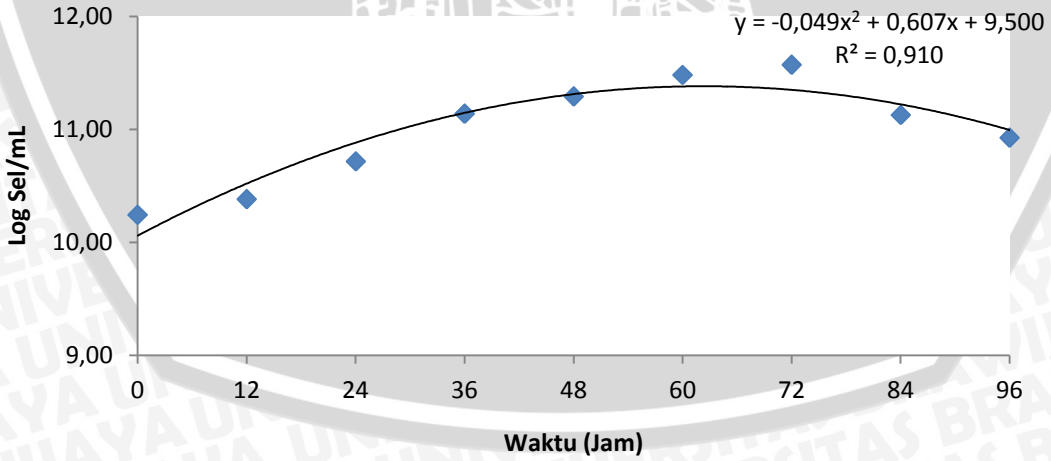
4. PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Penentuan Fase Logaritmik

Fase logaritmik adalah fase dimana pembiakan khamir laut berlangsung paling cepat. Setiap sel khamir laut membelah menjadi dua sel. Pada fase ini sel mikroba membelah dengan cepat dan konstan, di mana pertambahan jumlahnya mengikuti fase logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrien, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan (Noviati, 2007). Pertumbuhan khamir laut ini ditentukan oleh kepadatan khamir laut yang dilihat dari pengamatan dengan menggunakan *haemocytometer* pada mikroskop. Hasil pertumbuhan khamir laut dapat dilihat pada Gambar 3 berikut.

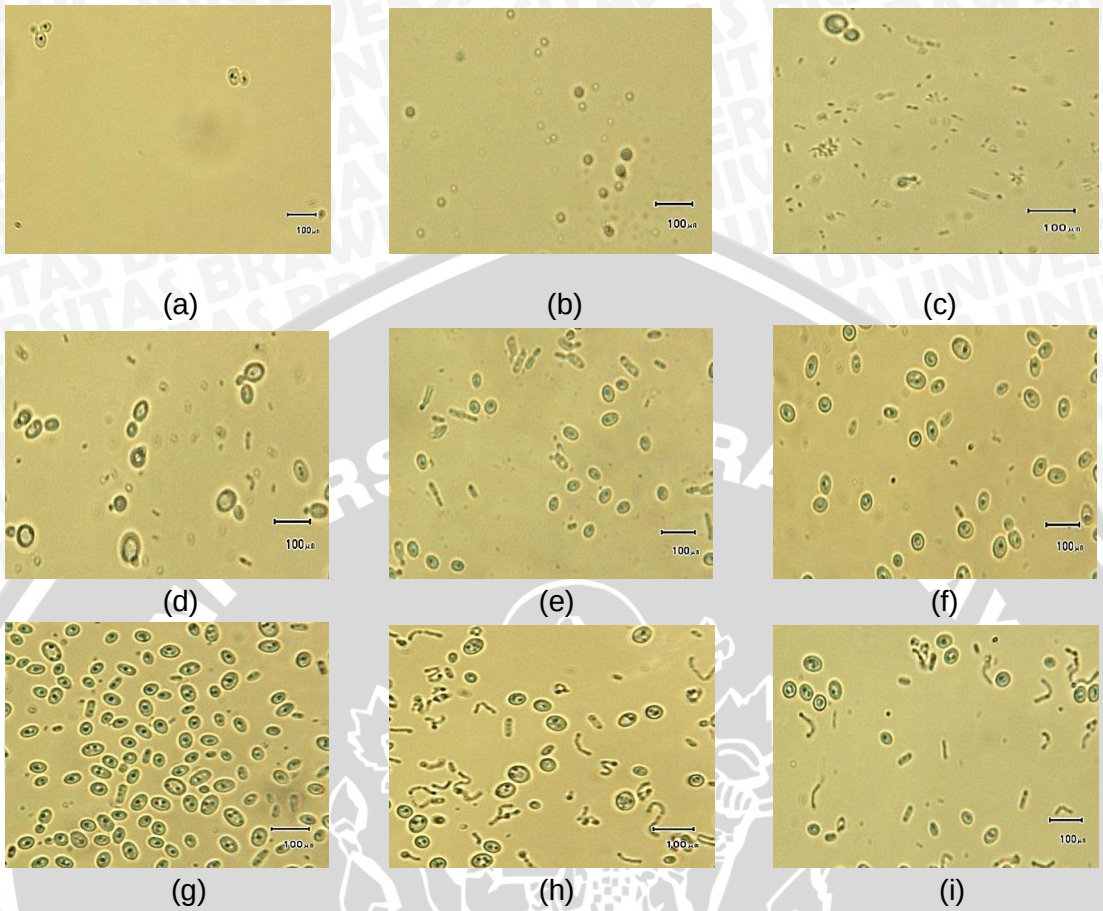


Gambar 3. Kurva pertumbuhan sel khamir laut

Dilakukan pengamatan untuk menentukan fase logaritmik khamir laut dengan pengamatan setiap 12 jam sekali selama 4 hari berturut-turut. Pada Gambar 3 terlihat pertumbuhan khamir laut pada fase adaptasi pada jam ke-0 hingga jam ke-12 sangat cepat. Hal ini menunjukkan bahwa khamir laut dapat beradaptasi dengan baik dengan cara memanfaatkan sumber nitrogen yang terdapat pada pupuk daun yang diberikan. Didukung oleh pernyataan Noviati (2007) bahwa umumnya khamir dapat menggunakan sumber nitrogen organik dan nonorganik. Nitrogen anorganik dapat disuplai dalam bentuk garam amonium, nitrit, dan nitrat, sedangkan nitrogen organik dapat berupa asam amino, protein, dan urea.

Pertumbuhan khamir laut terus meningkat dari jam ke-12 sampai jam ke-72. Hal ini dapat dilihat pula tingkat kekeruhan yang terdapat dari kultur khamir laut. Pada fase ini khamir laut mengalami pembelahan dan peningkatan jumlah sel, yang biasa disebut dengan fase logaritmik. Fase logaritmik merupakan fase setelah fase adaptasi mikroorganisme terhadap kondisi baru, yang kemudian sel-sel khamir laut akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum yang dapat dibantu oleh kondisi lingkungan yang dicapai (Buckle *et al*., 2007). Pada jam ke-72 sampai jam ke-96 pertumbuhan khamir laut mulai menurun. Hal ini mungkin disebabkan habisnya sumber makanan dan lingkungan yang sudah tidak memungkinkan untuk pertumbuhan khamir laut.

Fase log yang terjadi pada jam ke-72 diperkuat dengan pengamatan menggunakan mikroskop. Hasil pengamatan kepadatan khamir laut terhadap lama waktu kultur dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil pengamatan khamir laut pada lama waktu kultur tertentu dengan perbesaran 100 X. Jam ke-0 (a), jam ke-12 (b), jam ke-24 (c), jam ke-36 (d), jam ke-48 (e), jam ke-60 (f), jam ke-72 (g), jam ke-84 (h), dan jam ke-95 (i)

Gambar 4 menunjukkan kepadatan sel khamir laut dengan bentuk yang bulat serta terdapat bulatan kecil yang menempel pada sel tersebut yang disebut dengan konodia. Konodia menunjukkan bahwa sel khamir laut sedang mengalami pembelahan. Bentuk sel khamir bermacam-macam, yaitu bulat, oval, silinder, dan bulat panjang. Dalam sebuah kultur, ukuran dan bentuk khamir laut akan berbeda-beda hal ini disebabkan karena adanya pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan khamir laut (Fardiaz, 1989). Pada Gambar 4 (g) atau pada jam ke-72 terlihat bahwa sel khamir laut memiliki konodia yang menunjukkan telah

terjadinya pembelahan sel. Menurut Buckle *et al* (2007) proses pembelahan sel terjadi aseksual dengan pembentukan tunas suatu proses yang merupakan sifat khas dari khamir. Pada awalnya akan timbul suatu gelembung kecil dari permukaan sel induk. Gelembung ini secara bertahap membesar dan setelah mencapai ukuran yang sama dengan induknya terjadi pengerutan yang melepaskan tunas dari induknya. Sel yang terbentuk selanjutnya akan memasuki tahap pertunasan kembali. Pada kondisi ini merupakan fase khamir laut dengan pertumbuhan yang tinggi. Fase ini yang akan digunakan pada penelitian utama sebagai starter dalam pembuatan hidrolisat protein kerang hijau.

4.1.2 Penentuan Volume Molase Rebus

Penentuan volume molase rebus pada pembuatan hidrolisat protein khamir laut bertujuan untuk menentukan volume optimal yang digunakan sebagai landasan penelitian utama. Percobaan pertama yang dilakukan adalah dengan menggunakan volume molase sebanyak 50 mL, 100 mL, 150 mL, dan 200 mL dengan 50 g daging kerang hijau rebus yang dihaluskan dan penambahan inokulan kamir laut fase logaritmik sebanyak 10 mL. Pada penelitian ini digunakan molase yang direbus. Pada percobaan pembuatan hidrolisat protein ini dilakukan aerasi karena khamir laut hidup dalam kondisi aerob.

Hasil dari percobaan ini didapatkan kenampakan bahwa hidolisat protein kerang hijau dengan molase sebanyak 50 mL tidak mengalami kebusukan. Hal ini mungkin disebabkan nutrisi yang terdapat pada molase sudah cukup memenuhi nutrisi yang dibutuhkan oleh khamir laut. Menurut Noviati (2007) kandungan sukrosa pada molase sebesar 30-40%. Nutrisi ini yang kemudian akan digunakan untuk pertumbuhan khamir laut yang dipengaruhi oleh konsentrasi komponen-komponen

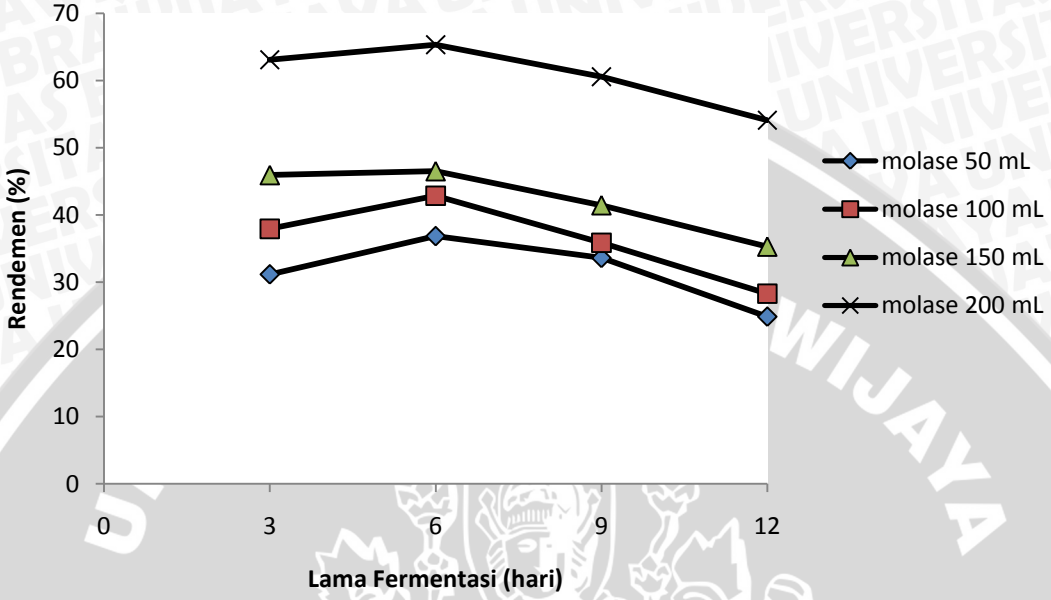
penyusun media pertumbuhan yaitu suplai karbon yang merupakan sumber yang berpengaruh pada pertumbuhan optimum khamir laut (Noviati, 2007). Warna hidrolisat protein kerang hijau terlihat berwarna coklat kehitaman dan berbau khas fermentasi khamir laut. Fermentasi hidrolisat protein kerang hijau ini dapat bertahan lebih dari 3 hari. Dari sini dapat ditentukan bahwa volume 50 mL merupakan batas bawah sebagai acuan di penelitian utama.

Untuk penambahan volume molase sebanyak 100-200 mL terlihat bahwa semakin banyak volume molase yang diberikan akan semakin cair hidrolisat protein kerang hijau. Selain itu, warna dari hidrolisat protein kerang hijau semakin coklat kehitaman. Fermentasi hidrolisat protein kerang hijau dapat bertahan hingga 12 hari dan tidak mengalami kebusukan dengan bau khas fermentasi. Hal ini disebabkan karena nutrisi yang dibutuhkan oleh khamir laut sangat melimpah sehingga dapat bertahan lama pada proses fermentasi. Karena adanya perbedaan pola pertumbuhan khamir laut pada variasi konsentrasi molase menunjukkan bahwa komposisi media berperan penting dalam pertumbuhan khamir laut. Perbedaan kecil pada nutrisi yang tersedia memungkinkan terjadinya perubahan akibat keterbatasan nutrisi dan berpengaruh terhadap pembentukan sel mikroorganisme (Supriyanto *et al*., 2014). Untuk kepentingan analisis, volume molase rebus yang digunakan pada penelitian utama sebanyak 100 mL, 200 mL, 300 mL, dan 400 mL dengan 100 g daging kerang hijau rebus yang dihaluskan dan penambahan inokulan kamir laut fase logaritmik sebanyak 20 mL..

4.1.3 Penentuan Lama Waktu Fermentasi

Untuk penentuan lama waktu fermentasi hidrolisat protein kerang hijau diperoleh dari percobaan penentuan volume molase rebus yang digunakan. Selain

itu, dilihat pula rendemen yang diperoleh pada saat proses fermentasi berlangsung. Data hasil pengamatan rendemen dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



Gambar 5. Rendemen hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda

Gambar 5 menunjukkan bahwa titik optimal hidrolisat protein kerang hijau dengan lama fermentasi 3, 6, 9 dan 12 hari adalah pada hari ke-6. Perhitungan rendemen hidrolisat protein dapat dilihat pada Lampiran 1. Rendemen pada hari ke-9 mengalami penurunan hal ini disebabkan pertumbuhan khamir laut pada proses fermentasi sudah mulai terganggu. Kehabisan sumber makanan menjadi salah satu alasan yang mempengaruhi metabolisme khamir laut yang menghasilkan enzim pada proses fermentasi ini. Enzim yang dihasilkan oleh khamir laut adalah enzim protease, amilase, dan lipase. Menurut penelitian Purbasari (2008), peningkatan enzim sangat berpengaruh terhadap peningkatan kecepatan pembentukan produk. Pada proses ini kecepatan enzim semakin naik dan akan mencapai batas maksimum. Setelah batas maksimum ini terlampaui, kecepatan enzim tetap

meningkat tetapi dengan nilai yang semakin kecil. Pada kondisi ini enzim menjadi jenuh oleh substratnya dan tidak dapat menghidrolisis dengan baik.

Dari penghitungan rendemen ini didapatkan batasan untuk lama fermentasi yang dibutuhkan, yaitu 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari. Diantara 4 batasan tersebut, yang memperoleh jumlah rendemen tertinggi yaitu pada hari ke-6 yang menunjukkan titik optimum pada fermentasi hidrolisat protein kerang hijau.

4.2 Penelitian Utama

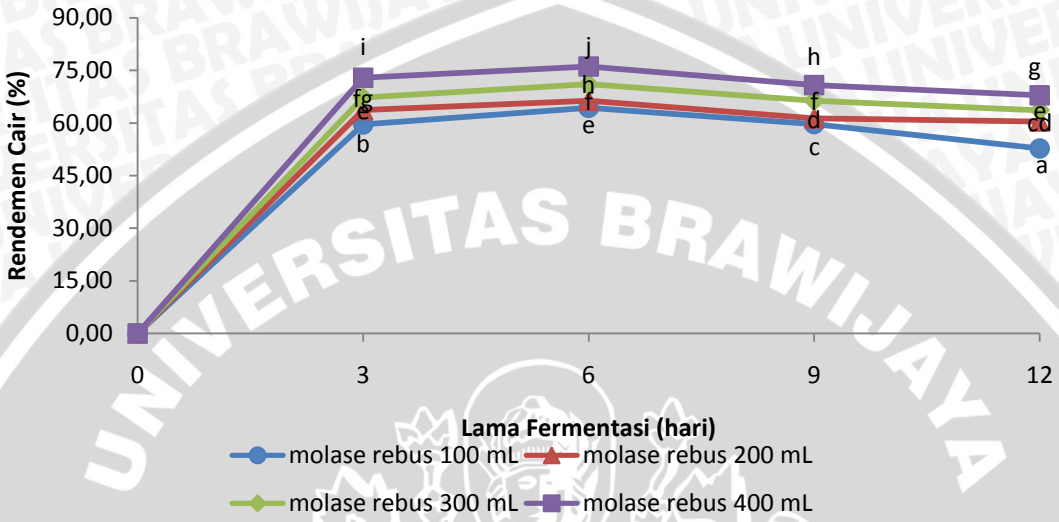
Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, didapatkan acuan utama untuk proses pembuatan hidrolisat protein kerang hijau dilakukan dengan penambahan molase rebus sebanyak 100 mL, 200 mL, 300 mL, dan 400 mL dengan lama fermentasi yang digunakan adalah 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari. Sedangkan untuk penambahan inokulan khamir laut diberikan sebanyak 20 mL yang diambil pada fase logaritmik. Produk hidrolisat protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk pasta untuk mempermudah dalam melakukan analisis untuk kemungkinan penggunaan hdrolisat protein kerang hijau sebagai pakan. Analisis yang dilakukan antara lain analisa proksimat yang meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat. Selain itu dilakukan pula analisis pH, analisis emulsi, analisis buih, dan analisis total asam amino.

4.2.1 Rendemen Hidrolisat Protein Kerang Hijau

4.2.1.1 Rendemen Cairan

Rendemen merupakan jumlah presentase sampel akhir setelah proses dan dinyatakan dalam % (bobot/bobot). Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap rendemen cairan hidrolisat

protein kerang hijau ada perbedaan ($p < 0,05$). Rendemen cairan hidrolisat protein kerang hijau dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6.



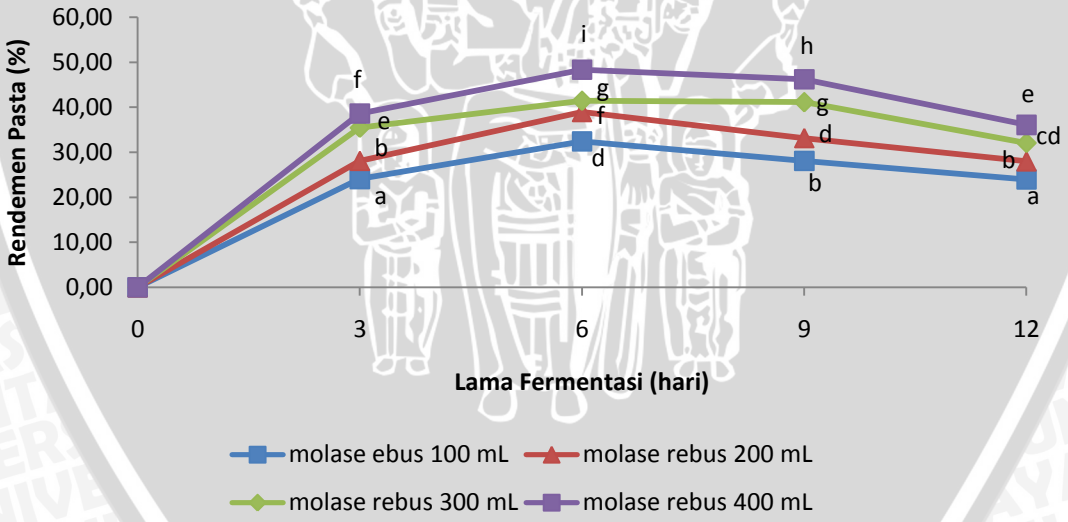
Gambar 6. Rendemen cair hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

Gambar 6 menunjukkan bahwa rendemen hidrolisat protein kerang hijau mengalami kenaikan pada setiap perlakuan penambahan molase rebus dengan volume yang berbeda. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan substrat berupa molase rebus yang menyebabkan meningkatnya rendemen pada proses fermentasi hdrolisat protein kerang hijau. Dapat dilihat bahwa rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan yang ditambahkan molase sebanyak 400 mL. Pada gambar 6 juga menunjukkan bahwa rendemen hidrolisat protein kerang hijau dengan lama fermentasi yang berbeda mengalami kenaikan pada lama fermentasi 6 hari di hari selanjutnya mengalami penurunan sampai hari fermentasi ke-12. Hal ini disebabkan titik optimum terjadi pada hari ke-6. Berdasarkan penelitian Purbasari (2008) semakin lama waktu yang diperlukan untuk menghidrolisis makan akan semakin

tinggi nilai rendemen produk hidrolisat yang dihasilkan. Selain itu, menurut Rosdianti (2008) aktivitas hidrolisis menurun akibat penggunakan enzim yang berlebihan mengakibatkan tidak semua enzim dapat berkaitan dengan substratnya sehingga kecepatan enzim tidak maksimum dan proses hidrolisis tidak efisien. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa nilai rendemen terendah terdapat pada lama fermentasi 12 hari dengan volume molase rebus sebanyak 100 mL.

4.2.1.2 Rendemen Pasta

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap rendemen pasta ada perbedaan ($p < 0,05$). Rendemen pasta hidrolisat protein kerang hijau dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Rendemen pasta hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

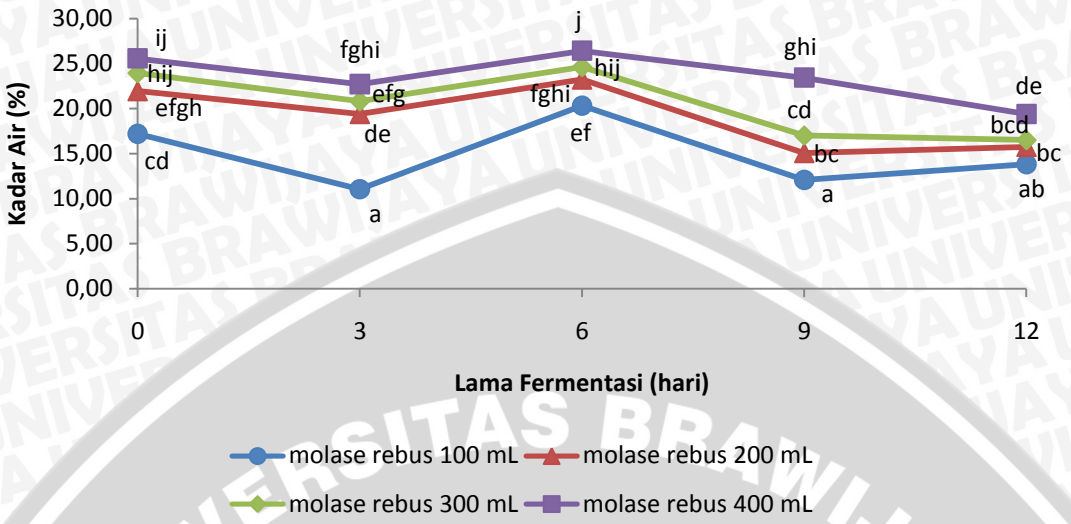
Gambar 7 menunjukkan bahwa rendemen pasta dengan volume molase rebus yang berbeda mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan adanya

penambahan substrat yaitu molase rebus yang semakin banyak yang menyebabkan meningkatnya pula nilai rendemen pasta pada proses fermentasi hidrolisat protein kerang hijau. Susilorini (2014) melaporkan pada penelitiannya mengenai hidrolisat protein kepala udang vanname rendemen pasta mengalami peningkatan. Dapat dilihat bahwa rendemen pasta tertinggi terdapat pada perlakuan yang diberi molase rebus sebanyak 400 mL. Gambar 7 juga menunjukkan pada fermentasi hari ke-6 memiliki rendemen pasta yang tertinggi dan kemudian menurun pada hari ke-9 dan 12. Iriana (2014) melaporkan bahwa rendemen pasta pada hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami kenaikan pada hari ke-6 dan menurun di hari berikutnya. Hal ini dimungkinkan setelah hari ke-6 merupakan titik optimum. Sedangkan penurunan pada fermentasi hari ke-9 dan 12 hal ini disebabkan sudah menurunnyanya aktivitas enzim yang menyebabkan hasil dari proses fermentasi menggunakan enzim yang dihasilkan oleh khamir laut menurun akibat semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan. Romantica *et al* (2014) mengatakan bahwa peningkatan rendemen pasta terjadi karena semakin lama waktu fermentasi maka perombakan glukosa akan semakin banyak sehingga terjadi penurunan berat yang menunjukkan semakin lama fermentasi maka akan semakin rendah rendemen yang dihasilkan.

4.2.2 Analisis Proksimat Hidrolisat Protein Kerang Hijau

4.2.2.1 Kadar Air

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap kadar air ada perbedaan ($p < 0,05$). Kadar air hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 8.



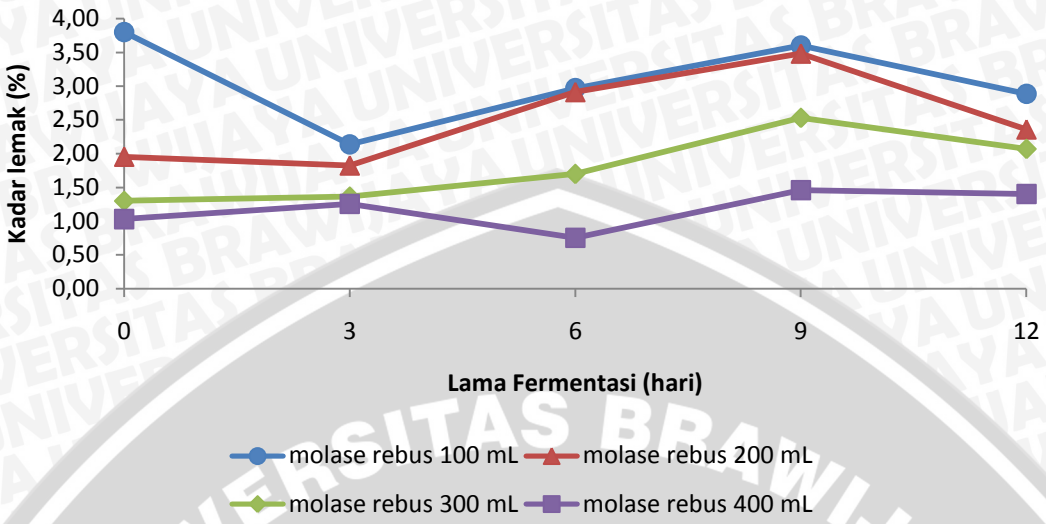
Gambar 8. Kadar air hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

Gambar 8 menunjukkan bahwa kadar air mengalami peningkatan pada setiap perlakuan. Hal ini disebabkan karena komposisi kerang hijau sudah memiliki kandungan air yang tinggi. Selain itu disebabkan juga akibat terjadinya proses degradasi karbohidrat yang berasal dari molase rebus menghasilkan air sehingga kadar air pada hidrolisat protein kerang hijau semakin meningkat. Menurut penelitian Fathony (2014) mengenai hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami penurunan. Menurut Ratnawati dan Sunarko (2008), kandungan kadar air kerang hijau sebesar 40,8%. Hidayat (2005) menjelaskan bahwa hidrolisis memerlukan air untuk mempermudah proses pengadukan selama hidrolisis berjalan yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Selain itu, untuk mempercepat laju enzimatik karena kadar air yang rendah mengakibatkan penghambatan difusi enzim dan substrat. Kadar air juga dapat memperluas bidang kontak antara substrat dengan enzim, sehingga pada rentang waktu tertentu dapat dihasilkan produk hidrolisat yang besar. Jika dilihat pada Gambar 8, kadar air hidrolisat protein kerang hijau

cenderung menurun. Sedangkan menurut penelitian Fathony (2014) hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami penurunan. Hal ini dimungkinkan karena proses metabolisme khamir laut yang menghasilkan panas sehingga kadar air yang terdapat pada kerang hijau menguap. Widadi (2011) menjelaskan bahwa semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan maka akan semakin rendah kadar air yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian Dewi (2002), saat hidrolisis berlangsung bahan mengalami penurunan kemampuan dalam mempertahankan air sehingga banyak air terikat yang terbebaskan, menyebabkan tekstur bahan menjadi cair. Kadar air terendah pada hidrolisat protein kerang hijau pada lama fermentasi 12 hari dengan penambahan molase rebus sebanyak 100 mL.

4.2.2.2 Kadar Lemak

Hasil analisis data menunjukkan interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap kadar lemak tidak ada perbedaan ($p > 0,05$). Kadar lemak hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 9.



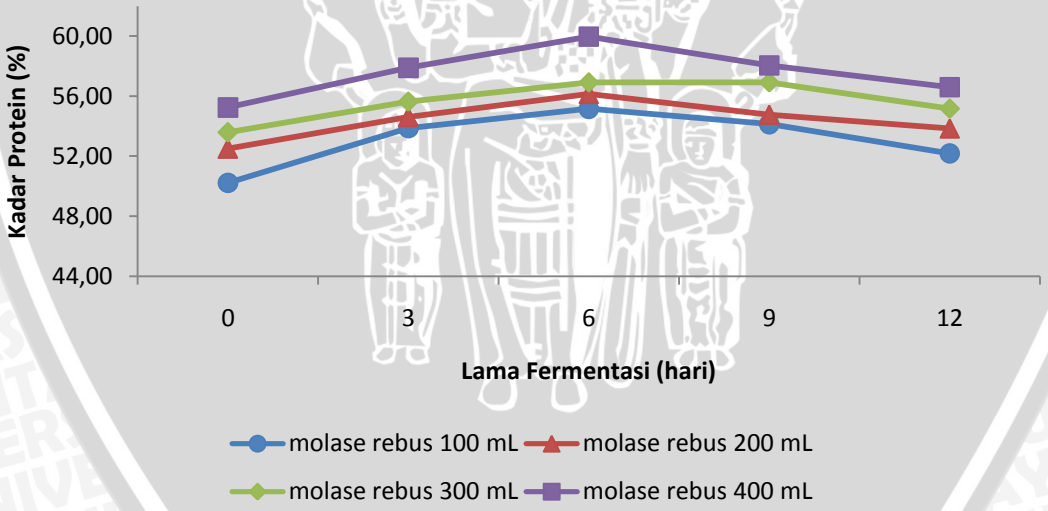
Gambar 9. Kadar lemak hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda.

Gambar 9 menunjukkan pada pembuatan hidrolisat protein kerang hijau cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya kadar air pada hidrolisat protein kerang hijau yang menyebabkan menurunnya kadar lemak. Fathony (2014) melaporkan bahwa kadar lemak pada hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami penurunan. Menurut penelitian Rangkuti (2007), hal ini disebabkan karena adanya reaksi hidrolisis pada minyak. Reaksi ini dipercepat dengan adanya faktor-faktor seperti panas, air, keasaman, dan katalis (enzim). Semakin lama waktu fermentasi, maka akan semakin banyak lemak yang akan terbentuk. Kemudian ditambahkan oleh Maharaja (2008) bahwa penurunan kadar lemak dikarenakan asam yang dapat menurunkan pH hidrolisat protein kerang hijau sehingga suasana asam yang terbentuk menyebabkan proses hidrolisis dan oksidasi lemak yang akan semakin cepat. Selain itu fungsi dari enzim lipase sendiri adalah untuk mendegradasi lemak menjadi gliserol dan asam lemak (Bharati, 2011). Gambar 9 menunjukkan bahwa kadar lemak dengan lama fermentasi yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang nyata. Sedangkan menurut penelitian Fathony

(2014) hidrolisat protein kepala udang vanname adanya peningkatan. Hal ini disebabkan karena sumber lemak yang diperoleh dalam pembuatan hidrolisat protein hanya berasal dari kerang hijau dan penambahan molase rebus sangat sedikit. Menurut Nihrawi *et al* (2014), kandungan lemak pada kerang hijau sebesar 4,9%, sedangkan untuk kandungan lemak yang terdapat pada molase rebus menurut Sari (2014) yaitu sebesar 0,05%.

4.2.2.3 Kadar Protein

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap kadar protein tidak ada perbedaan (p > 0,05). Kadar protein hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 10.



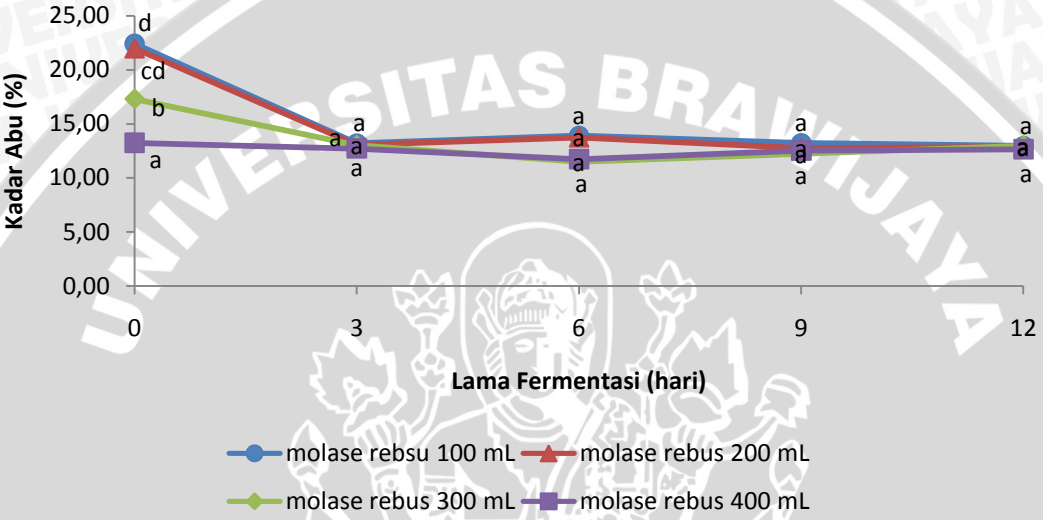
Gambar 10. Kadar protein hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

Gambar 10 menunjukkan adanya peningkatan kadar protein pada setiap perlakuan dengan penambahan volume molase rebus yang berbeda terhadap

pembuatan hidrolisat protein kerang hijau. Hal ini disebabkan oleh adanya penambahan bahan tambahan yang memiliki kadar protein yang juga tinggi, yaitu molase dan khamir laut. Begitu juga pada penelitian Fathony (2014) melaporkan mengenai hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami peningkatan. Sukoso (2012) mengatakan bahwa kadar protein yang terdapat pada khamir laut yaitu sebesar 28,29% dan untuk kadar protein molase sebesar 24,64% (Sari, 2014). Selain itu adanya proses pemecahan protein dengan enzim protease yang menyebabkan meningkatnya kadar protein pada hidrolisat protein kerang hijau. Gambar 10 menunjukkan pada hari ke-0 kadar protein hidrolisat protein kerang hijau lebih rendah dibandingkan kadar protein dengan lama fermentasi lainnya. Pada penelitian Fathony (2014) melaporkan kadar protein hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami peningkatan. Hal ini mungkin disebabkan belum terjadinya proses hidrolisis protein yang dihasilkan dari enzim yang berasal dari metabolisme khamir laut pada kerang hijau. Pada lama fermentasi lainnya juga dipengaruhi oleh penambahan enzim yang dihasilkan oleh khamir laut yang dapat meningkatkan kandungan protein pada produk hidrolisat protein kerang hijau. Menurut Amalia (2007) peningkatan tersebut disebabkan oleh ikut terdeteksinya enzim yang digunakan dalam analisis protein yang dilakukan, karena enzim adalah protein. Kandungan protein yang diperoleh pada hari ke-0 merupakan hasil dari bahan baku, yaitu kerang hijau, yang kemudian ditambahkan molase rebus dan khamir laut. Kandungan protein kerang hijau sendiri sebesar 21,9% (Ratnawati dan Sunarko, 2008), molase rebus 24,64% (Sari, 2014), dan menurut Sukoso (2012) khamir laut mengandung 28,29% protein. Selain itu menurut Noviati (2007), khamir laut memerlukan waktu untuk beradaptasi dengan lingkungannya untuk melakukan pembelahan sel dan bermetabolisme.

4.2.2.4 Kadar Abu

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap kadar abu ada perbedaan ($p < 0,05$). Kadar abu hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 11.



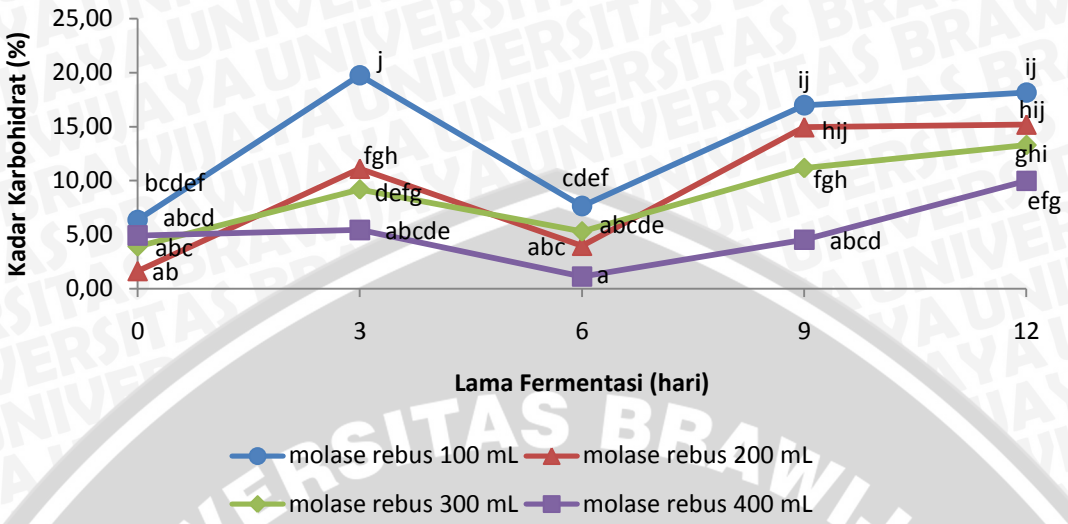
Gambar 11. Kadar abu hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

Gambar 11 menunjukkan terjadinya penurunan kadar abu hidrolisat protein kerang hijau pada setiap perlakuan penambahan molase rebus. Hal ini dimungkinkan karena kadar abu yang terkandung dalam bahan baku dan bahan tambahan sedikit. Selain itu, hal ini disebabkan karena menurunnya nilai kadar karbohidrat pada hidrolisat protein kerang hijau dan mineral yang terkandung dalam bahan digunakan sebagai koenzim dalam proses fermentasi sehingga mengakibatkan menurunnya nilai kadar abu pada hidrolisat protein kerang hijau. Menurut penelitian Fathony (2014) melaporkan mengenai hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami penurunan. Menurut Ratnawati dan Sunarko (2008),

kadar abu yang terkandung di dalam kerang hijau sebesar 4,3%. Sedangkan menurut Ahmad (2005) kandungan kadar abu pada khamir laut sebesar 5-9,5% dan kadar abu yang terkandung dalam molase sebesar 0-6,5% (Noviati, 2007). Menurut Purbasari (2008) kadar abu menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Pada gambar 11 menunjukkan bahwa kadar abu hidrolisat protein pada hari ke-0 lebih tinggi dari pada lama fermentasi hari lainnya. Pada penelitian Fathony (2014) melaporkan bahwa kadar abu hidrolisat protein kepala udang vanname pada hari ke-0 lebih tinggi dibandingkan kadar abu hidrolisat protein kepala udang vanname pada lama fermentasi yang berbeda. Hal ini kemungkinan disebabkan karena belum adanya proses hidrolisis atau pemecahan terhadap unsur mineral yang terkandung di dalam bahan baku. Purwaningsih (2012) menyatakan bahwa perbedaan kadar abu dimungkinkan bahwa setiap organisme memiliki kemampuan yang berbeda dalam mengabsorbsi dan meregulasi logam sehingga khamir laut menggunakannya untuk tumbuh dan menyebabkan kadar abu semakin rendah.

4.2.2.5 Kadar Karbohidrat

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap kadar karbohidrat ada perbedaan ($p < 0,05$). Kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihatpada Gambar 12.



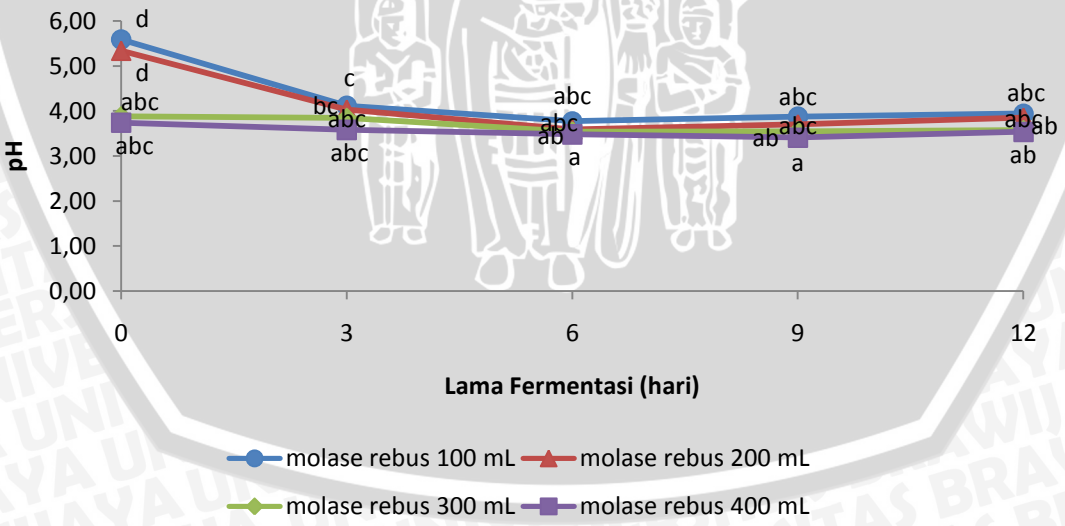
Gambar 12. Kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda yang berbeda

Pada Gambar 12 menunjukkan terjadinya penurunan pada setiap perlakuan pemberian molase rebus yang berbeda pada hidrolisat protein kerang hijau. Hal ini mungkin disebabkan adanya karbohidrat bahan baku awal , yaitu kerang hijau, yang ikut larut pada saat proses hidrolisis (Purbasari, 2008). Selain itu, karbohidrat banyak digunakan untuk proses fermentasi yang menyebabkan menurunnya kadar karbohidrat pada hidrolisat protein kerang hijau. Bahan organik diuraikan oleh mikroorganisme dengan menggunakan enzim amilase yang bekerja dalam pemecahan amilum dari substrat sehingga kandungan bahan organik menurun selama proses fermentasi berlangsung (Kurniati, 2012). Pada penelitian Fathony (2014) melaporkan hidrolisat protein kepala udang vanname kadar karbohidrat mengalami penurunan. Pada Gambar 12 menunjukkan bahwa kadar karbohidrat pada hari ke-0 lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar karbohidrat hidrolisat protein kerang hijau dengan lama fermentasi lainnya. Kadar karbohidrat hidrolisat protein kepal udang vanname pada hari ke-0 lebih tinggi dibandingkan pada kadar

karbohidrat hidrolisat protein kepala udang vanname dengan lama fermentasi yang berbeda (Fathony, 2014). Hal ini kemungkinan disebabkan pada fermentasi hari ke-0 belum terjadi proses hidrolisis terhadap gula reduksi pada bahan baku kerang hijau rebus. Selain itu, mungkin disebabkan oleh kandungan karbohidrat pada bahan baku atau penunjang memiliki kadar karbohidrat yang cukup tinggi. Ratnawati dan Sunarko (2008) melaporkan kandungan karbohidrat yang terkandung di dalam kerang hijau sebesar 18,5% dan pada molase gula tereduksi yang terkandung adalah sebesar 15-32% dan sukrosa sebesar 30-40% (Noviati, 2007).

4.2.3 Analisis Derajat Keasaman (pH)

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama waktu fermentasi terhadap nilai pH ada perbedaan ($p < 0,05$). Nilai pH hidrolisat protein kerang hijau ebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 13.



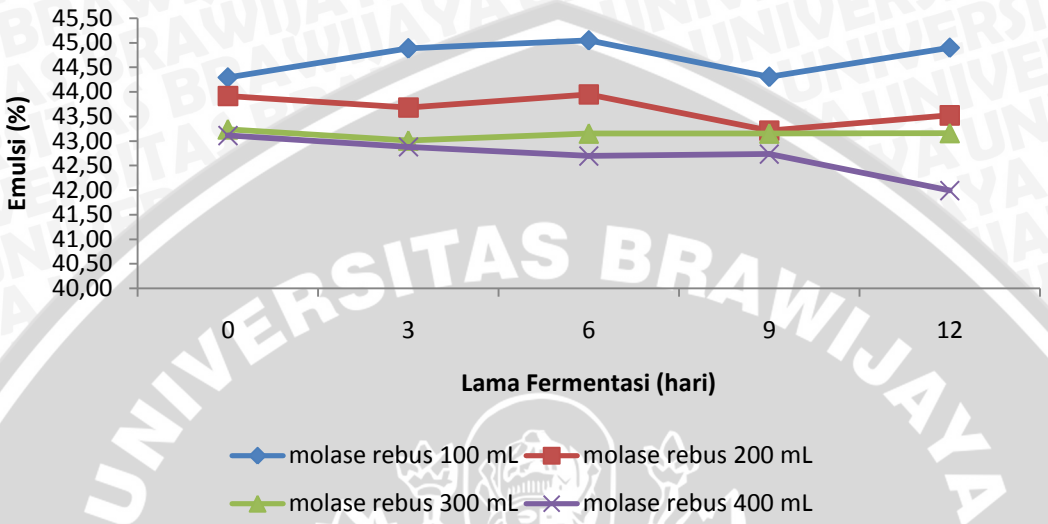
Gambar 13. pH hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

Gambar 13 menunjukkan adanya penurunan pH hidrolisat protein kerang hijau pada setiap perlakuan pemberian volume molase rebus yang berbeda. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh proses degradasi bahan organik saat proses fermentasi yang menimbulkan banyak asam yang terbentuk. Sama halnya pada penelitian Fathony (2014) pH hidrolisat protein kepala udang vanname juga mengalami penurunan. Pada proses fermentasi akan dihasilkan asam-asam yang mudah menguap, diantaranya asam laktat, asam asetat, asam format, asam butirat, dan asam propionat yang merupakan hasil dari perombakan glukosa dan alkohol (Adhitya *et al*., 2014). Gambar 13 menunjukkan bahwa pH pada hari ke-0 lebih tinggi jika dibandingkan pH hidrolisat protein kerang hijau pada hari ke-3, 6, 9, dan 12. Pada penelitian Fathony (2014) hidrolisat protein kepala udang vanname,pH pada lama fermentasi hari ke-0 lebih tinggi dibandingkan dengan lama fermentasi yang berbeda. Hal ini disebabkan karena belum terjadi fermentasi yang dapat menghasilkan asam-asam hasil dari hidrolisis. Seperti yang dikatakan oleh Adhitya *et al* (2014), semakin lama waktu fermentasi maka kadar keasamannya semakin tinggi. Selain itu, pH yang optimal untuk pertumbuhan khamir laut berada pada range 2,2-8 (Sukoso, 2012). Berdasarkan pada hasil penelitian ini, range pH hidrolisat protein kerang hijau termasuk ke dalam range pH khamir laut.

4.2.4 Analisis Kapasitas Emulsi

Kapasitas emulsi merupakan salah satu potensi dari hidrolisat protein. Emulsi merupakan suatu bahan yang dapat meningkatkan proses pencampuran antara dua fase yang berbeda dan sulit tercampur melalui aksi permukaan (Budy, 2014). Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume rebus dan lama fermentasi terhadap kapasitas emulsi tidak ada perbedaan ($p > 0,05$). Kapasitas

emulsi hidrolisat protein kerang hijau rebus dengan volume molase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14.



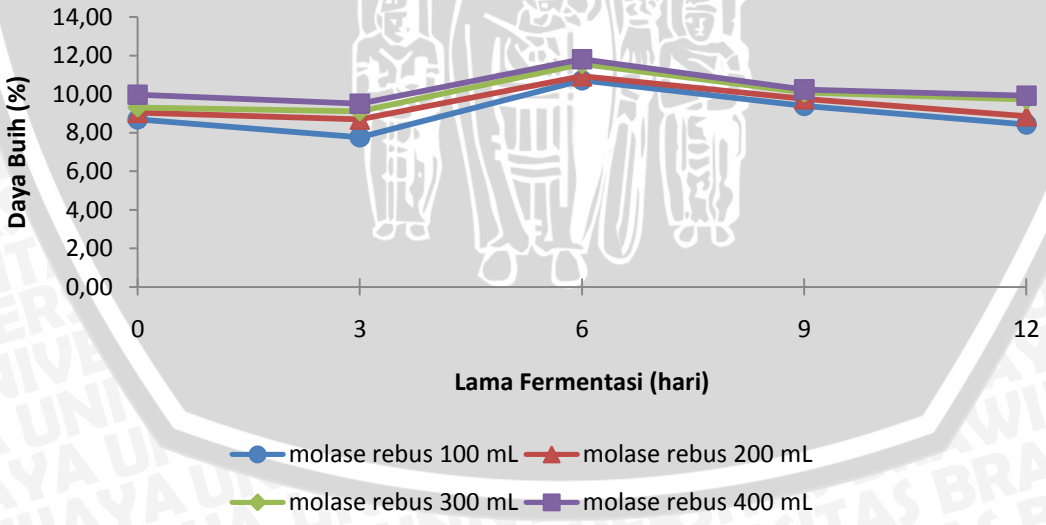
Gambar 14. Kapasitas emulsi hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan molase rebus dan lama waktu fermentasi yang berbeda

Gambar 14 menunjukkan adanya penurunan kadar emulsi pada hidrolisat protein kerang hijau dengan pemberian volume molase rebus yang berbeda. Hal ini disebabkan karena menurunnya nilai kadar lemak sebagai zat pembentuk emulsi yang menyebabkan nilai emulsi juga ikut menurun. Pada penelitian Fathony (2014) kadar emulsi pada hidrolisat protein kepala udang vanname mengalami penurunan. Hal ini dijelaskan oleh Koesoemawardani *et al* (2011) 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. Selain itu, kemampuan hidrolisis yang tinggi dapat menghasilkan sejumlah peptida yang panjang dan memicu penurunan kadar emulsi hidrolisat protein kerang hijau. Ditambahkan oleh Amirza *et* al (2013), dengan peningkatan hidrolisis enzimatik, degradasi protein akan mengakibatkan turunnya kapasitas emulsi. Gambar 14

memperlihatkan bahwa emulsi hidrolisat protein kerang hijau tidak mengalami perbedaan yang nyata. Pada penelitian Fathony (2014) mengatakan bahwa emulsi pada hari ke-0 atau kontrol lebih tinggi bila dibandingkan emulsi hidrolisat protein kepala udang vanname dengan lama fermentasi yang bebeda. Hal ini disebabkan selama waktu fermentasi menghasilkan sejumlah peptida yang panjang dalam jumlah yang sama, sehingga peptida panjang yang membentuk tetesan minyak yang kecil juga sehingga menyebabkan tidak berbeda nyata (Koesoemawardani *et al*., 2011).

4.2.5 Analisis Daya Buih

Hasil analisis data menunjukkan bahwa interaksi volume molase rebus dan lama fermentasi terhadap daya buih tidak ada perbedaan (p > 0,05). Daya buih hidrolisat protein kerang hijau dengan volumemolase rebus dan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Daya buih hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus dan lama waktu ferentasi yang berbeda

Pada Gambar 15 menunjukkan adanya peningkatan daya buih hidrolisat protein kerang hijau dengan penambahan volume molase rebus yang berbeda. Hal ini dimungkinkan karena adanya peningkatan pada kadar protein. Karena daya buih berkaitan dengan kelarutan protein. Pada hidrolisat protein kepala udang vanname pada penelitian Fathony (2014) daya buih mengalami peningkatan pada tiap perlakuan. Hal ini mungkin disebabkan oleh nilai protein yang meningkat. Menurut Koesoemawardani *et al* (2011) pada penelitiannya menjelaskan bahwa kemampuan masing-masing enzim dalam menghidrolisis protein bergantung pada sifat spesifik dan gugus aktifnya. Daya buih dipengaruhi oleh jumlah protein yang terlarut, sehingga semakin tinggi nilai protein terlarut maka daya buih yang dihasilkan pun tinggi. Gambar 15 memperlihatkan daya buih hidrolisat protein kerang hijau pada fermentasi hari ke-0 lebih kecil dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang hijau dengan lama fermentasi 3, 6, 9, dan 12. Pada penelitian hidrolisat protein kepala udang vanname, daya buih berdasarkan lama fermentasi pada hari ke-0 juga lebih rendah dibandingkan dengan lama fermentasi lainnya. Hal ini mungkin disebabkan belum terjadinya proses hidrolisis oleh enzim yang dihasilkan dari metabolisme khamir laut. Seperti yang dijelaskan oleh Noviati (2007) bahwa khamir laut memerlukan tahap adaptasi dengan lingkungan yang baru untuk melakukan pembelahan sel dan metabolismenya. Selain itu, kemungkinan pada selama proses fermentasi terbentuk peptida hidropobik yang dapat mengabsorbsi antara fase udara dan air, sehingga dapat membentuk buih yang banyak. Tetapi, jika waktu hidrolisis bertambah peptida hidropobiknya berkurang dan diduga terjadi pengurangan berat molekulnya yang dapat meningkatkan kestabilan buih yang dihasilkan (Koesoemawardani *et al*., 2011).

4.2.6 Hidrolisat Protein Kerang Hijau dengan Nilai Protein Tertinggi

Berdasarkan hasil analisis protein hidrolisat protein kerang hijau diperoleh nilai protein tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 6 hari dengan penambahan volume molase rebus sebanyak 400 mL. Hal ini dilihat dari kadar protein yang tertinggi yang diperoleh dari hidrolisat protein kerang hijau antar perlakuan dan dilihat dari parameter lainnya yaitu pH, emulsi, dan daya buih (Purbasari, 2008). Menurut Koesoemawardani *et al* (2011) hidrolisat protein yang baik adalah yang memiliki nilai emulsi dan buih yang tinggi. Kandungan kimia hidrolisat protein kerang hijau dan kerang hijau rebus dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 4. Kandungan kimia hidrolisat protein kerang hijau terbaik dan kerang hijau rebus

Parameter	Satuan	Pasta Hidrolisat Protein Kerang Hijau	Kerang Hijau Rebus
Kadar Protein	%	59,97	12,18
Kadar Air	%	26,41	79,95
Kadar Lemak	%	0,76	2,83
Kadar Abu	%	11,73	1,14
Kadar Karbohidrat	%	1,13	3,9
pH	-	3,48	-
Emulsi	%	42,69	-
Daya Buih	%	11,81	-

Pada Tabel 4 menunjukkan adanya kesetimbangan massa antara kandungan gizi kerang hijau rebus dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang hijau terbaik tiap perlakuan. Prinsip kesetimbangan massa yaitu total input bahan yang masuk ke dalam suatu proses pengolahan akan sama dengan total outputnya dan yang terjadi hanyalah perubahan wujud dari bahan yang masuk dan yang keluar. Masukkan bahan yang masuk ke dalam suatu tahap proses dapat berupa satu jenis bahan atau

lebih, begitu juga dengan bahan yang keluar dapat berupa satu atau lebih produk yang diinginkan. Pada hidrolisat protein kerang hijau terlihat bahwa kadar proteinnya lebih tinggi dibandingkan dengan bahan baku kerang hijau rebus. Hal ini dimungkinkan dengan adanya penambahan kadar protein dari bahan tambahan lainnya seperti khamir laut dan molase rebus.

Kadar air pada bahan baku kerang hijau rebus lebih tinggi dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang hijau. Sedangkan pada penelitian Purbasari (2008) mengenai hidrolisat protein kerang mas ngur kadar air pada bahan baku lebih rendah dibandingkan dengan produk hidrolisat protein kerang mas ngur sendiri. Hal ini dimungkinkan karena kerang hijau yang digunakan mengalami proses perebusan terlebih dahulu. Kemungkinan lainnya bisa juga disebabkan kerang hijau rebus belum mengalami suatu proses yang memungkinkan untuk kehilangan kandungan airnya. Menurut Ratnawati dan Sunarko (2008) kerang hijau segar memiliki kadar air sebesar 40,8%.

Hidrolisat protein kerang hijau memiliki kadar lemak yang lebih sedikit dibandingkan dengan kerang hijau rebus sebagai bahan bakunya. Pada penelitian Purbasari (2008) kadar lemak hidrolisat protein kerang mas ngur lebih kecil dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini disebabkan karena adanya air yang menyebabkan lemak terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Reaksi ini dipercepat dengan adanya enzim yang dihasilkan oleh khamir laut. Hidrolisis yang dilakukan oleh enzim lipase sangat penting karena enzim tersebut terdapat pada semua jaringan yang mengandung minyak yang kemudian menguraikan lemak sehingga kadar asam lemak menjadi lebih rendah (Winarno, 2004).

Kadar abu yang terdapat pada bahan baku kerang hijau lebih rendah dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang hijau. Pada penelitian hidrolisat

protein kerang mas ngur milik Purbasari (2008), kadar abu pada bahan baku juga lebih rendah dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang mas ngur itu sendiri. Hal ini disebabkan karena pada hidrolisat protein kerang hijau terdapat bahan tambahan seperti molase rebus. Menurut Ahmad (2005) kadar abu yang terdapat pada molase rebus sebesar 1,7%. Hal ini terjadi akibat proses pembakaran, bahan-bahan organik terbakar tetapi zat anorganiknya tidak, oleh karena itu disebut abu (Winarno, 2004).

Kadar protein hidrolisat protein kerang hijau lebih tinggi dibandingkan dengan bahan baku kerang hijau rebus. Pada penelitian Purbasari (2008) kandungan protein hidrolisat protein kerang mas ngur juga lebih tinggi dibandingkan dengan bahan bakunya. Hal ini mungkin disebabkan pada bahan baku belum adanya penambahan bahan tambahan seperti molase dan khamir laut yang memiliki kadar protein yang cukup tinggi. Selain itu mungkin belum adanya proses hidrolisis pada bahan bahan baku. Menurut Sari (2014) molase rebus memiliki kadar protein sebesar 24,64% dan khamir laut memiliki kadar protein sebesar 28,29% (Sukoso, 2012).

Kadar karbohidrat pada hidrolisat protein kerang hijau lebih sedkit dibandingkan dengan bahan baku kerang hijau rebus. Menurut penelitian Purbasari (2008) kadar karbohidrat kepala udang vanname lebih rendah dibandingkan dengan bahan bakunya. Mungkin hal ini disebabkan karena adanya penambahan molase rebus yang memiliki kadar karbohidrat yang cukup tinggi. Menurut Ahmad (2005) kadar karbohidrat pada molase rebus sebesar 40%.

Nilai pH, emulsi, dan daya buih hanya ada pada hidrolisat protein kerang hijau. Hal ini dkarenakan pH, emulsi, dan daya buih merupakan paramater tambahan untuk mendapatkan kualitas hidrolisat protein yan terbaik. Menurut Koesoemawardani *et al* (2011) hidrolisat protein yang terbaik dilihat dari kadar

emulsi dan daya buih yang tinggi. Selain itu, menurut Sukoso (2012) pH optimal untuk khamir laut yaitu 2,2-8.

Menurut Purbasari (2008), hidrolisat protein berdasarkan berat kering yang dibuat dari ikan berlemak rendah akan mengandung protein 85-90%, lemak 2-4%, dan abu 6-7%. Selain itu hasil hidrolisis adalah α-amino nitrogen bebas yang umumnya digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis. Perbandingan antara α-amino nitrogen bebas dengan total nitrogen digunakan untuk menentukan mutu hidrolisat protein. angka perbandingan yang tinggi menunjukkan hidrolisat protein yang tinggi pula.

4.2.7 Analisis Total Asam Amino (HPLC)

Berdasarkan hasil analisis protein hidrolisat protein kerang hijau diperoleh nilai protein yang tertinggi yaitu hidrolisat pada lama fermentasi 6 hari dengan volume molase rebus sebanyak 400 mL. Hidrolisat protein dengan nilai protein tertinggi, kemudian diujikan analisis total asam amino untuk mengetahui asam amino apa saja yang terkandung dalam produk hidrolisat protein kerang hijau. Kandungan asam amino hidrolisat protein kerang hijau yang dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang mas ngur dapat dilihat pada Tabel 6 berikut.

Tabel 5. Kandungan asam amino hidrolisat protein kerang hijau dan hidrolisat protein kerang hijau

No	Jenis Asam Amino	Kandungan Asam Amino (%)		
		Pasta Hidrolisat Protein Kerang Hijau	Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) [1]	Hidrolisat Protein Kerang Mas Ngur [2]
Esensial				
1	Lisin	0,23	2,57	3,31
2	Histidin	-	3,04	1,78
3	Arginin	0,24	3,70	1,10
4	Leusin	0,39	5,10	4,20
5	Isoleusin	0,27	2,48	4,20
6	Threonin	0,26	2,85	3,29
7	Methionin	0,11	3,99	1,76
8	Valin	0,31	2,60	2,30
9	Triptofan	-	-	-
10	Phenilalanin	0,27	4,71	2,27
Non Esensial				
11	Glutamat	3,79	2,57	13,09
12	Sistin	0,01	2,72	1,03
13	Aspartat	0,94	2,55	6,78
14	Alanin	0,75	1,43	1,48
15	Serin	0,22	1,71	1,64
16	Glisin	0,54	1,73	1,81
17	Prolin	0,63	3,40	1,30
18	Tirosin	0,15	3,48	3,16
	Total	**9,11**	**50,63**	**54,47**

Sumber: [1] Aziz *et al*., 2007
[2] Purbasari, 2008

Tabel 5 menunjukkan bahwa asam amino yang diperoleh hidrolisat protein kerang hijau dengan hidrolisat protein kerang mas ngur pada umumnya 16-18 macam asam amino. Hal ini dimungkinkan hidrolisi yang berlangsung pada produk ini berjalan sempurna seperti yang dikatakan oleh Amalia (2007) dalam penelitiannya bahwa hidrolisis berjalan sempurna apabila menghasilkan 18-20 macam asam amino.

Pada penelitian ini terdapat 8 asam amino esensial dan 8 asam amino non esensial. Jika dibandingkan dengan asam amino dari bahan baku yaitu kerang hijau,

jenis asam amino yang dihasilkan keduanya tidak jauh berbeda. Asam amino yang dihasilkan dari hidrolisat protein kerang hijau yaitu asam glutamat lebih tinggi dibandingkan dengan kadar asam amino kerang hijau. Tingginya kadar asam glutamat disebabkan oleh proses analisis yang menggunakan hidrolisis asam dengan derajat analisis yang lebih tinggi, selain itu asam amino glutamin mengalami deaminasi membentuk asam glutamat (Nurjanah *et al*., 2014). Asam glutamat sendiri memiliki fungsi untuk menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan (Purbasari, 2008). Sedangkan untuk kadar asam amino terendah adalah sistin sebesar 0,01% dan untuk asam amino jenis triptofan dan histidin tidak terdeteksi. Hal ini kemungkinan terjadi akibat proses hidrolisis yang dapat merusak triptofan dan histidin. Nurjanah *et al* (2014) mengatakan bahwa proses hidrolisis dapat menyebabkan asam amino jenis asparagin, glutamin dan triptofan tidak dapat terdeteksi. Proses hidrolisis merusak semua triptofan dan sistein.

Apabila dilihat dari total asam amino tiap jenisnya, hidrolisat protein kerang hijau pada penelitian ini mengandung asam amino lebih rendah dibandingkan dengan hidrolisat protein kerang mas ngur. Hal ini disebabkan adanya perbedaan bahan baku yang digunakan dan prosedur yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein tersebut. Perbedaan total asam amino juga disebabkan oleh lama fermentasi, enzim yang digunakan, dan bahan baku. Semakin lama waktu hidrolisis menyebabkan konsentrasi protein hasil hidrolisis meningkat, hal ini disebabkan lamanya waktu kerja enzim yang mempengaruhi keaktifannya sedangkan keepatan katalis enzim akan meningkat dengan lamanya waktu hidrolisis (Prasetya *et al*., 2012). Selain itu, enzim yang diguanakan pada penelitian ini merupakan enzim yang dihasilkan oleh khamir laut. Menurut Sukoso (2012) enzim yang dihasilkan leh

khamir laut adalah proteinase (protein), amilase (pati), deaminase (lemak), sukrose (sukrosa), dan fosfolipase (fosfolipid).

repository.ub.ac
UNIVERSITAS BRAWIJAYA