

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Ubi Kayu

Ubi kayu merupakan sumber energi keempat terpenting dihasilkan dan dikonsumsi di daerah tropis. Kurang lebih 65 % produksi total digunakan untuk makanan manusia, 19 % untuk pakan ternak di negara yang sedang berkembang,  $\pm$  5 % untuk industri dan sisanya merupakan limbah (Goldsworthy dan Fisher, 1984). Industri yang menggunakan bahan dasar ubi kayu diantaranya adalah industri tapioka (Lapedes, 1977).

Pengolahan ubi kayu menjadi tapioka (pati) menghasilkan limbah berupa ampas yang merupakan residu dari ekstraksi pati. Ampas tersebut mengandung serat yang tinggi yaitu sekitar 270 g/kg berat kering dan dapat dimanfaatkan untuk menyusun ransum pakan ternak. Tetapi karena kandungan seratnya yang tinggi itu maka penggunaannya pada hewan non ruminansia harus dibatasi (Donald *et al.*, 1987). Sedangkan menurut Frazier dan Westhoff (1988), bahwa sisa pengolahan pati tersebut dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk memproduksi protein menggunakan jasa mikrobia.

Serat yang terkandung oleh ampas ubi kayu adalah berupa selulosa yang merupakan residu dari sisa pengolahan yang mencapai 30 – 40 %. Selulosa adalah polimer dari glukosa yang berkaitan atau berasosiasi dengan material organik, lignin, dan materi biomassa (Ladisch, 1996).

## B. Protein Sel Tunggal

Mikrobia dapat ditumbuhkan untuk memproduksi makanan bagi manusia serta pakan bagi hewan. Dalam beberapa kasus, sel mikrobia mengandung protein yang terdiri atas sejumlah asam amino esensial (Frazier dan Westhoff, 1988).

Protein sel tunggal dapat langsung dipergunakan sebagai bahan makanan atau sebagai suplemen bahan makanan lain (Prescott *et al.*, 1990)

Menurut Saraswati (1985), penggunaan protein sel tunggal sebagai suplemen dan "food additives" mempunyai tujuan :

1. Menaikkan kualitas pada makanan yang berasal dari pati-patian seperti roti, makanan bayi, dan lain-lain.
2. Memperkaya vitamin dan mineral seperti makaroni dan spaghetti.
3. Memperbaiki cita rasa ("*flavour*"), misalnya sup.

Beberapa keuntungan dari protein sel tunggal dibandingkan dengan sumber protein hewani dan nabati adalah waktu generasi yang sangat pendek dari sel-sel mikrobia, kandungan proteinnya yang tinggi, penggunaan substrat yang murah dan tersedia dalam jumlah besar sementara hanya memerlukan area yang kecil (Phaff *et al.*, 1978).

Bucke *et al.* (1987) menyatakan alasan penggunaan khamir sebagai sumber bahan makanan bagi manusia dan sumber pakan bagi hewan ternak dalam bentuk protein sel tunggal yaitu :

1. Tumbuh dengan cepat, sehingga produksinya lebih banyak dari pada sumber protein nabati dan hewani.

2. Produksinya tidak tergantung pada keadaan yang tidak tentu dari cuaca dan kelemahan-kelemahan manusia seperti pada pertanian biasa.
3. Mempunyai kadar protein yang tinggi, berkisar antara 40 – 80 % dari berat kering dan biasanya kaya akan vitamin dan mineral.
4. Mikrobia ini dapat tumbuh pada berbagai zat nutrisi organik.

### C. Nilai Nutrisi dan Keamanan Protein Sel Tunggal

Analisis kimiawi dari mikrobia sumber protein sel tunggal menunjukkan bahwa kandungan dan jenis asam aminonya sebanding dengan tumbuhan dan hewan. Namun pada protein sel tunggal mengandung methionin yang lebih rendah (Jay, 1978).

Mikrobia khususnya khamir adalah sumber makanan yang kaya vitamin B. Khamir mengandung asam amino essensial yang diperlukan oleh hewan tingkat tinggi dan manusia. Tetapi asam amino yang mengandung sulfur seperti L-cystein dan L-methionin serta triptofan dalam konsentrasi yang rendah (Phaff *et al.*, 1978).

Kandungan protein, karbohidrat, dan lemak pada beberapa spesies khamir bervariasi dari 30 – 50 % (Pederson, 1971) dan menurut Prescott dan Dunn (1959), kandungan protein, karbohidrat, dan lemak tersebut tergantung pada kondisi saat pertumbuhan. Metode penuaian, pengeringan, dan pemrosesan mempunyai efek terhadap nilai nutrisi dari produk akhir (Frazier dan Westhoff, 1988).

Menurut Prescott dan Dunn (1959), komposisi dari sel khamir yang dianalisis dari berat kering sel adalah terdapat pada Tabel 01.

Tabel 01. Komposisi berat kering sel khamir (Prescott dan Dunn, 1959)

| Zat gizi | %     |
|----------|-------|
| Protein  | 52.41 |
| Lemak    | 1.72  |
| Glikogen | 31.25 |
| Selulosa | 6.88  |
| Abu      | 8.74  |

Perkiraan komposisi dari khamir dibandingkan dengan telur ayam dan susu sapi terdapat pada Tabel 02.

Tabel 02. Perbandingan komposisi dari susu, telur ayam, dan beberapa mikrobia (Weslien 1975 dalam Buckle *et al.*, 1987)

| Zat gizi         | Susu sapi | Telur ayam | Algae | Khamir | Bakteri |
|------------------|-----------|------------|-------|--------|---------|
| Protein (gr)     | 28        | 49         | 51    | 48     | 51      |
| Karbohidrat (gr) | 39        | 3          | 27    | 33     | 28      |
| Lemak (gr)       | 28        | 44         | 7     | 5      | 6       |
| Serat kasar (gr) | 0         | 0          | 6     | 2      | 6       |
| Abu (gr)         | 6         | 4          | 9     | 8      | 10      |
| Kalori (gr)      | 5,2       | 6,2        | 3,6   | 3,5    | 2,6     |

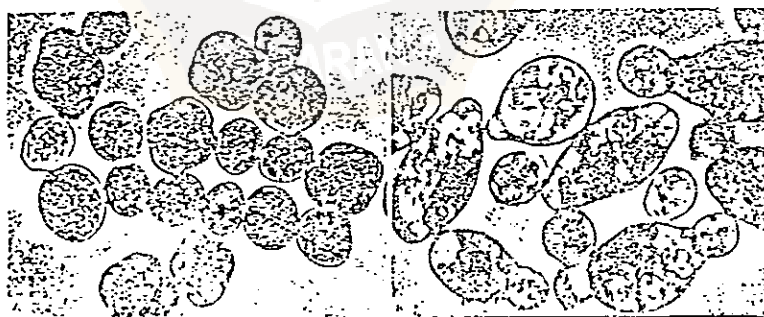
Protein sel tunggal mengandung asam nukleat tinggi, sehingga dapat menyebabkan pembentukan gatu ginjal dan penyakit "gout" pada manusia (Jay, 1978). Karena itu kandungan asam nukleat yang tinggi menjadi masalah pada penggunaan protein sel tunggal. Sebenarnya senyawa asam nukleat tersebut dapat direduksi sampai tingkatan di bawah 2 % dengan teknik-teknik seperti : presipitasi asam, hidrolisis asam atau alkalin, atau dengan menggunakan enzim endogen dan "bovine pancreatic RN-ase" (Jay, 1978)

#### D. Khamir Sumber Protein Sel Tunggal

Khamir yang paling banyak digunakan dan dipelajari sebagai sumber protein sel tunggal dan diproduksi secara komersial diantaranya adalah : *S. cerevisiae*, *C. utilis*, dan *Kluyveromyces fragilis*. Khamir-khamir tersebut mempunyai ukuran sel yang besar, multiplikasinya dengan cara “budding” (pertunasan) yang cepat dan mampu tumbuh pada berbagai macam substrat organik (Pederson, 1971, Phaff *et al.*, 1978, dan Buckle *et al.*, 1987).

##### 1. *Saccharomyces cerevisiae*

Menurut Pederson (1971), sel khamir yang termasuk jenis *Saccharomyces* berbentuk oval, bulat, atau memanjang dengan ukuran 4 – 6  $\mu\text{m}$  (Gambar 01)



Gambar 01. Bentuk-bentuk morfologi sel khamir dari jenis *Saccharomyces*. (A) *Saccharomyces cerevisiae* tampak dalam bentuk vegetatif, sel berkuncup, serta spora (B) *Saccharomyces ludwigii* (Pelczar dan Chan, 1986)

*S. cerevisiae* termasuk dalam famili Saccharomycetaceae, tidak mempunyai misellium. Sel haploid dapat melakukan fusi dan sel diploid dapat melakukan multiplikasi dengan cara bertunas, mempunyai ukuran lebih besar dan secara fisiologis lebih aktif dari pada sel haploid serta digunakan untuk keperluan industri (Pederson, 1971 dan Schlegel, 1993).

Klasifikasi *S. cerevisiae* menurut Pederson (1971) adalah sebagai berikut:

|             |                                   |
|-------------|-----------------------------------|
| Divisio     | : Thallophyta                     |
| Sub divisio | : Eumycetes                       |
| Klas        | : Ascomycetes                     |
| Ordo        | : Saccharomycetales               |
| Famili      | : Saccharomycetaceae              |
| Genus       | : Saccharomyces                   |
| Spesies     | : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |

*S. cerevisiae* berasal dari khamir liar ("wild yeast") yang telah digunakan sejak dulu untuk memproduksi anggur, bir, serta roti (Brock *et al.*, 1994).

Reproduksi khamir ini dengan cara pertunasan multipolar atau melalui pembentukan askospora yang dapat terbentuk setelah terjadi konjugasi atau berasal dari sel diploid. Askospora pada *S. cerevisiae* berjumlah satu sampai empat per askus. Khamir ini bersifat fermentatif kuat, tetapi dengan adanya oksigen, khamir ini juga dapat melakukan respirasi yaitu dengan mengoksidasi gula menjadi CO<sub>2</sub> dan air (Fardiaz, 1992).

*S. cerevisiae* menghasilkan enzim ekstraseluler dalam jumlah yang besar yaitu invertase (Frazier dan Westhoff, 1988), sedangkan Prescott dan Dunn (1959) menyatakan bahwa enzim invertase dapat menyebabkan inversi sukrosa dengan membentuk glukosa dan fruktosa.

Khamir dari genus *Saccharomyces* banyak mengandung vitamin B dan sedikit mengandung lipid. Kandungan vitamin B dari *S. cerevisiae* terdapat pada Tabel 03.

Tabel 03. Kandungan vitamin B dari *S. cerevisiae* menurut Fardiaz (1992)

| Vitamin             | Jumlah |
|---------------------|--------|
| Thiamin             | 136    |
| Riboflavin          | 28     |
| Asam nikotinat      | 525    |
| Asam pantotenat     | 69.5   |
| Asam folat          | 3.5    |
| Asam p-aminobenzoat | 5      |
| Biotin              | 1      |
| Kholin              | 3800   |
| Inositol            | 3900   |
| Piridoksin          | 40     |

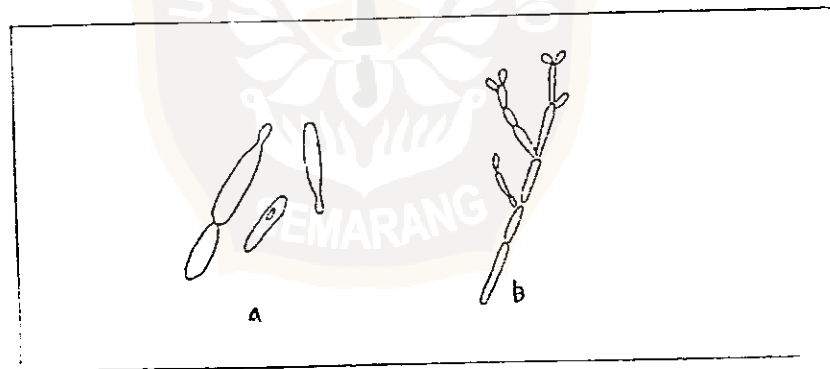
## 2. *Candida utilis*

Sel *Candida* tumbuh membentuk pseudomisellium atau hifa yang mengandung banyak sel-sel tunas. Kebanyakan spesies pertumbuhannya membentuk film pada permukaan (Fardiaz, 1992).

Klasifikasi *C. utilis* menurut Pederson (1971) adalah sebagai berikut :

|             |                         |
|-------------|-------------------------|
| Divisio     | : Thallophyta           |
| Sub divisio | : Eumycetes             |
| Klas        | : Deuteromycetes        |
| Ordo        | : Cryptococcales        |
| Famili      | : Cryptococcaceae       |
| Genus       | : Candida               |
| Spesies     | : <i>Candida utilis</i> |

*C. utilis* mempunyai bentuk sel yang bervariasi, bulat oval, silindris sampai lonjong (3,5 – 4,5) x (7,0 – 13,0)  $\mu\text{m}$ , seperti tampak pada Gambar 02.



Gambar 02. Bentuk sel *C. utilis* (a) bentuk sel yang memanjang, (b) *C. utilis* yang membentuk pseudomycelium (Frazier dan Westhoff, 1988)

Spesies *C. utilis* telah banyak digunakan secara komersial sejak

diketahui kemampuannya mengasimilasi sejumlah besar kandungan nitrogen dan

karbon dalam substrat yang merupakan sumber nutrisi yang diperlukan untuk

pertumbuhannya. Dari sini akan diproduksi suplemen protein kelas tinggi (Pederson, 1971).

*C. utilis* adalah khamir makanan yang dapat dengan mudah tumbuh dengan menggunakan amonia sebagai sumber tunggal nitrogen dan karbohidrat seperti molase. Khamir ini mengandung sejumlah besar protein, karbohidrat, dan lipid berkualitas tinggi. Kualitas *Candida* ditunjukkan oleh tingginya kandungan asam-asam amino essensial di dalam selnya, yaitu merupakan sumber asam pantotenat dan riboflavin. Khamir ini dapat berkembang dengan sangat cepat dengan merombak pati dengan bantuan enzim amilase yang dihasilkannya (Frazier dan Westhoff, 1988).

Enzim amilase yang dihasilkan adalah  $\alpha$ -amilase (1,4 -  $\alpha$  - glukon - glukonohidrolase) merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis ikatan  $\alpha$ - 1,4 - glikosidik. Enzim ini termasuk endoenzim yaitu enzim yang memecah substrat pada bagian dalam dari molekul (Crueger dan Crueger, 1984). Selain itu *C. utilis* juga menghasilkan enzim lactase (Prescott dan Dunn, 1959).

*C. utilis* dapat memfermentasi dekstroza, sukrosa, dan merupakan spesies khamir yang bersifat oksidatif kuat, yaitu tidak dapat melakukan fermentasi alkohol. Khamir semacam ini bersifat aerobik karena membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya (Fardiaz, 1992).

## **E. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Sel Khamir**

### **1. Nutrien**

Substansi dari lingkungan yang digunakan oleh organisme untuk melakukan metabolisme disebut nutrien. Nutrien dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu makronutrien dan mikronutrien. Beberapa nutrien menyusun sel untuk membentuk makromolekul, sementara yang lain hanya menyediakan kebutuhan energi saja. (Brock *et al.*, 1994).

Semua organisme memperoleh karbon selnya dari senyawa organik, dan senyawa organik tersebut selain sebagai sumber karbon juga sebagai sumber energi. Nutrien yang dibutuhkan oleh mikrobia banyak terdapat pada polisakarida (selulosa dan pati) (Schlegel, 1993).

Konsentrasi nutrien dapat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan dan hasil pertumbuhan. Menurut Collins dan Lyne (1976), pada konsentrasi yang rendah, laju pertumbuhan menjadi berkurang, sementara pada konsentrasi yang tinggi laju pertumbuhan akan meningkat sehingga produksi sel juga meningkat. Pada kondisi ideal, sel khamir dapat tumbuh menjadi 2 sel dalam waktu 1 – 2 jam, tetapi setelah terbentuk banyak tunas waktu generasinya menjadi lebih lama sampai kira-kira 6 jam dan jika sudah terlalu tua sel akan mati.

### **2. Aerasi**

Khamir dan mikrobia hanya dapat menggunakan oksigen dalam bentuk oksigen terlarut. Oksigen tidak dapat disimpan dalam medium nutrien, tetapi harus diberikan secara kontinyu. Oksigen terlarut pada medium cair dapat

ditingkatkan dengan menyediakan ruang yang besar antara gas dan medium. Salah satu cara untuk mencapai hal tersebut adalah dengan agitasi dari medium cair dengan pengocokan (“shaking”) baik secara resiprok (bolak-balik) maupun sirkular (Schlegel, 1993).

### 3. Suhu

Suhu adalah faktor penting yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikrobia dan ketahanan hidupnya. Setiap terjadi kenaikan suhu, reaksi kimia dan enzimatis di dalam sel dan pertumbuhannya akan menjadi lebih cepat (Brock *et al.*, 1994). Setiap terjadi kenaikan suhu pada kisaran tertentu, pertumbuhan dan fungsi metabolisme meningkat sampai batas reaksi inaktivasi. Di atas batas tersebut fungsi sel menjadi mendekati nol, sehingga suhu untuk pertumbuhan mikrobia dapat dibagi menjadi : (1) suhu minimum, yaitu suhu dimana pertumbuhan sel sangat lambat, (2) suhu optimum, yaitu mikrobia dapat tumbuh lebih cepat, dan (3) suhu maksimum, yaitu suhu yang tidak memungkinkan mikrobia untuk tumbuh (Brock *et al.*, 1994).

### 4. pH

Setiap mikrobia mempunyai kisaran pH tertentu untuk memungkinkan pertumbuhannya dan biasanya disebut pH optimum (Brock *et al.*, 1994). Mikrobia pada umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3 – 6.

Khamir lebih menyukai pH yang sedikit asam yaitu pH 4 – 5, dan dapat tumbuh pada pH rendah dimana pertumbuhan mikrobia lain seperti bakteri terhambat (Fardiaz, 1992).

## **F. Produksi Protein Sel Tunggal**

### **1. Bahan Baku**

Menurut Buckle *et al.* (1987) dan Frazier dan Westhoff (1988) bahan-bahan yang dipergunakan sebagai substrat untuk memproduksi protein sel tunggal adalah :

1. Molase dari pengolahan gula atau hidrolisis pati
2. Limbah pertanian seperti ampas pengolahan tepung
3. Hasil hidrolisis kayu dan pati

Tujuan produksi protein sel tunggal adalah menghasilkan massa sel, sehingga pertumbuhan aerobik pada substrat dimungkinkan pemberian aerasi secara intensif pada kultur yang sedang tumbuh (“growing culture”).

### **2. Proses Pembuatan Protein Sel Tunggal**

Menurut Saraswati (1985), tahap-tahap dalam proses pembuatan protein sel tunggal adalah sebagai berikut :

#### **a. Pra proses**

- ✓ Diperlukan untuk proses yang menggunakan bahan baku yang masih memerlukan “pre treatment” untuk memungkinkan terselenggaranya proses berikutnya dengan hasil yang lebih baik, disamping bahan

baku yang terdiri atas sumber nitrogen dan fosfat serta faktor tumbuh.

**b. Sterilisasi**

Bahan baku dan bahan nutrisi sebelum dimasukkan ke dalam proses fermentasi perlu disterilkan sebaik-baiknya dengan cara mekanik atau fisik tergantung bahan yang dipergunakan, misalnya dengan pemanasan pada suhu tinggi selama beberapa saat kemudian didinginkan kembali pada suhu kamar.

**c. Fermentasi**

Fermentasi adalah proses terjadinya perubahan kimia dalam substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikrobia. Dalam proses ini terjadi pembentukan tubuh mikrobia yang antara lain terbentuk dari senyawa non protein yang terdapat dalam substrat. Oleh karena itu proses ini diselenggarakan dalam kondisi seoptimal mungkin untuk terjadinya perkembangbiakan dan pertumbuhan mikrobia yang digunakan untuk pembuatan protein sel tunggal yang dimaksud.

**d. Penuaian**

Pemisahan mikrobia dari substrat setelah proses fermentasi biasanya dilakukan dengan sentrifugasi yang diikuti dengan filtrasi atau pengepresan.

### e. Pengerinan

Proses pengerinan biasanya dengan udara panas yang dialirkan (“spray dryer”) atau drum pengerin (“drum dryer”).

### G. Penghitungan Jumlah Populasi Sel Khamir

Jumlah populasi sel khamir setelah fermentasi dihitung secara pengamatan mikroskopik dengan menggunakan “counting chamber”. Peneliti harus dapat membedakan antara sel khamir dan partikel-partikel yang ikut terlarut dalam suspensi (Priest dan Campbell, 1996). Penghitungan semacam ini disebut juga penghitungan mikroskopik langsung (Brock *et al.*, 1994).

Penghitungan jumlah populasi sel biasanya diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400 x, meskipun beberapa “counting chamber” seperti Hawksley memperbolehkan penggunaan minyak emersi. Jumlah rata-rata sel tiap kotak dikalikan dengan volume tiap kotak dalam mililiter akan menunjukkan konsentrasi dari khamir dalam suspensi. Faktor “chamber” biasanya berkisar antara  $4 \times 10^6 - 2 \times 10^7$  sehingga prosedur ini dapat diterapkan pada makanan yang mengandung mikrobia dalam populasi yang besar (Vanderzant dan Splittstoesser, 1992).

### H. Penentuan Kadar Protein

Analisis protein dalam makanan umumnya lebih ditunjukkan pada kadar total protein dari pada adanya protein spesifik dalam makanan tersebut. Jumlah protein dalam bahan makanan biasanya dihitung dalam hasil perkalian jumlah

gram nitrogen dengan 6,25. Konstanta ini diperoleh dari asumsi bahwa protein mengandung 16 % nitrogen, dan  $100/16 = 6,25$ . Sesungguhnya asumsi ini tidak benar, karena tidak semua protein tepat mengandung 16 % nitrogen, oleh karena itu kadar protein sering kali dilaporkan sebagai kadar protein kasar ("Crude protein") (Muchtadi, 1979).

Metode yang biasa digunakan untuk menentukan kadar nitrogen dalam bahan makanan adalah metode Kjeldahl. Beberapa modifikasi telah dilakukan untuk meningkatkan ketelitian serta ketepatannya. Metode ini pada prinsipnya adalah oksidasi senyawa organik oleh asam sulfat untuk membentuk  $\text{CO}_2$  dan air, serta pelepasan nitrogen dalam bentuk amonia. Amonia yang terdapat dalam asam sulfat berbentuk amonium sulfat. Sedangkan  $\text{CO}_2$  dan air akan terpisahkan dalam proses distilasi (Muchtadi, 1979).

