

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Pucuk Tebu Sebagai Bahan Pakan

Tebu adalah salah satu jenis tanaman pertanian yang limbahnya sangat potensial sebagai pakan, antara lain berupa pucuk tebu. Pucuk tebu ("Sugar Cane Tops") adalah bagian ujung batang tebu berikut 4 - 7 lembar daun yang dipotong dari tebu giling atau tebu bibit (Wardhani dkk, 1989).

Penyusun utama limbah pertanian adalah hemiselulosa, selulosa dan lignin dengan perbandingan 3 : 4 : 3. Hidrolisis hemiselulosa menghasilkan xilosa suatu gula yang tidak mudah difermentasikan menjadi etanol. Glukosa merupakan hasil akhir hidrolisis utama selulosa. Lignin melindungi selulosa dan sulit didegradasikan secara enzimatik (Rao, 1994). Sebagai limbah pertanian, pucuk tebu mengandung jumlah lignin yang tinggi yang menyebabkan rendahnya daya cerna, karena selulosa dan hemiselulosa berikatan dengan lignin membentuk senyawa kompleks, yaitu lignoselulosa dan lignohemiselulosa yang sulit dicerna sehingga keadaan tersebut mengurangi kegunaan selulosa maupun hemiselulosa (Widiyanto dkk, 1992). Lignoselulosa adalah komponen organik yang banyak dijumpai di alam, sebaliknya enzim yang mampu memutuskan ikatannya terbatas distribusinya dan terutama ditemukan pada mikrobia. Degradasi lignoselulosa rendah karena adanya lignin yang mengikat polisakarida seperti selulosa dan hemiselulosa (Gupta *et al.*, 1993).

Pucuk tebu potensial sebagai pakan sumber energi karena mengandung selulosa dan hemiselulosa yang tinggi (Singk dan Oosting, 1993). Terdapat beberapa keterbatasan dalam pemanfaatan pucuk tebu sebagai bahan pakan, antara lain sifat "bulky" (mengenyangkan) yang membatasi konsumsinya. Rendahnya daya cerna atau kualitas pucuk tebu sebagai pakan juga tercermin dari tingginya kristalinitas selulosa dan derajat lignifikasi (Yusran dkk, 1985).

## **B. Upaya Meningkatkan Nilai Gizi Pucuk Tebu**

Upaya peningkatan efisiensi produk pertanian telah berhasil, tetapi dari kegiatan pemanfaatannya lebih lanjut dihasilkan banyak hasil samping yang mayoritas merupakan serat, dimana komponen utamanya adalah selulosa (Judoamidjojo dkk, 1989). Sebagai tanaman yang berumur tua, selulosa pucuk tebu sebagian besar telah berubah dari bentuk amorf menjadi kristal dimana molekul glukosa selain dikuatkan oleh ikatan  $\beta$ -1,4 glukosida juga dikuatkan oleh ikatan 2,6 hidrogen. Selain itu pucuk tebu telah mengalami lignifikasi taraf lanjut sehingga sebagian besar karbohidratnya telah membentuk ikatan kuat dengan lignin dalam bentuk lignoselulosa dan lignohemiselulosa (Sutardi, 1978). Peningkatan kualitas nilai gizi dan daya cerna pucuk tebu perlu dilakukan melalui pengolahan terlebih dahulu sebelum diberikan pada ternak. Pengolahan bertujuan untuk meningkatkan efektivitas cerna oleh enzim mikrobia rumen melalui pemutusan ikatan lignin, silika, dan kutin, disamping itu pengolahan tertentu dapat meningkatkan protein kasar. Komponen utama limbah dari sektor pertanian adalah lignoselulosa dan merupakan

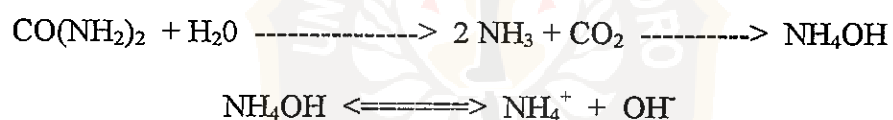
bahan organik yang bersifat dapat diperbaharui dan dapat digunakan sebagai bahan biokonversi. Dengan metode mekanik residu selulosa diserut menjadi potongan-potongan kecil dilanjutkan dengan hidrolisa asam atau basa (Komar, 1984). Hasil hidrolisisnya dinetralkan untuk mendapatkan substrat yang siap digunakan oleh mikrobia selulolitik (Rao, 1994). Salah satu perlakuan kimiawi untuk meningkatkan kualitas bahan pakan kasar yang dipandang paling efektif adalah dengan perlakuan alkali. Adanya alkali menyebabkan sebagian ikatan antara selulosa dan hemiselulosa dengan lignin dapat diputuskan. Alkali dapat melarutkan silika, sehingga akan menurunkan kristalinitas selulosa.

### **C. Perlakuan Amoniasi**

Amoniasi merupakan salah satu bentuk perlakuan kimiawi yang telah banyak dilaksanakan untuk meningkatkan nilai gizi dan daya cerna limbah berserat tinggi (Komar, 1984). Perlakuan amoniasi dapat meningkatkan kualitas pakan asal limbah pertanian karena meningkatkan daya cerna dinding sel pucuk tebu, dan meningkatkan kandungan protein (Soejono, 1984).

Selain peningkatan nitrogen yang terfiksasi dalam jaringan pucuk tebu tersebut, amoniasi juga merupakan perlakuan alkali. Sumber amonia yang murah dan mudah didapat adalah urea yang mengandung 46% nitrogen dan pada dosis yang tepat tidak mempunyai resiko terhadap kesehatan ternak pada saat penggunaannya (Sundstol dan Coxworth, 1979). Dalam proses amoniasi dengan menggunakan urea, maka senyawa aktifnya adalah amonium hidroksida yang

merupakan bahan kimia bereaksi lambat. Amonium hidroksida inilah yang bersifat alkalis dan dapat melarutkan sebagian lignin dan silika serta merenggangkan struktur lignoselulosa yang pada gilirannya mempermudah penetrasi enzim dari mikrobia. Dengan demikian meningkatkan daya cerna pakan tersebut. Perlakuan alkali dapat memutuskan sebagian ikatan antara lignin dengan selulosa dan hemiselulosa serta pembengkakan selulosa, sehingga terjadi perombakan struktur dinding sel, dan pada akhirnya akan mempermudah penetrasi molekul enzim mikrobia. Urea jika ditambah dengan air akan terurai menjadi amonia dan  $\text{CO}_2$ . Amonia yang terbentuk sebagian terfiksasi dalam jaringan pucuk tebu yang mengalami amoniasi, sehingga dapat meningkatkan kadar protein kasar. Berikut ini adalah skema peruraian urea (Komar, 1984) :



Dalam proses amoniasi dengan menggunakan urea, jika proses dilakukan pada suhu lebih dari  $30^\circ\text{C}$  dibutuhkan waktu 4-6 minggu dan jika dilakukan pada suhu kamar ( $28^\circ\text{C}$ - $30^\circ\text{C}$ ) membutuhkan waktu 1- 2 minggu (Sundstol dan Coxworth, 1979).

#### D. Perlakuan Biologi

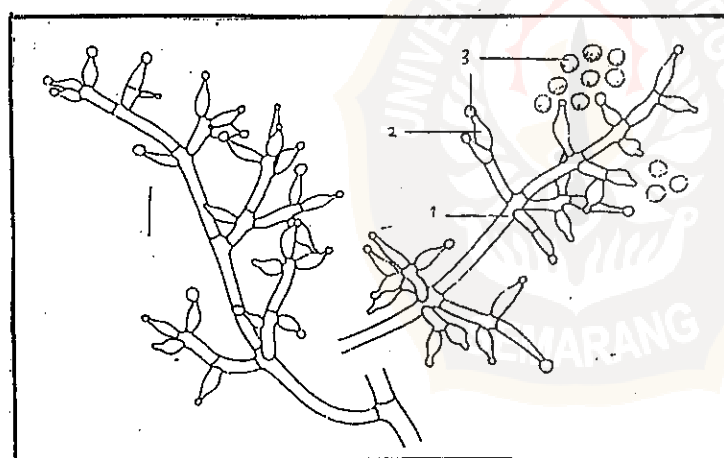
Perlakuan secara biologi merupakan suatu bentuk perlakuan dengan menggunakan mikrobia sebagai sarana pengubah substrat menjadi suatu bentuk yang diinginkan. Tujuan dari pengolahan secara biologi adalah untuk mengubah struktur fisik melalui delignifikasi (menghilangkan peranan lignin dan memperkaya substrat dengan protein mikrobia) (Komar, 1984). Terdapat banyak mikrobia yang telah digunakan untuk keperluan ini, antara lain kapang *T. viride* yang digunakan dalam pemanfaatan limbah pertanian. Limbah pertanian digunakan oleh kapang tersebut sebagai sumber energi untuk pertumbuhan di samping akan dihasilkan metabolit lain dari hasil biokonversi yang mempunyai nilai gizi dan biologi tinggi (Smith, 1985).

*T. viride* merupakan jenis kapang yang paling banyak dijumpai diantara jenisnya. Kapang ini adalah kapang yang dapat diisolasi dari tanah yang aktif dalam proses amonifikasi dan dekomposisi selulosa. *T. viride* memiliki ciri-ciri : miselium berseptata, konidiofor bercabang banyak, ujung percabangannya merupakan sterigma, membentuk konidia bulat atau oval, berwarna hijau terang dan berbentuk bola-bola berlendir (Fardiaz dan Winarno, 1989). Kultur koloninya berwarna putih, kekuningan, hijau, seiring dengan masa inkubasi, bersifat mesofil dengan suhu optimum 25-30°C, aerob, dapat menggunakan berbagai komponen makanan dari sederhana sampai kompleks. Pertumbuhannya cepat pada medium sederhana, dan memiliki kisaran pH asam (2,5 - 5) dan tidak membutuhkan nutrisi tambahan untuk pertumbuhannya (Alexopoulos dan Mims, 1979). Efektivitas selulolitiknya tinggi

bila dilakukan perlakuan pendahuluan berupa delignifikasi terhadap substrat, karena kapang *T. viride* tidak mempunyai kemampuan mendegradasi lignin (National Research Council, 1979). Klasifikasi *T. viride* menurut Pelczar dan Reid (1979) adalah sebagai berikut :

- Divisi : Mycota  
 Kelas : Deuteromycetes (Fungi imperfecti)  
 Bangsa : Moniliales  
 Marga : Moniliaceae  
 Suku : Trichoderma  
 Jenis : *Trichoderma viride*

Morfologi sel *T. viride* dapat dilihat pada Gambar 01 di bawah ini :



- Keterangan: 1. konidiofor  
 2. phialid  
 3. konidia

Gambar 01: Konidiofor dan konidia *T. viride*  
 (Domsch, Gams dan Anderson, 1980)

*T. viride* mempunyai aktivitas selulolitik yang tinggi, yaitu mampu mendegradasi selulosa juga merupakan penghasil enzim yang mampu

menghidrolisis kristal selulosa (Rahman, 1992; Kotaric, *et al.*, 1980). *T. viride* menghasilkan tiga kelompok enzim yaitu endoglukanase, ekso-selobiohidrolase dan  $\beta$ -glukosidase. Pada umumnya kedua kelompok enzim yang disebut pertama bekerja secara kooperatif dan sinergistik dalam mendepolimerisasi selulosa menjadi glukosa dan oligosakarida, yang kemudian diubah oleh  $\beta$ -glukosidase menjadi glukosa. Biosintesis selulase oleh *T. viride* terjadi di bawah kontrol pengaturan ganda induksi dan represi (Rao, 1994).

## **E. Komponen Serat Pucuk Tebu**

### **1. Selulosa**

Selulosa merupakan senyawa yang berfungsi sebagai pembangun struktur sel berbagai jenis tanaman, karena itu selulosa merupakan senyawa makromolekul yang paling banyak tersedia di alam (Rahman, 1992). Zat-zat yang menetap di dalam tanah dan sisa tumbuh-tumbuhan yang dikembalikan ke dalam tanah, 40 - 70% terdiri dari selulosa (Schlegel dan Schmidt, 1994). Selulosa merupakan polisakarida yang mempunyai formula umum seperti pati  $(C_6H_{10}O_5)_n$  dan jumlahnya berkisar 20 - 40% dari bahan kering. Selulosa lebih tahan terhadap reaksi degradasi kimiawi dibandingkan pati. Asam lemah dan alkali lemah mempunyai pengaruh kecil terhadap selulosa, tetapi dapat dihidrolisis oleh asam kuat menjadi glukosa (Anggorodi, 1979). Proses amoniasi akan menyebabkan pemutusan ikatan antara lignin dengan selulosa dan hemiselulosa, sedangkan pada waktu proses fermentasi dapat mengakibatkan hidrolisis secara mikrobiologis menjadi senyawa yang lebih

sederhana seperti disakarida atau selobiosa dan monosakarida. Proses amoniasi juga dapat meningkatkan biodegradasi selulosa oleh selulase, sehingga menurunkan kadar selulosa.

Sifat-sifat fisik dari fibril selulosa terutama kekokohnya dan ketidaktahanannya, tidak sesuai dengan struktur berupa rantai tunggal. Menurut analisa struktur sinar Rontgen terdapat daerah kisi kristalin silih berganti dengan daerah tidak kristalin. Seutas benang selulosa terdiri dari fibril selulosa yang diliputi oleh selaput lilin dan pektin (Schlegel dan Schmidt, 1994).

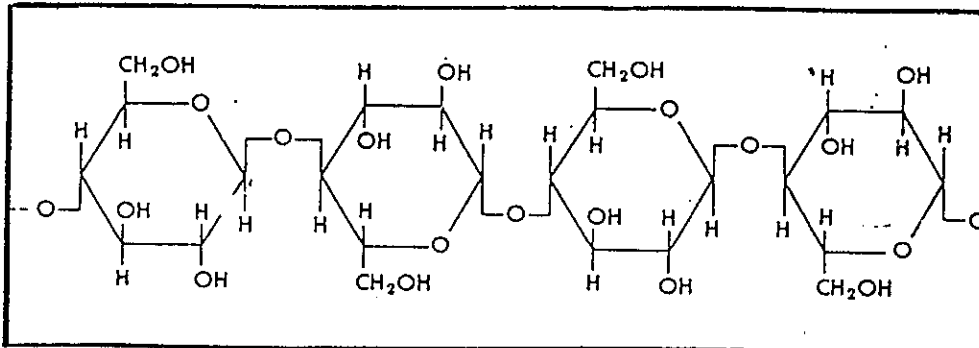
Pemecahan enzimatik selulosa dilakukan oleh selulase. Selulase terdiri dari tiga komponen enzim, yaitu :

1. Enzim endo  $\beta$ -1,4-glukanase mempengaruhi serentak ikatan  $\beta$ -1,4 di dalam makromolekul dan menghasilkan potongan-potongan besar berbentuk rantai dengan ujung-ujung bebas. Produk utama hasil aktivitas enzim ini adalah selobiosa. Disebut juga  $C_x$  selulase, endoselulase, atau karboksimetil selulase (CMCase).
2. Enzim ekso  $\beta$ -1,4-glukanase memotong mulai dari ujung-ujung rantai, disakarida selobiosa. Disebut juga  $C_1$  selulase, selobiohidrolase atau avicelase.
3. Enzim  $\beta$ -1,4-glukosidase atau selobiase menghidrolisa selobiosa menjadi glukosa.

(Gould, 1968 dalam Rahman, 1992; Schlegel dan Schmidt, 1994).



Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 02 di bawah ini :



Gambar 02 : Struktur Selulosa (Atlas dan Bartha, 1992)

Terlihat pada Gambar 02 di atas, ikatan kovalen yang menjulur dari jembatan atom oksigen menuju ke atas ke arah cincin. Ikatan pada karbon nomor empat sama dengan pada pati. Tidak ada rantai cabang seperti pada pati (Atlas dan Bartha, 1992).

## 2. Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah karbohidrat yang tidak larut dalam air mendidih tetapi dapat dihidrolisis oleh alkali dan asam encer menjadi gula sederhana, dan seringkali menjadi asam uronat, terutama glukuronat dan galakturonat. Hemiselulosa merupakan golongan zat termasuk di dalamnya pentosa dan berbagai heksosa yang kurang peka terhadap zat-zat kimia dibandingkan selulosa (Anggorodi, 1979).

## 3. Lignin

Lignin adalah gabungan dari beberapa senyawa yang berhubungan erat satu sama lain, mengandung karbon, hidrogen dan oksigen dengan proporsi atom

karbon yang lebih tinggi daripada atom hidrogen (Anggorodi, 1979). Lignin sangat tahan terhadap degradasi, baik secara kimiawi maupun secara enzimatik. Lignin mengurangi daya cerna karbohidrat dengan cara membentuk ikatan hidrogen dengan selulosa dan hemiselulosa (Gupta *et al.*, 1993).

#### **F. Fermentasi Medium Padat**

Pada kebanyakan kapang, oksidasi berlangsung tidak lengkap dan menghasilkan produk-produk akhir berupa senyawa organik yang teroksidasi. Respirasi semacam ini disebut fermentasi aerobik atau fermentasi oksidatif (Fardiaz, 1992).

Proses fermentasi dikembangkan untuk kultivasi mikrobial di bawah kondisi optimal, dan untuk menghasilkan metabolit atau enzim yang diinginkan dari mikrobial (Crueger dan Crueger, 1984).

Fermentasi secara biokimia diartikan sebagai pembentukan energi melalui senyawa organik, sedangkan aplikasinya ke dalam industri fermentasi diartikan sebagai suatu proses untuk mengubah bahan dasar menjadi suatu produk oleh massa sel-sel mikrobial (Wibowo, 1990). Fermentasi terjadi karena adanya aktivitas mikrobial penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai; fermentasi dapat mengakibatkan perubahan sifat substrat karena adanya pemecahan substrat tersebut (Winarno dkk, 1984).

Dalam fermentasi medium padat, bahan yang banyak digunakan sebagai substrat ialah berbagai jenis hasil pertanian dan limbah pertanian (Rahman, 1992).

Penggunaan jaringan tanaman sebagai substrat padat membutuhkan perlakuan pendahuluan (*pretreatment*). Tanpa perlakuan pendahuluan digesti mikrobial akan berjalan dengan lambat. Bentuk perlakuan dapat berupa perlakuan alkali, asam dan fisik (Crueger and Crueger, 1984).

Beberapa parameter yang paling mungkin mempengaruhi selama fermentasi substrat padat yaitu: ukuran partikel dan bentuk substrat, jumlah substrat, kadar air awal substrat, kelembaban udara, suhu udara, laju aerasi dan takaran inokulum spora (Nagai, 1979 dalam Rahman, 1992). Dalam hubungannya dengan ukuran partikel, bentuk substrat padat dan kadar air awal, substrat padat harus dalam bentuk yang memungkinkan berlangsungnya sirkulasi udara. Karena itu untuk mencegah supaya partikel-partikel substrat tidak bergabung satu sama lain, kadar air substrat harus dipertahankan pada tingkat yang relatif rendah (Hesseltine, 1972 dalam Rahman, 1992). Fermentasi medium padat berkaitan dengan pertumbuhan mikrobial pada bahan padat tanpa adanya air bebas. Fermentasi medium padat merupakan proses fermentasi menggunakan medium yang tidak larut tapi cukup mengandung air untuk kebutuhan mikrobial (Winarno, 1989).

Keuntungan menggunakan fermentasi medium padat yang melibatkan fungi yaitu:

1. Medium yang digunakan relatif sederhana, tidak membutuhkan bahan tambahan lain kecuali air karena bahan yang dibutuhkan telah tersedia dalam substrat
2. Ruang yang diperlukan untuk peralatan fermentasi relatif kecil karena sedikitnya air yang digunakan

3. Persiapan inokulumnya lebih sederhana
4. Kondisi medium padat pertumbuhan fungi mendekati kondisi dalam habitat alaminya
5. Aerasi dihasilkan dengan mudah karena adanya ruang udara di antara tiap partikel substrat
6. Produk yang dihasilkan dapat dipanen dengan mudah.

Selain itu terdapat juga kerugian penggunaan fermentasi medium padat yaitu:

1. Tipe organisme terbatas pada jenis yang dapat tumbuh pada tingkat kandungan air yang rendah
2. Kesulitan dalam mengontrol pH
3. Inokulum membutuhkan jumlah spora yang banyak
4. Sukar untuk dihomogenasi

Pentingnya fermentasi bahan pangan karena produknya yang berprotein tinggi, juga kemungkinan keuntungan enzim dari mikrobia. Perubahan ini tidak disangsikan lagi memperbaiki daya cerna bahan pakan tersebut. Kebanyakan bahan pakan hasil fermentasi memberikan sumbangan penting sebagai sumber protein, energi dan vitamin (Jones, 1980 dalam Robert dan Karmas, 1980). Sumber pakan hasil fermentasi biasanya mempunyai nilai gizi yang lebih tinggi daripada bahan asalnya. Hal ini tidak hanya disebabkan karena mikrobia bersifat katabolik tetapi juga dapat mensintesa beberapa vitamin yang kompleks dan faktor-faktor pertumbuhan (Winarno dkk, 1984).

Protein Sel Tunggal (PST) merupakan jenis fermentasi oleh mikrobia, dengan kondisi fermentasinya harus disesuaikan sedemikian rupa, sehingga kecepatan pertumbuhan sel setinggi mungkin. Fermentasi untuk menghasilkan PST ini pada umumnya bersifat aerob (Djoko dkk, 1988).

Produksi PST biasanya menangani pertumbuhan kapang dalam wadah-wadah kultur, dan di bawah kondisi yang biasa digunakan untuk fermentasi. Protein yang digunakan sebagai makanan ternak juga dapat diproduksi menggunakan sistem fermentasi medium padat (Wainwright, 1992)

### **G. Protein Sel Tunggal**

Protein sel tunggal yang biasa disingkat PST, merupakan sel-sel mikrobia yang dikeringkan yaitu alga, actinomycetes, bakteri, khamir, kapang dan jamur-jamur tingkat tinggi lainnya yang ditumbuhkan dalam medium fermentasi. Produk ini sekarang banyak digunakan sebagai pakan ternak (Schlegel dan Schmidt, 1994). Sebagai pakan ternak, PST yang ditumbuhkan pada residu pertanian dapat menjadi bahan pertimbangan ekonomi masa depan bagi negara berkembang (Rao, 1994).

Sel-sel mikrobia kemungkinan merupakan sumber protein utama. Dalam tiga dekade dari tahun 1950-an hingga 1970-an, usaha penelitian dilaksanakan untuk kemungkinan penggunaan PST untuk membantu mencegah kelaparan di negara kurang berkembang. Ini diharapkan bahwa mikrobia mungkin murah, mengandung protein tinggi, untuk digunakan sebagai makanan ternak, dan lebih luas menyediakan untuk konsumsi manusia. Produk industrial dari PST dilanjutkan ke

penggunaan produk limbah sebagai persediaan makanan bagi pertumbuhan mikrobial dan produksi biomassa. Kapang merupakan sumber protein yang ideal, karena pertumbuhannya cepat dan mengandung protein tinggi. Protein kapang dapat diproduksi dalam jumlah banyak dalam areal yang sempit, dengan menggunakan produk limbah yang murah sebagai sumber nutrisi.

Produksi dan penggunaan PST juga memiliki kelemahan, antara lain: kemungkinan memiliki kandungan asam nukleat yang tinggi, dinding sel mikrobial terkadang mengandung komponen yang tidak dapat dicerna, dan kemungkinan mengandung senyawa-senyawa beracun atau karsinogenik (Crueger dan Crueger, 1984).

Sejumlah penelitian dilakukan bagi kemungkinan pertumbuhan kapang selulolitik seperti *Trichoderma sp.* pada material yang mengandung selulosa yang murah, atau produk limbah. Saat ini selulosa dari sumber-sumber alami dan limbah kayu merupakan bahan untuk produksi PST sebaik sumber potensial untuk produksi dari fermentasi etanol. Meskipun terdapat banyak selulosa di alam, tetapi biasanya terdapat dalam kondisi berikatan dengan substansi seperti lignin, hemiselulosa, pati, protein dan garam. Oleh karena itu sumber selulosa harus mengalami perlakuan pendahuluan yang bertujuan untuk memecah selulosa menjadi gula yang dapat difermentasi (Wainwright, 1992).

Sel-sel kapang mengandung karbohidrat, lipid dan asam nukleat, juga terdapat penyeimbangan lisin, metionin, dan triptofan; yang merupakan asam amino yang seringkali tidak terdapat pada protein tumbuhan tingkat tinggi. Biomassa

kapang juga mengandung semua asam amino yang dibutuhkan dalam nutrisi hewan dan manusia. Kapang cenderung mengandung lebih sedikit vitamin dibandingkan “yeast” (Wainwright, 1992).

Perlakuan kimiawi dan biologi berupa amoniasi dan fermentasi dengan kapang *T. reesei* diharapkan dapat meningkatkan daya cerna, konsumsi dan nilai gizi pucuk tebu untuk meningkatkan kegunaan pucuk tebu sebagai pakan ternak ruminansia (Widiyanto dkk, 1995).

