

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Molase

Fardiaz (1987) menyatakan bahwa molase merupakan hasil samping dari pengolahan tebu menjadi gula, yang masih banyak mengandung zat-zat organik bermanfaat seperti karbohidrat, protein, vitamin dan bahan-bahan organik lainnya (Tabel 01). Komposisi molase bervariasi tergantung jenis tebu yang digunakan untuk produksi gula. Perbedaan mutu molase juga dipengaruhi oleh faktor agronomi lahan, kondisi iklim selama pertumbuhan hingga pasca panen tebu, dan proses produksi gula dari masing-masing pabrik.

Tabel 01. Komposisi molase Tebu

Komposisi	Molase Gula Tebu (%)	Vitamin	mg/100g b. k
Berat Kering	77 - 84	Thiamin	830
Sukrosa	33,4	Riboflavin	250
Gula Invert	21,2	Piridoksin	650
Bahan Organik Lain	19,6	Niosinamida	2100
Nitrogen	0,4 - 1,5	Asam Pantotenat	2140
P <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,6 - 2,0	Asam Folat	3,8
CaO	0,1 - 1,1	Biotin	120
K <sub>2</sub> O	2,6 - 5,0		
Abu	7,0 - 11,0		

Sumber: Fardiaz, 1987

Khamir tidak hanya menggunakan molase sebagai sumber karbon, tetapi juga melengkapi komponen organik yang lain. Menurut Oura (1972) molase mempunyai persyaratan "pre-treatment" sebelum digunakan untuk kultivasi. Pemanasan pada suhu 120 - 125°C selama  $\pm$  1 jam setelah mendidih,

dapat mengendapkan beberapa material anorganik dan material tersuspensi lainnya. Keasaman molase harus sesuai dengan pH bagi pertumbuhan mikrobia. Beberapa bahan pada molase justru akan menghambat pertumbuhan khamir, diantaranya adalah adanya koloid, nitrit, zat pewarna, asam sulfat, asam butirat dan ion kalsium (Ca) yang mengakibatkan molase bermutu rendah.

## **B. Tinjauan Umum Protein Sel Tunggal**

Protein sel tunggal atau “single cell protein” mulai dikenal pada tahun 1966 di Amerika Serikat sebagai pengganti istilah protein mikrobia (“microbial protein”), protein bakteri (“bacterial protein”) dan sejenisnya (Abbot, 1973 dalam Kuswanto, 1988).

Protein sel tunggal merupakan istilah yang digunakan untuk protein yang berasal dari mikrobia sederhana bersel satu atau banyak seperti bakteri, khamir, jamur dan ganggang (Hardjo dkk., 1989). Istilah protein sel tunggal juga digunakan bagi protein mikrobia untuk membedakannya dari protein hewan dan tumbuhan multiseluler. Sel-sel mikrobia ini juga mengandung lemak, karbohidrat, vitamin serta mineral, oleh karena itu disamping dapat digunakan sebagai pakan ternak, PST lebih lanjut dapat digunakan sebagai makanan manusia (Sardjoko, 1991).

Produksi PST untuk bahan pangan manusia telah dimulai pada tahun 1910 di Berlin. Pada saat itu telah diproduksi beribu-ribu ton protein sel tunggal dari khamir yang diberikan pada prajurit selama Perang Dunia I dan II. Protein sel tunggal tidak hanya diberikan kepada tentara, tetapi juga tawanan perang maupun kepada penduduk sipil dalam bentuk tepung, pasta,

sirup, atau dikeringkan untuk dimasukkan dalam sup. Khamir yang diproduksi khusus untuk makanan dikenal dengan sebutan "food yeast". Selama Perang Dunia II, "food yeast" tidak hanya digunakan di Jerman, tapi juga di Jepang dan Rusia (Frazier and Westhoff, 1983). "Food yeast" tidak saja merupakan sumber protein, tetapi juga zat gizi lainnya seperti lemak, mineral dan vitamin (Hardjo dkk., 1989).

Menurut Said (1987) pemanfaatan protein sel tunggal untuk manusia perlu diperhatikan, karena kandungan asam nukleatnya yang cukup tinggi, yaitu pada ganggang 4.0-6.0 %, kapang 2.5-6.0 %, khamir 6.0-11.0 %, dan bakteri lebih dari 11.0 %. Suhardi (1988) mengemukakan bahwa penggunaan asam nukleat yang direkomendasikan oleh WHO dan FAO adalah tidak lebih dari 2 gram per hari per berat badan, karena jika lebih akan membahayakan. Tingkatan maksimum yang boleh dikonsumsi dari asam nukleat adalah 2 gram per hari atau setara dengan konsumsi protein sel tunggal 30 gram per hari. Menurut Wainwright (1992 dalam Alexopoulos, 1996), kandungan asam nukleat yang tinggi di dalam khamir bila dikonsumsi berlebihan oleh manusia dapat memacu pembentukan asam urat dan menyebabkan penyakit encok atau "gout". Hal ini menyebabkan protein sel tunggal dari khamir lebih tepat digunakan sebagai pakan ternak.

Kandungan protein yang tinggi pada mikrobial dapat dimanfaatkan untuk mengatasi kekurangan protein dunia pada saat ini dan masa yang akan datang. Kandungan protein dan beberapa asam amino yang spesifik menentukan kualitas protein sel tunggal (Halim, 1985).

Frazier and Westhoff (1983) mengungkapkan bahwa penggunaan protein sel tunggal memiliki beberapa keuntungan. antara lain: kandungan proteinnya tinggi, pertumbuhan sel cepat karena waktu generasinya pendek, produksinya tidak tergantung iklim. PST dapat diproduksi dengan substrat seperti alkana, metan dan metanol (Oura 1972; Anggorodi, 1985).

Nilai gizi dari protein sel tunggal sangat bervariasi tergantung pada jenis mikrobia yang digunakan. Kandungan protein berbagai spesies mikrobia bervariasi, tetapi jenis asam amino yang dikandungnya hampir sama. Semua asam amino esensial terkandung di dalam protein sel tunggal, meskipun kandungan asam amino sulfur seperti sistein dan metionin rendah (Hang, 1979).

### **C. Proses Produksi Protein Sel Tunggal**

Proses produksi protein sel tunggal terdiri dari beberapa tahap, meliputi propagasi, pemanenan, dan pengeringan. Tahapan tersebut umumnya hampir sama, tergantung dari medium yang digunakan untuk propagasi. Penekanan diutamakan pada kondisi untuk propagasi, seperti substrat, suhu dan pH, kondisi aerasi dan agitasi, serta pemanfaatan kembali sel-sel yang dihasilkan (Sa'id, 1987; Wibowo, 1990).

#### **1. Substrat atau media**

Mikrobia untuk produksi protein sel tunggal memerlukan substrat atau sumber karbon untuk pertumbuhannya. Substrat yang telah lama dikenal diantaranya: bahan mentah yang mengandung pati (misalnya kentang, tapioka, dan hasil ikutannya), gula (gula tebu dan hasil ikutannya serta gula bit), bahan mentah lainnya seperti air dadih atau "whey", sisa

pengolahan industri makanan, dan substrat inkonvensional misalnya, alkohol, aldehida, asam organik, hidrogen dan karbon dioksida (Anggorodi, 1985)

Bahan yang bermutu rendah seperti limbah pertanian dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi, karena kandungan nutriennya masih memungkinkan untuk pertumbuhan mikrobia (Higgins *et al*, 1985). Mikrobia dapat tumbuh dan berkembang dengan baik bila media yang digunakan memenuhi syarat, antara lain: mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, pH yang sesuai untuk pertumbuhan, serta steril untuk menghindari kontaminasi (Suriawiria, 1986).

Selain karbohidrat, air, sejumlah bahan organik, vitamin dan mineral yang telah ada, media perlu diberikan tambahan sumber karbon dan sumber nitrogen. Khamir memerlukan senyawa atau unsur karbon sebagai bahan utama pembentuk sel dan sumber energi, sedangkan senyawa nitrogen diperlukan untuk sintesis protoplasma dan dinding sel (Darwis dan Sukara, 1990). Sebagai sumber karbon dapat digunakan gula (glukosa dan maltosa), sedangkan sumber nitrogen dapat berasal dari garam amonium dan urea (Crueger and Crueger, 1984). Menurut Litchfield (1978), konsentrasi karbohidrat dalam media biakan adalah 2-10 %, batas konsentrasi untuk ion amonium adalah 5 g/l, nitrat sebesar 5 g/l (Sa'id, 1987) dan urea sebesar 0,345 % (Tjokroadikoesoemo, 1986).

## 2. Suhu dan pH

Suhu dan pH merupakan faktor penentu bagi laju pertumbuhan mikrobia. Sebelum kultivasi keasaman (pH) media perlu disesuaikan bagi pertumbuhan optimal mikrobia. Selama fermentasi akan dibebaskan panas, sehingga akan menaikkan suhu substrat, oleh karena itu perlu pendinginan untuk mempertahankan suhu fermentasi (Suhardi, 1988).

## 3. Aerasi dan agitasi

Aerasi dan agitasi dalam skala laboratorium biasanya dilakukan dengan menggunakan “shaker”, sedangkan dalam skala yang lebih besar aerasi diberikan dengan cara menghembuskan udara steril bertekanan kedalam cairan medium dan kadang-kadang dengan pengadukan (Yoshida, 1982). Aerasi dan agitasi bertujuan untuk menjaga ketersediaan oksigen bagi kultur aerob, sehingga penggunaan sumber karbon dapat efisien (Sa'id, 1987).

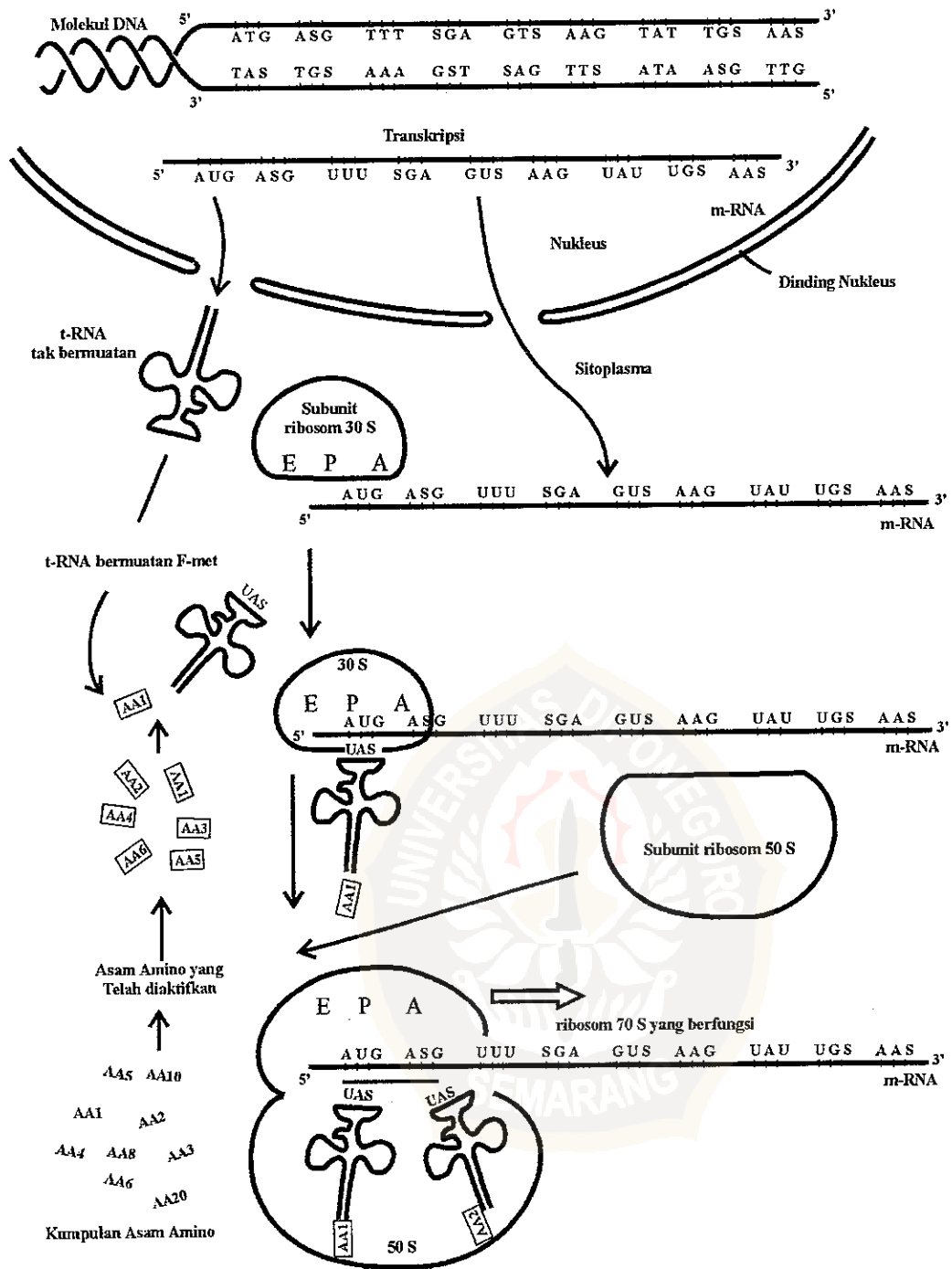
## 4. Pemanfaatan kembali sel-sel

Aspek penting dalam keseluruhan proses produksi protein sel tunggal adalah pemanfaatan kembali sel-sel yang dihasilkan (“cell recovery”). Tahap ini bertujuan untuk mengambil sel yang dihasilkan dengan cara sentrifugasi, filtrasi dan pengeringan (Sa'id, 1987). Pemisahan khamir dari media pertumbuhannya dilakukan dengan cara sentrifugasi karena sel tersuspensi dalam media (Wibowo, 1990).

#### D. Mekanisme Sintesis Protein pada Eukariotik

Sintesis protein melibatkan dua peristiwa penting yaitu proses transkripsi (pemindahan informasi genetik dari DNA ke RNA) dan translasi (penerjemahan informasi genetik dari RNA ke protein). Pada organisme eukariotik DNA terdapat di dalam kromosom atau di dalam inti sel, sedangkan protein yang dibuat terjadi di dalam sitoplasma, oleh karena itu DNA tidak berperan secara langsung pada sintesis protein, tetapi membentuk sebuah pita baru dari “double helix” untuk menggantikan tugasnya, yaitu pita tunggal m-RNA. Proses ini dinamakan transkripsi yang dikatalisis oleh enzim *RNA polimerase*. m-RNA yang telah dicetak oleh DNA akan meninggalkan DNA, keluar dari inti sel menuju ke ribosom yang terdapat di dalam sitoplasma (Gambar 01) (Suryo, 1992).

Proses translasi dapat terjadi setelah m-RNA menempel pada ribosom 30S yang telah diinisiasi oleh faktor  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$  dan GTP (guanosin tripospat). Hasil penempelan m-RNA pada ribosom 30S merupakan kompleks permulaan dari sintesis protein. Sementara itu t-RNA mengikat asam amino yang terdapat di dalam sitoplasma yang sebelumnya telah diaktifkan oleh ATP. Ribosom 30S kemudian bergabung dengan 50S membentuk ribosom 70S. m-RNA di dalam ribosom 70S selalu mempunyai kodon triplet AUG sebagai permulaan, dan akan bergeser menurut panjangnya m-RNA yang diikuti dengan penambahan asam amino. Selama proses pemanjangan rantai polipeptida, t-RNA yang bermuatan akan masuk ke sisi “A” (sisi aminoasil) dan bergerak ke sisi “P” (sisi peptidil), kemudian ke sisi “E” (sisi keluar) dan akhirnya t-RNA dikeluarkan dari ribosom.



Gambar 01. Skema mekanisme sintesis protein secara bertahap. A: sisi aminoasil; P: sisi peptidil; E: sisi keluar. AA1 = N-formil metionin; AA2 = treonin (Suryo, 1992)



## E. Organisme Penghasil Protein Sel Tunggal

Organisme penghasil protein sel tunggal dapat berasal dari mikrobia yang berfotosintesis maupun yang tidak berfotosintesis. Protein sel tunggal dari mikrobia yang berfotosintesis dapat diperoleh dari ganggang *Porphyra*, *Chlorella*, *Scenedesmus* dan *Spirulina*, sedangkan protein sel tunggal dari mikrobia tak berfotosintesis dapat diperoleh dari bakteri (*Bacillus hydrogenomonas* dan *Methylomonas clara*), khamir (*Saccharomyces*, *Rhodotorula* dan *Candida*) dan kapang (*Rhizopus* dan *Fusarium*) (Anggorodi, 1985; Litchfield, 1978).

Sel mikrobia mempunyai ukuran kecil, perbandingan permukaan dan volumenya tinggi, dan keseluruhan permukaan sel dapat digunakan untuk mengambil nutrisi, serta mempunyai kecepatan pertumbuhan yang lebih tinggi daripada tumbuhan atau hewan ternak. Kurang lebih separuh dari sel mikrobia mengandung protein, kecepatan sintesis protein pada mikrobia merupakan suatu keuntungan bila dibandingkan dengan pertanian konvensional (Norris, 1981).

Mikrobia yang berpotensi sebagai protein sel tunggal harus mempunyai kriteria yang memenuhi syarat ekonomi, gizi dan aspek kesehatan. Tidak semua jenis mikrobia dapat digunakan sebagai protein sel tunggal, karena hanya mikrobia yang tidak patogen saja yang bisa dimanfaatkan (Anonymus, 1982). Suriawiria (1986) menambahkan persyaratan lain yang harus dipenuhi, yaitu selama proses tidak menghasilkan senyawa racun, cepat beradaptasi dengan lingkungan baru, cepat tumbuh dan berkembang biak, serta mudah dipanen.

## F. Tinjauan Tentang *Candida utilis*

Menurut Alexopoulos (1996) sistematika *C. utilis* adalah sebagai berikut:

Phyllum : Ascomycota  
Classes : Ascomycetes  
Ordo : Saccharomycetales  
Familia : Saccharomycetaceae  
Genus : *Candida*  
Species : *C. utilis*

*C. utilis* merupakan salah satu jenis mikrobia yang dapat digunakan sebagai penghasil protein sel tunggal. Genus *Candida* dapat membentuk pseudohifa atau hifa sejati dengan sekelompok tunas sel atau dapat membentuk klamidospora, beberapa diantaranya dapat membentuk lapisan tipis dan menyebabkan kerusakan pada bahan makanan, dan bersifat patogen (Kuswanto, 1988). Beberapa spesies dari genus *Candida* dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (Higgins, *et al*, 1985), diantaranya *C. milleri*, *C. maltosa*, *C. lipolytica*, dan *C. utilis* (Phaff, 1978).

*C. utilis* mempunyai bentuk sel yang bervariasi, bulat, oval, silindris sampai lonjong. Reproduksi secara aseksual dengan pembentukan tunas, pembelahan atau kombinasi keduanya (Phaff, 1978). *C. utilis* bersifat aerob, tidak membentuk alkohol selama kondisi kultur aerob dan dapat memanfaatkan gula untuk membentuk bahan sel, serta dapat tumbuh pada suhu 25°C - 37°C (Oura, 1972). *C. utilis* mampu mengasimilasi nitrat, dapat memfermentasi dan menggunakan sumber karbon dari glukosa, sukrosa dan

merupakan spesies khamir yang bersifat oksidatif kuat yang tidak dapat melakukan fermentasi alkohol. Khamir ini dapat berkembangbiak secara cepat dengan cara merombak pati dengan bantuan enzim  $\alpha$ -amilase yang dihasilkannya (Fardiaz, 1992; Frazier and Westhoff, 1983).

Khamir ini mengandung sejumlah besar protein yang berkualitas tinggi, karbohidrat dan lipid. Kualitas *Candida* ditunjukkan oleh tingginya kandungan asam-asam amino essensial di dalam selnya, yaitu asam pantotenat dan riboflavin (Frazier and Westhoff, 1983).



Gambar 02. *C. utilis* pada medium PDA umur 24 jam (perbesaran 1000x).  
*Budding* (a).