungan fruktosa tinggi. D-fruktosa yaitu merupakan pemanis yang 70% lebih tinggi dibandingkan sukrosa. Oleh sebab itu kandungan gula yang dihasilkan khamir laut ini cocok untuk substrat dalam formula fermentasi (Bharathi, *et al.*, 2011).

Khamir laut dapat melekat pada mukosa usus sehingga dapat berpotensi sebagai suplemen probiotik bagi kesehatan manusia maupun hewan. Toleransi khamir laut untuk hidup sangat luas, yaitu pada suhu 20-45°C dan pH 2-11. Selama pertumbuhannya, khamir laut juga menghasilkan senyawa seperti nukleotida dan asam amino (Febriani, 2001)

Pada protease murni dari khamir laut jenis strain N13d dapat digunakan sebagai hidrolisat protein spirulina yang didapatkan aktivitas antioksidan tertinggi dan protease dari khamir laut strain NH2-3 digunakan hidrolisat protein udang yang didapatkan aktivitas inhibitor-ACE tertinggi pada ikatan peptide (Ni *et al.*, 2009). Sedangkan menurut hasil penelitian dari Ramesh *et al.*, (1997) berdasarkan hasil dari pengujian daya cerna, tepung khamir laut mampu menggantikan kedelai karena sebagai organisme uniseluler, khamir laut digolongkan sebagai sumber protein mikroba yang mempunyai karakteristik daya cerna tinggi dan tidak mengandung racun.

Khamir laut juga menghasilkan berbagai senyawa bioaktif antara lain protein sel tunggal, asam amino, probiotik, vitamin C, glutation,  $\beta$ -carotenoid,

glukan, amylase, phytase, pembunuh toksin, dan protease (Zheniming *et al.*, 2006).

## 2.3 Molase

### 2.3.1 Karakteristik Molase

Molase adalah hasil samping yang berasal dari pembuatan gula tebu (*Saccharum officinarum L.*). Molases berupa cairan kental dan diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula. Molases tidak dapat lagi dibentuk menjadi sukrosa namun masih mengandung gula dengan kadar tinggi 50-60%, asam amino dan mineral. Molases kaya akan biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor, dan sulfur. Selain itu juga mengandung gula yang terdiri dari sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12%. Karbohidrat dalam tetes tebu telah siap digunakan untuk fermentasi tanpa perlakuan pendahuluan karena sudah berbentuk gula (Hidayat dan Suhartini, 2006 dalam Nurul *et al.*, 2013).

Molase masih mengandung kadar gula yang cukup untuk dapat menghasilkan etanol dengan proses fermentasi, biasanya pH molase berkisar antara 5,5 – 6,5 (Simanjuntak, 2009). Noviati (2007), menjelaskan bahwa molase adalah limbah dari pengolahan tebu yang berbentuk cairan kental berwarna coklat tua kehitaman, berbau manis atau harum khas. Molase termasuk medium pertumbuhan kompleks yang kaya akan sukrosa. Ditambahkan penjelasan Fardiaz (1992), bahwa gula yang umumnya dapat difermentasi oleh khamir adalah glukosa, galaktosa, maltose, surosa, laktosa, trehalosa, melibiosa dan raffinosa.

### 2.3.2 Komposisi Kimia Molase

Molase dari tebu dapat dibedakan menjadi 3 jenis. Molase kelas 1, kelas 2, dan "black strap". Molase kelas 1 didapatkan saat pertama kali jus tebu dikristalisasi. Saat dikristalisasi terdapat sisa jus yang tidak mengkristal dan

berwarna bening. Maka sisa jus ini langsung diambil sebagai molase kelas 1. Kemudian molase kelas 2 atau bisa disebut "Dark" diperoleh saat proses kristalisasi kedua. Warnanya agak kecoklatan sehingga sering disebut juga dengan istilah "Dark". Dan molase kelas terakhir, "Black Strap" diperoleh dari kristalisasi terakhir. Warna "Black Strap" ini memang mendekati hitam (coklat tua) sehingga tidak salah jika diberi nama "Black Strap" sesuai dengan warnanya. "Black Strap" ternyata memiliki kandungan zat yang berguna. Zat-zat tersebut antara lain kalsium, magnesium, potasium, dan besi. "Black Strap" memiliki kandungan kalori yang cukup tinggi, karena terdiri dari glukosa dan fruktosa (Simanjuntak, 2009). Tabel 2 berikut merupakan komposisi kimia larutan tetes tebu.

Tabel 2. Komposisi Kimia Larutan Tetes tebu

Konstituen	Komponen	Normal range (%)
Air		
Karbohidrat	Gum, kanji,	17 – 25
	Pentosan	2 – 5
Gula	Sukrosa	30 – 40
	Glukosa (dextrose)	4 – 9
	Fruktosa (lelevosa)	5 – 12
	Gula reduksi lain (invert)	1 – 4
	Gula reduksi total (invert)	10 – 25
Asam-asam	Asam akonitat	
	Asam sitrat, asam malat, oksalat, glikolat	0,5 – 1,5
Komponen nitrogen	Protein (N x 6,25)	2,5 – 4,5
	True protein	0,5 – 1,5
	Asam amino	0,3 – 0,5
	Tak teridentifikasi	1,5 – 3,0
Komponen non nitrogen		1,5 – 6,0
Abu	Karbonat	% abu
	Basa: K <sub>2</sub> O	30 – 50
	CaO	7 – 15
	MgO	2 – 14
	Ha <sub>2</sub> O	0,3 – 9
	R <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,4 – 2,7

	Asam: SO <sub>3</sub>	7 – 17
	Cl	12 – 20
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,5 – 2,5
	SiO <sub>2</sub> dan insol	1 – 7
Wax, sterols dan Phospatide		0,1 – 1,0
Vitamin		Bervariasi

Sumber: Sari, (2011)

Tabel 2 menunjukkan komposisi kimia larutan tetes tebu atau molase. Sitompul (2011) menyatakan bahwa molase merupakan hasil samping proses pembuatan gula. Molase mengandung sejumlah gula baik sukrosa maupun gula pereduksi. Kadar gula terlalu tinggi maka waktu fermentasi yang dibutuhkan lebih lama dengan sebagian gula tidak terkonversi, sehingga menyebabkan tidak ekonomis.

### 2.3.3 Pengaruh Perebusan terhadap Molase

Perebusan merupakan pemanasan suatu substrat yang berbentuk larutan dalam suatu wadah. Perebusan biasanya dilakukan untuk mendidihkan suatu larutan tersebut dengan tujuan untuk menghomogenkan atau untuk memasak suatu larutan tersebut. Apabila gula dilakukan perebusan maka akan membentuk warna kecoklatan. Selain itu dengan perebusan dapat menghilangkan atau membunuh mikroorganisme lain dalam suatu substansi yang di rebus tersebut. Bahan makanan mengandung molekul senyawa yang terikat satu sama lain dengan ikatan hidrogen. Proses perebusan atau pemanasan dengan media air dapat mengurangi daya tarik-menarik antar molekul. Sehingga dengan pemanasan dapat memutuskan ikatan hidrogen dan menjadikan molekul lebih sederhana (Winarno, 2004).

Faktor utama yang mempengaruhi mutu sukrosa adalah pemanasan. Penggunaan teknik konsentrasi hampa udara dalam proses penggilingan dan

pemurnian mengurangi pembentukan warna gelap oleh proses karamelisasi. 17 Invert sukrosa menyebabkan berkurangnya hasil dan kadar air yang tinggi pada produk akhir. Selain itu apabila gula tebu atau molasses dipanaskan akan memecah ikatan pada molekul kompleks di pecah menjadi bentuk molekul yang lebih sederhana sehingga memudahkan khamir laut untuk memanfaatkan molase sebagai nutrient untuk pertumbuhan khamir laut (Sukoso, 2012).

Faktor-faktor lain yang mempengaruhi mutu gula atau molasses yaitu termasuk efisiensi proses-proses penjernihan sari tebu (dengan kapur dan arang), kerja mikroorganisme pada tanaman, dan penggilingan (Buckle *et al.*, 1987)

## **2.4 Fermentasi**

### **2.4.1 Definisi dan Manfaat Fermentasi**

Kata fermentasi berasal dari Bahasa Latin “fervere” yang berarti merebus (to boil). Arti kata dari Bahasa Latin tersebut dapat dikaitkan dengan kondisi cairan bergelembung atau mendidih. Keadaan ini disebabkan adanya aktivitas ragi pada ekstraksi buah-buahan atau biji-bijian. Gelembung-gelembung karbondioksida dihasilkan dari katabolisme anaerobik terhadap kandungan gula. Fermentasi mempunyai arti yang berbeda bagi ahli biokimia dan mikrobiologi industri (Suprihatin, 2010).

Fermentasi mempunyai pengertian aplikasi metabolisme mikroba untuk mengubah bahan baku menjadi produk yang bernilai tinggi, seperti asam – asam organik, protein sel tunggal, antibiotika, dan biopolimer. Fermentasi merupakan proses yang relatif murah yang pada hakekatnya telah lama dilakukan oleh nenek moyang kita secara tradisional dengan produk – produknya yang sudah biasa dikonsumsi manusia sampai sekarang, seperti tape, tempe, oncom, dan lain – lain (Puspitasari dan Mohammad, 2009).

Fermentasi adalah proses yang berlangsung dalam keadaan anaerob, dimana dalam proses ini tidak melibatkan serangkaian transfer elektron yang dikatalisis oleh enzim yang terdapat dalam membran sel. Dalam hal ini elektron dan proton ditransfer langsung dari senyawa yang oksidasi menuju senyawa organik intermediet yang lain yang akhirnya membentuk produk fermentasi yang stabil. Oleh karena itu pada proses fermentasi terjadi akumulasi produk yang organisme tidak mampu mengoksidasi oleh lanjut (Priani, 2003).

#### 2.4.2 Teknologi Fermentasi

Astuti *et al.*, (2013), menjelaskan bahwa kualitas produk fermentasi bergantung kepada jenis mikroba, dosis dan lama fermentasi, serta media yang digunakan. Menurut Suprihatin (2010), dari mikroorganisme yang memfermentasi bahan pangan, yang paling penting adalah bakteri pembentuk asam laktat, asam asetat, dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol. Ditambahkan penjelasan Candra (2006), bahwa fermentasi terjadi karena adanya aktivitas mikroba pada substrat organik yang sesuai. Peranan substrat yang terpenting adalah sebagai sumber energi bagi metabolisme sel, sebagai bahan pembentuk sel dan produk metabolisme.

Substrat yang baik untuk industri adalah yang relatif stabil dan dapat disimpan selama beberapa bulan. Harga substrat merupakan faktor penting dalam industri tetapi dalam pemilihan substrat harus diperhitungkan jumlah karbon yang tersedia yang berbeda pada masing-masing substrat. Faktor lain yang harus diperhatikan dalam pemilihan substrat adalah kecepatan aerasi dan atau agitasi, dimana kecepatan ini harus dinaikkan jika digunakan substrat yang lebih tereduksi (Suprihatin, 2010).

### 2.4.3 Fermentasi dengan Starter Khamir Laut

Untuk membuat hidrolisat protein perlu adanya penambahan molase atau gula untuk proses fermentasinya. Menurut penelitian Indah dan Susanto (2013), bahwa hal tersebut dilakukan karena gula pasir merupakan karbon yang dibutuhkan mikroorganisme untuk melangsungkan kehidupan dan diharapkan dengan adanya penambahan gula pasir aktivitas mikroorganisme akan meningkat. Ditambahkan oleh Suprihatin (2010), karbohidrat merupakan sumber energi tradisional dalam industri fermentasi. Glukosa dan Sukrosa jarang digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon karena harganya mahal, sedangkan limbah industri gula yaitu molase merupakan sumber karbohidrat termurah. Disamping mengandung sejumlah gula, molase juga mengandung senyawa bernitrogen, vitamin dan elemen terbatas.

Khamir adalah sel eukariotik yang berbeda dengan kapang dalam beberapa hal yaitu : (1). Khamir tidak membentuk spora aseksual seperti pada kapang. (2). Selama siklus pertumbuhan vegetatif, khamir umumnya terdapat dalam bentuk sel tunggal. Khamir dapat tumbuh dengan cara membentuk tunas (budding) atau membelah (fission), atau campuran dari pertunasan dan pembelahan (bud-fission). Anak sel yang terbentuk kadang-kadang tidak melepaskan diri dari induknya sehingga membentuk pseudo miselium (Suprihatin, 2010).

Khamir banyak digunakan dalam proses industri pangan seperti produk fermentasi karena khamir dianggap cukup aman untuk komposisi manusia. Khamir laut ini akan menghasilkan enzim protease yang berfungsi untuk menhidrolisis substrat yang akan diolah pada fermentasi. Khamir mempunyai protein cukup tinggi yaitu kira-kira ( $N \times 6.25$ ) sebesar 40 – 48% protein kasar. Disamping itu khamir juga mampu menghasilkan enzim protease yang dapat digunakan dalam

mendegradasi protein pada substras saat proses fermentasi berlangsung (Winarno, 2004).

Pada awal proses fermentasi, khamir membutuhkan oksigen sebagai media pertumbuhannya sehingga fermentasi berlangsung secara aerob. Pada kondisi aerob pada fermentasi, maka etanol yang terbentuk lebih sedikit karena terjadi respirasi yang mengakibatkan terjadinya konversi gula menjadi sel, CO<sub>2</sub>, dan Air. Suhu optimum yang digunakan dalam pertumbuhan khamir yaitu 25–30°C dan maksimum pada 35–47°C. Sedangkan pH optimumnya antara 4–5. Perubahan pH mempengaruhi pembentukan hasil samping fermentasi. Nilai pH pertumbuhan berhubungan erat dengan pembentukan asam piruvat. Pada pH tinggi maka fase lag akan lebih singkat dan aktivitas fermentasi akan meningkat pula (Rahim, 2009).

## **2.5 Hidrolisat Protein**

### **2.5.1 Definisi dan Manfaat Hidrolisat Protein**

Hidrolisat protein pertama kali diperkenalkan di Cina dan Jepang sekitar tahun 1900 dan merupakan hasil sampingan pembuatan monosodium Glutamat (MSG). Setelah proses kristalisasi MSG selesai, tersisa asam amino yang telah dinetralisir dan dikeringkan. Hidrolisat protein dapat berbentuk cair, pasta atau tepung yang bersifat higroskopis. Hidrolisat protein yang berbentuk cair mengandung 30% padatan, sedangkan bentuk pasta mengandung 65% padatan (Hidayat, 2005).

Hidrolisat protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik. Hasilnya berupa asam amino dan peptida. Hidrolisat protein memiliki beberapa kegunaan pada industri pangan maupun farmasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan digunakan sebagai bahan makanan tambahan dalam sup, kuah daging, penyedap

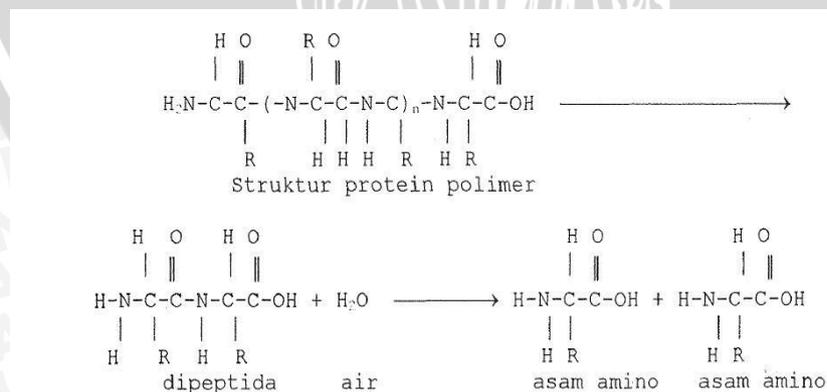
sosis, biskuit, dan crackers. Selain itu hidrolisat protein juga dapat disertakan untuk diet pada penderita gangguan pencernaan (Purbasari, 2008).

Hidrolisat protein ikan yaitu suatu produk cairan yang dibuat dari ikan rucah dengan penambahan bahan penghidrolisis berupa asam, basa atau enzim dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein. Hidrolisat protein ikan ini sangat kaya akan asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh (Indratwari, 2010).

### 2.5.2 Teknologi Hidrolisat Protein

Langkah awal terpenting dalam upaya memperoleh hidrolisat protein ikan lemuru adalah ekstraksi protein kasar ikan lemuru dengan menghancurkan jaringan dagingnya (Handayani *et al.*, 2007).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan hidrolisis dan kekhasan hidrolisat yang dihasilkan adalah suhu, waktu, pH, konsentrasi, dan perbandingan enzim dengan protein. Sedangkan warna, bau, rasa, dan tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, kondisi serta bahan penghidrolisis yang digunakan (Purbasari, 2008). Dalam proses hidrolisis protein akan mengalami pemecahan secara bertahap menjadi suatu molekul peptide yang sederhana dan asam amino yang dapat dilihat pada gambar 2 berikut



Gambar 2. Reaksi Hidrolisis protein (Irma *et al.*, 1997).

Gambar 2 menjelaskan bahwa protein yang dipecah oleh enzim membentuk ikatan-ikatan dipeptida dan setiap ikatan dipeptide dibebaskan satu molekul air. Satu molekul protein terdiri dari rantai polipeptida tunggal atau sejumlah rantai polipeptida yang bergabung dengan ikatan-ikatan silang. Lalu ikatan-ikatan peptida terputus dan membebaskan sejumlah komponen asam-asam- amino (Irma *et al.*,1997).

Hasil hidrolisis antara lain adalah  $\alpha$ -amino nitrogen bebas yang umumnya digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis. Perbandingan antara  $\alpha$ -amino nitrogen bebas dengan total nitrogen digunakan untuk menentukan mutu hidrolisat protein. Angka perbandingan yang tinggi menunjukkan mutu hidrolisat protein yang tinggi pula (Yokotsuka, 1960 dalam Purbasari, 2008).

### 2.5.3 Hidrolisat Protein dengan Biokatalisator Khamir Laut

Konsentrasi khamir laut yang paling baik untuk ditambahkan dalam pembuatan hidrolisat protein yang berfungsi sebagai starter serta digunakan untuk melihat profil asam amino dari perlakuan terbaik menurut Indratwari (2010), yaitu pada 30 mL untuk 100 g bahan ikan (giling) pada suhu inkubasi selama 30°C selama 6 hari dengan jumlah N-amino 0,63%, N-totel 2,686% serta non protein nitrogen 0,716%.

Menurut Fathony (2014), pada penelitiannya tentang pengaruh volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dengan starter khamir laut terhadap kualitas hidrolisat protein kepala udang vaname hasil terbaik adalah pada lama fermentasi 9 hari dan volume molase rebus 300 mL.

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang dipakai untuk penelitian ini meliputi bahan baku, bahan untuk kultur khamir laut, bahan dalam pembuatan hidrolisat protein, bahan untuk analisis kimia. Bahan baku dalam penelitian ini menggunakan ikan Kresek (*Thryssa mystax*) yang di dapatkan dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) di pantai Kenjeran, Surabaya. Bahan yang digunakan untuk mengkultur khamir laut yaitu air laut, stok khamir laut, pupuk daun merk Growmore, aquadest, gula pasir dan plastik warp. Berikutnya bahan dalam penghitungan fase log khamir laut meliputi alkohol dan kertas tissue. Selanjutnya bahan yang di butuhkan dalam pembuatan hidrolisat protein yaitu daging ikan Kresek yang di haluskan, molase, kultur khamir laut, kapas, plastik, dan plastisin atau malam.

Bahan yang digunakan untuk analisis kimia Total Asam Amino antara lain; kertas saring whatman, asam borat, akuabides, larutan o-phthaldehyde (OPA), methanol dan merkaptoetanol. Bahan berikutnya yaitu bahan untuk pengujian proksimat meliputi kertas label, plastik, kertas saring, silica gel, tablet kjedhal, n-heksan, metil orange, NaOH, asam borax, dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Bahan untuk pengujian pH, *foaming* dan emulsi yaitu kertas label, plastik, *aquadest* dan minyak jagung.

### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang dipakai dalam penelitian ini meliputi peralatan dalam kultur khamir laut; peralatan untuk pembuatan hidrolisat protein; peralatan untuk pengujian proksimat, emulsi, *foaming*, pH, dan Total Asam Amino. Peralatan yang digunakan untuk pengkulturan khamir laut antara lain kompor gas, botol kaca atau botol bensin, sendok stainless, gelas ukur 100 mL, beaker glass 1000 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, pipet volume, bola hisap, timbangan digital, selang, aerator, gunting, panci perebusan, botol spray, Bunsen, crushable tang. Peralatan untuk menghitung fase log khamir laut meliputi mikroskop elektron, handtally counter, pipet tetes, hemocytometer, sprayer, object glass, dan cover glass. Peralatan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein antara lain timbangan digital, beaker glas 1000 mL, chopper, pipet volume, botol plastik aqua 600 mL, selang, aerator, spatula, cawan petri, vacuum drying, dan oven.

Peralatan yang digunakan dalam analisis kimia antara lain pengujian proksimat diantaranya oven, botol timbang, soxhelt extractor, *muffle*, kompor gas, timbangan digital, panci perebusan, cawan petri, penjapit, cawan porselin, kompor listrik, labu soxhelt, dan *sentrifuge*. Kemudian peralatan yang dibutuhkan pada analisis emulsi dan *foaming* yaitu *cuvet*, *vortex mixer*, beaker glass 100 ml, sendok stainless, spatula, pipet tetes, dan kain serbet. Untuk pH meter dibutuhkan dalam analisis pH. selanjutnya peralatan yang digunakan Uji Total Asam Amino antara alin; *waterbath*, *stirrer*, pipet volume, bola hisap, mikro pipet, *blender*, *beaker glass*, timbangan digital, sendok, oven, sentrifuge suhu ruang, *falcon*, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), *vortex*. Peralatan yang digunakan dalam pengujian asam lemak diantaranya; timbangan digital, *beaker glass*, sendok, kolom silica GC, dan *hot plate*.

### 3.2 Metode Penelitian

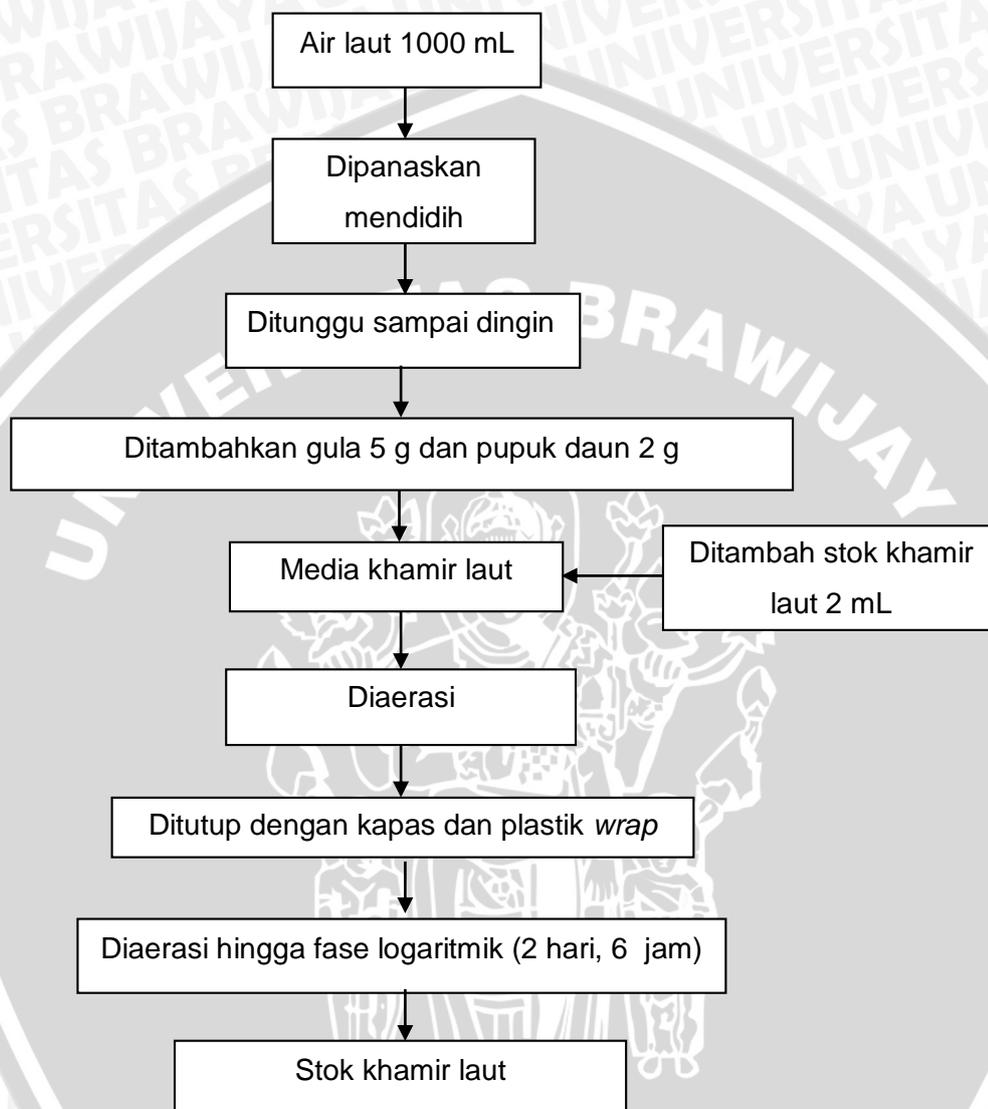
Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode deskriptif eksplorasi. Metode deskriptif eksplorasi dilakukan dengan cara mendeskripsikan fakta-fakta yang kemudian disusul dengan analisis. Metode ini dipilih untuk menggambarkan keadaan objek yang diteliti dan menemukan hal-hal yang menjadi bagian penting dalam penelitian (objek). Dengan demikian, metode deskriptif eksplorasi akan menghasilkan bentuk kajian yang mendalam tentang objek yang diteliti (Ratna, 2012). Ditambahkan Nazir (2003) bahwa eksplorasi adalah observasi yang dilakukan dengan kondisi yang dibuat dan diatur oleh peneliti. Penelitian ini dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan adanya penggunaan kontrol. Dalam metode ini seringkali ditemui kritik karena interpretasi yang salah asumsi maupun desain percobaan yang kurang sempurna.

Tujuan dari penelitian deskriptif eksplorasi bukan untuk mengumpulkan data dan deskripsinya melainkan untuk menemukan faktor-faktor yang menjadi penyebab dan akibat. Eksplorasi yang dilakukan di dalam laboratorium lebih mudah untuk dilakukan karena adanya fasilitas dan situasi khusus yang terpisah dari gangguan luar. Hal ini yang memungkinkan adanya manipulasi variabel sesuai dengan situasi yang dikehendaki (Surakhmad, 2004). Nasution (2011) menambahkan bahwa desain penelitian eksplorasi dilakukan untuk mengetahui pengaruh variabel tertentu terhadap sesuatu dalam kondisi yang terkontrol. Kesulitan yang ditemui dalam prosedur penelitian ini yaitu kesulitan dalam menyusun kelompok kontrol yang sama atau kelompok yang dikendalikan.

Pondasi yang dibangun pada penelitian ini merupakan riset-riset yang telah terdahulu, studi kasus, literatur yang disebutkan serta data sekunder yang lainnya (Williams, 2007).

### 3.3 Skema Kerja Penelitian

#### 3.3.1 Skema Kerja Kultur Khamir Laut



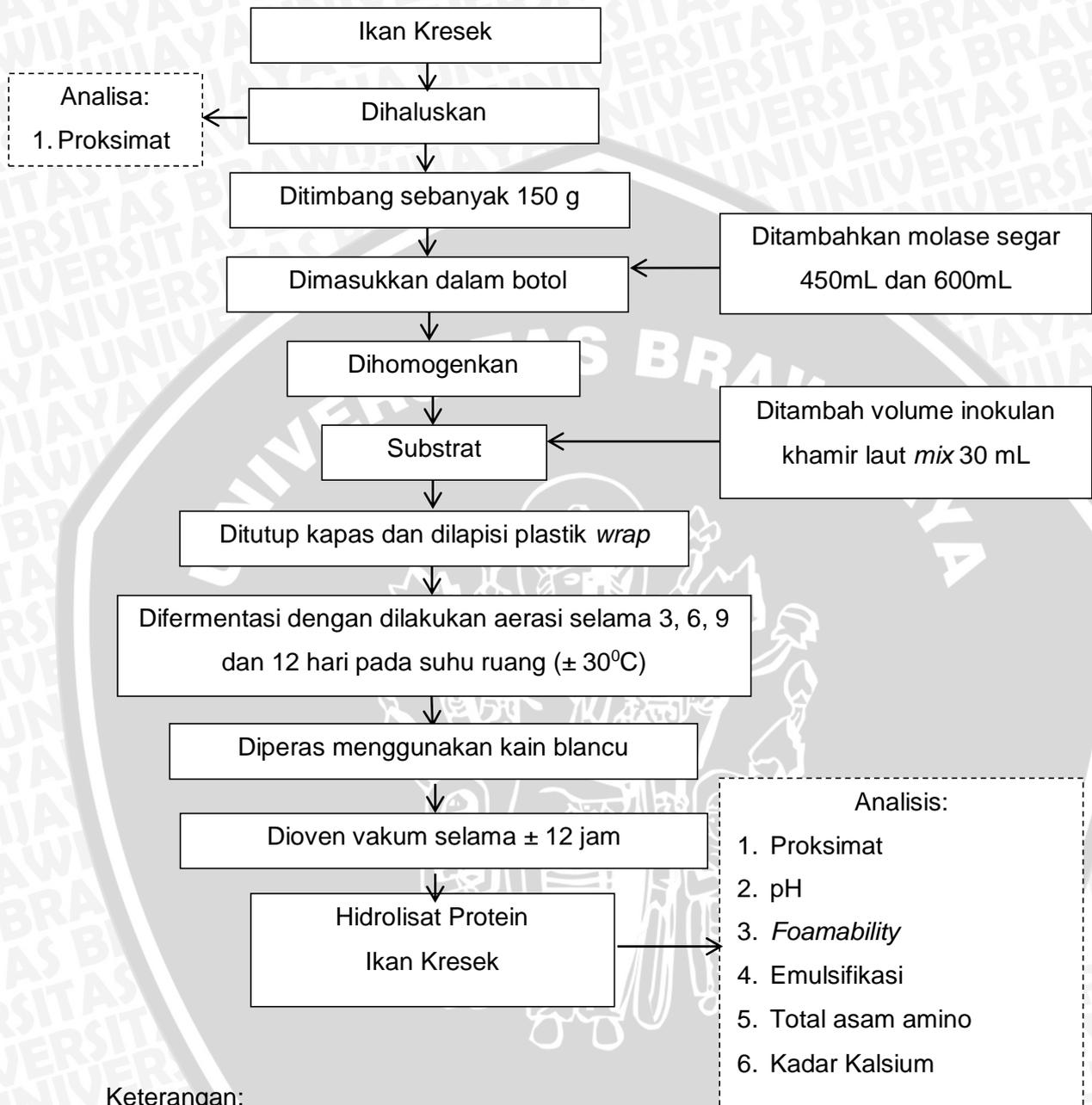
Keterangan:

Diadopsi dan dimodifikasi dari penelitian:

- Jannah (2012)
- Fathony (2014)

Gambar 3. Skema Kerja Kultur Khamir Laut

### 3.3.2 Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Kresek



Keterangan:

Diadopsi dan dimodifikasi dari penelitian:

1. Bueno *et al.*, (2008)
2. Jannah (2012)
3. Fathony (2014)

Gambar 4. Skema Kerja Pembuatan Hidrolisat Protein ikan Kresek

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Prosedur Penentuan Fase Log Khamir Laut

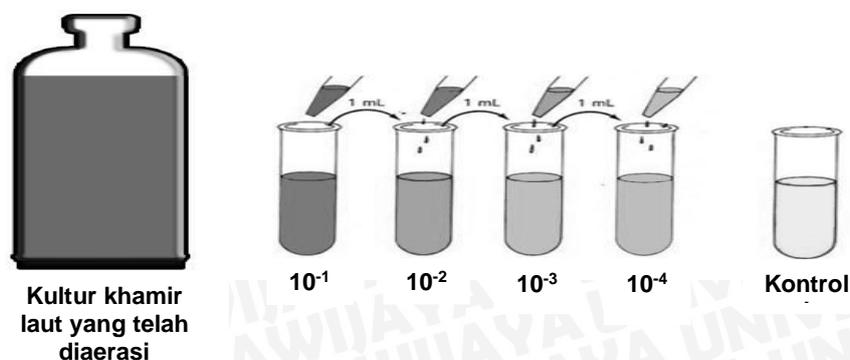
Prinsip dari penentuan fase log yaitu dengan cara perhitungan jumlah sel khamir laut menggunakan hemositometer pada mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengamati setiap 12 jam sekali kultur khamir laut untuk diukur tingkat kepadatan atau jumlah sel khamir laut dengan menggunakan hemositometer yang dilihat melalui mikroskop. Kultur khamir laut diamati mulai dari hari jam ke-0 sampai jam ke-96 (Fathony, 2014).

Dalam penelitian penentuan fase log untuk mengetahui jumlah sel khamir laut menggunakan hemositometer dan diamati menggunakan mikroskop, pada pengamatan kali ini peneliti mengamati tiap 6 jam sekali dikarenakan pertumbuhan khamir laut lebih cepat sehingga apabila diamati tiap 12 jam menurut penelitian sebelumnya dari Fathony (2014), fase lognya akan terlewat dan pertumbuhan khamir laut semakin sedikit.

Cara kerja yang pertama yang dilakukan dalam penentuan fase logaritmik yaitu mengkultur khamir laut. Menurut Jannah (2012), prinsip kultur adalah perbanyak khamir laut yang dapat memproduksi protease, pada proses pertumbuhannya menggunakan media air laut dengan memanfaatkan gula sebagai sumber nutrisi, pupuk sebagai sumber nitrogen dan aerasi yang cukup sebagai suplai oksigen dalam pertumbuhannya. Khamir mampu mentransportasikan dan memanfaatkan senyawa nitrogen organik dan anorganik. Selama pertumbuhannya khamir laut menghasilkan senyawa-senyawa seperti nukleotida, asam amino, enzim dan faktor pertumbuhan yang belum diidentifikasi yang mampu menstimulasi pertumbuhan dan enzim. Menurut Bekatorou *et al.*, (2006) dalam perkembangbiakan khamir, suplai udara adalah kebutuhan untuk produksi biomassa yang optimal. Prosedur dalam mengkultur khamir laut sebagai berikut:

- Bahan berupa air laut, pupuk, dan biakan khamir laut disiapkan.
- Air laut sebanyak 1000 mL disterilkan dengan pemanasan sampai mendidih ( $\pm 1$  jam) kemudian didinginkan pada suhu kamar.
- Air laut steril yang sudah dingin dimasukkan ke dalam botol gelas kemudian ditambahkan gula pasir 5 g sebagai sumber nutrisi dan pupuk daun 2 g sebagai sumber nitrogen lalu dihomogenkan sehingga diperoleh media khamir laut. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun dapat dilihat pada Lampiran 1.
- Media khamir laut ditambah starter khamir laut sebanyak 10 mL lalu dihomogenkan.
- Botol yang digunakan ditutup kapas dan plastik *warp* untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan selanjutnya kultur tersebut diberi aerasi.
- Aerasi dilakukan selama 2 hari 6 jam untuk dilakukan pengamatan tingkat kepadatan sel khamir laut menggunakan hemositometer setiap 6 jam.

Prosedur pengamatan tingkat kepadatan sel pada kultur khamir laut pada hemositometer yaitu diamati kultur khamir pada jam ke-0 sampai jam ke-54. Langkah pertama yang dilakukan sebelum dilakukan perhitungan hemositometri pada mikroskop yaitu dilakukan pengenceran pada kultur khamir laut tersebut. Pengenceran dilakukan dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Proses pengenceran dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengenceran Kultur Khamir Laut

Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Persiapan media untuk pengenceran kultur khamir laut. Komposisi media pengenceran yaitu 0,125 g gula pasir dan 0,05 g pupuk daun. Perhitungan penentuan komposisi gula pasir dan pupuk daun dalam pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 2. Selanjutnya ditambahkan air laut yang sudah disterilisasi sebanyak 50 mL lalu dihomogenkan.
- Media khamir laut diambil sebanyak 9 mL dan dibuat pada masing-masing empat tabung reaksi untuk diberi perlakuan tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ .
- Kemudian untuk tabung reaksi  $10^{-1}$  yang telah berisi media diberi kultur khamir laut sebanyak 1 mL yang telah diareasi, selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan *vortex mixer*.
- Dari tabung reaksi  $10^{-1}$  yang telah dihomogenkan diambil 1 mL untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi  $10^{-2}$  kemudian dari tabung reaksi tersebut dihomogenkan begitu seterusnya sampai  $10^{-4}$ .
- Dari hasil pengenceran  $10^{-4}$  diuji kepadatan sel khamirnya menggunakan hemositometer pada mikroskop.

Pengamatan kepadatan khamir laut dilakukan setiap 6 jam selama 2 hari 6 jam dengan menggunakan hemositometer pada mikroskop yaitu dengan mengambil hasil pengenceran  $10^{-4}$  dengan menggunakan mikropipet sebanyak 50  $\mu$ L atau 0,05 mL. lalu diteteskan di papan hemosito dan ditutup dengan *cover glass* selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

### 3.4.2 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Kresek

Prinsip dari pembuatan hidrolisat yaitu melakukan suatu pemecahan substrat dengan bantuan air atau H<sub>2</sub>O dan adanya penambahan enzim untuk memecah substrat tersebut menjadi komponen yang lebih sederhana. Prosedur yang dilakukan dalam penelitian utama ini yaitu langkah pertama dengan mempersiapkan bahan baku ikan Kresek *Thryssa mystax*. Dalam penelitian ini pertama menggunakan bahan baku ikan Kresek segar. Kemudian dihaluskan menggunakan *chopper*. Tujuan dihaluskan yaitu supaya bahan baku lebih mudah bercampur dengan komponen bahan-bahan yang lain. Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap bahan baku. Bahan baku ini dilakukan uji makro yaitu dengan cara analisa proksimat. Pada dasarnya komposisi gizi bahan pangan terdiri dari empat komponen utama yaitu air, protein, karbohidrat dan lemak. Jumlah masing-masing komponen tersebut berbeda-beda pada bahan pangan tergantung dari sifat alamiah bahan misalnya, kekerasan, citarasa dan warna (Winarno, 2007).

Langkah selanjutnya yaitu dilakukan penambahan molase rebus dengan berbagai konsentrasi yang berbeda yaitu 450% dan 600%. Tujuan diberikan perlakuan yang berbeda pada molase rebus yaitu untuk mengetahui tingkat efektifitas molase rebus tersebut dalam proses pembuatan hidrolisat protein ikan Kresek *Thryssa mystax*. Selanjutnya ditambahkan inokulan khamir laut sebanyak 30 mL. Pada tahap ini digunakan inokulan khamir laut dari hasil penentuan fase logaritmik khamir laut karena pada fase tersebut pertumbuhan khamir laut menunjukkan pertumbuhan tertinggi. Disamping itu tujuan digunakan khamir laut yaitu sebagai *starter* dalam proses hidrolisis pada sampel ikan Kresek *Thryssa mystax*. Setelah itu untuk membuat hidrolisat protein dilakukan proses fermentasi, dimana dilakukan pengamatan pada hari ke-3, 6, 9 dan 12 hari. Tujuan dibuat lama fermentasi yang berbeda yaitu untuk mengetahui kemampuan khamir laut dalam proses fermentasi pada pembuatan hidrolisat protein ikan Kresek *Thryssa mystax*.

Berikutnya diperas untuk memisahkan antara cairan dan endapan pada sampel hidrolisat protein tersebut. Selanjutnya dilakukan analisis terhadap hasil fermentasi ke-3, 6, 9 dan 12 hari. Kemudian cairan hidrolisat protein dioven vakum selama  $\pm$  12 jam. Selanjutnya analisis yang dilakukan uji kimia diantaranya uji prosimat. Selanjutnya dilihat hasil kadar protein terbaik dari tiap perlakuan fermentasi. Kemudian dari hasil kadar protein tertinggi dilakukan uji total asam amino. Selain itu juga dilakukan pH, emulsifikasi dan *foambility*.

#### 4. Prosedur Uji Proksimat

##### a) Kadar Protein (Andarwulan *et al.*, 2011)

Metode yang digunakan dalam analisis protein yaitu menggunakan metode Kjeldahl. Metode ini sangat umum digunakan dalam menentukan kadar protein dalam bahan pangan. Prinsip dalam menggunakan metode ini yaitu pengujian dilakukan dengan beberapa tahapan antara lain tahap penghancuran (destruksi), tahap netralisasi dan distilasi, tahap titrasi.

Pada tahap destruksi, sampel sebanyak 0,1 – 0,5 g dimasukkan kedalam labu Kjeldahl lalu ditambahkan 3-10 mL HCl 0,02 N dan dilakukan pemanasan pada suhu sekitar 370°C. Tahap ini perlu dilakukan karena bertujuan untuk membebaskan nitrogen dari sampel. Untuk mempercepat proses penghancuran biasanya dilakukan penambahan merkuri oksida (HgO) atau dengan potassium sulfat. Pada proses ini dilakukan dalam labu Kjeldahl. Setelah semua bahan masuk pada labu Kjeldahl selanjutnya dididihkan diatas pemanas listrik selama 1 – 1,5 jam sampai cairan menjadi jernih. Pembentukan cairan jernih menunjukkan bahwa semua komponen organik yang ada dalam sampel sudah dihancurkan dan nitrogen sudah terbebas. Setelah selesai, kemudian didinginkan lalu ditambahkan sedikit demi sedikit air.

Proses destruksi selesai dilanjutkan dengan tahap netralisasi dan destilasi. Setelah larutan dalam lau dingin, larutan tersebut dituangkan ke dalam alat destilasi. Labu Kjeldahl dibilas dengan air 5-6 kali hingga tidak ada hasil destruksi yang tertinggal. Pada alat destilasi, dibagian bawah kondensor dipasang erlenmeyer yang berisi 5 mL larutan  $H_3BO_3$  dan 2 tetes indikator. Dilakukan penambahan air untuk memasitikan ujung dari alat destilator terendam larutan asam borat. Lalu dilakukan penambahan alkali (NaOH) pekat sebanyak 8-10 mL untuk menetralkan asam sulfat. Dengan adanya larutan NaOH pekat ini, maka ammonium sulfat akan dipecah menjadi gas amoniak. Dengan melalui proses destilasi, gas amoniak ini kemudian akan menguap dan ditangkap oleh asam borat ( $H_3BO_3$ ) membentuk  $NH_4H_2BO_3$ . Hasil destilasi (destilat) ditampung hingga kira-kira 15 mL destilat dalam Erlenmeyer.

Selanjutnya destilat yang tertampung didalam Erlenmeyer kemudian ditrasi diatas *magnetic stirrer* dengan menggunakan larutan HCl 0,02 N sampai terjadi perubahan warna menjadi abu-abu. Penetapan yang sama juga dilakukan untuk blanko yang akan digunakan sebagai faktor koreksi dalam perhitungan Persen nitrogen pada contoh dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

%N =

$$\frac{(\text{mL HCl contoh} - \text{blanko}) \times \text{Normalitas} \times 14,007 \times 100}{\text{mg contoh}}$$

Kadar Protein dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Protein} = \%N \times F$$

dimana F = Faktor konversi =  $100/(\%N \text{ dalam protein contoh})$

**b) Kadar Lemak (AOAC 1995 dalam Purbasari 2008)**

Prinsip analisis kadar lemak adalah ekstraksi, yaitu pemisahan lemak dari contoh dengan cara mensirkulasikan pelarut lemak ke dalam contoh, sehingga senyawa senyawa lain tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Metode yang digunakan dalam analisis lemak adalah metode ekstraksi soxhlet. Pertama kali labu lemak yang akan digunakan dikeringkan di dalam oven, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya. Contoh sebanyak 5 g dibungkus dengan kertas saring, setelah itu kertas saring yang berisi contoh tersebut dimasukkan dalam alat ekstraksi soxhlet. Alat kondensor diletakkan di atasnya dan labu lemak diletakkan di bawahnya. Pelarut heksana dimasukkan ke dalam labu lemak secukupnya. Selanjutnya dilakukan refluks selama minimal 5 jam sampai pelarut yang turun kembali ke dalam labu lemak berwarna jernih. Pelarut yang ada dalam labu lemak didestilasi, sedangkan pelarut ditampung kembali. Labu lemak yang berisi lemak hasil ekstraksi kemudian dipanaskan di dalam oven pada suhu 105 °C hingga mencapai berat tetap dan setelah itu didinginkan dalam desikator. Selanjutnya labu beserta lemak didalamnya ditimbang dan berat lemak dapat diketahui. Kadar lemak ditentukan sebagai berikut :

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{\text{berat lemak (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

**c) Kadar Air (Andarwulan *et al.*, 2011)**

Metode pengujian kadar air yang digunakan yaitu metode pengeringan atau menggunakan oven. Prinsip analisis kadar air menggunakan metode oven yaitu mengeringkan sampel dalam oven pada suhu 100°C - 105°C sampai diperoleh berat konstan. Metode ini dilakukan dengan cara mengeluarkan air dari bahan dengan bantuan panas. Prosedur kerja dalam pengujian kadar air sebagai berikut:

- Cawan kosong beserta tutupnya dikeringkan dalam oven selama 15 menit dengan suhu 105°C.
- Cawan kosong beserta tutupnya dimasukkan ke dalam desikator bertujuan untuk menyerap panas dan uap air selama 10 menit.
- Cawan kosong beserta tutupnya ditimbang dengan timbangan digital lalu dicatat sebagai berat A.
- Sampel ditimbang dengan berat 5 g dan dicatat sebagai berat B.
- Sampel dimasukkan ke dalam cawan yang telah dioven sebelumnya.
- Cawan yang berisi sampel dioven suhu 105°C selama 6 jam.
- Cawan yang berisi sampel dipindahkan ke dalam desikator dan ditunggu selama 10 menit.
- Cawan yang berisi sampel ditimbang dan dicatat sebagai berat C.
- Dihitung kadar air sesuai dengan rumus % kadar air sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air (basis kering)} = \frac{b - (c - a)}{c - a}$$

dimana : a = berat cawan kering yang sudah konstan

b = berat sampel awal

c = berat cawan dan sampel kering yang sudah konstan

#### d) Kadar Abu (Andarwulan *et al.*, 2011)

Analisis kadar abu dilakukan dengan metode pengabuan kering yaitu menggunakan suhu tinggi pada tanur pengabuan (*furnace*). Prinsip dari metode ini yaitu abu dalam bahan ditetapkan dengan menimbang residu hasil pembakaran komponen bahan organik pada suhu 550°C. Pembakaran dilakukan tanpa adanya nyala api sampai terbentuk abu berwarna putih keabuan dan mencapai berat konstan.

Prosedur kerja analisis kadar abu menggunakan metode pengabuan langsung yaitu langkah awal cawan pengabuan yang sudah disiapkan dibakar

dahulu dalam tanur dengan suhu 105<sup>o</sup>C. Kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Kemudian sampel dimasukkan kedalam cawan lalu ditimbang sebanyak 5 – 10 g. Cawan yang berisi sampel di panaskan dalam pembakar *burner* dengan api sedang untuk menguapkan bahan organik yang ada sampai sampel tidak berasap lagi dan berwarna hitam. Kemudian sampel dipindahkan kedalam dan dipanaskan dalam suhu 300<sup>o</sup>C selanjutnya, suhu dinaikkan hingga mencapai 550<sup>o</sup>C dengan waktu 5-7 jam. Setelah itu cawan diambil dengan hati –hati. Ditimbang dan dihitung menggunakan rumus untuk menentukan % kadar abu. Rumus perhitungan % kadar abu sebagai berikut:

$$\% \text{ abu} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

Keterangan:  $W_2$  = Berat cawan dan sampel setelah pengabuan (g)  
 $W_0$  = Berat cawan kosong (g)  
 $W_1$  = Berat cawan dan sampel sebelum pengabuan (g)

#### e) Karbohidrat (Andarwulan *et al.*, 2011)

Secara umum uji karbohidrat yaitu menggunakan karbohidrat *by difference* yang artinya, kandungan tersebut diperoleh dari hasil pengurangan angka 100 dengan presentasi komponen lain (air, abu, lemak dan protein). Bila hasil pengurangan ini dikurangi dengan presentasi serat, maka akan diperoleh kadar karbohidrat yang dapat dicerna oleh tubuh.

#### 3.5.4 Prosedur Uji pH (SNI 06-6989.11-2004)

Nilai pH menunjukkan derajat keasaman suatu bahan, dimana pH merupakan ion hidrogen yang terdapat di dalam larutan. Prinsip dari pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hidrogen secara potensiometri atau elektrometri dengan menggunakan pH meter. pH adalah faktor kimia yang sangat mempengaruhi keawetan makanan atau bahan makanan, dimana mikroba-

mikroba hanya dapat hidup dan berkembang biak dalam lingkungan dengan kondisi pH tertentu. Prosedur dalam pengukuran pH antara lain:

- Elektroda dikeringkan dengan kertas tisu dan selanjutnya dibilas dengan air suling
- Bilas elektroda dengan contoh uji
- Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap
- Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter

### 3.5.5 Prosedur Uji Emulsifikasi (Rieuwpassa *et al.*, 2013).

Prinsip dari pengujian emulsifikasi yaitu membuat sistem heterogen yang tersusun atas dua fase cairan yang tidak tercampur tetapi cairan yang satu terdispersi dengan baik dalam cairan yang lain. Daya kerja emulsifier terutama disebabkan oleh bentuk molekulnya yang dapat terikat baik pada minyak maupun air. Ada dua tipe emulsi yaitu minyak dalam air (o.w) dan emulsi air dalam minyak (w/o).

Prosedur pengujian emulsifikasi yaitu:

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

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

### 3.5.6 Prosedur Uji Daya Buih (Rieuwpassa *et al.*, 2013).

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

Prosedur pengujian daya buih antara lain:

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

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

### 3.5.7 Prosedur Analisis Kadar Kalsium (AOAC, 1984).

Metode yang digunakan dalam analisis kadar kalsium ini yaitu menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS). Metode AAS berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu tergantung pada sifat unsurnya.

Prosedur kerja analisis kadar kalsium sebagai berikut:

- Menyiapkan larutan standart
  - Memperhitungkan konsentrasi larutan standart masuk dalam range linier

- Pembuatan larutan standart dapat dilakukan dengan cara pengenceran larutan induk dengan menggunakan labu takar pada volume tertentu
  - Deretan larutan standart minimal 3 varian, biasanya dibuat 5 varian
- Preparasi sampel
- Sampel dapat berupa padat, cair, dan gas
  - Agar dapat dianalisis dengan AAS, sampel harus berupa larutan jernih dan homogen, boleh berupa larutan berwarna
  - Sampel yang belum jernih harus diencerkan dengan pelarut tertentu atau diabukan kemudian dilarutkan
  - Volume minimal sampel 0,5 mL
  - Larutan dengan pelarut organik dapat dianalisis secara langsung, jika viskositasnya tidak jauh beda dengan air
- Memilih garis resonansi
- Optimasi kondisi alat
- Membaca absorbansi larutan standart
- Membaca absorbansi larutan sampel
- Menginterpolasi absorbansi larutan sampel pada kurva linier

### 3.5.8 Prosedur Uji Total Asam Amino (AOAC, 1984).

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

Pada system HPLC, fase diam berupa serbuk berukuran  $\mu\text{m}$ , ditempatkan pada kolom secara mampat dengan diameter 0,5 cm dengan panjang 5 – 50 cm.

Fase gerak berupa cairan murni atau campuran ataupun larutan, untuk menggerakkan fase gerak dengan tekanan tinggi digunakan pompa.

Tahapan Pengujian sampel menggunakan HPLC sebagai berikut:

a. Preparasi AccQ Fluor TM Reagent kit

1. Panaskan pemanas sampai suhu 55 °C
2. Vial 2A (AccQ Fluor reagen powder) dipanaskan sebentar agar powder dibawah vial
3. Masukkan 1 mL vial 2B (AccQ fluor reagent diluent) kedalam vial 2A
4. Tutup vial dan kocok selama 10 detik
5. Panaskan kembali vial 2A kocok sampai powder tercampur rata

b. Preparasi Standart

Pengenceran standart

1. Standart asam amino H Pierce. Pengenceran dengan air samapai 10 mL
2. Ambil 10 µL stok standart pierce. Pengenceran dengan air samapai 10 mL
3.  $FP=10.000 \text{ mL} / 10\text{mL} = 1000x$ . Sehingga konsentrasi menjadi 2,5 n mol/ mL

c. Preparasi solvent

Solven A

1. 19 g sodium acetate
2. 2,27 g TEA (Tetra Etil Aceton)
3. 40% phosphoric acid

4. 5 mL CAN Campur 19 g sodium asetat dan 2,27 g TEA dalam 1L air.

Tambahkan 40% phosphoric acid ( $\pm 6$  mL / lebih) sampai pH 5,1.

Tambahkan 5 mL CAN

Solven B : CAN (Acetonitrile)

Solvent C : Air

d. Preparasi sampel HPLC atau hidrolisis

1. Timbang 100 mg sampel.
2. Masukkan 5 mL 6N HCL
3. Keringkan sampel dengan nitrogen / argon
4. Tutup tabung dan masukkan oven pada suhu  $112^{\circ}\text{C}$  selama 22 jam
5. Saring sampel menggunakan 0,45 mikrometer kertas saring
6. Ambil sampel yang sudah disaring sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dan diencerkan dengan mQ water sebanyak 5 mL

e. Preparasi sampel HPLC (Derivatization)

1. Ambil sampel yang sudah diencerkan sebanyak 50 mikro lit
2. Campurkan dengan 350 mikroliter AccQ derivatiozation buffer dan 100 mikrolit AccQ fluor reagen to derivatize
3. Dikocok sebentar dan masukan dalam air yang sudah dipanaskan selama 10 menit dengan suhu  $55^{\circ}\text{C}$
4. Sampel siap diinjeksikan

f. Analisa Asam Amino

1. Nyalakan UPS
2. Nyalakan tombol di tiap-tiap masing bagian (a, b, c, dan d)
3. Nyalakan adaptor untuk solven menager

4. Nyalakan komputer

5. Atur kondisi kromatografi meliputi:

- Temperatur 37°C
- Laju alir 1 mL /menit
- Detector fluorescence

Eksitasi (ex) : 250 nm

Emisi (em) : 395 nm

6. Masukkan keprogram total chrom navigator:

Run → take control (untuk mengatur auto sampler dan pump)

→ flexar LC → Ok → tunggu

7. Build Sequence :

Create new sequence → Ok

Instrument : flexar LC

Build : vial by vial → Ok

8. Append new cycles

Type : Blank

Name : Blanko

# of cycles : 2

Vial : 1

Method : amino acid → select

Blok semuanya → klik kanan → edit token string → clear → tokens

→ sample name → fill down

9. Selesai → Save as → berinama

10. Action → set up

Set up parameters :

- Starting row : 1

- End row : 5

- Run : start run when ready
- Proceeding : suppress report/plots → Ok

11. Run → release control (untuk menghentikan pengaturan auto sampler dan pump)
12. Tutup TC Navigator
13. Matikan computer
14. Matikan tiap masing-masing alat (a, b, c dan d)
15. Matikan UPS

Perhitungan

Asam amino (mg/100 g) =

$$\frac{\left\{ \begin{array}{l} \text{Area komponen} \\ \text{Area AABBA} \end{array} \right\} \text{sampel} \times \text{konsentrasi standart} \times \text{BM} \times \text{tp}}{\left\{ \begin{array}{l} \text{Area komponen} \\ \text{Area MBA} \end{array} \right\} \text{standart} \times 1.000.000 \times \text{bobot sampel} \times 1.000} \times 100\%$$

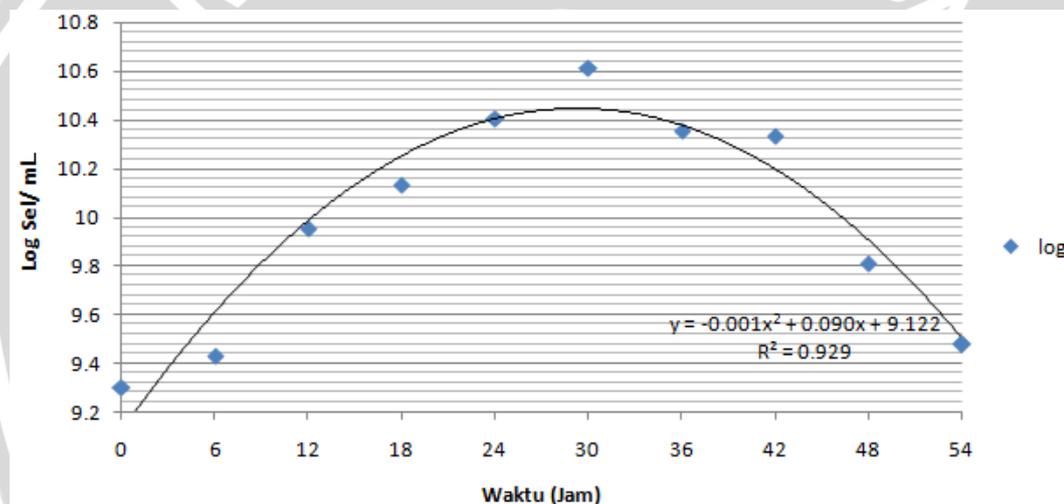
### 3.5.9 Derajat Hidrolisis (Prasetyo, 2015)

Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN), derajat hidrolisis digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis sehingga pada penelitian ini cara menghitung derajat hidrolisis menggunakan perbandingan nilai nitrogen hidrolisat protein ikan kresek/nilai nitrogen sampel sebelum terjadi proses hidrolisis.

### 3.5 Penelitian Pendahuluan

#### 3.5.1 Penentuan Fase Logaritmik

Fase logaritmik sel yaitu suatu fase yang mengakibatkan sel khamir mengalami pembelahan dengan cepat secara konstan. Kecepatan pertumbuhan pada fase ini sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuh seperti pH dan kandungan nutrisi. Pertumbuhan khamir laut ini ditentukan berdasarkan tingkat kepadatan pertumbuhan sel yang dilihat dari pengamatan melalui hemositometri pada mikroskop. Hasil pengamatan pertumbuhan khamir laut dapat dilihat pada Gambar 6 berikut.

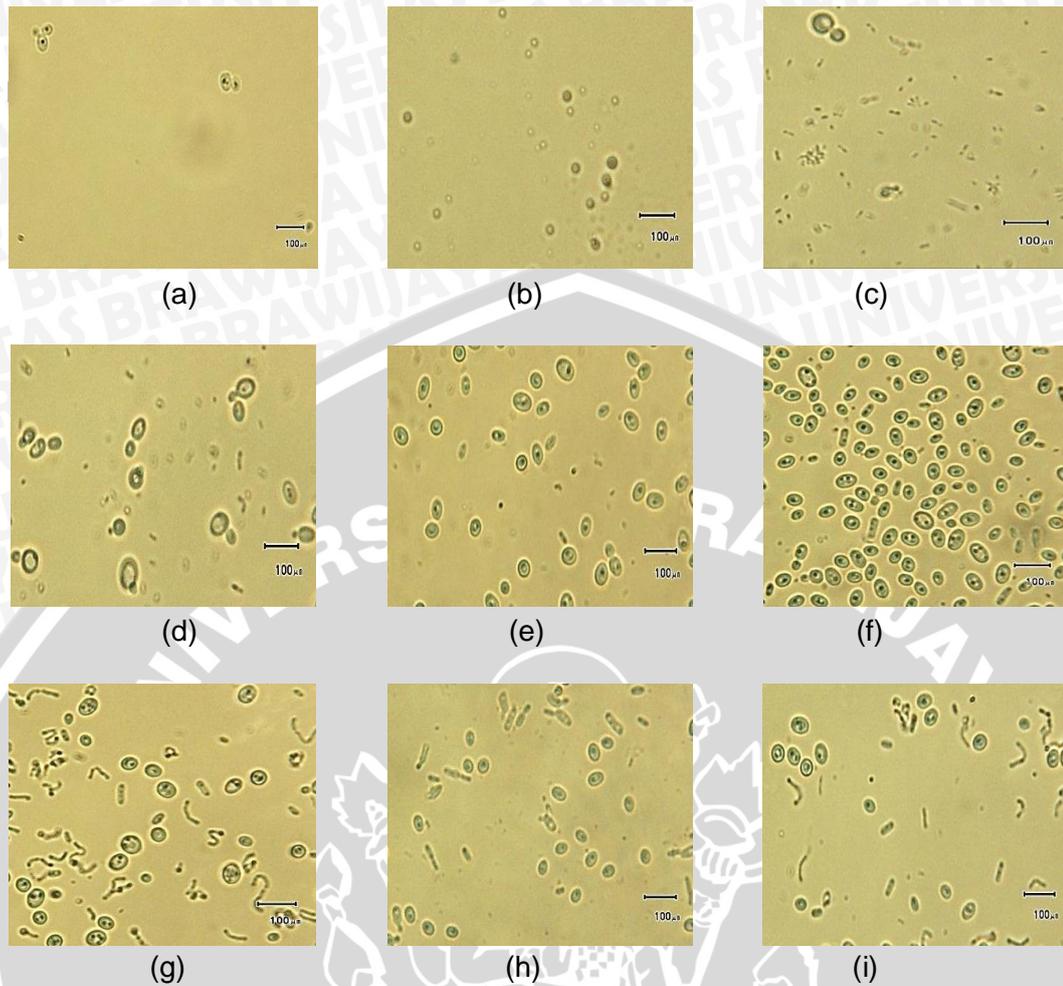


**Gambar 6. Pertumbuhan sel khamir laut dengan pengamatan setiap 6 jam sekali selama 2 hari 6 jam.**

Gambar 6 menunjukkan bahwa pertumbuhan sel khamir laut sangat cepat. Terlihat bahwa pertumbuhan pada fase adaptasi/lag jam ke-0 hingga jam ke-30 meningkat tajam. Hal tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat khamir laut mampu beradaptasi dan memanfaatkan pupuk/urea sebagai sumber nitrogen secara efisien sehingga tidak memerlukan waktu yang lama untuk tumbuh dan bereproduksi (Sugoro, 2006). Sukoso (2012) menambahkan bahwa pertumbuhan khamir laut disebabkan oleh beberapa hal diantaranya (1) khamir laut memiliki

batas toleransi untuk memanfaatkan gula sebagai sumber karbon dan sumber energi bagi kelangsungan pertumbuhannya, (2) kepekatan konsentrasi media yang berkaitan dengan tekanan osmosis berpengaruh terhadap optimalisasi penyerapan nutrient oleh sel khamir laut, dan (3) semakin tinggi konsentrasi gula menyebabkan pH media semakin turun sehingga daya dukung media terhadap pertumbuhan khamir laut semakin menurun. Pertumbuhan khamir laut pada jam ke-6 sampai jam ke-30 terus mengalami peningkatan, hal tersebut juga ditandai adanya perubahan pada kultur khamir laut yang dibiakkan. Perubahan yang terjadi yaitu adanya kekeruhan yang menunjukkan bahwa khamir laut mulai mengalami pertumbuhan dan warna khas fermentasi khamir laut. Pengambilan atau panen kultur khamir laut yang akan digunakan sebagai starter dalam fermentasi hidrolisat protein yaitu pada jam ke-30. Pada saat jam ke-30 khamir laut mengalami pembelahan secara cepat sehingga memiliki jumlah sel paling banyak dan menyebabkan tingkat kekeruhan meningkat. Kondisi demikian dikenal dengan istilah fase logaritmik. Sedangkan pada jam ke-36 hingga jam ke-54 pertumbuhan khamir laut mulai menurun.

Fase log terjadi pada jam ke-30, hal tersebut diperkuat dengan pengamatan hemositometri pada mikroskop. Hasil pengamatan hemositometri berupa jumlah kepadatan sel khamir laut dan berupa foto kepadatan. Perhitungan kepadatan sel khamir laut dapat dilihat pada Lampiran 4. Mikrograf yang dihasilkan dari kepadatan khamir laut terhadap lama kultur dapat dilihat pada Gambar 7 berikut.



Gambar 7. Mikrograf kepadatan khamir laut diamati dari hemositometer dalam berbagai lama kultur dengan perbesaran 1000x ; jam ke-0 (a), jam ke-6 (b), jam ke-12 (c), jam ke-18 (d), jam ke-24 (e), jam ke-30 (f), jam ke-36 (g), jam ke-42 (h), jam ke-48 (i).

Gambar 7 menunjukkan bahwa sel khamir laut terlihat berbentuk bulat. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Sukoso (2012) bahwa sel khamir laut sangat berbeda dengan sel bakteri atau jenis mikroorganisme lainnya karena sel khamir laut berukuran lebih besar daripada bakteri (5-8 um atau lebih), berbentuk oval, memanjang, elips atau bulat. Disamping itu terlihat bahwa sel khamir laut terlihat mempunyai bulatan kecil yang menempel atau disebut konodia. Munculnya konodia pada sel khamir laut tersebut menunjukkan bahwa sel khamir laut tersebut

akan terjadi pembelahan melalui pertunasan. Konodia mulai terlihat pada Gambar 7 (c) atau jam ke-12. Gambar konodia dapat dilihat pada gambar 8 di bawah ini.



Gambar 8. Konodia khamir saat pembelahan sel.

Pada Gambar 7 (f) atau jam ke-30 sel khamir mulai terlihat tumbuh banyak. Kondisi tersebut menunjukkan pembelahan sel dengan cepat atau disebut dengan fase log. Proses pembelahan sel menurut Buckle *et al.*, (1987) dimana timbul suatu gelembung kecil dari permukaan sel induk. Gelembung ini secara bertahap membesar, dan setelah mencapai ukuran yang sama dengan induknya terjadi pengerutan yang melepaskan tunas dari induknya. Sel yang baru terbentuk selanjutnya akan memasuki tahap pertunasan kembali.

Gambar 7 (g) menunjukkan bahwa pada jam ke- 36 mulai terjadi penurunan sel. Hal tersebut dimungkinkan karena ketersediaan nutrisi mulai berkurang karena sel khamir yang membelah terlampaui banyak sehingga nutrient tidak mencukupi dan pada akhirnya dapat menyebabkan kematian atau penurunan sel. Fase ini bisa disebut fase stasioner atau menuju kematian. Gambar 7 (i) jam ke-48 terlihat kepadatan sel khamir laut sudah menurun, hal tersebut karena sudah banyak sel khamir laut yang mengalami kematian.

### 3.5.2 Penentuan Volume Molase

Penentuan volume molase pada pembuatan hidrolisat protein ini bertujuan untuk menentukan volume molase yang optimal dalam menentukan volume molase yang akan digunakan sebagai landasan pada melakukan penelitian utama. Percobaan pertama berdasarkan penelitian Bueno *et al.*, (2008) bahwa dalam pembuatan hidrolisat protein kepala udang melalui penambahan volume gula sebanyak 10 mL, akan tetapi dalam penelitian ini gula diganti dengan molase sebagai sumber karbon khamir laut.

Berdasarkan penelitian Fathony (2014), pembuatan hidrolisat protein dengan sampel kepala udang vanamei dilakukan dengan memakai aerasi sebagai sistem fermentor dalam fermentasi tersebut. Menurut Sukoso (2012), pada kultur khamir laut diberikan sistem aerasi sehingga kandungan O<sub>2</sub> tercukupi dalam pertumbuhan khamir laut. Kultur khamir laut menghasilkan berbagai enzim misalnya protease.

Pada penelitian awal ini untuk volume molase segar yang diberikan yaitu menggunakan konsentrasi 100 mL, 150 mL dan 200 mL. Penelitian sebelumnya oleh Fathony (2014), yang menggunakan volume molase rebus 50 mL, 100 mL, dan 150 mL sebagai nutrisi pertumbuhan khamir laut guna menghidrolisis protein dari sampel kepala udang, dan hasil dari percobaannya mengalami keberhasilan. Menurut Fathony (2014), apabila produk hidrolisat mengalami pembusukan, hal tersebut dimungkinkan karena konsentrasi molase yang ditambahkan dalam pembuatan hidrolisat terlalu sedikit sehingga menyebabkan produk terlalu padat dan khamir laut yang mengandung protease tidak mampu menguraikan substrat yang terlalu padat tersebut. Disamping molase sebagai pengencer substrat kepala udang, molase juga sebagai nutrisi atau sumber karbon pertumbuhan khamir laut. Oleh karena itu, jika nutrisi yang diberikan pada khamir laut sedikit maka fermentasi juga berlangsung singkat.

Dalam penelitian awal ini, pembuatan hidrolisat protein ikan kresek menggunakan volume molase segar 100 mL, 150 mL, dan 200 mL dengan sampel ikan kresek yang sudah dihaluskan sebanyak 50 g. Agar lebih mudah dalam penghomogenan atau pencampuran dengan molase sehingga khamir dapat dengan mudah menguraikan sampel sedangkan untuk inokulan khamir, peneliti menggunakan 10 mL. Untuk konsentrasi 200 mL peneliti ingin mencoba apakah semakin tinggi konsentrasi yang digunakan akan menghasilkan pertumbuhan yang optimal pada khamir laut dan membuat produk hidrolisat menjadi lebih baik serta terhindar dari pembusukan. Selain itu parameter yang digunakan peneliti pada percobaan awal ini meliputi pengamatan dari hidrolisat seperti bau, warna, dan tekstur.

Hasil penelitian pada fermentasi menggunakan molase segar 100 mL, sampel 50 g, dan inokulan khamir 10 mL, penampakan sampel pada hari ke-3 sampel lunak, warna coklat kehitaman, bau molase kuat, masih terdapat molase, dan tidak ada jamur begitu pula pada hari ke-6. Pada hari ke-9 dengan molase segar 100 mL, sampel 50 g, dan inokulan khamir 10 mL, sampel mengeras dan molase yang ada di dalamnya perlahan berkurang, warna coklat kehitaman, bau molase sudah tidak ada. Pada hari ke-12 menggunakan molase segar 100 mL, sampel 50 g, dan inokulan 10 mL, sampel sangat keras, warna coklat kehitaman, molase sudah tidak ada, tidak berbau molase, dan sampel ditumbuhi jamur. Kesimpulan yang dapat diberikan yaitu dimungkinkan karena kurangnya volume molase yang digunakan untuk hidrolisat protein, mengakibatkan sampel atau substrat terlalu padat dalam hal ini menjadi kering, sehingga khamir tidak dapat menguraikan substrat dan mati. Selanjutnya mikroorganisme yang berperan di ambil alih oleh jamur.

Hasil penelitian pada fermentasi menggunakan molase segar 150 mL, sampel 50 g, dan inokulan khamir 10 mL, pada hari ke-3 sampel lembek, warna

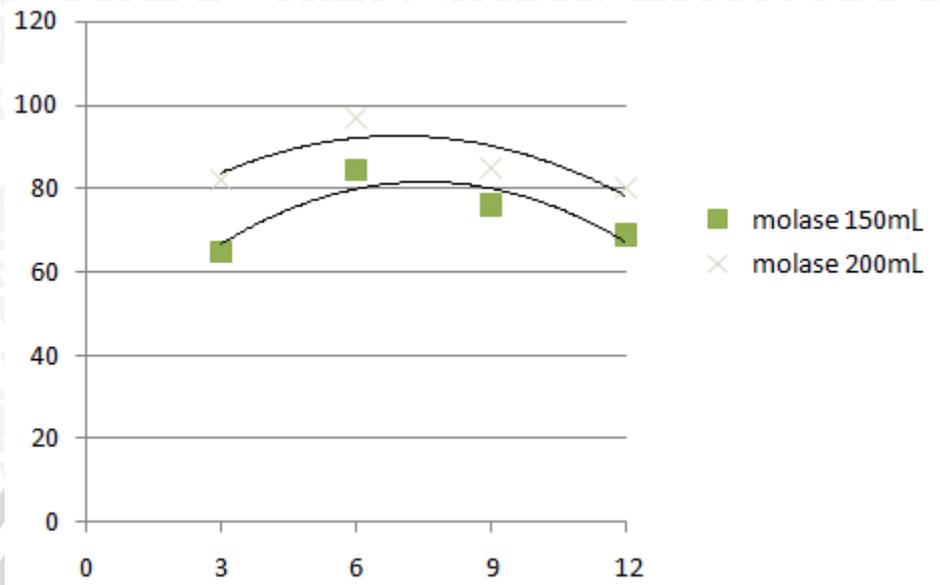
coklat kehitaman, masih terdapat molase, dan berbau molase, begitu pula pada hari ke-6. Pada hari ke-9 dengan konsentrasi molase segar 150 mL, sampel 50 g, dan inokulan khamir 10 mL, bau molase perlahan berkurang, warna coklat kehitaman, sampel mulai sedikit mengeras berbentuk pasta padat, dan cairan molase sedikit berkurang. Pada hari ke-12 dengan konsentrasi molase segar 150 mL, sampel 50 g, dan inokulan khamir 10 mL, bau molase sedikit berkurang, warna coklat kehitaman, sedikit mengeras berbentuk pasta padat, terdapat sedikit molase, dan tidak ditumbuhi jamur. Kesimpulan yang diperoleh dimungkinkan volume molase yang digunakan cukup untuk memenuhi nutrisi khamir laut untuk tumbuh. Hal ini dapat dilihat dari pengamatan hari ke-3 hingga ke-12 yang menunjukkan volume molase semakin berkurang tiap harinya dan sampel mulai sedikit mengering, hal tersebut dikarenakan molase di dalam sampel berkurang sehingga sampel sedikit mengering dan berbentuk pasta padat, selain itu juga molase menjadi makanan bagi khamir dan dimungkinkan molase berkurang tiap harinya karena dikonsumsi khamir, serta molase berguna untuk membantu aktivitas khamir laut dalam memakan nutrisi dari sampel tersebut.

Hasil penelitian pada fermentasi menggunakan molase segar 200 mL, sampel 50 g, dan inokulan 10 mL pada hari ke-3 sampel lembek, masih terdapat molase, warna coklat kehitaman, dan berbau khas molase begitu pula pada hari ke-6. Pada hari ke-9 dengan konsentrasi molase segar 200 mL, sampel 50 g, dan inokulan khamir 10 mL sampel mulai sedikit mengeras berbentuk pasta padat, warna coklat kehitaman, bau molase sedikit berkurang. Pada hari ke-12 konsentrasi molase 200 mL, sampel 50 g, dan inokulan 10 mL sampel mulai sedikit mengeras berbentuk pasta padat, warna coklat kehitaman, bau molase sedikit berkurang, dan sedikit cairan molase. Dapat disimpulkan bahwa volume molase yang digunakan untuk campuran sampel atau substrat daging ikan kresek sudah cukup untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan khamir laut.

Dari semua percobaan yang dilakukan Semakin banyak volume molase yang ditambahkan maka warna hidrolisat semakin coklat pekat kehitaman dan menyebabkan sampel hidrolisat semakin cair walaupun cairan yang ada tidak terlalu banyak. Hidrolisat dengan penambahan volume 100 mL pada penelitian hidrolisat protein ikan kresek menunjukkan hasil pada hari ke-12 sampel mengalami kekeringan tetapi tidak terjadi pembusukan, walaupun begitu khamir laut tidak dapat mengkonsumsinya karena sampel terlalu keras sehingga khamir mati dan digantikan oleh jamur. Berbeda dari penelitian Fathony (2014), yang menggunakan kepala udang vanamei yang pada penelitiannya berwarna coklat kehitaman dan bau tidak busuk atau bau khas fermentasi dan sampel tidak mengalami kekeringan. Dalam hal ini ada indikasi bahwa untuk hidrolisat protein yang menggunakan bahan atau substrat ikan utuh seperti daging ikan kresek pada penelitian ini, mempunyai tekstur yang berbeda dengan sampel kepala udang vanamei. Akibatnya hasil yang diharapkan berbeda walaupun menggunakan konsentrasi yang sama pada penelitian sebelumnya. Menurut Purbasari (2008), bahwa enzim mengkatalis proses enzimatik pada saat dicampurkan dengan substrat. Selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, pH dan suhu yang digunakan.

Pada konsentrasi 150 mL dan 200 mL menunjukkan bahwa adanya penambahan volume molase maka warna produk akan menjadi kehitaman, produk bertahan hingga hari ke-12, tidak mengalami pembusukan, substrat tidak kekeringan, dan tidak ditumbuhi jamur. Dari percobaan tersebut telah diperoleh volume molase yang dapat dijadikan landasan pada penelitian utama. Disamping itu, untuk memperkuat landasan tersebut dilakukan perhitungan rendemen pada setiap pengamatan dengan tujuan mencari titik optimal fermentasi hidrolisat

protein yang akan diterapkan pada penelitian utama. Grafik pengamatan rendemen dapat dilihat pada **Gambar 9** berikut.



**Gambar 9. Rendemen hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda.**

**Gambar 9** memperlihatkan bahwa hidrolisat protein ikan kresek dengan lama fermentasi 3, 6, 9, dan 12 hari telah menunjukkan titik optimal hidrolisis yaitu pada hari ke-6. Rendemen hidrolisat protein ikan kresek pada hari ke-6, untuk molase 150 mL yaitu 84,54%; dan molase 200 mL yaitu 97%. Perhitungan rendemen cair penelitian pendahuluan hidrolisat protein ikan kresek dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

Rendemen hidrolisat protein ikan kresek pada fermentasi hari ke-9 mulai terjadi penurunan. Hal tersebut dikarenakan semakin lama metabolisme khamir laut dalam fermentasi maka semakin banyak enzim protease yang dihasilkan oleh khamir laut. Sehingga menjadikan enzim menjadi jenuh terhadap substrat dan pada akhirnya tidak dapat menghidrolisis dengan baik. Menurut Rosdianti (2008), bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Pemakaian enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat,

sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien.

**Gambar 9** juga menunjukkan bahwa volume molase rebus yang paling optimal dalam menghasilkan rendemen tertinggi yaitu pada konsentrasi 200 mL. Berdasarkan Penelitian Purbasari (2008), yang membahas tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur, rendemen dalam penelitian ini memiliki hasil yang sama bila dibandingkan dengan penelitian Purbasari (2008), yaitu semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Hal tersebut dimungkinkan karena semakin banyak cairan yang ditambahkan pada substrat, maka enzim akan lebih mudah dalam menghidrolisis. Sehingga akan menghasilkan rendemen hidrolisat paling tinggi. Menurut Purbasari (2008) bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, pH dan suhu yang digunakan.

Dari percobaan ketiga ini telah diperoleh batasan lama fermentasi hidrolisat protein ikan kresek yaitu 3, 6, 9, dan 12 hari dapat dijadikan landasan pada penelitian utama. Titik optimal yang menghasilkan rendemen tertinggi yaitu pada lama fermentasi 6 hari.

Untuk selanjutnya hidrolisat protein dengan konsentrasi 150 mL dan 200 mL dapat dilanjutkan untuk penelitian utama namun karena hasil hidrolisat saat proses pemerasan tidak menghasilkan filtrat hidrolisat protein yang banyak dan tidak cukup untuk analisa proksimat maka, volume molase yang digunakan dinaikkan menjadi 2 kali.

Pada percobaan kedua dengan volume molase 150 mL dan 200 mL dinaikkan menjadi 2 kali sehingga konsentrasi 150 mL menjadi 300 mL, dan konsentrasi 200 mL menjadi 400 mL, karena volume molase dinaikkan maka untuk

sampel dan inokulan dinaikkan juga. Dalam penelitian Fathony (2014), dikarenakan berat hidrolisat yang diperoleh kurang mencukupi untuk dilakukan pengujian maka dari itu dilakukan penggandaan dari formula awal. Sehingga volume molase yang akan dilakukan pada penelitian utama yaitu 100 mL, 200 mL dan 300 mL dengan sampel kepala udang yang sudah diblender sebanyak 100 g. Sedangkan penambahan inokulan khamir laut sebanyak 20 mL. Dari penelitian sebelumnya peneliti juga ikut menaikkan sampel dan inokulan, pada penelitian kali ini peneliti juga menaikkan sampel ikan kresek dari 50 g menjadi 100 g dan inokulan khamir dari 10 mL menjadi 20 mL.

Penelitian menggunakan volume molase 300 mL dan 400 mL dapat bertahan hingga hari ke-12 dan tidak mengalami pembusukan, selanjutnya setelah proses fermentasi selesai, dilakukan proses pengambilan filtrat hidrolisat protein dengan cara memeras substrat menggunakan kain blacu. Setelah di peras, filtrat di kurangi kadar airnya agar berbentuk seperti pasta guna untuk analisa proksimat menggunakan alat vacuum dryer.

Setelah dilakukan pengvacuuman suhu  $105^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 70 cmHg, hasil pasta filtrat hidrolisat protein ikan kresek sangat sedikit akibatnya tidak cukup untuk proses analisa proksimat sehingga, volume molase di naikan 3 kali menjadi 450 mL dan 600 mL, sampel 150 g serta inokulan khamir 30 mL untuk penelitian utama.

### 3.6 Analisis Data

Dalam pengolahan data hasil penelitian untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur dalam grafik menggunakan *Software Microsoft Excel*.

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Utama

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, diketahui bahwa proses pembuatan hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) dilakukan penambahan molase rebus dengan volume 450 mL dan 600 mL. Lama waktu fermentasi yang digunakan yaitu 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari. Sedangkan untuk penambahan inokulan khamir laut sebanyak 30 mL dengan sampel ikan kresek 150 g dengan kepadatan  $48,1 \times 10^{10}$  sel pada fase logaritmik. Selanjutnya variabel yang diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan tersebut digunakan sebagai landasan dalam pembuatan hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) pada penelitian utama. Produk hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) pada penelitian ini dalam bentuk pasta. Untuk melihat kemungkinan pemakaian hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) ini sebagai suplemen pangan ataupun pakan, maka akan dilakukan analisa terhadap produk hidrolisat yang meliputi analisa proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein dan kadar karbohidrat), uji total asam amino, uji kalsium, uji pH, emulsi dan daya buih.

#### 4.1.1 Komposisi Kimia Kepala Ikan Kresek (*Thryssa mystax*)

Sampel utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan kresek (*Thryssa mystax*) rebus. Sampel dalam penelitian ini diambil dari tempat pelelangan ikan di pantai Kenjeran, Surabaya dengan harga per kilonya Rp 5000. Analisis kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi ikan kresek tersebut. Hasil analisis kandungan kimia ikan kresek dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil analisa kandungan gizi ikan kresek dari laut Kenjeran, Surabaya

Komposisi	Nilai rata-rata (%)	
	Ikan kresek *)	Ikan kresek **)
Protein	15,86 g	21,3 g
Lemak	1,50 g	2,7 g
Air	74,40 g	69,9 g
Abu	6,05 g	1,42 g
Karbohidrat	2,19 g	1,4 g
Kalsium	263,92 mg	— -

Sumber: \*) Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Universitas Brawijaya Malang, (2015)

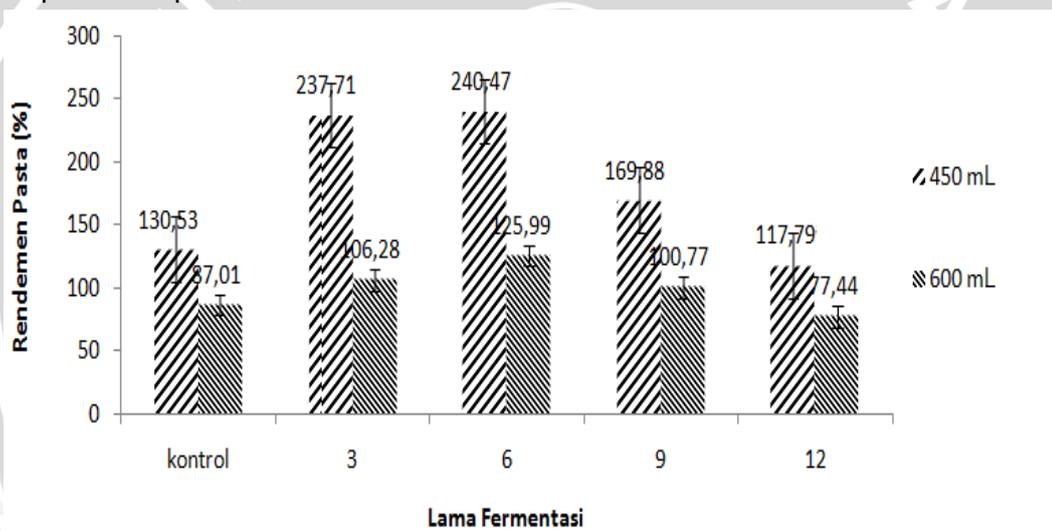
\*\*\*) Vijayakumar et al., (2014)

Tabel 3 tersebut memperlihatkan kandungan gizi dari ikan kresek (*Thryssa mystax*) segar. Secara umum, kesetaraan komposisi kimia ikan kresek yang digunakan dalam sampel penelitian ini berbeda dengan penelitian Vijayakumar *et al.*, (2014) yang membahas tentang karakteristik kimia ikan kresek. Apabila terdapat perbedaan yang terlihat mencolok terhadap komposisi kimia ikan kresek tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal. Hidayat (2005) menjelaskan bahwa faktor yang mempengaruhi komposisi ikan meliputi jenis ikan, jenis kelamin, sifat warisan, habitat, musim, dan jenis pakan yang tersedia.

#### 4.1.2 Rendemen Pasta Hidrolisat Protein Ikan Kresek

Berdasarkan hasil penelitian awal, diketahui bahwa proses pembuatan hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) dilakukan penambahan molase rebus dengan volume 450 mL dan 600 mL. Lama waktu fermentasi yang digunakan yaitu 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari. Sedangkan untuk penambahan inokulan khamir laut sebanyak 30 mL dengan sampel ikan kresek 150 g.

Dilakukan pengamatan untuk melihat seberapa besar khamir laut mampu mendegradasi substrat dengan lama fermentasi yang dilakukan dari data rendemen pasta. Hasil pengamatan rendemen pasta hidrolisat protein ikan kresek dapat dilihat pada **Gambar 10**.



**Gambar 10.** Rendemen pasta hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

**Gambar 10** menunjukkan bahwa rendemen pasta hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda mengalami kenaikan hingga lama fermentasi 6 hari selanjutnya mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Hal ini menunjukkan adanya proses hidrolisis yang terjadi pada bahan baku ikan kresek. Kusmartono dan Noya (2008), melaporkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan sampai batas waktu tertentu. Hal ini dimungkinkan karena enzim

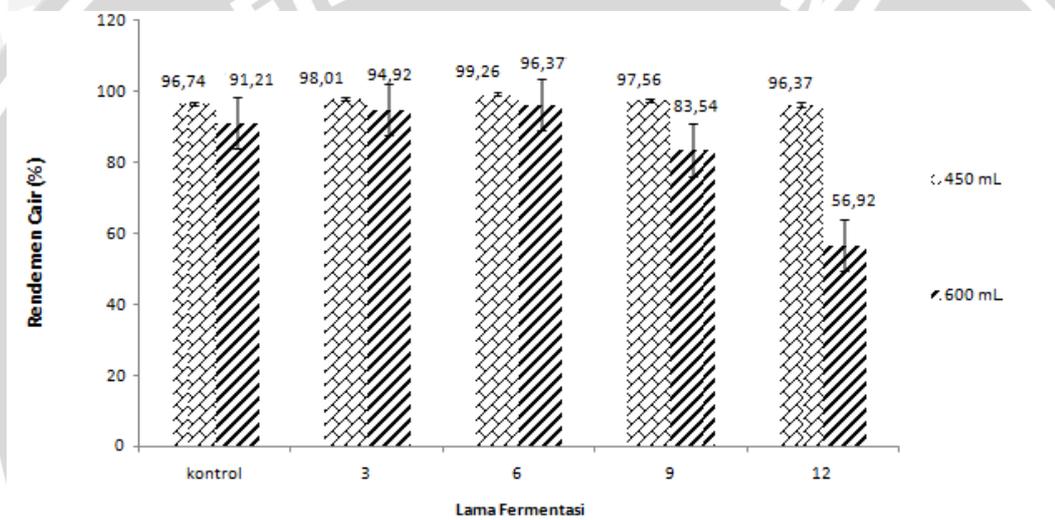
protease hasil dari metabolit khamir laut yang digunakan untuk menghidrolisis protein pada ikan kresek terus bertambah. Perwitasari dan Cahyo (2009), menyatakan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, waktu, katalisator, pH, dan suhu yang digunakan. Berdasarkan Penelitian Purbasari (2008), yang membahas tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur, rendemen dalam penelitian ini memiliki *trend* yang sama bila dibandingkan dengan penelitiannya yaitu semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Waktu optimal hidrolisis akan menghasilkan rendemen paling tinggi.

**Gambar 10** juga memperlihatkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda adanya penurunan rendemen pasta hidrolisat protein ikan kresek. Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi enzim protease hasil metabolit khamir laut terlalu tinggi sehingga menyebabkan tidak semua enzim yang dihasilkan khamir berikatan dengan substrat dan akhirnya aktivitas hidrolisis ikut menurun serta mempengaruhi hasil rendemen pasta. Rosdianti (2008), menjelaskan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat, sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien. Ditambahkan Winarno (1992), menyatakan bahwa aktivitas hidrolisat yang tinggi menyebabkan larutnya protein menjadi asam amino yang kemudian berubah menjadi  $H_2O$ ,  $CO_2$  dan senyawa yang mengandung nitrogen ( $NH_3$ , etanol, indol dan putresin). Akibatnya lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil sehingga nilai

rendemen cairan menurun namun akan berpotensi pada kualitas analisis proksimat dan uji tambahan yang lainnya.

#### 4.1.3 Rendemen Cair Hidrolisat Protein Ikan Kresek

Rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 11** berikut.



**Gambar 11.** Rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

**Gambar 11** menunjukkan bahwa rendemen cair kontrol (hari ke-0) hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda lebih tinggi dari fermentasi hari yang lain. Hal tersebut dikarenakan masih belum adanya proses hidrolisis atau memang berasal dari komposisi bahan awal itu sendiri. Selain itu juga, rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda pada konsentrasi 450 mL mengalami kenaikan pada fermentasi 6 hari dan selanjutnya mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Begitu pula

dengan konsentrasi 600 mL yang mengalami kenaikan pada fermentasi hari ke-3 dan mengalami penurunan hingga fermentasi 12 hari. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis yang terjadi pada bahan baku ikan kresek. Kusmartono dan Noya (2008), melaporkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan sampai batas waktu tertentu. Hal ini dimungkinkan karena enzim protease hasil dari metabolit khamir laut yang digunakan untuk menghidrolisis protein pada ikan kresek terus bertambah. Perwitasari dan Cahyo (2009), menyatakan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, kepadatan atau tekstur substrat, konsentrasi enzim, waktu, katalisator, pH, dan suhu yang digunakan.

**Gambar 11** juga memperlihatkan bahwa penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda adanya penurunan rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek. Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi enzim protease hasil metabolit khamir laut terlalu tinggi sehingga menyebabkan tidak semua enzim yang dihasilkan khamir berikatan dengan substrat dan akhirnya aktivitas hidrolisis ikut menurun serta mengakibatkan turunya nilai rendemen pasta. Rosdianti (2008), menjelaskan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan tidak semua enzim berikatan dengan substrat, sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis tidak efisien. Ditambahkan Winarno (1992), menyatakan bahwa aktivitas hidrolisat yang tinggi menyebabkan larutnya protein menjadi asam amino yang kemudian berubah menjadi  $H_2O$ ,  $CO_2$  dan senyawa yang mengandung nitrogen ( $NH_3$ , etanol, indol dan putresin). Akibatnya lama fermentasi akan berpotensi terjadinya penguapan senyawa-senyawa volatil

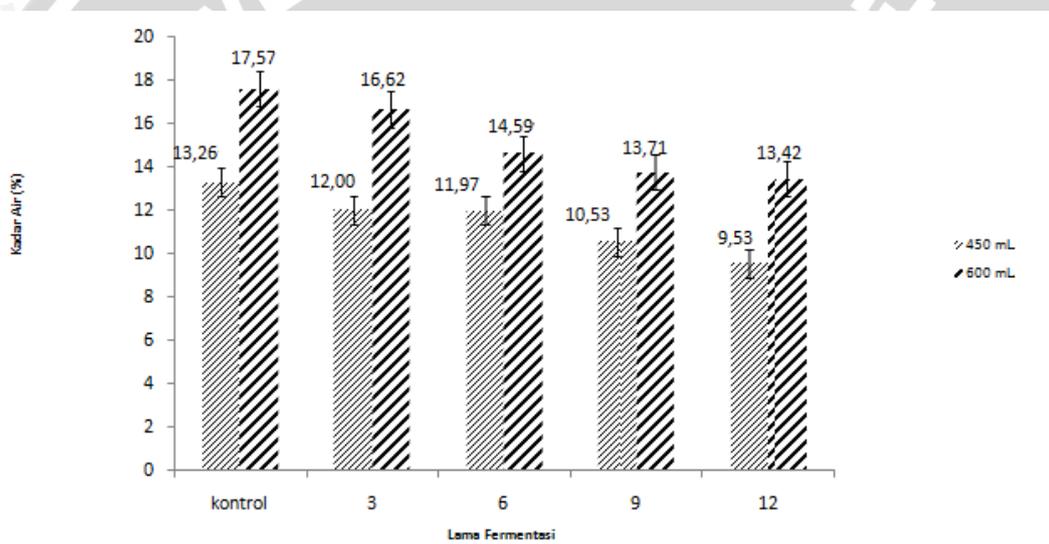
sehingga nilai rendemen cairan menurun namun akan berpotensi pada kualitas analisis proksimat dan uji tambahan yang lainnya.

#### 4.2.4 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Ikan Kresek

##### a) Kadar Air

Kadar air kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada

**Gambar 12** berikut.



**Gambar 12** Kadar air kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

Tabel 4 Nilai selisih kadar air selama proses fermentasi

Konsentrasi	Nilai Selisih Fermentasi Hari ke-			
	3	6	9	12
450 mL	1,26	1,29	2,73	3,73
600 mL	0,95	2,98	3,86	4,15

**Gambar 12** menunjukkan bahwa kadar air kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan kadar air hidrolisat protein pada hari lainnya pada lama

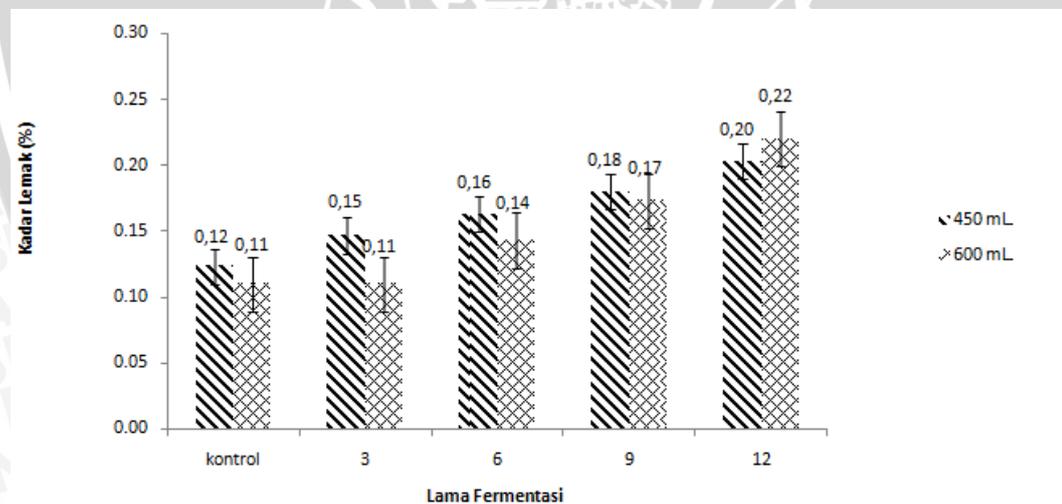
fermentasi yang berbeda. Hal ini dikarenakan komposisi bahan awal dari pembuatan hidrolisat protein ikan kresek itu sendiri memiliki kandungan kadar air yang tinggi. Vijayakumar *et al.*, (2014), melaporkan bahwa kandungan kadar air ikan kresek yaitu 69,9%. Hidayat (2005), menjelaskan bahwa hidrolisis itu memerlukan air atau kadar air yang tinggi dikarenakan (1) mempermudah proses pengadukan selama hidrolisis berjalan yang berpengaruh terhadap kelancaran homogenasi antara enzim dengan substrat yang tersedia, (2) mempercepat laju reaksi enzimatik, karena kadar air molsae yang rendah mengakibatkan penghambatan difusi enzim dan substrat sehingga proses hidrolisis hanya berlangsung pada bagian substrat yang langsung berhubungan dengan enzim, (3) memperluas bidang kontak antara substrat dengan enzim, sehingga pada rentang waktu tertentu dapat dihasilkan produk hidrolisat yang lebih besar.

**Gambar 12** juga menunjukkan terjadinya selisih penurunan kadar air hidrolisat protein ikan kresek pada setiap perlakuan penambahan molase segar. Hal tersebut terjadi karena diduga kemampuan khamir laut yang melakukan proses metabolisme yang menghasilkan panas yang akhirnya membuat air menguap. Terjadinya penurunan kadar air ini menunjukkan adanya pelepasan ion ( $H^+$ ) dan ( $OH^-$ ) saat terjadi proses perombakan (hidrolisis) protein pada ikan kresek. Timbulnya panas ini terjadi akibat reaksi redoks yaitu, reaksi oksidasi sempurna senyawa hidrokarbon menghasilkan gas  $CO_2$  dan  $H_2O$  berbentuk uap. Menurut Dijken dan Scheffers (1986) reaksi redoks pada khamir terjadi karena  $NAD^+$  dan produksi NADPH pada sel khamir saat anabolisme merombak glukosa yang akhirnya menghasilkan alkohol dan gas  $CO_2$ . Dalam penelitian ini glukosa sumber berbentuk cair dan karena hal tersebut digunakan sel khamir untuk anabolisme maka secara otomatis berkurang seiring waktu fermentasi. Widadi (2011) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi yang digunakan maka semakin rendah kadar airnya, hal tersebut dimungkinkan karena adanya proses

metabolisme yang dilakukan oleh khamir laut sehingga menghasilkan energi (panas) yang akhirnya memicu air untuk menguap. Dewi (2002), Anggraeni dan Yuwono (2014), menyatakan bahwa saat hidrolisis berlangsung menyebabkan turunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air. Sehingga semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan, akibatnya tekstur bahan menjadi lunak dan berair. Simanjorang (2012), menambahkan bahwa kenaikan air tersebut disebabkan oleh proses metabolisme (katabolisme) yang dilakukan oleh mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tersebut.

#### b) Kadar Lemak

Kadar lemak kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 13** berikut.



**Gambar 13.** Kadar lemak kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

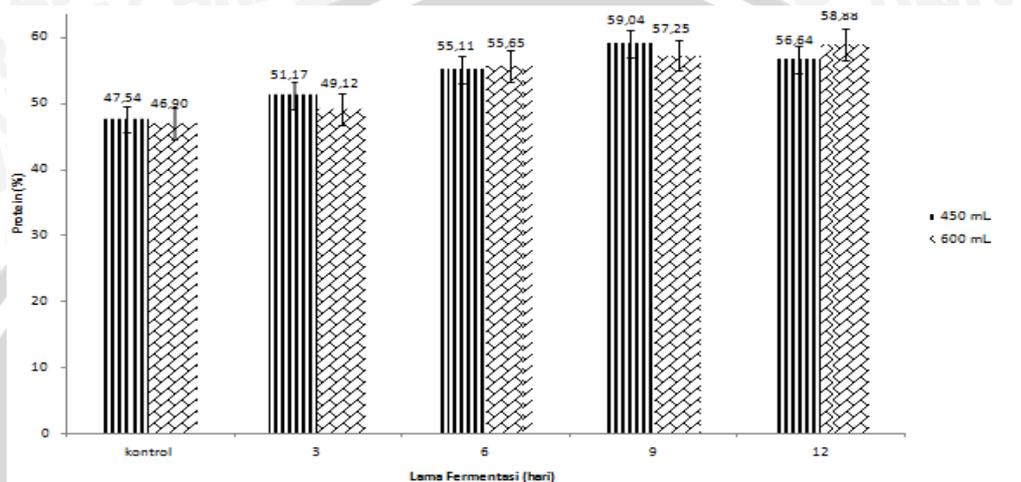
**Gambar 13** menunjukkan bahwa kadar lemak kontrol dibandingkan dengan kadar lemak hidrolisat protein ikan kresek dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda menunjukkan adanya peningkatan yang tidak

terlalu memberikan pengaruh yang nyata (konstan). Hal ini dimungkinkan karena sumber lemak hanya berasal dari bahan baku ikan kresek dan adanya sedikit penambahan bahan lain yang mengandung kadar lemak seperti molase.

**Gambar 13** juga memperlihatkan adanya peningkatan kadar lemak hidrolisat protein ikan kresek antar perlakuan. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis lemak ikan kresek oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar lemak yang dihasilkan. Dalam penelitiannya dijelaskan bahwa kandungan kadar lemak hidrolisat protein ikan rucah yaitu 1,02% (fermentasi ½ jam) dan 5,03% (fermentasi 1 jam). Hal tersebut dimungkinkan karena enzim yang dihasilkan oleh khamir laut bekerja dengan maksimal sehingga memicu terjadinya peningkatan kadar lemak. Sukoso (2012) menyatakan enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Fauziah *et al.*, (2014) menyatakan bahwa fermentasi dalam jangka waktu tertentu menyebabkan enzim hasil metabolit dapat memecah ikatan trigliserida yang ada pada substrat dan membentuk gliserol dan asam lemak bebas sehingga kadar lemak hasil hidrolisis semakin tinggi. Selain itu, Koesoemawardani dan Hadiwiyoto (2001), menambahkan bahwa kapasitas pengikatan lemak dipengaruhi oleh derajat hidrolisis, dalam hal ini derajat hidrolisis sejalan dengan protein terlarut. Semakin tinggi kadar protein yang terbentuk maka semakin tinggi pula kadar lemaknya. Kadar lemak tertinggi hidrolisat terdapat pada fermentasi 12 hari konsentrasi 450 mL.

### C) Kadar Protein

Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 14** berikut



**Gambar 14.** Kadar protein kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

**Gambar 14** menunjukkan bahwa kadar protein kontrol (fermentasi 0 hari) pada konsentrasi 450 mL lebih rendah bila dibandingkan kadar protein pada fermentasi hari ke 12 konsentrasi 450 mL. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut pada bahan baku ikan kresek segar. Novianti (2007), melaporkan bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk pembelahan sel dan metabolisme nya. Selain itu kadar protein pada fermentasi 0 hari diperoleh dari kandungan protein bahan baku atau penunjang dari pembuatan hidrolisat protein tersebut seperti ikan kresek, molase, dan khamir laut.

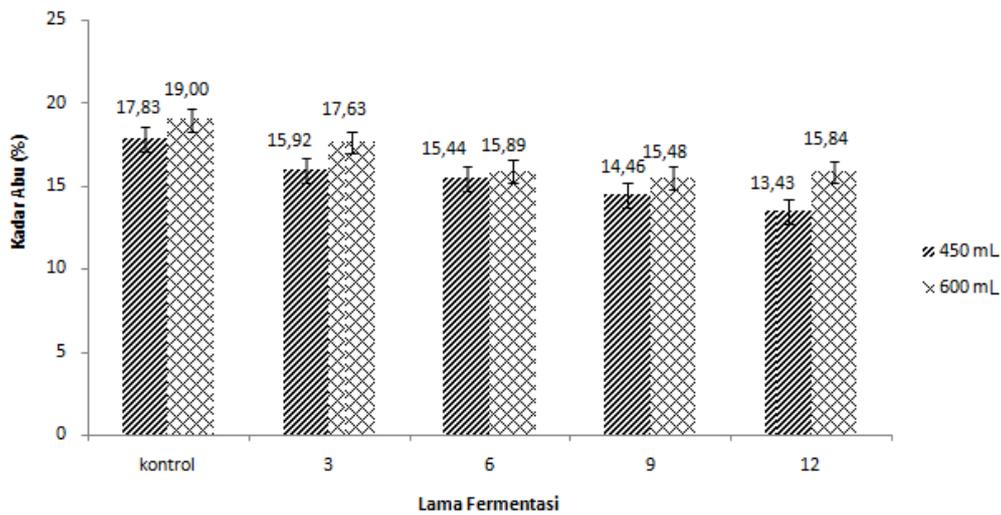
**Gambar 14** juga memperlihatkan adanya peningkatan kadar protein hidrolisat protein ikan kresek antar perlakuan. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis protein pada bahan baku ikan kresek oleh enzim hasil metabolit khamir laut.

Bueno *et al.*, (2008) melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar protein yang dihasilkan. Selain itu, dimungkinkan karena adanya penambahan protein dari khamir laut itu sendiri dan aktivitasnya yang memanfaatkan karbon yang ada pada molase sehingga memicu mengeluarkan hasil metabolitnya berupa enzim guna untuk proses hidrolisis pada kepala udang vaname dan berlaku pula pada sampel ikan kresek. Sukoso (2012) menyatakan kadar protein dalam tubuh khamir laut yaitu 28,29% dan enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Sedangkan Haslina *et al.*, (2006) menyatakan enzim yang dihasilkan mikroorganisme akan berikatan dengan ikatan peptida (protein) pada substrat.

**Gambar 14** memperlihatkan bahwa kadar protein tertinggi pada hidrolisat protein ikan kresek fermentasi 12 hari dengan volume molase 450 mL. Hal ini dimungkinkan fermentasi hari ke-12 merupakan batas optimal lama fermentasi dan enzim yang digunakan hidrolisis hanya mampu menghidrolisis sampai batas tersebut. Purbasari (2008), menambahkan bahwa selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, tekstur substrat, dan konsentrasi enzim.

#### d) Kadar Abu

Abu merupakan salah satu komponen bahan makanan. Komponen yang terkandung dalam kadar abu tersebut menunjukkan mineral yang ada dalam bahan pangan seperti pada produk hidrolisat protein ikan. Kadar abu kontrol dan hidrolisat hidrolisat dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 15**



**Gambar 15.** Kadar abu kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

**Tabel 5.** Nilai selisih kadar abu selama proses fermentasi

Konsentrasi	Nilai Selisih Fermentasi Hari ke-			
	3	6	9	12
450 mL	1,91	2,39	3,37	4,4
600 mL	1,37	3,11	3,52	3,16

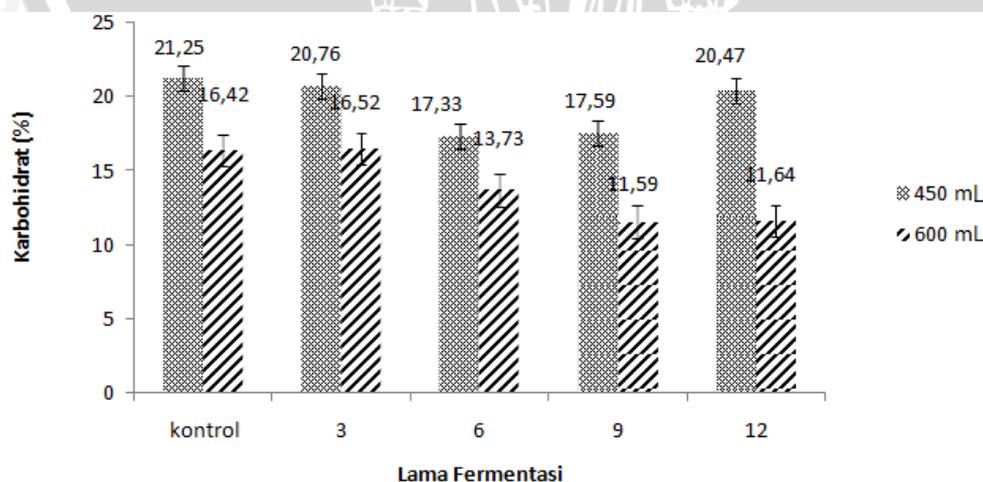
**Gambar 15** menunjukkan bahwa kadar abu kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan kadar abu hidrolisat protein ikan kresek dengan molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis atau degradasi terhadap unsur mineral atau unsur-unsur lain. Selain itu, dimungkinkan komposisi bahan baku awal atau bahan penunjang dari pembuatan hidrolisat ikan kresek itu sendiri memiliki kandungan kadar abu yang cukup tinggi. Vijayakumar *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kadar abu dari ikan kresek yaitu 1,42%.

**Gambar 16** menunjukkan terjadinya selisih penurunan kadar abu hidrolisat protein ikan kresek pada setiap perlakuan penambahan molase rebus. Hal ini dimungkinkan karena garam-garam mineral yang ada pada molase digunakan

untuk nutrisi pertumbuhan khamir laut. Komponen mineral dalam molase antara lain bentuk anion seperti magnesium, kalsium, aluminium, kalium, dan nitrogen, serta bentuk kation berupa silikat, fosfat, sulfat, dan klorida (Holihah, 2005). Selain itu, kemampuan khamir laut dalam mengabsorpsi logam atau mineral berbeda selama selang waktu fermentasi. Purwaningsih (2012), menyatakan adanya perbedaan kadar abu diduga bahwa setiap organisme mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mengabsorpsi dan meregulasi logam. Sedang Palupi (2007), menyatakan pada umumnya, garam-garam mineral tidak terpengaruh signifikan dengan perlakuan kimia atau fisik selama fermentasi. Jadi apabila terjadi penurunan atau kenaikan dimungkinkan hanya nilai secara kuantitas karena hasil dari fermentasi tersebut. Kadar abu terendah pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase 600 mL.

#### e) Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 16** berikut.



Gambar 16. Kadar karbohidrat kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

Gambar 16 menunjukkan bahwa kadar karbohidrat kontrol (fermentasi 0 hari) konsentrasi 450 mL lebih rendah bila dibandingkan kadar karbohidrat hidrolisat protein ikan kresek dengan volume molase 450 mL fermentasi pada hari ke-9, hal ini dimungkinkan karena faktor metabolisme khamir

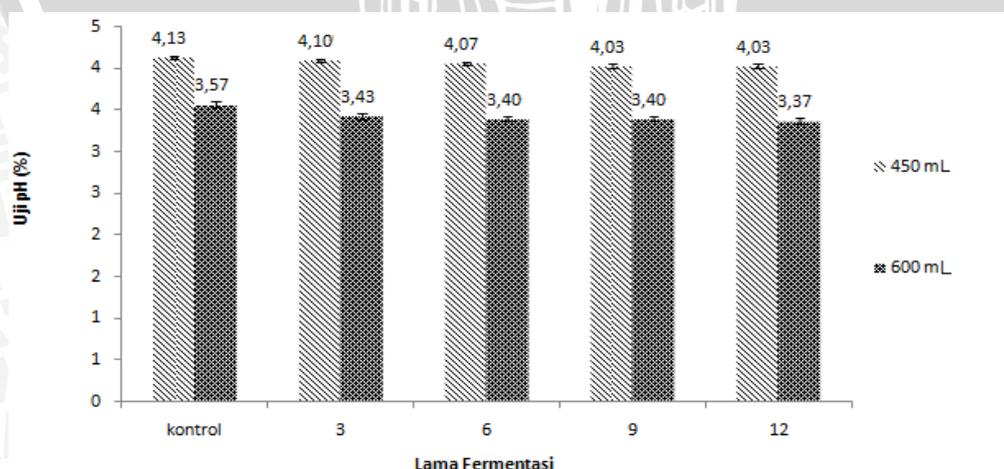
laut yang lebih cepat pada kontrol sehingga, lebih cepat mengonsumsi nutrisi karbohidrat yang ada dalam molase tersebut sedangkan pada hari ke-9 metabolisme khamir laut lebih lambat. Pada fermentasi kontrol hari ke-0 konsentrasi 600 mL terlihat bahwa kadar karbohidrat masih lebih tinggi di bandingkan dengan volume 600 mL pada fermentasi hari yang lain. Hal ini dimungkinkan karena fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis atau degradasi terhadap gula-gula reduksi pada bahan baku ikan kresek segar. Menurut Windrati *et al.*, (2014) meningkatnya kadar air dan menurunnya kadar abu, kadar protein, kadar lemak menyebabkan kadar karbohidrat menurun. Sebaliknya, apabila nilai kadar air turun, sedangkan kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak mengalami kenaikan maka kadar karbohidrat tempe akan meningkat hal tersebut juga terjadi pada penelitian pembuatan hidrolisat protein ikan kresek ini yang menunjukkan kecenderungan penurunan pada hari ke-9 pada kadar abu, protein, dan lemak. Selain itu, dimungkinkan komposisi bahan baku awal atau bahan penunjang dari pembuatan hidrolisat ikan kresek itu sendiri memiliki kandungan kadar karbohidrat yang tinggi. Vijayakumar *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kadar karbohidrat dari ikan kresek yaitu 1,4%. Windrati *et al.*, (2014) mengemukakan bahwa kandungan karbohidrat bahan baku awal berpengaruh terhadap peningkatan karbohidrat selama proses fermentasi.

Gambar 16 juga memperlihatkan adanya penurunan kadar karbohidrat hidrolisat protein ikan kresek. Kadar karbohidrat Purbasari (2008), melaporkan

bahwa kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang mas ngur menurun selama selang waktu fermentasi. Kadar karbohidrat hidrolisat kerang mas ngur pada penelitiannya yaitu 0,16%. Hal ini dimungkinkan karena bahan organik seperti karbon atau nitrogen digunakan sebagai nutrisi atau memenuhi kebutuhan energi untuk kebutuhan metabolisme khamir laut sehingga memicu penurunan kadar karbohidrat. Septiani *et al.*, (2004) menyatakan bahwa karbohidrat merupakan gula reduksi dari hasil fiksasi CO<sub>2</sub> (reaksi gelap) oleh tanaman. Contoh bahan yang mengandung gula reduksi menurut Sari (2011), yaitu molase. Molase mengandung gula reduksi total yaitu 10-25% . Kurniati (2012) menyatakan bahan organik seperti pati / gula reduksi digunakan untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan mikroorganisme. Sehingga kandungan bahan organik mengalami penurunan selama fermentasi. Kadar karbohidrat terendah pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase 450 mL.

#### 4.2.4 Analisis Derajat Keasaman (pH)

pH kontrol (fermentasi 0 hari) bila dibandingkan pH hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 17** berikut.



**Gambar 17.** pH kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

Tabel 6 Nilai selisih pH selama proses fermentasi

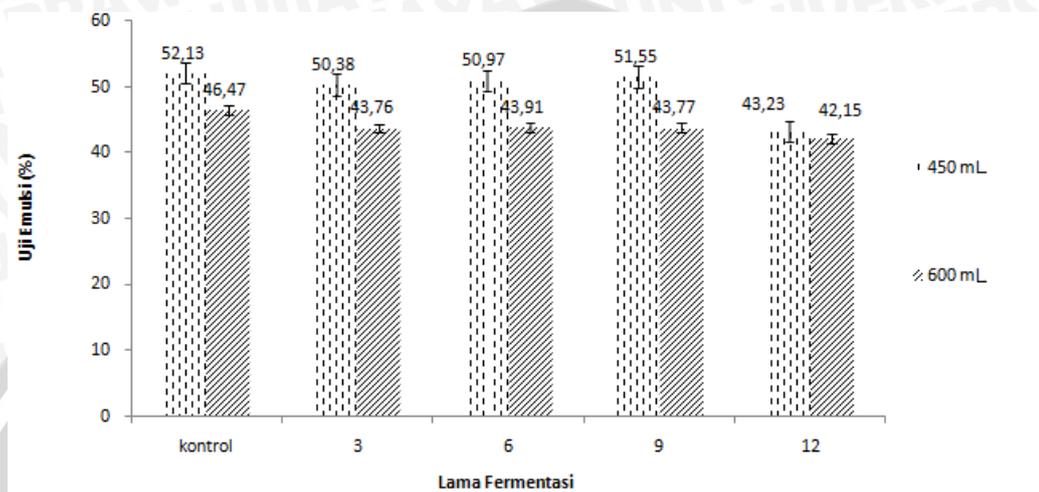
Konsentrasi	Nilai Selisih Fermentasi Hari ke-			
	3	6	9	12
450 mL	1,26	1,29	2,73	3,73
600 mL	0,95	2,98	3,86	4,15

**Gambar 17** menunjukkan bahwa pH kontrol (fermentasi 0 hari) lebih tinggi bila dibandingkan pH hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi fermentasi yang menghasilkan asam-asam atau alkohol hasil dari degradasi/hidrolisis sehingga pH masih tinggi atau medekat netral. Hidayat (2005), Machbubatul (2008), dan Purbasari (2008), melaporkan bahwa pH hidrolisat protein dibawah netral (<7) yaitu 4-6.

**Gambar 17.** menunjukkan terjadinya selisih penurunan uji pH hidrolisat protein ikan kresek pada setiap perlakuan penambahan molase rebus. Hal ini dimungkinkan karena terjadinya degradasi bahan organik saat fermentasi yang memicu banyaknya asam yang terbentuk. Simbolon (2008) menyatakan bahwa asam atau alkohol terbentuk akibat degradasi dari karbohidrat oleh khamir. Semakin tinggi presentase khamir yang ditambahkan saat fermentasi memicu tingginya asam yang terbentuk. Selain itu Hidayat (2005), menyatakan nilai pH dan waktu optimum didasarkan atas dengan sifat atau keadaan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam proses hidrolisis. Sukoso (2012) menjelaskan dalam bukunya bahwa pH optimal pertumbuhan khamir laut yaitu 2,2 - 8. Berdasarkan hasil penelitian terbukti bahwa *range* pH hidrolisat protein pada penelitian ini termasuk dalam *range* pH khamir laut. pH terendah pada hidrolisat lama fermentasi 12 hari dan volume molase 450 mL.

#### 4.2.5 Analisis Emulsi

Emulsi kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 18** berikut.



**Gambar 18.** Emulsi kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbed

Tabel 7. Nilai selisih emulsi selama proses fermentasi

Konsentrasi	Nilai Selisih Fermentasi Hari ke-			
	3	6	9	12
450 mL	1,26	1,29	2,73	3,73
600 mL	0,95	2,98	3,86	4,15

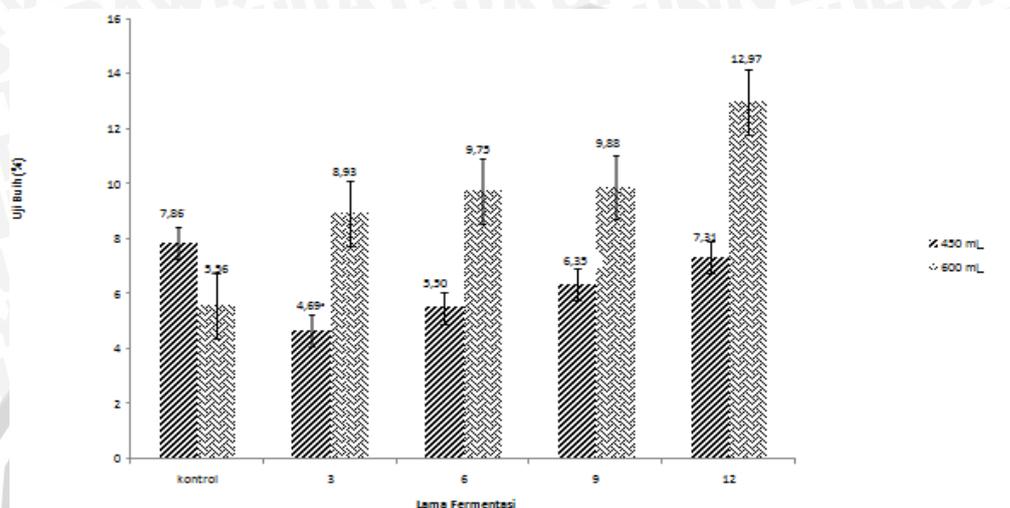
**Gambar 18** menunjukkan bahwa emulsi kontrol lebih tinggi bila dibandingkan emulsi hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena belum mengalami hidrolisis yang akan menghasilkan asam-asam amino. Menurut Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa asam amino hasil hidrolisis sebagian akan terserap oleh minyak yang memicu kestabilan emulsi pada jangka waktu fermentasi.

**Gambar 18.** menunjukkan terjadinya selisih penurunan uji emulsi hidrolisat protein ikan kresek pada setiap perlakuan penambahan molase rebus. diduga terjadi karena besarnya ketidak campuran pada saat homogenisasi sehingga emulsi sulit terbentuk. Rusmiyati (2010) menyatakan bahwa semakin besar derajat ketidak campuran maka semakin besar tegangan permukaan dan emulsi sulit terbentuk. Selain itu, penurunan kapasitas emulsi juga dapat disebabkan oleh rendahnya lemak yang terdapat pada hidrolisat protein ikan kresek, sehingga gugus non polar pada asam amino akan sedikit berikatan dengan gugus non polar minyak / lemak dan akhirnya emulsi yang terbentuk semakin sedikit.

Selain itu juga, penurunan emulsi dapat pula terjadi karena adanya kemampuan hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan sejumlah peptida yang panjang sehingga memicu untuk menurunkan kadar emulsi pada hidrolisat protein ikan kresek tersebut. Gbogouri *et al.*, (2004) menyatakan bahwa kestabilan emulsi akan lebih baik pada derajat hidrolisis yang tinggi yang menghasilkan peptida panjang. Peptida-peptida yang terbentuk akan terserap pada lapisan minyak akibatnya kestabilan emulsi menjadi lebih rendah. Koesoemawardani *et al.*, (2011), menambahkan bahwa perbedaan stabilitas emulsi pada hidrolisat yang dihasilkan oleh masing-masing enzim yang digunakan bergantung pada sifat spesifik enzim dalam memecah protein dan gugus aktifnya.

### 3.3.3 Analisis Daya Buih

Daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada **Gambar 19** berikut.



**Gambar 19.** Daya buih kontrol dan hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda.

**Gambar 19** menunjukkan bahwa daya buih kontrol (fermentasi 0 hari) lebih rendah bila dibandingkan daya buih hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase dan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena pada fermentasi 0 hari belum terjadi hidrolisis oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Novianti (2007), melaporkan bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk pembelahan sel dan metabolismenya. Selain itu, Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi.

**Gambar 19** juga memperlihatkan adanya peningkatan daya buih hidrolisat protein ikan kresek antar perlakuan. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan bahwa daya buih hidrolisat protein ikan rucah terjadi peningkatan pada lama inkubasi  $\frac{1}{2}$  jam yaitu sebesar 9,63%. Hal ini dimungkinkan karena selama selang

waktu fermentasi terbentuk asam amino yang dapat mengabsorpsi antara fase udara dengan air sehingga memicu terbentuknya buih yang banyak. Koesoemawardani *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daya buih sangat dipengaruhi oleh jumlah protein yang terhidrolisis selama fermentasi. Semakin kadar protein terlarutnya tinggi maka semakin tinggi daya buih yang dihasilkan.

**Gambar 19** memperlihatkan bahwa daya buih tertinggi pada hidrolisat protein ikan kresek fermentasi 12 hari. Hal ini dimungkinkan pada hari ke-12 protein terhidrolisis sudah mencapai titik optimum sehingga memicu penurunan daya buih pula pada selang lama waktu fermentasi berikutnya. Rosdianti (2008), menyatakan bahwa aktivitas hidrolisis semakin menurun pada penggunaan konsentrasi enzim yang tinggi, yang ditandai oleh berkurangnya laju hidrolisis. Penggunaan enzim yang berlebihan menyebabkan proses hidrolisis tidak efisien. Purbasari (2008), menambahkan bahwa kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi, tekstur substrat, enzim, pH dan suhu.

#### 4.2.7 Hidrolisat Protein Ikan Kresek Terbaik

Berdasarkan hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein ikan kresek diperoleh hasil terbaik yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume 450 mL. Hal ini ditinjau dari kandungan protein tertinggi yang diperoleh dari hidrolisat protein ikan kresek antar perlakuan. Purbasari (2008) melaporkan hidrolisat terbaik dilihat dari hasil kadar protein yang tertinggi. Selain itu, pemilihan hidrolisat protein terbaik dapat ditinjau dari parameter atau property dari hidrolisat tersebut seperti pH, emulsi, dan daya buih. Koesoemawardani *et al.*, (2011) melaporkan dari penelitiannya bahwa kualitas produk hidrolisat protein terbaik ditandai dengan

Daya buih dan emulsi yang tinggi. Komposisi kimia hidrolisat protein ikan kresek dan ikan kresek dapat dilihat pada Tabel 8 berikut.

Tabel 8. Komposisi kimia hidrolisat protein ikan kresek terbaik dan ikan kresek segar.

Parameter	Satuan	Pasta Hidrolisat Protein Ikan Kresek Terbaik	Ikan Kresek *)
Kadar Protein *)	%	78,75	15,86
Kadar Air	%	8,02	74,40
Kadar Lemak	%	0,29	1,50
Kadar Abu	%	13,02	6,05
Kadar Karbohidrat	%	1,13	2,19
Kadar Kalsium *)	%	22,86	0,02639
pH	-	4,00	7,00
Emulsi	%	52,38	-
Daya buih	%	4,76	-

Sumber: Laboratorium Biokimia Pertanian (2015).

\*) Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Pertanian Universitas Brawijaya (2015).

Tabel 8 tersebut menunjukkan adanya kesetimbangan massa antara kandungan gizi (proksimat) ikan kresek segar dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan kresek terbaik antar perlakuan. Hal tersebut dapat dilihat dari jumlah total antara keduanya terlihat sama yaitu 100%. Prinsip dari kesetimbangan massa ini yaitu total input bahan yang masuk kedalam suatu proses pengolahan akan sama dengan total outputnya. Terjadi perubahan hanya perubahan wujud dari bahan yang masuk dan bahan yang keluar.

Hidrolisat protein ikan kresek menunjukkan kandungan protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini menunjukkan adanya hidrolisis protein dari bahan baku awal oleh enzim hasil metabolit khamir laut. Selain itu dimungkinkan karena adanya penambahan kadar protein dari khamir laut itu sendiri dan aktivitasnya yang memanfaatkan karbon yang ada pada molase sehingga memicu tumbuh semakin pesat. Sukoso (2012) menyatakan kadar

protein dalam tubuh khamir laut yaitu 28,29% dan enzim yang dihasilkan oleh kultur khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid).

Kandungan kadar air pada bahan baku ikan kresek segar lebih tinggi bila dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan kresek. Hal ini dimungkinkan ikan kresek segar memiliki kandungan air baik terikat maupun bebas yang tinggi. Selain itu ikan kresek ini belum mengalami proses dari hidrolisis yang akan menurunkan kadar airnya. Hadiwiyoto (1993) menyatakan bahwa dalam tubuh ikan yang masih segar memiliki kandungan air bebas dan terikat yang tinggi.

Hidrolisat protein ikan kresek menunjukkan hasil kadar lemaknya lebih rendah bila dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini dimungkinkan karena lemak pada bahan baku menguap menjadi asam lemak yang bersifat volatile saat berlangsungnya hidrolisis. Sulistiani (2009) menyatakan lemak yang dihidrolisis akan menghasilkan asam-asam lemak yang mudah menguap (*Volatile Fatty Acid*). Purbasari (2008) menambahkan bahwa hidrolisat protein dengan kadar lemak yang rendah pada umumnya lebih stabil dan tahan lama. Selain itu, rendahnya kadar lemak pada produk hidrolisat dapat digunakan sebagai makanan diet (makanan dengan kandungan lemak kurang dari 5%).

Kadar abu pada bahan baku ikan kresek segar lebih rendah bila dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan kresek hal ini dimungkinkan karena proses fermentasi hidrolisat protein yang menyebabkan perubahan pH pada medium atau sampel ikan kresek segar berubah menjadi asam dan meningkatkan kandungan organik. Kadar abu yang relatif tinggi pada hidrolisat protein ikan adalah karena adanya asam yang terbentuk dan digunakan medium untuk menyesuaikan pH (Chalamaiah et al., 2012). Selain itu juga menurut Roslan et al., (2014) kadar abu yang tinggi sebagian besar diperoleh dari setiap bagian dari tubuh ikan meliputi tulang, kepala, sirip, ekor dan juga dimungkinkan karena

adanya natrium fosfat selama proses enzimatik. Pendapat lain menurut Thiansilakul *et al.*, (2007) peningkatan kadar abu disebabkan oleh penambahan senyawa yang dapat membentuk garam selama proses hidrolisis, penambahan senyawa NaOH dan HCL untuk menyesuaikan kondisi pH optimum menyebabkan terbentuknya garam-garam mineral. Dong *et al.*, (2005) dalam Salamah *et al.*, (2011) menambahkan, senyawa alkali dan atau senyawa asam yang ditambahkan selama proses hidrolisis protein bertujuan untuk mencapai pH optimum enzim, pencampuran kedua senyawa tersebut akan menyebabkan terbentuknya senyawa garam yang dapat meningkatkan kadar abu pada hidrolisat protein ikan. Kadar abu dalam penelitian pembuatan hidrolisat protein ikan kresek ini masih dapat dikategorikan wajar yaitu 13,02%. Menurut Chalamaiah *et al.*, (2012) kadar abu hidrolisat protein ikan dilaporkan oleh banyak penelitian berkisar antara 0,45% sampai 27% dari total komposisi.

Bahan baku ikan kresek segar memiliki kadar karbohidrat lebih rendah bila dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan kresek. Hal ini dimungkinkan karena kadar karbohidrat yang terkandung dalam ikan kresek memang sedikit. Vijayakumar *et al.*, (2013) melaporkan bahwa ikan kresek memiliki kandungan karbohidrat 1,4 %. Pada hidrolisat protein ikan kresek ini memiliki kandungan kadar karbohidrat 1,13%. Hal ini dimungkinkan adanya penambahan molase dalam pembuatan hidrolisat tersebut.

Kadar kalsium hidrolisat protein ikan kresek lebih rendah bila dibandingkan bahan baku ikan kresek segar. Hal ini dimungkinkan karena sebagian kalsium yang ada pada bahan baku ikan kresek segar telah digunakan untuk nutrisi pertumbuhan khamir laut. Retnowati *et al.*, (2014) melaporkan bahwa selain sumber karbon, khamir laut juga memerlukan mineral untuk pertumbuhan dan metabolismenya. Sukoso (2012) menjelaskan bahwa mineral yang digunakan nutrisi khamir laut yaitu kalsium, pospor, ferrum, dan klor.

Derajat keasaman (pH) bahan baku ikan kresek lebih tinggi bila dibandingkan dengan pH hidrolisat protein ikan kresek. Hal ini dimungkinkan karena bahan baku ikan kresek masih dalam kondisi segar dan belum mengalami hidrolisis. Apabila bahan baku telah terhidrolisis, pH akan menurun. Hal ini dimungkinkan karena degradasi bahan organik saat fermentasi yang memicu banyaknya asam yang terbentuk.

Emulsi dan daya buih hanya ada pada hidrolisat protein ikan kresek. Hal ini dikarenakan emulsi dan daya buih sebagai parameter atau property tingkat kualitas dari hidrolisat protein tersebut. Koesoemawardani *et al.*, (2008) melaporkan dari penelitiannya bahwa kualitas produk hidrolisat protein terbaik ditandai dengan daya buih dan emulsi yang tinggi.

#### 4.2.8 Analisis Total Asam Amino

Ditinjau dari hasil analisis proksimat dan parameter hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) diperoleh hasil terbaik yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 9 hari dengan volume 450 mL. Hasil terbaik hidrolisat protein ikan kresek ini dianalisis total asam amino untuk mengetahui asam-asam amino yang terkandung dalam produk hidrolisat protein ikan kresek tersebut. Analisis data total asam amino hidrolisat protein ikan kresek dapat dilihat pada Lampiran 16. Kandungan asam amino hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) yang dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan herring (*Clupea harengus*) serta standart produk hidrolisat protein yang telah ditetapkan oleh FAO dan NRC dapat dilihat pada Tabel 9 berikut

Tabel 9

. Kandungan asam amino hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*), ikan herring (*Clupea harengus*), standart FAO/WHO, dan standart NRC

Kandungan Asam Amino (%)					
No	Jenis Asam Amino	Hidrolisat			
		Ikan Kresek <sup>1</sup> ( <i>Thryssa mystax</i> )	Ikan Hering <sup>2</sup>	FAO <sup>4</sup>	NRC <sup>5</sup>
Esensial					
1	Lisin	0,48	8,46	4,5	0,32
2	Histidin	0,14	1,22	1,5	4,02
3	Arginin	0,34	7,06	-	6,72
4	Leusin	0,52	8,42	5,9	2,33
5	Isoleusin	0,31	3,15	3	4,1
6	Threonin	0,35	4,74	2,3	1,51
7	Methionin	0,08	4,94	2,2	0,47
8	Valin	0,4	4,34	3,9	2,48
9	Triptofan	-	-	0,6	-
10	Phenilalanin	0,24	3,39	3,8	0,59
Non Esensial					
11	Glutamat	6,97	15,87	-	-
12	Sistin	-	-	2,2	-
13	Aspartat	1,18	10,72	-	-
14	Alanin	1,16	7,74	-	-
15	Serin	0,3	4,87	-	-
16	Glisin	0,44	7,59	-	-
17	Prolin	0,5	4,54	-	-
18	Tirosin	0,15	2,46	3,8	-
	Total	13,58	99,51	33,7	22,54

Sumber: 1 Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya (2015).  
 2 Liceaga-Gesualdo & Li-Chan (1999) dalam Chalamaiah et al., (2012)  
 3 FAO/WHO (2007) dalam Dieterich et al., (2014)  
 4 NRC (1993) dalam Ovissipour et al., (2010)

Tabel 9 menunjukkan bahwa asam amino yang diperoleh hidrolisat protein ikan kresek dan hidrolisat protein ikan herring, jumlah total asam amino yang di hasilkan antara ikan kresek dan ikan herring menunjukkan jumlah asam amino yang sama yaitu 18 asam amino. Hidayat (2011) menyatakan bahwa hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan 18-20 macam asam amino. Selain itu juga total asam amino yang dihasilkan oleh hidrolisat protein ikan kresek pada penelitian ini juga menunjukkan lebih rendah jumlahnya bila dibandingkan dengan

persen kadar protein yang dihasilkan dari hidrolisat ikan herring. Hal tersebut dimungkinkan karena tidak sepenuhnya yang terkandung dalam protein adalah murni asam-asam amino. Abun (2006), menjelaskan bahwa umumnya protein mengandung 16% unsur N terlarut dan kadang-kadang mengandung unsur fosfor atau sulfur. Protein juga merupakan suatu makromolekul atau molekul besar yang terbentuk dari molekul - molekul kecil yang terangkai secara berulang. Molekul yang membentuk suatu protein ialah asam amino yang biasa disebut juga monomer. Biasanya sifat polimer tidak hanya ditentukan dari sifat monomernya. Jadi belum tentu sama jumlah total asam amino dengan kadar protein dalam suatu bahan.

Berdasarkan hasil jumlah asam amino untuk setiap jenisnya, hidrolisat protein ikan kresek pada penelitian ini mengandung asam amino lebih rendah bila dibandingkan dengan hidrolisat lainnya. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan prosedur yang digunakan dalam pembuatan masing-masing hidrolisat protein tersebut. Perbedaan dari beberapa produk tersebut ditinjau dari enzim, lama fermentasi, dan bahan baku yang digunakan dalam pembuatan produk hidrolisat. Pada penelitian ini tidak menggunakan enzim protease murni, melainkan menggunakan khamir laut yang menghasilkan metabolit salah satunya berupa enzim protease. Sukoso (2012), melaporkan bahwa enzim yang dihasilkan oleh khamir laut antara lain proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid). Bueno *et al.*, (2008) menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar protein atau asam-asam amino yang dihasilkan.

Asam amino yang penting dan perlu mendapat perhatian khusus yaitu asam amino esensial. Mutu protein juga dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut. Pada prinsipnya, protein yang menyediakan asam amino esensial dalam komposisinya berarti protein tersebut

memiliki mutu yang tinggi dan dapat digunakan dalam kebutuhan manusia (Purbasari, 2008). Pada produk hidrolisat hampir semua jenis asam amino esensial dihasilkan kecuali triptofan. Hal ini dikarenakan triptofan akan mengalami kerusakan jika dianalisis pada saat proses hidrolisis asam. Untuk menganalisis asam amino tersebut harus menggunakan hidrolisis basa. Hidrolisis basa yang biasanya dilakukan menggunakan NaOH 2-4 N dan tidak merusak triptofan tetapi menyebabkan deaminasi terhadap asam amino lainnya (Hidayat, 2011). Berdasarkan tabel tersebut dapat diamati juga pada hidrolisat protein ikan kresek rebus dengan penambahan molase rebus tidak terdeteksi adanya asam amino sistin, dimungkinkan gugus fungsional sistin yaitu (-SH) atau tiolalkohol primer yang merupakan nukleofil untuk katalisis enzimatik menekan efek pelarut yang digunakan sehingga gugus fungsional sistin tidak memperlihatkan reaksi kimia.

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

#### 4.2.9 Analisis Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN), derajat hidrolisis digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis (Haslaniza *et al.*, 2010 dalam Prasetyo, 2015). Widadi (2011) dalam Prasetyo (2015) menyatakan bahwa pada tahap awal proses hidrolisis, enzim akan diserap ke dalam suspensi partikel substrat kemudian di dalamnya terjadi pemutusan ikatan peptida yang terjadi secara simultan. Pada konsentrasi tertentu, kecepatan hidrolisis akan mengalami penurunan dan memasuki tahap stasioner.

Nilai derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Karena derajat hidrolisis diukur dari perbandingan  $\alpha$ -amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN) maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek termasuk senyawa  $\alpha$ -amino nitrogen, derajat hidrolisisnya menjadi semakin tinggi. Derajat hidrolisis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi enzim, waktu hidrolisis, dan jenis enzim yang digunakan (Kurniawan *et al.*, 2012 dalam Prasetyo, 2015).

Proses hidrolisis protein ikan kresek menghasilkan derajat hidrolisis antara 1,09 - 2,00. Nilai derajat hidrolisis pada konsentrasi molase 600 mL yang terkecil terdapat pada perlakuan hari ke 0 sebesar 1,59 dan nilai derajat hidrolisis tertinggi pada hari ke 12 sebesar 1,199. Nilai derajat hidrolisis konsentrasi molase 450 mL yang terendah terdapat pada perlakuan hari ke 0 sebesar 1,61 dan nilai tertinggi pada hari ke 12 sebesar 2,00. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa derajat hidrolisis protein ikan kresek mengalami peningkatan, hal ini dimungkinkan dari jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim sehingga dapat di ambil kesimpulan bahwa semakin tinggi tingkat

pemecahan protein menjadi ikatan senyawa rantai pendek, derajat hidrolisis semakin tinggi.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu:

- Hidrolisat protein ikan kresek mengalami penurunan pada kadar airnya, pH, kadar abu, dan emulsi selama proses fermentasi HPI berlangsung, hal ini memiliki pengaruh besar pada produk HPI. Kadar karbohidrat, rendemen cair maupun pasta mengalami penurunan fluktuatif selama fermentasi. Sedangkan pada kadar protein, buih, dan lemak mengalami kenaikan yang fluktuatif selama proses fermentasi.
- Hidrolisat protein ikan kresek terbaik diperoleh pada lama fermentasi 9 hari dan volume molase 450 mL, diperoleh nilai rata-rata kadar protein 59,04%; rata-rata kadar air 10,53%; rata-rata kadar lemak 0,18%; rata-rata kadar abu 14,46%; rata-rata kadar karbohidrat 17,59%; rata-rata pH 4,03; rata-rata emulsi 51,55%; dan rata-rata daya buih 6,35%
- Hasil uji total asam amino dari hidrolisat protein ikan kresek menunjukkan untuk jenis asam amino yaitu lisin 0,48%; histidin 0,14%; arginin 0,34%; leusin 0,52%; isoleusin 0,31%; threonin 0,35%; methionin 0,08%; valin 0,4%; phenilalanin 0,24%; glutamat 6,97%; aspartate 1,18%; alanin 1,16%; serin 0,3%; glisin 0,44%; dan prolin 0,5%; tirosin 0,15%
- Kualitas hidrolisat protein ikan kresek (*Thryssa mystax*) dalam penelitian ini kurang memenuhi standart internasional hidrolisat protein yang telah ditetapkan oleh FAO dan NRC

## 5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu perlu adanya penambahan lama waktu fermentasi dalam pembuatan hidrolisat protein agar dapat lebih mengetahui kemampuan khamir laut dalam menghidrolisis protein serta tidak menutup kemungkinan mendapatkan hasil hidrolisis protein yang bagus.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Sccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. J. Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 15 (1): 49 – 55
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawari. 2011. Analisa Pangan. Dian Rakyat: Jakarta
- Anggraeni, Y. P. dan S. S. Yuwono. 2014. Pengaruh Fermentasi Alami pada Chips Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) terhadap Sifat Fisik Tepung Ubi Jalar Terfermentasi. J. Pangan dan Agroindustri. 2 (2): 59-70
- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington.D.C.USA
- Arifin, Z. 2008. Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro dalam Sistem Biologi dan Metode Analisisnya. J. Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 27 (3): 99-105
- Astuti, F. K., M. Junnus, and E. Setyowati. 2013 The Effect of Fermentation Time and Proportion Liquid Sludge for Crude Fiber in Sluge Organic Biogas. Skripsi. Faculty Farms. Brawijaya University
- Bamforth, C. W.. 2005. Food, Fermentation and Micro-organisms. New York
- Bekatorou, A., C. Psarianos, and A..A. Koutinas. 2006. Production of Food Grade Yeast. J. Food Technol. Biotech. 44 (3): 407 – 415
- Bernadeta, P. Ardiningsih, dan I. H. Silalahi. 2012. Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisat Protein dari Limbah Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. J. Pengeluaran Kas. 1 (1): 26 –30
- Bharathi, S., D. Saravanan, M. Radhakrishnan, and R. Balagurunathan. 2011. Bioprospecting of Marine Yeast with Special Refrence to Inulinase Production. J. Chem.Tech. Research. 3 (3): 1514-1519
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, dan M. Wootton. 1978. Ilmu Pangan. UI Press : Jakarta
- Bueno-Solano, C., J. L. Cervantes, O. N. C. Baypoli, R. L. Garcia, N. P. A. Bante, and D. I. S. Machado. 2008. Chemical and Biological Characteristics of Protein Hydrolysates from Fermented Shrimp by-products. Article. Mexico
- Chalamaiah, M., B. Dinesh Kumar, R. Hemalatha, T. Jyothirmayi. 2012. Fish Protein Hydrolysates: Proximate Composition, Amino Acid Composition, Antioxidant Activities and Applications. Review. Food Chemistry. 135 : 3020-3038
- Chen Y., F. Yanagida, L. Yu Chen. 2009. Isolation of marine yeasts from coastal waters of northeastern Taiwan. Aquatic Biology Journal. Vol.8 : 55-60

- Dewi, G. C. 2002. Studi Penggunaan Enzim Papain pada Produksi Hidrolisat Protein Ikan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Dieteric, F., W.R. Boscolo, M.T. Bertoldo Pacheco, V.S. Nunes da Silva, G.S. Goncalves, and R.M. Vidotti. 2014. Development and Characterization of Protein Hydrolysate Originated from Animal Agro Industrial Byproducts. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. Volume 1 Issue 2
- Dijken, J.P. and Scheffers W.A. 1986. Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts. Department of Microbiology and Enzymology, Delft University of Technology. Netherlands
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia: Jakarta
- Fathony, A. 2014. Pengaruh Volume Molase Rebus dan Lama Fermentasi Yang Berbeda Dengan Starter Khamir Laut Terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Kepala Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang
- Fatimah, L. 2006. Beberapa Aspek Reproduksi Ikan Kresek (*Thryssa mystax*) Pada Bulan Januari-Juni Di Perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur. Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan, FPIK, IPB. Bogor
- Fauziah, S. Sirajuddin, dan U. Najamuddin. 2014. Analisis Kadar Asam Lemak Bebas dalam Gorengan Minyak Bekas Hasil Pengorenan Makanan Jajanan di *Workshop Universitas Hasanuddin*. *Workshop*. Universitas Hasanuddin. Makasar
- Febriani. 2001. Pemanfaatan Fungi sebagai Sumber Protein Nabati Alternatif untuk Pertumbuhan dan Konversi Pakan Juvenile Ikan Kerapu Tikus. *J. Agritek*. 11 (2): 2764-2769
- Gbogouri, G.A., M. Linder, J. Fanni, and M. Parmentier. 2004. Influence of Hydrolysis Degree on The Functional Properties. *J Food Science*. 69 (8): 615-622
- Hadiwiyoto, S. 1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Jilid 1. Liberty. Yogyakarta
- Handayani, W., Ratnadewi, dan Agung B. 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*). Departemen Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember. Jember
- Hartanto, R. 2003. Modul Metodologi Penelitian. Universitas Diponegoro. Semarang
- Haslina. 2004. Nilai Gizi, Daya Cerna Protein dan Daya Terima Patilo sebagai Makanan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang

- Haslina, S. F. Muis, dan Suyatno. 2006. Nilai Gizi, Daya Cerna Protein dan Daya Terima Patilo sebagai mekanaan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair. *J. Gizi Indo*. 1 (2): 34-40
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Holihah. 2005. Pengaruh Penambahan Molase terhadap Keefektifan Ekstrak Kompos untuk Pengendalian *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butter dan Bisby Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Indah, R. E dan W. H. Susanto. 2013. Pengaruh pemberian Guala Pasir dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Sirup Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Indratwari, A. 2010. Karakteristik Ekstrak Khamir Laut dalam Hidrolisat Protein Kepala Ikan Peperek (*Lelognathus sp.*). Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang
- Irma, K., D. Z. Arief, dan T. S. Ela. 1997. Pengaruh Konsentrasi Getah Pepaya (*Carica papaya, Linn*) dan Waktu Hidrolisis terhadap Hidrolisat Protein Kepala Udang Windu (*Karapaks penaeus monodon*). Prosiding Seminar Tek. Pangan. hlm. 271-282
- Jannah, A. K. 2012. Pengaruh Khamir Laut Jenis Campuran yang dipanen pada Fase Log dalam Menghidrolisis Protein Kerang Darah (*Anadara granosa*). Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang
- Koesoemawardani, D. dan S. Hadiwiyoto. 2001. Produksi Hidrolisat Protein Ikan Kembung. Himpunan Makalah Seminar Teknologi Pangan Buku A. Teknologi Pangan dan Rekayasa. Semarang
- Koesoemawardani, D., F. Nuraini, dan Hidayati. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat protein ikan Rucah. *J. Natur Indo*.13 (3): 256 – 261
- Kurniati, L. I., N. Aida, S. Gunawan, dan T. Widjaja. 2012. Pembuatan MOCAF (Modifies Cassava Flour) dengan Proses Fermentasi menggunakan *L. plantarum*, *S. cereviseae*, dan *R. oryzae*. *J. Teknik Pomits*. 1 (1): 1-6
- Kusmartono, B. dan M. A. Noya. 2008. Hidrolisis Kolagen Pembuatan Lem dari Kulit Split dengan Katalisator  $H_2SO_4$ . *J. Teknologi*. 1 (1): 78-82
- Murray, Robert K., Granner Daryl K, Rodwell Victor W. 2009. Biokimia Harper. Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran
- Musfiroh, I., Wiwiek I., Muchtaridi, Yudi S. 2007. Analisis Proksimat dan Penetapan Kadar  $\beta$ -Karoten dalam Selai Lembaran Terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.) Dengan Metode Sepktrofotometri Sinar Tampak. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran

- Ni, X., L. Yue, J. Li, Z. Chi, Z. Liu, and C. Mazdak. 2009. Properties of alkaline protease genetically engineered on cell surface of the yeast (*Yarrowia lipolytica*). J.Biochem. Biophysic. 46: 294-498
- Noviati, M. 2007. Optimasi Kadar Molase dalam Medium Ekstrak Ubi Jalar untuk Pertumbuhan Isolat Khamir R1 dan R2 pada Permentor AIR-LIFT 18 Liter. Skripsi. Universitas Islam Negeri: Jakarta
- Nurhayati, T., E. Salamah, Cholifah, R. Nugraha. 2014. Optimasi Proses Pembuatan Hidrolisat Jeroan Ikan Kakap Putih. JPHPI. Vol 17 (1)
- Nurul F. Ahmad, M. Junus, dan Moch. Nasich. 2013. Pengaruh Penambahan Molases Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Padatan Lumpur Organik Unit Gas Bio. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Ovissipour, M., A.A. Kenari, A. Motamedzadegan, R.M. Nazari. 2010. Opimization of Enzimatic Hydrolysis of Visceral Waste Proteins of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*). Original paper. Food Bioprocess Technol. DOI 10.1007/s11947 -010-0357-x
- Palupi, N. S., F. R. Zakaria, dan E. Prangdimurti. 2007. Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi Pangan. Modul *e-Learning* IPB. Bogor
- Perwitasari, D. S. dan A. Cahyo. 2009. Pembuatan Dekstrin sebagai Bahan Perekat dari Hidrolisis Pati Umbi Talas dengan Katalisator HCl. Chemical Engineering Seminar tanggal 18 Juni 2009: hlm: 1-8
- Prasetyo, Yuda E. 2015. Pembuatan Hidrolisat Protein Enceng Gondok (*Eichorina crassipes*) Segar Menggunakan Starter Khamir Laut dan Molase Rebus Dengan Proses Fermentasi. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jurusan Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang
- Priani, N. 2003. Metabolisme Bakteri. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Sumatera
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakteristik Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*A. striata*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*C. obtusa*). J. Ilmu Kelautan. 17 (1): 39-48
- Puspitasari, N. dan Mohammad S. 2009. Pengaruh Jenis Vitamin B dan Sumber Nitrogen Dalam Peningkatan Kandungan Protein Kulit Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro. Semarang
- Rahim, D. A. 2009. Produksi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* dari sirup dekstrin Pati Sagu Metroxylon sp, menggunakan Metode Aerasi Penuh dan Aerasi Dihentikan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Retnowati Y., W.D. Uno, S. Kumaji, dan Y. Humokor. 2014. Pertumbuhan

Kapang *M. purpureus*, *A. flafus* dan *Penicillium sp.* pada Media Beras Jagung dan Kombinasi Beras Jagung. Jurusan Biologi. Universitas Negeri Gorontalo

Rieuwpassa, F.J., J. Santoso, dan W. Trilaksani. 2013. Karakterisasi Sifat Fungsional Kosentrat Protein Telur Ikan Cakalang (*K. pelamis*). J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis. 5 (2): 299-309

Rosdianti, I. 2008. Pemanfaatan Enzim Papain dalam Produksi Hidrolisat Protein dari Limbah Industri Minyak Kelapa. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Roslan, J., Md. Y. K. Faezah, A. Norhafizah, M. Siti, K. Mustapa. 2014. Characterization of Fish Protein Hydrolysate from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-Product. Agriculture and Agricultural Science Procedia (2) : 312 – 319

Sadika, G.T. 2012. Pengaruh Kebiasaan Mengonsumsi Ikan Laut Terhadap Prevalensi Karies Gigi di Desa Wringin Anom Kecamatan Asembagus Kabupaten Situbondo. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember

Salamah, E., T. Nurhayati, dan I. R. Widadi. 2012. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. JPHPI. Vol 15 (1)

Salwane, S., W. M. Wan Aida, S. Mamot, M. Y. Maskat, and S. Ibrahim. 2013. Effect of Enzyme Concentration, Temperature, pH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna (*Euthynnus affinis*) by Using Alcalase. J. Sains Malaysiana. 42 (3): 279 – 287

Sari, R. D. 2011. Optimasi Produksi Etanol oleh Flocculant *Sacchromyces cerevisiae* (NRRL – Y 265) dari Tetes Tebu (Kajian Kecepatan Agitasi dan Konsentrasi Urea). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang

Selvan J, Varadharjan D, Babu A, and Balasubramanian T. 2013. Taxonomy and Identification of Finfish Egg from Muthupettai, South East Coast of India. J. Cytol Histol. 4 : 5

Septiani, Y., T. Purwoko, dan A. Pangastuti. 2004. Kadar Karbohidrat, Lemak, dan Protein pada Kecap dari Tempe. J. Biotech. 1 (2): 48-53

Simanjorang, E., N. Kurniawati, dan Z. Hasan. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain dengan Konsentrasi yang Berbeda terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. J. Perikanan dan Kelautan. 3 (4): 209-220

Simanjuntak, R. 2009. Studi Pembuatan Etanol Dari Limbah Gula. Departemen Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Sumatera

- Simbolon, K. 2008. Pengaruh Presentase Ragi Tape dan Lama Fermentasi terhadap Mutu Tape Ubi Jalar. Skripsi. Universitas Sumatera Utara Sitompul, R. 2011. Teknologi Energi Terbarukan yang Tepat untuk Aplikasi di Masyarakat Pedesaan. PNPM Support Facility (PSF): Jakarta
- SNI 06-6989.11-2004. Air dan Air Limbah – Bagian 11: Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. Badan Standarisasi Nasional
- Sugoro, I. 2006. Optimasi Sumber Nitrogen Probiotik Khamir R1 dan R110 dalam Medium Ekstrak Singkong. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. hlm. 905-911
- Sukoso. 2012. Eksplorasi Potensi Khamir Laut. PPSUB: Malang
- Sulistiani, E. 2009. Pengaruh Waktu Penyimpanan terhadap Nilai Asam Lemak yang Mudah Menguap (VFA) pada Lateks dalam Pembuatan Karet Remah di PT. Bridgestone Sumatera Rubber Estate. Karya Ilmiah. Universitas Sumatera Utara
- Sulistiono, Nia T, dan Murniarti B. 2009. Kebiasaan Makanan Ikan Kresek (*Tryssa mystax*) Di Perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur. Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan, FPIK, IPB. Bogor
- Sulistiono, Fifit M, Murniarti B, dan Charles P H Simanjuntak. 2010. Kebiasaan Makanan Ikan Kresek (*Tryssa mystax*) Di Perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur. Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan, FPIK, IPB. Bogor
- Sulistyo, D. R. Arief, dan A. Nur. 2007. Pembuatan Nata dari Limbah Cair Tahu dengan menggunakan Molasses sebagai Sumber Karbon *Acetobacter Xylinum*. J. Ekulibrium. 6 (1): 1 – 5
- Suprihatin. 2010. Teknologi Fermentasi. UNESA University Press. Semarang
- Varghese, M., Thomas, V.J., Sreekumar, K.M., Smruthu Mohan and Stegy Joseph. 2013. Large sized moustached *Thryssa*, *Thryssa Mystax* (Bloch & Schneider, 1801) recorded from Cochin coast in Kerala. Marine Fisheries Information Service T&E. 217
- Vijayakumar N, D. Sakthivel, and V. Anandhan. 2014. Proximate Composition Of Clupeidae and Engraulidae Inhabiting In Thengaithitu Estuary Puducherry-South East Coast Of India. Department of Zoology, Kanchi Mamunivar Centre for Post - Graduate Studies (Autonomous), Lawspet, Puducherry. India
- Whitehead, P.J.P., G.J. Nelson and T. Wongratana. 1988. Clupeoid fishes of the World (Suborder clupeioidi): an annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf herrings. Part 2. Engraulidae. FAO Fish. Synop. 125: 305–579
- Widadi, I. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor

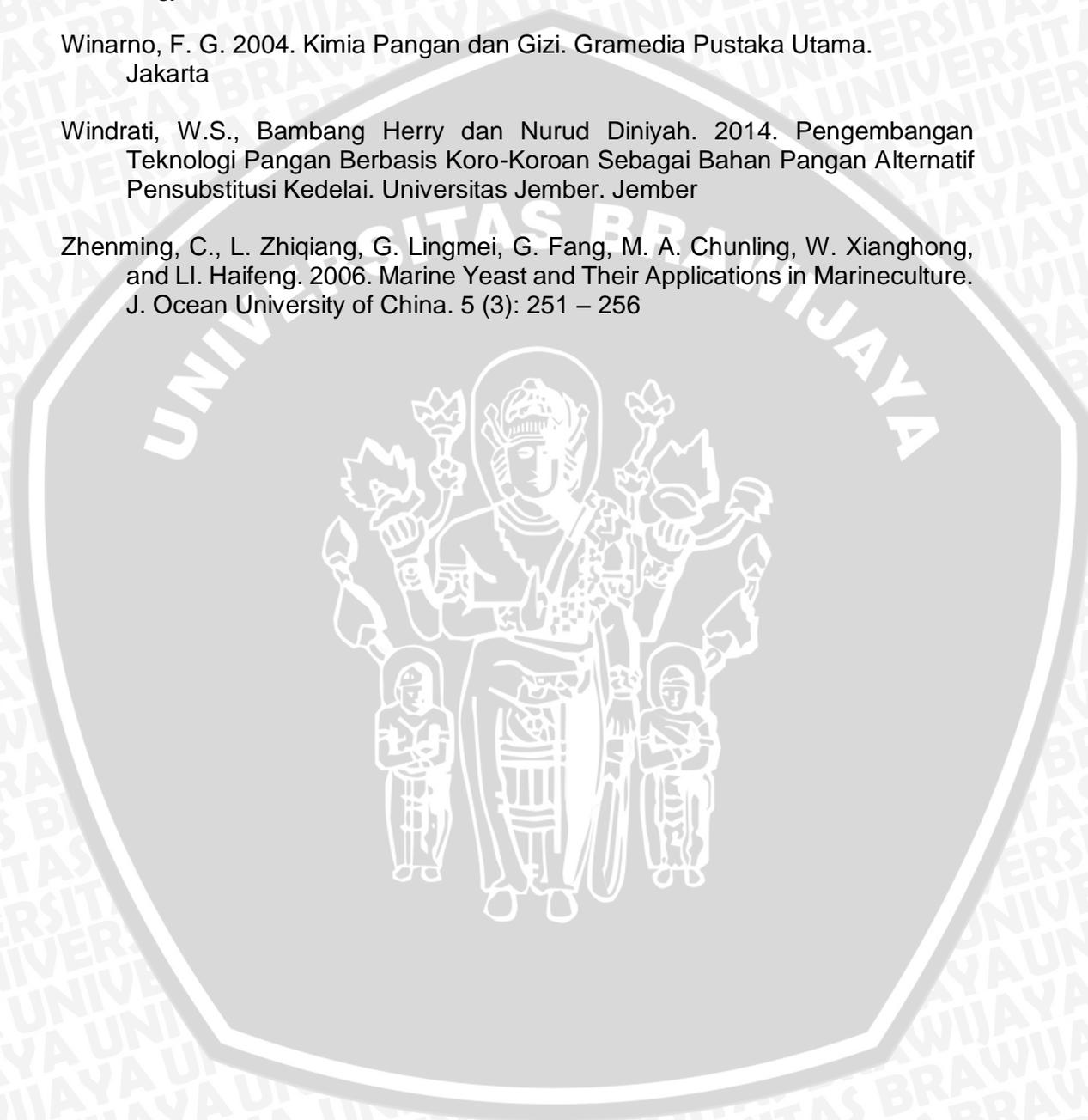
Widyasari, R. A. H. 2000. Pemanfaatan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) dalam Pengolahan "Cookies" sebagai Makanan Tambahan Balita. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor

Williams. 2007. Teori Pengembangan Konsep dan Aplikasi. Pustaka Belajar: Yogyakarta

Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Windrati, W.S., Bambang Herry dan Nurud Diniyah. 2014. Pengembangan Teknologi Pangan Berbasis Koro-Koroan Sebagai Bahan Pangan Alternatif Pensubstitusi Kedelai. Universitas Jember. Jember

Zhenming, C., L. Zhiqiang, G. Lingmei, G. Fang, M. A. Chunling, W. Xianghong, and LI. Haifeng. 2006. Marine Yeast and Their Applications in Marineculture. J. Ocean University of China. 5 (3): 251 – 256



## LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan komposisi kultur khamir laut

❖ Air laut = 1 Liter = 1000 mL

❖ Gula pasir 0,5%

$$0,5\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,5\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{1000 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$= 5 \text{ mL} = 4,5 \text{ g} \approx 5 \text{ g}$$

Jadi gula pasir yang digunakan dalam kultur khamir laut sejumlah 5 g

❖ Pupuk daun 0,2%

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

0,5%

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{1000 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$= 2 \text{ mL} = 1,8 \text{ g} \approx 2 \text{ g}$$

Jadi pupuk daun yang digunakan dalam kultur khamir laut sejumlah 2 g

❖ Starter khamir laut 0,2%

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya starter khamir laut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,2\% = \frac{\text{banyaknya starter khamir laut}}{1000 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$= 2 \text{ mL}$$

Jadi starter khamir laut yang digunakan dalam kultur khamir laut sejumlah

2 mL

## Lampiran 2. Perhitungan komposisi media pengenceran kultur khamir laut

- ❖ Air laut = 50 mL

- ❖ Gula pasir 0,25%

$$0,25\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,25\% = \frac{\text{banyaknya gula pasir yang terlarut}}{50 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$= 0,125 \text{ g}$$

Jadi gula pasir yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut sejumlah 0,125 g

- ❖ Pupuk daun 0,1%

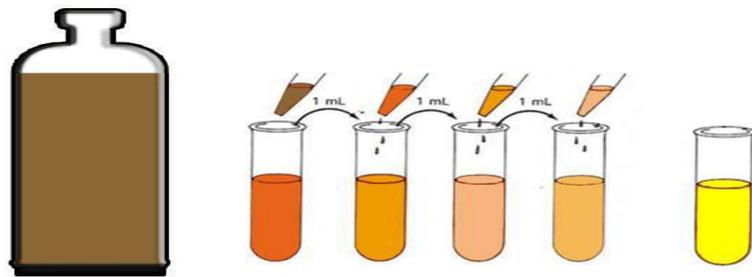
$$0,1\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{\text{volume air laut}} \times 100\%$$

$$0,1\% = \frac{\text{banyaknya pupuk daun yang terlarut}}{50 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$0,5\% = 0,05 \text{ g}$$

Jadi pupuk daun yang digunakan dalam media pengenceran kultur khamir laut sejumlah 0,05 g

Lampiran 3. Jumlah kepadatan sel khamir laut saat dilakukan pengenceran



Kultur khamir laut yang telah diaerasi  $10^{-1}$   $10^{-2}$   $10^{-3}$   $10^{-4}$  kontrol

Pengamatan hari 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 10,0969 sel

0,05 mL  $\approx$  10,0969 sel

5 mL = 1009,69 sel

1 mL = 201,938 sel

1 tabung reaksi = 10 mL  $\approx$  2019,38 sel (tabung  $10^{-4}$ )

$10^{-3}$  = 20193,8 sel

$10^{-2}$  = 201938 sel

$10^{-1}$  = 2019380 sel

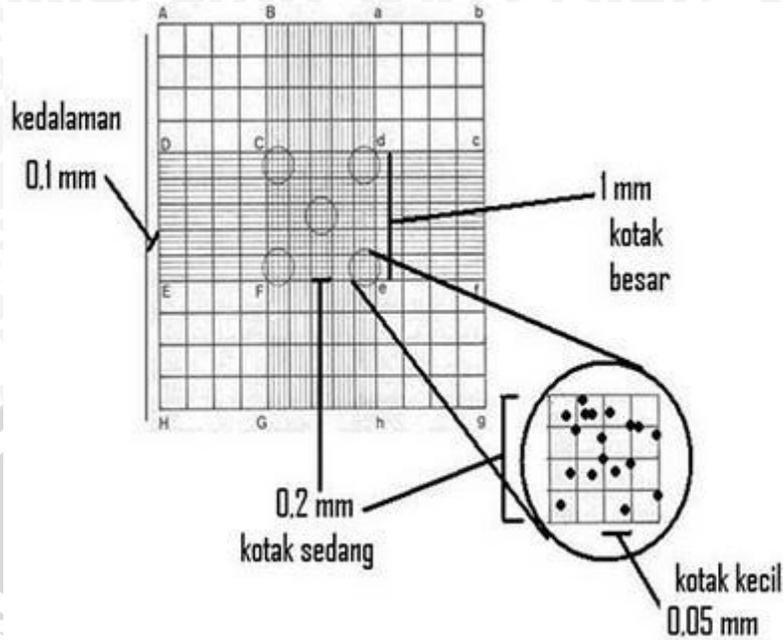
1 mL =  $2,01938 \times 10^6$  sel

1 Lt =  $2,01938 \times 10^9$  sel

Jadi dalam 1 liter kultur khamir laut pada hari ke- 0 terdapat  $2,01938 \times 10^9$  sel

khamir laut

Lampiran 4. Perhitungan kepadatan sel khamir laut



Pengujian kepadatan sel khamir laut menggunakan kotak sedang pada hemositometer.

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

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

karena 1 mL = 1 cm<sup>3</sup>

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

Jadi, formula dalam menentukan jumlah sel yaitu:

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

atau,

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

Pengamatan jam ke-0

Pojok kanan atas = 1

Pojok kanan bawah = 0

Pojok kiri atas = 1

Pojok kiri bawah = 2

Tengah = 0

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (1+0+1+2+0)/5 \\ &= 4/5 \\ &= 0,8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/ml} &= 0,8 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 0,2 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ &= 9,301 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-1

Pojok kanan atas = 3

Pojok kanan bawah = 5

Pojok kiri atas = 3

Pojok kiri bawah = 3

Tengah = 3

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (3+5+3+3+3)/5 \\ &= 17/5 \\ &= 3,4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/ml} &= 3,4 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 0,85 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ &= 9,429 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-2

Pojok kanan atas = 3

Pojok kanan bawah = 2

Pojok kiri atas = 2

Pojok kiri bawah = 7

Tengah = 4

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (3+2+2+7+4)/5 \\ &= 18/5 \\ &= 3,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/ml} &= 3,6 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 0,9 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ &= 9,954 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-3

Pojok kanan atas = 0

Pojok kanan bawah = 6

Pojok kiri atas = 10

Pojok kiri bawah = 1

Tengah = 10

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (0+6+10+1+10)/5 \\ &= 27/5 \\ &= 5,4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/ml} &= 5,4 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 1,35 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ &= 10,130 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-4

Pojok kanan atas = 11

Pojok kanan bawah = 5

Pojok kiri atas = 8

Pojok kiri bawah = 16

Tengah = 11

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel} &= (11+5+8+16+11)/5 \\ &= 51/5 \\ &= 10,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel/ml} &= 10,2 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\ &= 2,55 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\ &= 10,406 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-5

Pojok kanan atas = 5

Pojok kanan bawah = 8

Pojok kiri atas = 54

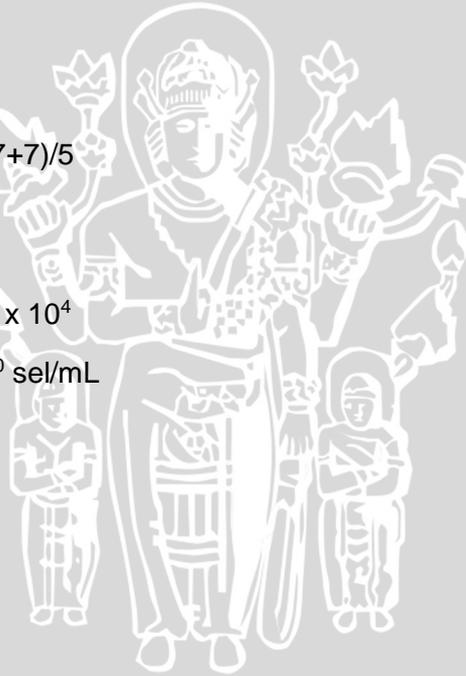
$$\begin{aligned}
 \text{Pojok kiri bawah} &= 11 \\
 \text{Tengah} &= 4 \\
 \text{Jumlah sel} &= (5+8+54+11+4)/5 \\
 &= 82/5 \\
 &= 16,4 \\
 \text{Jumlah sel/ml} &= 16,4 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\
 &= 4,1 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\
 &= 10,612
 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-6

$$\begin{aligned}
 \text{Pojok kanan atas} &= 7 \\
 \text{Pojok kanan bawah} &= 2 \\
 \text{Pojok kiri atas} &= 22 \\
 \text{Pojok kiri bawah} &= 7 \\
 \text{Tengah} &= 7 \\
 \text{Jumlah sel} &= (7+2+22+7+7)/5 \\
 &= 45/5 \\
 &= 9 \\
 \text{Jumlah sel/ml} &= 9 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\
 &= 2,25 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\
 &= 10,352
 \end{aligned}$$

Pengamatan jam ke-7

$$\begin{aligned}
 \text{Pojok kanan atas} &= 10 \\
 \text{Pojok kanan bawah} &= 6 \\
 \text{Pojok kiri atas} &= 11 \\
 \text{Pojok kiri bawah} &= 6 \\
 \text{Tengah} &= 10 \\
 \text{Jumlah sel} &= (10+6+11+6+10)/5 \\
 &= 43/5 \\
 &= 8,6 \\
 \text{Jumlah sel/ml} &= 8,6 \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times 10^4 \\
 &= 2,15 \times 10^{10} \text{ sel/mL} \\
 &= 10,332
 \end{aligned}$$



Lampiran 5. Perhitungan penelitian pendahuluan rendemen cair hidrolisat protein ikan kresek dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Perlakuan		Rendemen (%)	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)
Lama Fermentasi	Volume molase segar			
3 hari	450 mL	64,99%	251,48	163,44
	600 mL	82%	309,66	253,92
6 hari	450 mL	84,55%	251,48	212,62
	600 mL	97,01%	309,66	300,4
9 hari	450 mL	75,65%	251,48	190,24
	600 mL	85%	309,66	263,21
12 hari	450 mL	68,48%	251,48	172,21
	600 mL	80%	309,66	247,73

$$\text{Rumus \%Rendemen} = \frac{\text{Berat Akhir} \times 100\%}{\text{Berat Awal}}$$



Lampiran 6. Data derajat hidrolisis protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata	Standar Deviasi	%N sample	%N HPI	%DH
Lama Fermentasi	Volume Molase Rebus	I	II	III						
0 hari (kontrol)	450mL	37,650	50,770	54,190	142,610	47,537	8,731193122	1,628	7,606	4,67
	600mL	62,690	44,920	33,100	140,710	46,903	14,89436918	1,628	7,505	4,61
3 hari	450mL	47,350	54,0735	52,090	153,514	51,171	3,454642396	1,628	8,187	5,03
	600mL	50,720	54,720	41,910	147,350	49,117	6,55378008	1,628	7,859	4,83
6 hari	450mL	43,830	56,070	65,420	165,320	55,107	10,82718954	1,628	8,817	5,42
	600mL	58,490	60,250	48,200	166,940	55,647	6,508765884	1,628	8,903	5,47
9 hari	450mL	57,090	57,780	56,880	171,750	57,250	0,470850295	1,628	9,160	5,63
	600mL	60,940	64,220	51,960	177,120	59,040	6,346999291	1,628	9,446	5,80
12 hari	450mL	45,300	45,870	78,750	169,920	56,640	19,14994256	1,628	9,062	5,57
	600mL	54,670	67,260	54,700	176,630	58,877	7,260195131	1,628	9,420	5,79

- CARA MENGHITUNG % N sampel
- ✓ Dihitung dari jumlah % N HPI / jumlah % N sampel
- ✓ % N didapat dari :

$$\%P = \%N \times 6,25$$

$$\%N = \%P / 6,25$$

Lampiran 7. Perbandingan data penelitian pendahuluan volume cairan dan rendemen hidrolisat protein ikan kresek dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Perlakuan		Rendemen (%)	Volume Hidrolisat (mL)
Lama Fermentasi	Volume molase segar		
3 hari	150 mL	64.99	163
	200 mL	82	254
6 hari	150 mL	84.55	212
	200 mL	97.01	300
9 hari	150 mL	75.65	190
	200 mL	85.00	263
12 hari	150 mL	68.48	172
	200 mL	80.00	248



Lampiran 8. Data proksimat sampel ikan kresek segar



**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU dan KEAMANAN PANGAN**

*(Testing Laboratory of Food Quality and Food Safety)*

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Jl. Veteran, Malang 65145, Telp/Fax. (0341) 573358

E-mail : labujipangan\_thpub@yahoo.com

**KEPADA : Ananta Wira P.**

**TO FPIK - UB  
MALANG**

**LAPORAN HASIL UJI**  
**REPORT OF ANALYSIS**

Nomor / Number : 4758/THP/LAB/2014  
 Nomor Analisis / Analysis Number : 4758  
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 17 September 2014

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian

*The undersigned ratifies that examination*

Dari contoh / of the sample (s) of : Ikan Glotek

Untuk analisis / For analysis :

Keterangan contoh / Description of sample :

Diambil dari / Taken from :

Oleh / By :

Tanggal penerimaan contoh / Received : 08 September 2014

Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 08 September 2014

Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Parameter	Hasil
Protein (%)	15,86
Lemak (%)	1,50
Air (%)	74,40
Abu (%)	6,05
Karbohidrat (%)	2,19
Ca (ppm)	263,92

HASIL PENGUJIAN HANYA BERLAKU UNTUK  
 CONTOH YANG TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL  
 CONTOH HARUS MENJAWAB ATAS KEBENARAN  
 TANGGAPAN

Ketua,

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.Sc.  
 NIP. 19631216 198803 1 002



## Lampiran 9. Data analisa proksimat pasta hidrolisat protein ikan kresek

**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU dan KEAMANAN PANGAN***(Testing Laboratory of Food Quality and Food Safety)*

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Jl. Veteran, Malang 65145, Telp/Fax. (0341) 573358

E-mail : labujipangan\_thpub@yahoo.com

**KEPADA : Slamet Abdullah  
TO FPIK - UB  
MALANG**

**LAPORAN HASIL UJI  
REPORT OF ANALYSIS**

Nomor / Number : 065/THP/LAB/2015  
 Nomor Analisis / Analysis Number : 065  
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 23 Januari 2015  
 Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian  
*The undersigned ratifies that examination*  
 Dari contoh / of the sample (s) of : Pasta hidrolisat Protein Ikan Glotek  
 : Rebus dengan Molase Rebus  
 Untuk analisis / For analysis :  
 Keterangan contoh / Description of sample :  
 Diambil dari / Taken from :  
 Oleh / By :  
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 08 Januari 2015  
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 08 Januari 2015  
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Parameter	S0	S3	S6	S9	S12
Protein (%)	54,67	60,94	50,72	58,49	62,69
Lemak (%)	0,03	0,02	0,03	0,02	0,04
Air (%)	18,14	16,45	8,43	10,38	9,92
Abu (%)	14,35	14,30	15,27	14,10	14,03
Karbohidrat (%)	12,81	8,29	25,55	17,01	13,32
Ca (ppm)	174,26	152,38	123,97	101,72	84,69

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK  
CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL  
CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN  
TANDING BARANG



Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.Sc.  
NIP. 19631216 198803 1 002

Lampiran 10. Data analisa proksimat pasta hidrolisat protein ikan kresek



**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU dan KEAMANAN PANGAN**  
(Testing Laboratory of Food Quality and Food Safety)

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Jl. Veteran, Malang 65145, Telp/Fax. (0341) 573358  
E-mail : labujipangan\_thpub@yahoo.com

**KEPADA : Slamet Abdullah**  
**TO FPIK - UB**  
**MALANG**

**LAPORAN HASIL UJI**  
**REPORT OF ANALYSIS**

Nomor / Number : 0395/THP/LAB/2015  
Nomor Analisis / Analysis Number : 0395  
Tanggal penerbitan / Date of issue : 08 Juni 2015  
Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian  
The undersigned ratifies that examination  
Dari contoh / of the sample (s) of : Hidrolisat Protein Ikan  
Untuk analisis / For analysis :  
Keterangan contoh / Description of sample :  
Diambil dari / Taken from :  
Oleh / By :  
Tanggal penerimaan contoh / Received : 21 April 2015  
Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 21 April 2015  
Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Kode	Protein (%)
150	41,56
300	46,29
450	42,49
U2 SH0, 600	67,26
U2 SH3, 600	64,22
U2 SH6, 600	54,72
U2 SH9, 600	60,15
U2 SH12, 600	44,92
U3 SH0, 600	54,70
U3 SH3, 600	51,96
U3 SH6, 600	41,91
U3 SH9, 600	48,20
U3 SH12, 600	33,10
U1SH0, 450	37,65
U1SH3, 450	47,35
U1SH9, 450	40,32
U2SH0, 450	50,77
U2SH9 450	42,38
U2SH6, 450	56,07
U3SH0, 450	54,19
U3SH3, 450	52,09
U3SH9, 450	78,75
U1SH12,450	57,09
U2SH12,450	57,78
U3SH12,450	56,88

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK  
CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL  
CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN



## Lampiran 11. Data analisa kalsium pasta hidrolisat protein ikan kresek

**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU dan KEAMANAN PANGAN***(Testing Laboratory of Food Quality and Food Safety)***JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN****FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN****UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Jl. Veteran, Malang 65145, Telp/Fax. (0341) 573358

E-mail : labujipangan\_thpub@yahoo.com

**KEPADA : Slamet Abdullah****TO FPIK-UB  
MALANG****LAPORAN HASIL UJI  
REPORT OF ANALYSIS**

Nomor / Number : 0545/THP/LAB/2015  
 Nomor Analisis / Analysis Number : 0545  
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 12 Agustus 2015  
 Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian  
*The undersigned ratifies that examination*  
 Dari contoh / of the sample (s) of : Hidrolisat Protein Ikan Rebus &  
 : Molase rebus  
 Untuk analisis / For analysis :  
 Keterangan contoh / Description of sample :  
 Diambil dari / Taken from : -  
 Oleh / By : -  
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 31 Juli 2015  
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 31 Juli 2015  
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Parameter	Hasil
Ca (ppm)	22,86

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK  
 CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL  
 CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN  
 TANDING BARANG

Ketua,

Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP  
 NIP. 19700504 199903 2 002



## Lampiran 12. Data analisa asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek



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: 075/LSIH-UB/3-LU/VIII/2015

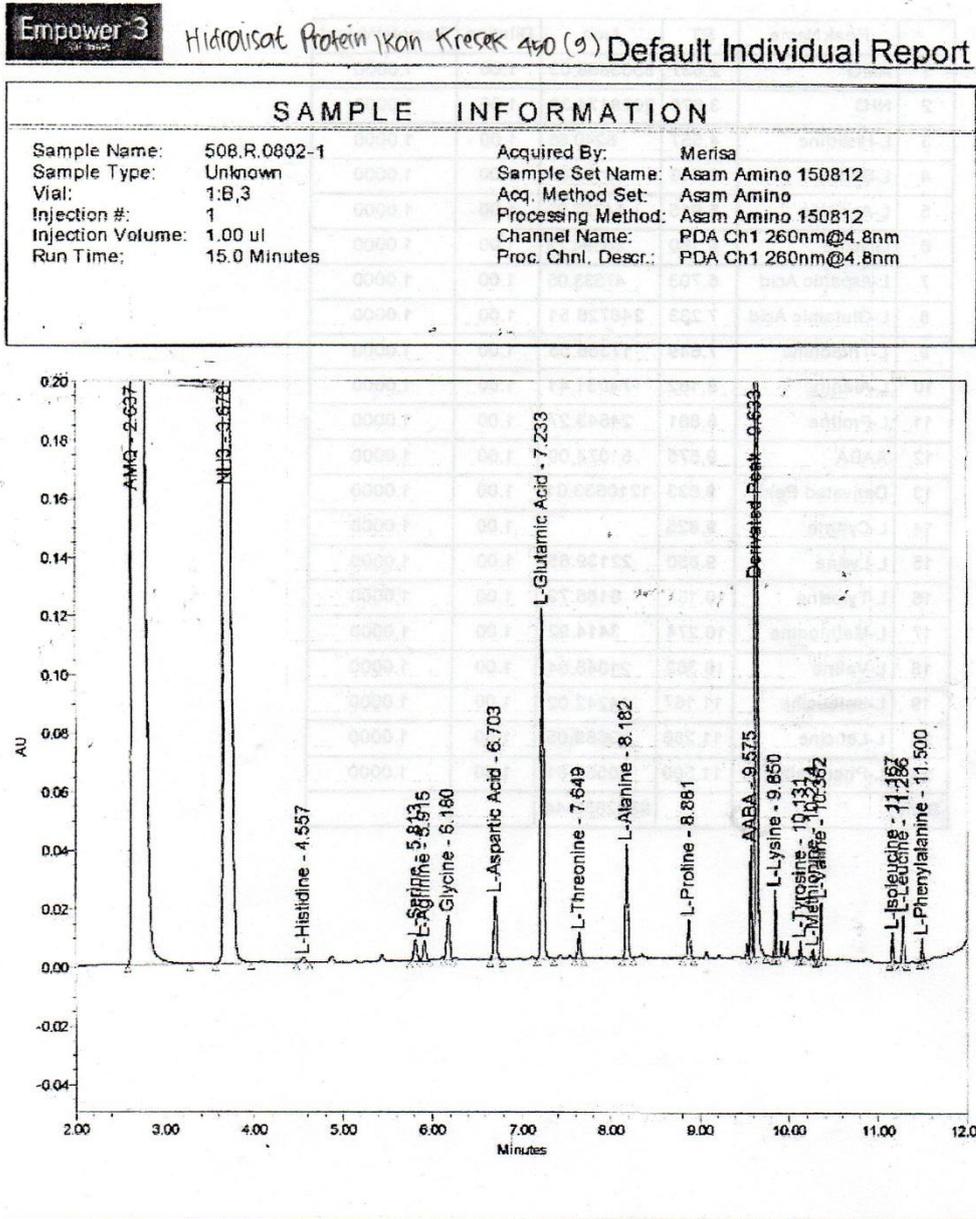
kode sampel uji: Hidrolisat Protein Ikan Kresek 450 (9)

Hasil Uji :

No.	Parameter Asam amino	Satuan	Hasil
1	Valin	%	0.40
	Threonin	%	0.35
	Lisin (Lysine HCl)	%	0.48
	Serin	%	0.30
	Isoleusin	%	0.31
	Alanin	%	1.16
	Histidin	%	0.14
	Phenilalanin	%	0.24
	Glutamat	%	6.97
	Tirosin	%	0.15
	Prolin	%	0.50
	Arginin	%	0.34
	Glisin	%	0.44
	Leusin	%	0.52
	Aspartat	%	1.18
	Metionin	%	0.08
	Sistin	%	Not detected
	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>13.58</b>



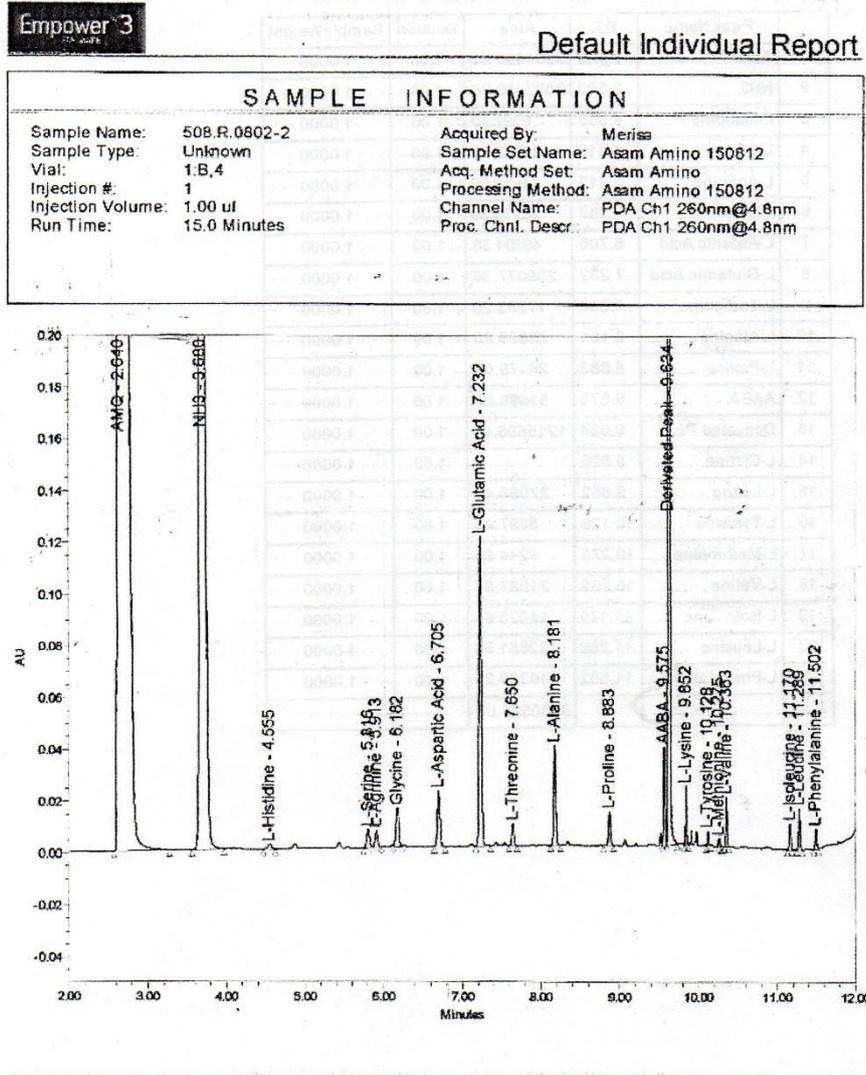
Lampiran 13. Data kromatografi asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek



## Lampiran 14. Data analisis asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek

	PeakName	RT	Area	Dilution	SampleWeight
1	AMQ	2.637	5503868.03	1.00	1.0000
2	NH3	3.678	2029174.39	1.00	1.0000
3	L-Histidine	4.557	6240.86	1.00	1.0000
4	L-Serine	5.813	18137.69	1.00	1.0000
5	L-Agrrinine	5.915	14757.92	1.00	1.0000
6	Glycine	6.180	36594.73	1.00	1.0000
7	L-Aspartic Acid	6.703	47533.05	1.00	1.0000
8	L-Glutamic Acid	7.233	246726.51	1.00	1.0000
9	L-Threonine	7.649	17366.55	1.00	1.0000
10	L-Alanine	8.182	74031.41	1.00	1.0000
11	L-Proline	8.881	24643.27	1.00	1.0000
12	AABA	9.575	51074.00	1.00	1.0000
13	Derivated Peak	9.633	1210633.01	1.00	1.0000
14	L-Cystine	9.825		1.00	1.0000
15	L-Lysine	9.850	22139.65	1.00	1.0000
16	L-Tyrosine	10.131	6188.73	1.00	1.0000
17	L-Methionine	10.274	3414.92	1.00	1.0000
18	L-Valine	10.362	21846.84	1.00	1.0000
19	L-Isoleucine	11.167	14242.02	1.00	1.0000
20	L-Leucine	11.286	23689.05	1.00	1.0000
21	L-Phenylelanine	11.500	10556.81	1.00	1.0000
Sum			9382859.44		

Lampiran 15. Data kromatografi asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek



Lampiran 16. Data analisis asam amino pasta hidrolisat protein ikan kresek

	PeakName	RT	Area	Dilution	SampleWeight
1	AMQ	2.640	5504986.63	1.00	1.0000
2	NH3	3.680	2032456.96	1.00	1.0000
3	L-Histidine	4.555	6197.90	1.00	1.0000
4	L-Serine	5.816	18038.03	1.00	1.0000
5	L-Aganine	5.913	14618.69	1.00	1.0000
6	Glycine	6.182	36275.39	1.00	1.0000
7	L-Aspartic Acid	6.705	46704.36	1.00	1.0000
8	L-Glutamic Acid	7.232	239077.36	1.00	1.0000
9	L-Threonine	7.650	17293.20	1.00	1.0000
10	L-Alanine	8.181	73355.85	1.00	1.0000
11	L-Proline	8.883	24479.02	1.00	1.0000
12	AABA	9.575	51099.63	1.00	1.0000
13	Derivated Peak	9.634	1215696.06	1.00	1.0000
14	L-Cystine	9.825		1.00	1.0000
15	L-Lysne	9.852	22098.48	1.00	1.0000
16	L-Tyrosine	10.128	5897.45	1.00	1.0000
17	L-Methionine	10.275	3244.69	1.00	1.0000
18	L-Valine	10.363	21987.87	1.00	1.0000
19	L-Isoleucine	11.170	14020.61	1.00	1.0000
20	L-Leucine	11.289	22681.53	1.00	1.0000
21	L-Phenylalanine	11.502	10389.26	1.00	1.0000
Sum			9380598.00		

Lampiran 17. Data pengamatan penelitian awal hidrolisat protein ikan kresek

Perlakuan		Kondisi HPI	FOTO
Lama Fermentasi	Volume molase rebus		
3 hari	100 mL	Tekstur sampel lunak, warna coklat kehitaman, baumolase kuat, masih terdapat molase, tidak terdapat jamur.	
	150 mL	Tekstur sampel lembek, warna coklat kehitaman, terdapat molase, berbau molase.	
	200 mL	Tekstur sampel lembek, masih terdapat molase, warna coklat kehitaman, bau molase kuat.	
6 hari	100 mL	Tekstur sampel lunak, warna coklat kehitaman, bau molase kuat, masih terdapat molase, tidak terdapat jamur.	
	150 mL	Tekstur sampel lembek, warna coklat kehitaman, terdapat molase, berbau molase.	
	200 mL	Tekstur sampel lembek, masih terdapat molase, warna coklat kehitaman, bau molase kuat.	
9 hari	100 mL	Tekstur sampel mengeras, molase berkurang, warna coklat kehitaman, tidak berbau molase.	
	150 mL	Bau molase berkurang, warna coklat kehitaman, tekstur sedikit mengeras, berbentuk pasta padat, cairan molase sedikit berkurang.	

	200 mL	Tekstur sedikit mengeras berbentuk pasta padat, warna coklat kehitaman, bau molase sedikit berkurang.	
12 hari	100 mL	Tekstur sampel sangat keras, warna coklat kehitaman, tidak ada molase, tidak berbau molase, sampel ditumbuhi jamur putih.	
	150 mL	Bau molase sedikit berkurang, warna coklat kehitaman, tekstur sedikit mengeras berbentuk pasta padat, terdapat sedikit molase, tidak ditumbuhi jamur.	
	200 mL	Tekstur sampel sedikit keras berbentuk pasta padat, warna coklat kehitaman, bau molase sedikit berkurang, cairan molase sedikit.	



Lampiran 18. Foto pengkulturan khamir laut



Lampiran 19. Foto pengamatan kepadatan sel khamir laut



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



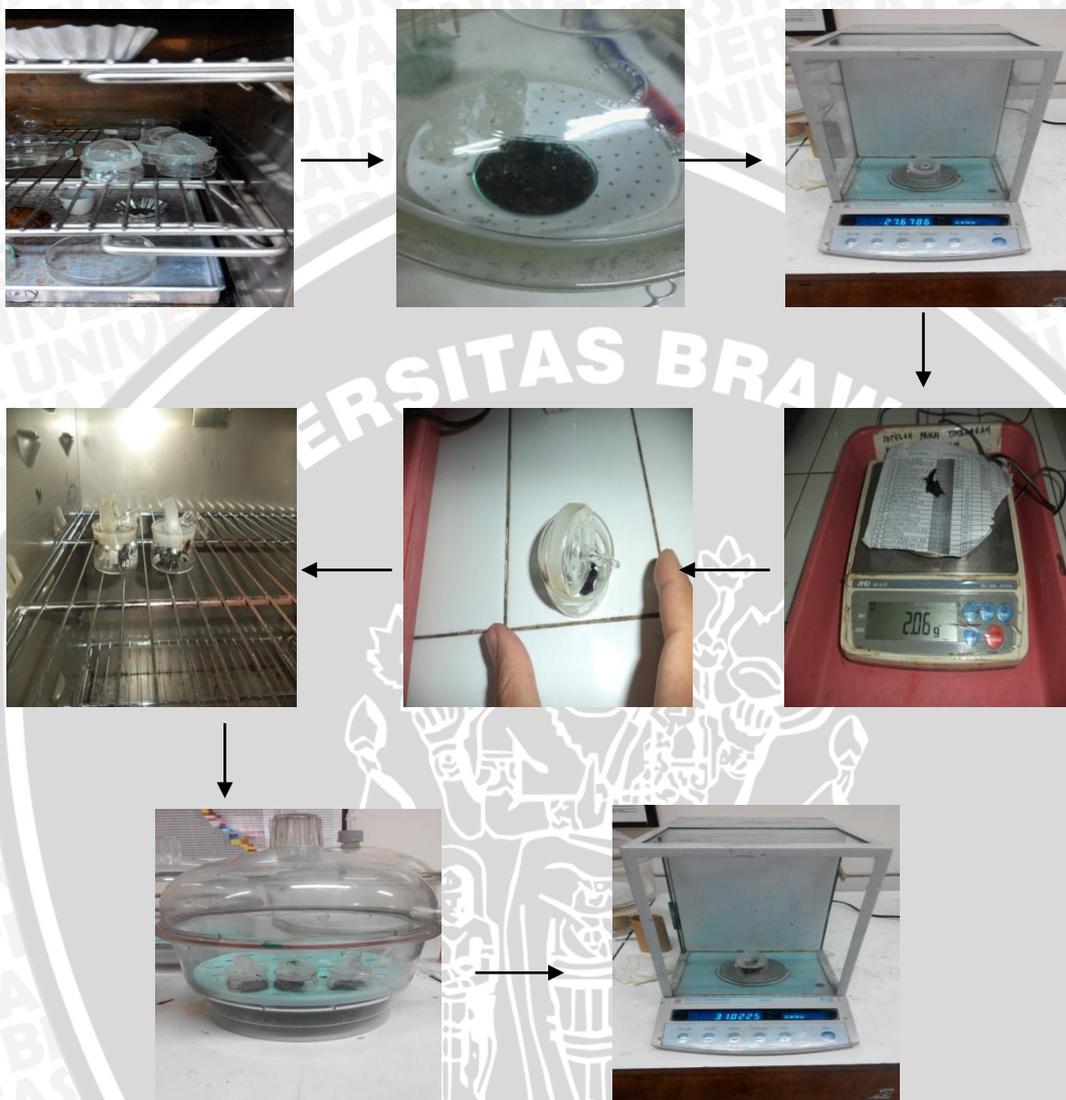
Lampiran 20. Skema Perebusan Hidrolisat Ikan Kresek



Lampiran 21. Foto proses pembuatan hidrolisat protein ikan kresek



Lampiran 22. Foto proses analisis kadar air



Lampiran 23. Foto proses analisis kadar lemak



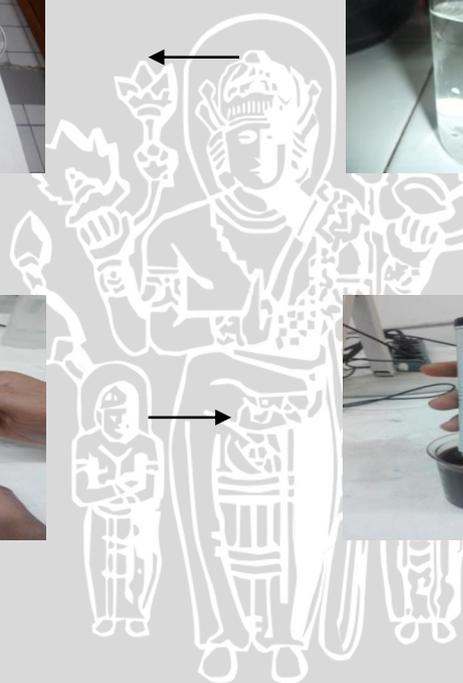
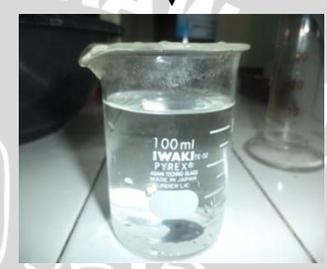
Lampiran 24. Foto proses analisis kadar protein



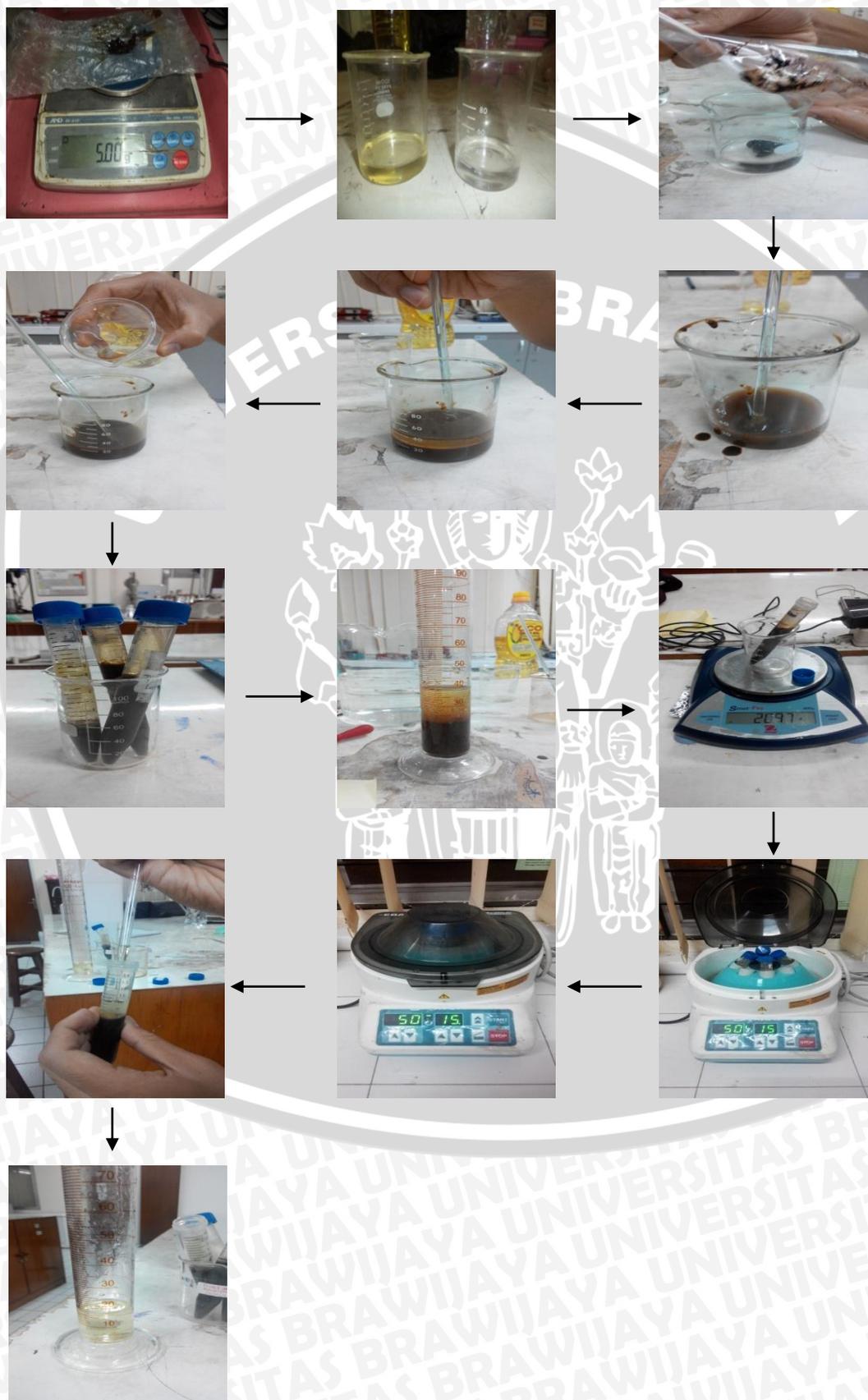
Lampiran 25. Foto proses analisis kadar abu



Lampiran 26. Foto proses analisis pH



Lampiran 27. Foto proses analisis emulsi



Lampiran 28. Foto proses analisis daya buih

