BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fermentasi

Fermentasi berasal dari kata *fervere* (latin), yang berarti mendidih, menggambarkan aksi ragi pada ekstrak buah selama pembuatan minuman beralkohol. Pengertian fermentasi agak berbeda antara ahli mikrobiologi dan ahli biokimia. Pengertian fermentasi dikembangkan oleh ahli biokimia yaitu proses yang menghasilkan energi dengan perombakan senyawa organik. Ahli mikrobiologi industri memperluas pengertian fermentasi menjadi segala proses untuk menghasilkan suatu prduk dari kultur mikroorganisme (Sulistyaningrum, 2008).

Perubahan arti kata fermentasi sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh para ahli. Arti kata fermentasi berubah pada saat Gay Lussac berhasil melakukan penelitian yang menunjukkan penguraian gula menjadi alkohol dan karbondioksida. Selanjutnya Pasteur melakukan penelitian mengenai penyebab perubahan sifat bahan yang difermentasi, sehingga dihubungkan dengan mikroorganisme dan akhirnya dengan enzim (Suprihatin, 2010).

Sulistyaningrum (2008) menyatakan bahwa, Proses fermentasi mendayagunakan aktifitas suatu mikroba tertentu atau campuran beberapa spesies mikroba. Mikroba yang banyak digunakan dalam proses fermentasi antara lain khamir, kapang, dan bakteri. Majunya teknologi fermentasi saat ini telah memungkinkan manusia untuk memproduksi berbagai produk yang tidak dapat atau sulit diproduksi melalui proses kimia.

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa fermentasi mempunyai pengertian suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

2.2 Khamir Laut

Yeast dianggap sebagai jamur dengan perkembangbiakan secara vegetatif yang reproduksinya didominasi dengan dimulainya pembelahan sel. Termasuk diantaranya ragi jenis *ascomycetous* dan *basidiomycetous*. Dituliskan pula bahwa ragi atau khamir telah banyak digunakan dalam banyak bidang diantaranya dalam fermentasi, makanan, pakan, pertanian, biofuel, industri obatobatan, dan kimia sebagai perlindungan terhadap lingkungan (chi *et al.*, 2010).

Reproduksi vegetatif pada khamir terutama dengan cara pertunasan. Sebagai sel tunggal, khamir tumbuh dan berkembang biak lebih cepat dibandingkan dengan kapang yang tumbuh dengan membentuk filamen. Khamir juga lebih efektif dalam memecah komponen kimia dibandingkan dengan kapang karena mempunyai perbandingan luas permukaan dengan volume yang lebih besar. Khamir juga berbeda dengan ganggang karena tidak bisa melakukan proses fotosintesis, dan berbeda dari protozoa karena mempunyai dinding sel yang lebih tegar. Khamir mudah dibedakan dari bakteri karena ukurannya yang lebih besra dan morfologinya yang berbeda (Balia, 2004).

Khamir laut adalah khamir atau ragi yang terisolasi dari lingkungan laut yang dapat tumbuh lebih baik pada media air laut dari air tawar. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa khamir laut juga memiliki potensi yang bagus dalam industri makanan, pakan, dan industri obat-obatan serta bioteknologi laut (Chi et al., 2010). Febriani (2006) menyatakan bahwa, *Yeast* adalah organisme seluler dari golongan jamur, bersifat kemoorganotrof, bereproduksi seksual dengan spora dan aseksual dengan pertunasan atau pembelahan atau kombinasi keduanya.

2.2.1 Morfologi Khamir laut

Khamir mempunyai ukuran yang beragam, yaitu dengan panjang 1-5 μm sampai 20-50 μm dan lebar 1-10 μm. Bentuk sel khamir bermacam-macam, yaitu bulat, oval, silinder, ogival yaitu bentuk panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung (triangular), berbentuk botol, bentuk apikulat atau lemon, membentuk pseudmiselium, dan sebagainya (Fardiaz, 1989). Khamir tidak dilengkapi flagelun atau organ-organ penggerak lainnya (Pelczar, 1986). Adapun berbagai bentuk sel khamir dapat dilihat pada gambar 1 berikut:



Gambar 1. Berbagai bentuk sel khamir (Fardiaz, 1989)

Beberapa khamir ditutupi oleh komponen ekstraseluler yan berlendir dan disebut kapsul. Kapsul tersebut menutupi bagian luar dinding sel dan terutama terdiri dari polisakarida termasuk fosfomanan, suatu polimer yang menyerupai pati, dan heteropolisakarida yaitu polimer yang mengandung lebih dari satu

macam unit glukosa seperti pentosa, heksosa, dan asam glukoronat (Noviati, 2007).

Dinding sel khamir yang paling banyak diteliti adalah dinding sel Saccharomyces. Dinding sel khamir terdiri dari komponen-komponen sebagai berikut (Fardiaz, 1989):

- a. Glukan khamir, disebut juga selulosa khamir. Komponen ini terdiri dari polimer glukosa dengan ikatan beta-1,3 dan beta-1,6 (selulosa mempunyai ikatan beta-1,4 dan beta-1,6). Glukan merupakan komponen terbesar dari dinding sel khamir, dan pada Saccharomyces cerevisiae meliputi 30-35% dari berat kering sel.
- b. Mannan, yaitu polisakarida yang terdiri dari unit D-mannosa dengan ikatan alfa-1,6, alfa-1,2 dan sedikit alfa-1,3. Pada Saccharomyces, polimer ini merupakan komponen terbanyak kedua setelah glukan, yaitu kira-kira 30% dari berat kering dinding sel.
- c. Protein, merupakan komponen dinding sel khamir yang jumlahnya relatif konstan, yaitu 6-8 % dari berat kering dinding sel. Protein yang terdapat pada dinding sel termasuk juga enzim yang memecah substrat yang akan diserap, misalnya invertase dan hidrolase.
- d. Khitin, yaitu suatu polimer linear dari N-asetilgluksamin dengan ikatan beta1,4. Khitin yang terdapat pada dinding sel khamir menyerupai khitin yang terdapat pada skeleton luar serangga, tetapi derajat polimerisasinya lebih kecil sehingga lebih mudah larut. Jumlah khitin di dalam dinding sel khamir bervariasi tergantung dari jenis khamir, misalnya 1-2% Saccharomyces cerevisiae, dan lebih dari 2% pada Nadsonia, Rhodotrula, Sporobolomyces, dan khamir berfilamen yaitu Endomyces, sedangkan Schizosaccharomyces tidak mengandung khitin.

e. Lipid, terdapat dalam jumlah 8,5-13,5%, mungkin lebih rendah pada beberapa spesies.

2.2.2 Kondisi Pertumbuhan Khamir Laut

Khamir adalah mikroorganisme fakultatif yang dapat tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob maupun aerob apabila terdapat sumber karbohidrat, nitrogen (organik dan anorganik), mineral, termasuk *trace element*, dan vitamin. Suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 20° C $- 25^{\circ}$ C. Sebagian besar khamir dipengaruhi suplai oksigen, pH dan temperatur (Noviati, 2007).

Pertumbuhan khamir pada media bahan pangan sangat tergantung pada sifat fisiologisnya yaitu pada umumnya khamir tumbuh pada kondisi dengan persediaan cukup air artinya tidak yang berlebihan. Dibandingkan dengan bakteri, khamir dapat tumbuh dalam larutan yang pekat misalnya larutan gula atau garam lebih juga menyukai suasana asam dan lebih bersifat menyukai adanya oksigen (Balia, 2004). Khamir juga tidak mati oleh adanya antibiotik selain itu beberapa khamir mempunyai sifat antimikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan mould. Adanya sifat-sifat yang tahan pada lingkungan yang stress (garam, asam dan gula) maka dalam persaingannya dengan mikroba lain khamir lebih bisa hidup normal (Balia, 2004). Oleh karena itu pertumbuhan khamir yang liar sebagai kontaminan perlu diwaspadai dan dikontrol secara ketat sehingga produk-produk fermentasi yang dihasilkan tidak makin menjadi rusak.

Adapun dalam pertumbuhannya, meskipun dalam kultur yang sama ukuran dan bentuk sel khamir mungkin berbeda karena pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan. Sel yang muda mungkin berbeda bentuknya dengan sel yang tua karena adanya proses ontogeni, yaitu perkembangan individu sel. Sebagai contoh khamir yang berbentuk apikulat

(lemon) pada umumnya berasal dari tunas berbentuk bulat sampai oval yang terlepas dari induknya kemudian tumbuh dan membentuk tunas sendiri. Karena proses pertunasannya bersifat bipolar, sel muda yang berbentuk oval membentuk tunas pada kedua ujungnya sehingga mempunyai bentuk seperti lemon. Sel-sel yang sudah tua dan mengalami beberapa kali pertunasan mempunyai bentuk yang berbeda-beda (Fardiaz, 1989). Hal ini dapat dilihat pada gambar 2 berikut:

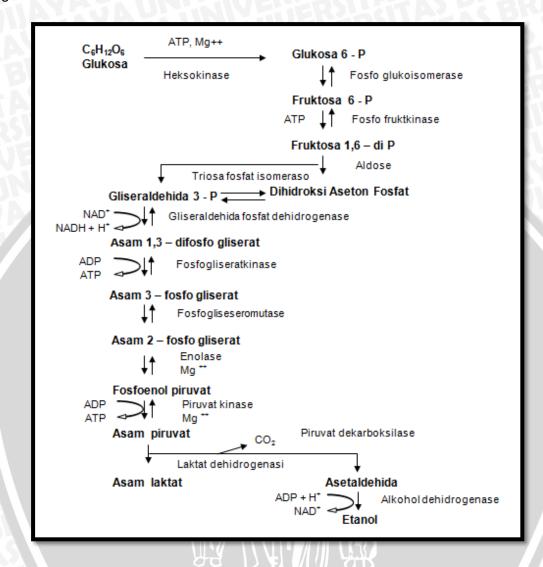
Gambar 2. Perkembangan bentuk sel khamir berbentuk lemon (Fardiaz, 1989)

2.2.3 Metabolisme Khamir Laut

Khamir dapat dibedakan atas dua kelompok berdasarkan sifat metabolismenya, yaitu khamir yang bersifat fermentatif dan khamir yang bersifat oksidatif. Khamir fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol, yaitu memecah glukosa melalui jalur glikolisis (Embden-Meyerhoff-parnas) dengan total reaksi sebagai berikut (Fardiaz, 1989):

$$C_6H_{12}O_6$$
 \longrightarrow $2C_2H_5OH + 2CO_2$ Glukosa Alkohol (etanol)

Sebayang (2006) menambahkan bahwa jalur Embden-Meyerhof-Parnas secara keseluruhan dalam mekanisme utama fermentasi etanol terlihat pada gambar 3 berikut :



Gambar 3. Lintasan Embden-Meyerhof-Parnas (Sebayang, 2006)

Khamir yang digunakan dalam pembuatan roti dan bir merupakan spesies Saccharmyces yang bersifat fermentatif kuat, tetapi dengan adanya oksigen, S. cerevisiae juga dapat melakukan respirasi yaitu mengoksidasi gula menjadi karbondioksida dan air. Oleh karena itu, tergantung dari kondisi pertumbuhan, S. cerevisiae dapat mengubah sistem metabolismenya dari jalur fermentatif menjadi oksidatif (respirasi). Kedua sistem tersebut menghasilkan energi, meskipun

energi yang dihasilkan melalui respirasi lebih tinggi dibandingkan melalui fermentasi (Noviati, 2007).

2.2.4 Kultur Khamir Laut

Pertumbuhan dan metabolisme khamir di dalam media memerlukan nutrisi yang mengandung unsur makro yang terdiri dari karbon, nitrgen, dan oksigen. Sedangkan unsur mikro yang terdiri dari vitamin, mineral, dan lain-lain (Kusmiati *et al.,* 2007). Media cair yang digunakan untuk kultur khamir laut adalah air laut yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan gula sebagai sumber karbon, sumber urea, TSP dan KCL (Sukoso, 2012). Ditambahkan oleh Hariyum (1986) bahwa, kultur khamir laut untuk memproduksi biomassa sel akan memberikan hasil yang baik apabila kultur ini dilakukan dalam lingkungan dan kondisi yang direncanakan dengan baik. Oleh karena itu, akan lebih mudah jika digunakan mikroorganisme yang dapat tumbuh baik pada lingkungan tertentu.

Khamir laut dapat tumbuh dengan baik pada suhu kamar (25-28 °C) dan tidak tahan hidup pada suhu 37 °C. Sedangkan kisaran pH lingkungan tempat tumbuh khamir kisaran 2,2 – 8, namun sebagian besar khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam yaitu 4 – 4,5 (Sukoso, 2012).

Pada saat kultur khamir laut diberi oksigen atau aerasi, dengan tujuan untuk menyediakan oksigen pada pertumbuhan khamir. Pada prinsipnya aerasi dan agitasididasarkan pada dua hal yaitu karena kebutuhan khamir akan oksigen dan tersedianya oksigen dari gelembung udara. Contohnya pada medium karbohidrat, jumlah oksigen yang diperlukan sekitar satu gram per gram sel (Hariyum, 1986).

2.3 Protease

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi karena reaksinya tidak

membutuhkan energi tinggi, bersifat spesifik, dan tidak beracun (Suri *et al.*, 2013). Produk enzim yang memiliki prospek baik untuk dikembangkan adalah protease, amilase, amiloglukosidase karena dipandang cukup luas penggunaannya dalam berbagai industri terutama industri pangan. Diperkirakan nilai perdagangan enzim di seluruh dunia adalah 1 milyar USD dan 75 % adalah enzim hidrolitik. Protease merupakan satu dari tiga kelompok terbesar dari industri enzim dan diperkirakan sebesar 60% dari perdagangan enzim di seluruh dunia (Novita *et al.*, 2006).

Protease adalah enzim yang dapat menghidrolisis ikatan peptida pada protein. Enzim protease merupakan salah satu enzim yang banyak digunakan baik dalam industri pangan maupun non pangan. Di bidang industri pangan penggunaan enzim protease adalah dalam industri keju, bir, roti dan daging, sedangkan di bidang non pangan paling banyak digunakan pada industri detergen, farmasi, fotografi, tekstil dan kulit (Novita *et al.*, 2006).

Enzim protease *yeast* mempunyai kegunaan dimana pemakaian enzimenzim ini untuk menghilangkan kabut protein dari bir dan anggur, sehingga peran *yeast* tersebut tidak terjadi perusakan dalam produk pangan. Sekelompok yeast yang dominan seperti: *Kluy. Marxianus* dan *C. diffluens* dalam produk susu seringkali mempunyai aktivitas kaseinolitiknya yang kuat sering ditemukan di *Australian cheddar* dan *cottage cheese* (Balia, 2004), sedangkan *Saccharomyces cerevisiae* dapat memecah laktosa dalam susu segar sehingga dapat berperan dalam produk fermentasi susu.

Sumber enzim bisa berasal dari hewan, tanaman dan mikroorganisme, dan untuk keperluan industri biasanya enzim diperoleh dari mikroorganisme. Protease yang dihasilkan dari mikroorganisme mempunyai beberapa keunggulan bila dibanding protease dari sumber lainnya, karena dapat diproduksi dalam jumlah besar, produktivitasnya mudah ditingkatkan, mutu lebih seragam, harga

lebih murah, dapat ditumbuhkan dengan cepat, pertumbuhannya mudah diatur, enzim yang dihasilkan mudah diisolasi. Keunggulan lainnya adalah mikroorganisme dapat hidup dan berkembang biak dalam media limbah pertanian yang relatif lebih murah. Adanya mikroorganisme unggul merupakan salah satu faktor penting dalam usaha produksi enzim (Novita et al., 2006).

Sekitar dua pertiga protease yang digunakan di bidang industri dihasilkan oleh mikroorganisme, terutama bakteri dari genus Bacillus dan kapang dari genus Aspergillus, Penicillium, Rhizopus Endhotia dan Mucor (Yusriah dan Nengah, 2013).

2.3.1 Mekanisme Hidrolisis Protease terhadap Protein

Protease merupakan salah satu kelompok enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri. Protease merupakan enzim yang berfungsi menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Protease (protease serin, protease sistein/tiol, protease aspartat dan protease logam) adalah enzim yang banyak digunakan dalam industri, misalnya industri farmasi, kulit, detergen, makanan dan pengolahan limbah (Fatoni, 2008).

Secara sederhana, protease merupakan enzim yang dapat menguraikan protein menjadi bentuk asam amino. Semakin besar asam amino dihasilkan dari reaksi pemecahan protein tersebut maka dapat dikatakan bahwa protease tersebut memiliki aktivitas yang tinggi (Yusriah dan Nengah, 2013).

Witono et al., (2007) semakin besar konsentrasi protease akan semakin banyak ikatan peptida dari protein yang terputus menjadi peptida-peptida sederhana sehingga kelarutan protein semakin meningkat. Semakin lama hidrolisis, kontak enzim dengan substrat semakin lama, sehingga tingkat hidrolisis semakin tinggi dan dihasilkan molekul-molekul protein yang pendek sehingga kelarutannya meningkat. Hidrolisis protein selain mengurangi berat

molekul polipeptida juga menyebabkan kerusakan dari struktur globular protein sehingga keterikatan air menjadi berkurang.

2.3.2 Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Protease

Kemampuan protease dalam mempercepat reaksi dipengaruhi beberapa faktor yang menyebabkan enzim dapat bekerja dengan optimal dan efisien. Faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah temperatur lingkungan, pH, konsentrasi enzim, substrat, senyawa inhibitor dan aktivator (Noviyanti et al., 2012).

Temperatur mempengaruhi aktivitas enzim. Pada temperatur rendah, reaksi enzimatis berlangsung lambat, kenaikan temperatur akan mempercepat reaksi, hingga suhu optimum tercapai dan reaksi enzimatis mencapai maksimum. Kenaikan temperatur yang melewati temperatur optimum akan menyebabkan enzim terdenaturasi dan menurunkan kecepatan reaksi enzimatis (Noviyanti *et al.*, 2012).

pH berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu reaksi. Hal ini disebabkan konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi struktur dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki pH optimum di mana pada pH tersebut struktur tiga dimensinya paling kondusif dalam mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai pada akhirnya enzim menjadi tidak fungsional. Aktivitas enzim yang menurun karena perubahan pH disebabkan oleh berubahnya keadaan ion substrat dan enzim. Perubahan tersebut dapat terjadi pada residu asam amino yang berfungsi untuk mempertahankan struktur tersier dan kuartener enzim aktif (Yusriah dan Nengah, 2013).

Senyawa kofaktor atau ion logam berpotensi meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim yang disebut sebagai aktivator enzim, sedangkan ion logam yang menghambat aktivitas enzim disebut inhibitor enzim (Irwan *et al.*, 2012). Beberapa penelitian tentang pengaruh senyawa kofaktor terhadap aktivitas enzim telah dilakukan antara lain: aktivitas protease yang diisolasi dari *Staphylococus aureus* dilaporkan bahwa dengan penambahan ion Fe³⁺ dan Mn²⁺ pada konsentrasi masing-masing1 mM dan 5 mM dapat meningkatkan aktivitas protease. Aktivitas protease dari *Bacillus mojavensis* juga meningkat dengan kehadiran ion Cu²⁺ dan Mn²⁺.

2.4 Hidrolisat Protein Ikan

Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa. Hidrolisis protein menggunakan enzim merupakan cara yang efisien karena dapat menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino tertentu, seperti triptofan dan glutamin (Widadi, 2011).

Menurut Kurniawan *et al.*, (2012), hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hal ini disebabkan kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk.

Hidrolisat protein untuk menghasilkan peptida dan asam amino dapat dilakukan secara parsial dengan penambahan asam maupun basa. Mengingat proses penambahan asam maupun basa pada proses hidrolisis dapat merusak beberapa gugus asam amino serta menghasilkan senyawa karsinogenik, maka fungsi asam atau basa digantikan oleh enzim secara spesifik. Akibat sifat enzim yang sangat spesifik, maka diperlukan pula pemilihan kondisi hidrolisis yang

tepat. Kondisi yang perlu diperhatikan selama hidrolisis berlangsung adalah suhu, nilai pH, dan waktu hidrolisis Hidrolisis menggunakan enzim berlangsung secara spesifik, maka proses hidrolisis secara ekstensif mampu mempengaruhi pembentukan peptida dan asam-asam amino. Melalui proses hidrolisis diharapkan terjadi proses modifikasi karakteristik fungsional protein juga dipengaruhi oleh tingkat hidrofobisitas bagian rantai non polar pada protein, derajat hidrolisis serta tipe enzim proteolitik yang digunakan (Purbasari, 2008).

Beberapa penelitian tentang pembuatan hidrolisat protein dengan bahan baku hasil perikanan telah dilakukan, diantaranya Hidayat (2005) yang menemukan kondisi optimum proses hidrolisis protein dari ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) pada konsentrasi enzim papain 5 %, pH 7, dan waktu hidrolisis 6 jam. Amalia (2007) melaporkan bahwa konsentrasi enzim papain 5 %, pH 6, dan waktu hidrolisis 24 jam adalah kondisi optimum untuk hidrolisis protein kerang hijau (*Mytilus viridis*). Tabel 1 menunjukkan hasil analisis produk hidrolisat dari ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) dan kerang hijau (*Mytilus viridis*).

Tabel 1. Hasil Analisa Produk Hidrolisat Protein

	Nilai rata-rata				
Dawanatan	Basis basah		Basis kering		
Parameter	Ikan selar kuning*	Kerang hijau**	Ikan selar kuning*	Kerang hijau**	
Kadar air (%)	91,99	84,44	A \ \\\ \\ \\	-	
Kadar abu (%)	1,36	1,25	16,98	7,38	
Kadar lemak (%)	0,43	2,56	10,61	16,33	
Kadar protein (%)	5,30	11,75	66,17	76,07	

Sumber: * Hidayat (2005)

** Amalia (2007)

Standar hidrolisat protein yang dibuat dari ikan berlemak rendah (*non fatty fish*) berdasarkan berat kering mengandung protein 85-90 %, lemak 2-4 % dan abu 6-7 % (Purbasari, 2008).

2.5 Pemanfataan Limbah Lele (*Clarias* sp.)

Ikan lele (*Clarias* sp.) termasuk salah satu dari keenam komoditas lainnya yaitu, rumput laut, patin, bandeng, nila, dan kerapu yang akan dipacu pengembangan budidayanya dengan tujuan meningkatkan produksi budidaya pada beberapa tahun kedepan (Madinawati *et al.*, 2011).

Dilihat dari komposisi gizinya ikan lele juga kaya akan fosfor. Nilai fosfor pada ikan lele lebih tinggi dari pada nilai fosfor pada telur yang hanya 100 mg per 100 gram telur. Keunggulan lain dari ikan lele dibandingkan dengan produk hewani lainnya adalah kaya akan Leusin dan Lisin. Leusin (C₆H₁₃NO₂) merupakan asam amino esensial yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan anak-anak dan menjaga keseimbangan nitrogen. Leusin juga berguna untuk perombakan dan pembentukan protein otot. Sedangkan Lisin merupakan salah satu dari 9 asam amino esensial yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan. Lisin termasuk asam amino yang sangat penting dan dibutuhkan sekali dalam pertumbuhan dan perkembangan anak. Asam amino ini sangat berguna untuk pertumbuhan dan perkembangan tulang pada anak, membantu penyerapan kalsium dan menjaga keseimbangan nitrogen dalam tubuh, dan memelihara masa tubuh anak agar tidak terlalu berlemak. Lisin juga dibutuhkan untuk menghasilkan antibody, hormon, enzim, dan pembentukan kolagen, disamping perbaikan jaringan. Tidak kalah pentingnya, lisin bisa melindungi anak dari virus herpes.

Adapun komposisi kimia ikan lele dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Komposisi kimia ikan lele (Clarias sp.) tiap 100 g

No.	Komponen	Jumlah
1.	Protein (g)	18,2
2.	Lemak (g)	2,2
3.	Karbohidrat (g)	Number 5 and 1
4.	Mineral (g)	1,5
5.	Kalsium (mg)	34
6.	Fosfor (mg)	116
7.	Besi (mg)	0,2
8.	Vitamin A (mg)	85
9.	Vitamin B (mg)	0,1
10.	Air (g)	78,1
11.	Energi (kkal)	93

Sumber : Suprapti (2001)

Dalam kegiatan pengolahan ikan lele terutama dalam pengolahan produk fillet tentunya akan menyisakan limbah yang berupa kepala, duri, dan isi perut, sirip, dan ekor. Limbah padat lebih dikenal sebagai sampah yang seringkali tidak dikehendaki kehadirannya karena tidak memiliki nilai ekonomis. Bila ditinjau secara kimiawi, limbah ini terdiri dari bahan kimia senyawa organik dan senyawa anorganik. Dengan konsentrasi dan kuantitas tertentu, kehadiran limbah dapat berdampak negatif terhadap lingkungan terutama bagi kesehatan manusia sehingga perlu dilakukan penanganan terhadap limbah (Astrina *et al.*, 2010).

Dalam pemanfaatannya limbah ikan (kepala, isi perut, tulang, dan ekor) yang berasal dari industri pengolahan, tempat pelelangan ikan, maupun pasar dapat diolah dengan cara dibuat silase yang mempunyai nilai ekonomis rendah (Rimbawanto *et al.*, 2012). Sedangkan pemanfaatan limbah ikan menjadi hidrolisat protein ikan dapat meningkatkan nilai ekonomis dari limbah itu sendiri.

2.6 Molase

Salah satu industri pangan yang menghasilkan limbah adalah industri gula tebu. Industri pengolahan gula tebu dari batang tebu menjadi gula pasir

menghasilkan tetes tebu (molase). Molase diperoleh dari tahap pemisahan kristal gula dan masih mengandung gula 50 – 60 % (Steviani, 2011).

Molase merupakan hasil samping yang potensial dari industri gula. Molase berasal dari bahasa Rumania yang diartikan sebagai limbah akhir dari nira tebu yang telah dikristalkan berulang-ulang. Molase adalah fraksi yang tidak dapat dikristalkan lagi. Jumlah Molase dan komposisinya tergantung dari keadaan tebu dan proses pembuatan gula di pabrik (Wulandari, 2012).

Molase mempunyai berbagai kandungan komponen kimia tertera pada tabel 2. Molase merupakan sumber energi yang murah karena mengandung gula sebanyak 50%, baik dalam bentuk sukrosa, maupun dalam bentuk gula pereduksi. Gula-gula tersebut mudah dicerna dan diserap sel dan dapat digunakan untuk memperoleh energi (Wulandari, 2012). Ditambahkan oleh Yusma (1999) bahwa molase digunakan sebagai media fermentasi untuk memproduksi etanol, karena mudah didapatkan dan harganya relatif murah dibandingkan dengan media lainnya. Pemanfaatan molase selain untuk memperoleh etanol juga akan meningkatkan nilai ekonomis molase.

Kandungan gula yang tinggi menyebabkan molase termasuk dalam kelompok bahan pangan yang awet. Hasil penelitian pada pabrik-pabrik gula di Jawa menunjukkan bahwa bila limbah molase yang disimpan selama setahun pada suhu 30-35° C akan mengalami sedikit sekali kerusakan yaitu kehilangan gula yang difermentasikan sebanyak 2-3% dari konsentrasi awal (Wulandari, 2012).

2.6.1 Molase Rebus

Menurut Kusmiati et al., (2007), kandungan sukrosa pada molase masih cukup tinggi yaitu sekitar 30-40%. Apabila sukrosa dipanaskan maka akan menjadi gula invert. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Rohim (2014) yang

menyatakan bahwa sukrosa yang dipanaskan akan terjadi dekomposisi sukrosa menjadi D-glukosa dan D-fruktosan (D-fruktosa + 1 H_2O) bila campuran tersebut dilarutkan dalam air maka, D-fruktosan akan menjadi D-fruktosa dalam jumlah yang sama disebut gula invert. Pada reaksi hidrolisis tersebut, terjadi pemutusan ikatan gikosidik dan membentuk monosakarida bebas. Setiap pemutusan 1 ikatan glikosidik akan diperlukan satu molekul H_2O . Reaksi tersebutu juga melibatkan enzim invertase.

Inversi sukrosa terjadi dalam keadaan asam dan semakin tingginya suhu maka semakin tinggi pula presentase gula invert yang dapat dibentuk (Winarno, 2004). Rohim (2014) menyatakan bahwa, reaksi karamelisasi merupakan reaksi dengan prekusor gula yang terjadi dengan adanya panas. Reaksi karamelisasi melibatkan gugus kompleks dari berbagai reaksi yang diikuti oleh pembukaan cincin dan enolisasi gula pereduksi. Pada tahap awal reaksi karamelisasi terjasi inversi sukrosa menjadi D-glukosa dan D-fruktosa. Kesetimbangan bentuk anomerik dan cincin. Kemudian reaksi kondensasi, isomerasi, dan aldosa ke ketosa, reaksi fragmentasi, dan pembentukan warna cokelat (pembentukan polimer tidak jenuh).

Molase yang dipanaskan dapat menyebabkan terhidrolisisnya sukrosa menjadi campuran glukosa dan fruktosa yang disebut gula invert (Rohim, 2014). Dimana senyawa karbon dari jenis monosakarida yakni glukosa, fruktosa, dan galaktosa dapat diasimilasi lebih cepat dibandingkan dengan disakarida sehingga segera dapat dimanfaatkan. Komposisi kimia molase dan molase rebus dapat dilihat pada Tabel 3:

Tabel 3. Komposisi Kimia Molase dan Molase Rebus

Komposisi	Kandungan (%)		
JA UPIMIVE	Molase	Molase Rebus	
Kandungan Gula		CITIZZACE	
Gula reduksi	1,5602	2,1615	
Fruktosa	4,5652	3,9174	
Sukrosa	0,5299	0,3962	
Proksimat			
Protein	23,23	24,64	
Lemak	0,08	0,05	
Air	66,20	64,63	
Abu	4,13	4,95	
Karbohidrat	6,36	5,73	
Asam amino			
L-Aspartic	0,405	0,669	
L-Serine	0,069	0,234	
L-Glutamic Acid	2,912	3,594	
L-Glycine	0,051	0,187	
L-Histidine	0,014	0,074	
L-Arginine	0,007	0,107	
L-Threonine	0,021	0,112	
L-Alanin	0,610	0,512	
L-Proline	0,640	0,350	
L-Cysteine	0,000	0,081	
L-Tyrosine	0,015	0,060	
L-Valine	0,046	0,124	
L-Metheonine	0,008	0,034	
L-Lysine	0,035	0,966	
L-Isoleusine	0,024	0,084	
L-Leucine	0,027	0,121	
L-Phenylalanine	0,009	0,073	

Sumber: Rohim, 2014

2.6.2 Molase sebagai Sumber Nutrisi

Supriyanto *et al.*, (2012) menyatakan bahwa, Molase dapat digunakan sebagai alternatif substrat karena mengandung nutrisi komplek yang dibutuhkan mikroorganisme dalam melakukan metabolismenya. Ditambahkan oleh Fifendy *et al.*, (2013) bahwa molase mengandung nutrisi cukup tinggi untuk kebutuhan bakteri, sehingga dijadikan bahan alternatif sebagai sumber karbon dalam media fermentasi.

Menurut Suminto (2008), molase banyak mengandung zat-zat organik seperti karbohidrat, protein, vitamin, dan bahan organik lainnya yang dibutuhkan

mikroorganisme dalam metabolismenya. Penggunaan molase sebagai media kultur bakteri probiotik memberi pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhannya, sehingga semakin besar konsentrasi molase yang diberikan sebagai media maka semakin baik pertumbuhan mikroorganisme tersebut.

Molase sebagai media fermentasi digunakan sebagai sumber bahan makanan bagi bakteri selama proses fermentasi berlangsung. Bakteri akan menggunakan sumber karbohidrat sebagai sumber makanannya. Ketika sumber karbohidrat di dalam medium telah habis terpakai, maka bakteri beralih menggunakan sumber nitrogen. Penambahan karbohidrat seperti tetes dimaksudkan untuk mempercepat terbentuknya asam laktat serta menyediakan sumber energi yang cepat tersedia bagi bakteri (Sutardi, 1981).

