

FERMENTASI

Bioteknologi merupakan suatu bidang penerapan biosains dan teknologi yang menyangkut aplikasi praktis organisme hidup atau komponen subselulernya pada industri jasa dan manufaktur serta pengelolaan lingkungan. Bioteknologi memanfaatkan bakteri, kapang, ragi, alga, sel tumbuhan atau sel jaringan hewan yang dibiakkan sebagai konstituen berbagai proses industri. Bioteknologi mencakup proses fermentasi, pengelolaan air dan sampah, sebagian teknologi pangan dan berbagai penerapan baru mulai dari biomedis hingga daur ulang logam dari batuan mineral berkualitas rendah.

Proses bioteknologi dapat dibagi dua jenis yaitu bioteknologi tradisional dan bioteknologi modern. Bioteknologi tradisional yaitu proses bioteknologi yang terjadi pada suatu makanan atau bahan pakan dengan cara menambahkan suatu enzim atau mikroorganisme tertentu sehingga terjadi perubahan fisik, penampilan dan rasa akibat proses biologis dalam bahan. Contoh bioteknologi tradisional diantaranya pembuatan bir, yogurt, keju, antibiotika, kecap dan oncom. Bioteknologi modern yaitu proses bioteknologi yang terjadi akibat transfer DNA, dari satu sel ke sel lain yang lebih baik pada spesies yang sama maupun antar spesies yang berbeda. Teknik dengan DNA rekombinan, seperti antibodi monoclonal,

cloning, dan transformasi tanaman dan hewan (Piliang, 1997) merupakan contoh dari bioteknologi modern.

6.1. PENGERTIAN FERMENTASI

Fermentasi pada awalnya hanya menunjukkan pada suatu peristiwa alami pada pembuatan anggur yang menghasilkan buih (*ferment* berarti buih). Beberapa ahli mendefinisikan kata fermentasi dengan pengertian yang berbeda. Fardiaz (1992) mendefinisikan fermentasi sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu. Satiawihardja (1992) mendefinisikan fermentasi dengan suatu proses dimana komponen-komponen kimiawi dihasilkan sebagai akibat adanya pertumbuhan maupun metabolisme mikroba. Pengertian ini mencakup fermentasi aerob dan anaerob.

Fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan yang berkualitas rendah serta berfungsi dalam pengawetan bahan dan merupakan suatu cara untuk menghilangkan zat antinutrisi atau racun yang terkandung dalam suatu bahan makanan.

6.2. JENIS MIKROBA YANG TERLIBAT DALAM FERMENTASI

Mikroorganisme merupakan makhluk hidup yang sangat kecil tetapi sangat penting dalam kelangsungan daur hidup dari biota lain dalam biosfir. Mikroorganisme mampu melaksanakan semua kegiatan atau reaksi-reaksi biokimia yang sangat kompleks untuk melangsungkan pengembangan generatif dengan kecepatan relatif cepat

Dunia mikroorganisme tidak dapat digolongkan ke dalam dunia hewan atau tumbuhan tetapi masuk ke dalam suatu golongan tersendiri yaitu *protista*. Mikroorganisme yang termasuk golongan *protista* adalah bakteri, fungi, protozoa dan algae (Judoamidjojo dkk. 1989).

6.2.1. Bakteri

Bakteri dapat dianggap sebagai mikroorganisme yang mempunyai populasi terbanyak, berukuran terkecil dan mempunyai bentuk yang relatif sederhana. Bakteri mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut:

a. *Bentuk* : Bakteri mempunyai tiga bentuk dasar yaitu: bulat atau *coccus* (jamak: *cocci*), bentuk batang atau *bacillus* (jamak: *bacilli*) dan bentuk spiral.

b. *Ukuran*: ukuran sel bakteri bervariasi. Ukuran yang digunakan mikrometer (μm) yang setara dengan $1/1000$ mm. Ukuran bakteri umumnya sekitar $0.5 - 1.0\mu\text{m} \times 2.0 - 5.0\mu\text{m}$. Bakteri bentuk bola diameternya $0.75 - 1.25\mu\text{m}$, bentuk batang lebar $0.5 - 1.0\mu\text{m}$ dan panjang $1.0 - 2.0\mu\text{m}$. Beberapa spesies mempunyai ukuran panjang melebihi $100\mu\text{m}$ dan diameternya $0.1-0.2\mu\text{m}$.

Bakteri dapat dikelompokkan berdasarkan sifat-sifat yang tampak antara lain: bentuk, ukuran, warna reaksinya terhadap pengecatan gram, pola flagella, kapsul,

morfologi koloni, pola pembentukan energi, formasi produk kimia khusus, nutrisi (kebutuhan nutrisi dan kemampuan menggunakan gula nutrien lain), ada atau tidaknya makromolekul khusus pada permukaan dan hubungan ekologis (Dharma, 1992). Dalam kaitannya dengan mikrobiologi pangan, pengelompokan bakteri berdasarkan sifat pertumbuhannya pada makanan lebih penting daripada pengelompokan berdasarkan sifat-sifat lainnya (Fardiaz, 1992). Pengelompokan bakteri berdasarkan sifat pertumbuhannya pada makanan adalah:

1. Bakteri asam laktat
2. Psikrotropik
3. Bakteri asam asetat
4. Bakteri halofilik
5. Bakteri asam butirat dan proionat
6. Bakteri osmofilik
7. Bakteri proteolitik
8. Bakteri berpigmen
9. Bakteri pembentuk lendir
10. Bakteri lipolitik
11. Bakteri sakarolitik
12. Bakteri pembentuk gas
13. Bakteri pektolitik
14. Koliform
15. Bakteri termofilik

Peran bakteri dalam bioteknologi pakan ternak antara lain sebagai pencerna serat kasar dalam rumen ternak ruminansia karena mampu menghasilkan enzim selulase dan amilase, penghasil asam laktat dalam pembuatan silase untuk menurunkan pH, penghasil asam amino yang dapat dimanfaatkan sebagai *feed additive* dan penghasil enzim polisakaridase yang dapat diinkubasikan ke dalam pakan untuk meningkatkan pencernaan.

6.2.2. Fungi

Fungi atau kapang atau oleh masyarakat Indonesia disebut jamur sudah banyak

dikenal masyarakat. Beberapa spesies kapang merupakan pathogen bagi organisme lain, misalnya menyebabkan penyakit dan mikotoksin dan ada kapang yang mempunyai manfaat besar bagi kehidupan, misalnya pada pembuatan tape, oncom, kecap dan tauco. Dalam bioteknologi pakan kapang banyak digunakan karena menghasilkan enzim yang membantu pencernaan pakan seperti enzim lignoselulase, amilase, protease, polimerase dan menghasilkan protein sel tunggal (PST). Dalam rumen ruminansia jamur ikut aktif yaitu *rhizoid* jamur melakukan penetrasi ke dalam jaringan tanaman pakan sehingga struktur jaringan menjadi rapuh dan hancur, sehingga permukaan menjadi lebih luas. Permukaan yang lebih luas memungkinkan kontak langsung dengan enzim pencerna selulosa semakin besar.

Tubuh atau *thalus* kapang pada dasarnya terdiri dari dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan beberapa filamen yang dinamakan hifa. Setiap hifa lebarnya 5 sampai 10 mikron.

Kapang termasuk ke dalam *phylum Mycota* yang paling sedikit terdiri dari 10 kelas. Famili yang dianggap penting dalam industri sampai saat ini adalah *Zygomycetes* (diantaranya genus *Mucor* dan *Rhizopus*), *Ascomycetes* dan *Deutoromycetes* (misalnya *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Trichoderma*), sedang yang lainnya jarang didapatkan.

Perkembangan dan pertumbuhan kapang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kadar air, suhu, oksigen, pH dan nutrisi. Kapang akan tumbuh baik pada kadar air optimum. Kadar air yang terlalu rendah dapat menghambat pertumbuhan sel, sedangkan kadar air yang terlalu tinggi dapat mengurangi penetrasi udara dan memungkinkan bakteri kontaminasi untuk

tumbuh dengan baik. Kebanyakan kapang bersifat mesofilik yaitu tumbuh baik pada suhu kamar. Suhu optimum pertumbuhan untuk kebanyakan kapang adalah sekitar 25-30 °C. tetapi beberapa dapat tumbuh pada suhu 35-37°C atau lebih tinggi (misalnya *Aspergillus*). Beberapa kapang bersifat psikotrofik yaitu dapat tumbuh pada suhu lemari es, bahkan ada yang dapat tumbuh lambat dibawah suhu pembekuan misalnya pada suhu -5°C sampai -10 oC. Beberapa kapang juga bersifat termofilik dapat tumbuh pada suhu tinggi. Semua kapang bersifat aerobik yaitu membutuhkan udara untuk pertumbuhannya. Kebanyakan kapang dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas yaitu 2-8.5, tetapi pertumbuhan kapang akan lebih baik pada kondisi asam atau pH rendah. Kapang dapat menggunakan berbagai komponen makanan dari yang sederhana sampai yang kompleks.

Kapang dapat mensintesis protein dengan mengambil sumber karbon dari karbohidrat (glukosa, sukrosa atau maltosa), sumber nitrogen dari bahan organik atau anorganik, dan mineral dari substrat. Sumber karbon terbaik adalah glukosa, dan sumber nitrogen terbaik adalah dari bahan organik. Bahan anorganik yang dapat digunakan sebagai sumber nitrogen adalah amonium dan nitrat.

Beberapa spesies kapang dapat mensintesis sejumlah besar enzim (Tabel 44) yang salah satunya dapat digunakan untuk pendegradasi serat misalnya enzim yang dihasilkan oleh *A. niger* dan *Trichoderma viride*. Harker (1992) menyatakan kegunaan enzim di dalam pakan diantaranya:

1. memecah atau mengurangi keeratn ikatan yang terjadi antar serat jaringan pakan sehingga menambah energi.

2. merusak molekul antinutrisi yang mungkin terdapat pada pakan sehingga lebih banyak pakan yang dapat digunakan yang berarti meningkatkan nilai gizi.
3. membantu pencernaan ternak atau hewan yang masih kecil (yang sistem pencernaannya belum sempurna)
4. menurunkan jumlah ekskresi kotoran sehingga menurunkan polusi.

Tabel 44. Jenis-jenis enzim dan kapang penghasilnya

Enzim	Kapang Penghasilnya
Pektinase	A. niger
Beta amilase	A. niger
Exo protease	A. niger
Cellulase	T. reese dan T. viridae
Fitase	A. ficuum

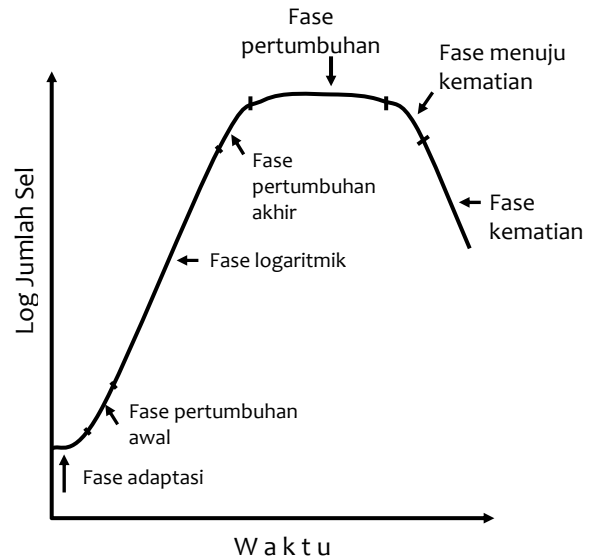
Tangendjaja (1992)

6.3. PERTUMBUHAN MIKROBIAL.

Pertumbuhan sel merupakan puncak aktivitas fisiologis yang saling mempengaruhi secara berurutan. Proses pertumbuhan ini sangat kompleks mencakup pemasukan nutrisi dasar dari lingkungan ke dalam sel, konversi bahan-bahan nutrisi menjadi energi dan berbagai konstituen vital sel serta perkembangbiakan. Pertumbuhan mikrobial ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel serta kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimia.

Fase Adaptasi. Pemindahan mikroba dari suatu medium ke medium lain, menyebabkan mikroba akan mengalami fase adaptasi untuk melakukan penyesuaian dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitar. Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap tetapi kadang-kadang menurun. Lama fase ini bervariasi,

dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan sekitar. Medium, lingkungan pertumbuhan dan jumlah inokulum mempengaruhi lama adaptasi.



Gambar 27. Kurva pertumbuhan mikroba

Fase Pertumbuhan Awal. Setelah mengalami fase adaptasi, sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah karena baru tahap penyesuaian diri.

Fase Pertumbuhan Logaritmik. Sel mikroba membelah dengan cepat dan konstan dan pertambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh kondisi medium tumbuh (pH dan kandungan nutrisi) dan kondisi lingkungan (suhu dan kelembapan udara). Sel membutuhkan energi yang lebih banyak dibandingkan dengan fase lain dan sel paling sensitif terhadap lingkungan.

Fase Pertumbuhan Lambat. Pertumbuhan populasi mikroba mengalami perlambatan. Perlambatan pertumbuhan disebabkan zat nutrisi dalam medium sudah sangat berkurang dan adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghasilkan racun yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

Pertumbuhan sel pada fase ini tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dari jumlah sel yang mati.

Fase Pertumbuhan Tetap. Jumlah populasi mikroba tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah mulai habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Sel-sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrem seperti panas, dingin, radiasi dan bahan kimia.

Fase menuju Kematian dan Fase Kematian. Sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian yang disebabkan oleh nutrisi di dalam medium dan energi cadangan di dalam sel sudah habis. Kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrisi, lingkungan, dan jenis jasad renik

6.4. JENIS FERMENTASI

Fermentasi secara umum dibagi menjadi 2 model utama yaitu fermentasi media cair (*liquid state fermentation, LSF*) dan fermentasi media padat (*solid state fermentation, SSF*). Fermentasi media cair diartikan sebagai fermentasi yang melibatkan air sebagai fase kontinu dari sistem pertumbuhan sel bersangkutan (Satiawiharja, 1992) atau substrat baik sumber karbon maupun mineral terlarut atau tersuspensi sebagai partikel-partikel dalam fase cair. Fermentasi media padat merupakan proses fermentasi yang berlangsung dalam substrat tidak terlarut, namun mengandung air yang cukup sekalipun tidak mengalir bebas (Dharma, 1992). Dalam fermentasi tradisional baik fermentasi medium cair maupun medium padat telah lama dikenal. Fermentasi cair

meliputi fermentasi minuman anggur dan alkohol, fermentasi asam cuka, *yogurt* dan kefir. Fermentasi media padat seperti fermentasi tape, oncom, kecap, tape dan silase.

6.4.1. Fermentasi Media Cair

Komponen tambahan yang diperlukan pada pakan generasi baru seringkali disintesa secara terpisah dan ditambahkan kemudian. Cara yang digunakan biasanya dengan cara fermentasi media cair, yang dapat mensintesa asam-asam amino, asam-asam organik, enzim-enzim dan beberapa vitamin.

Fermentasi cair dengan teknik tradisional tidak dilakukan pengadukan, berbeda dengan teknik fermentasi cair modern melibatkan fermentor yang dilengkapi dengan: pengaduk agar medium tetap homogen, aerasi, pengatur suhu (pendingin dan pemanasan) dan pengaturan pH. Proses fermentasi cair modern dapat dikontrol lebih baik dan hasil lebih uniform dan dapat diprediksi. Juga tidak dilakukan sterilisasi, namun pemanasan, perebusan dan pengukusan mematikan banyak mikroba kompetitor.

Jenis-jenis fermentasi media cair yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut:

1. *Fermentasi yang diagitasi dimana substratnya larut dalam air.*

Jenis fermentasi ini dikerjakan dalam suatu labu atau gelas yang cocok atau yang lebih modern dengan menggunakan fermentor dimana substratnya larut sempurna dalam air. Pengambilan substrat oleh mikroba melalui fase larutan dalam air. Pada kultur labu yang dikocok, agitasi dilakukan dengan bantuan alat pengocok (*shaker*). Pada fermentor agitasi dikerjakan dengan pengaduk yang dijalankan oleh motor dan dapat dibantu oleh aerasi (gelembung udara).

2. *Fermentasi yang diagitasi dimana zat yang tak larut dalam air tersuspensi dalam fase cair.*

Pada fermentasi ini substrat zat padat tidak larut dalam air tetapi dalam bentuk bubuk-bubuk halus yang tersuspensi dalam sejumlah air yang banyak. Garam dan zat-zat hara lain mungkin terlarut dalam air. Konsentrasi substrat dalam media dapat bervariasi mulai dari satu persen sampai pada suatu keadaan yang menyerupai bubur. Pengambilan substrat oleh mikroba biasanya disertai dengan produksi suatu faktor yang dapat melarutkan yang mungkin sifatnya ekstraseluler atau terletak didalam dinding dalam air sehingga partikel substrat tersipresi secara merata dalam medium yang mengandung air agar terjadi kontak dengan mikroba secara maksimum.

3. *Fermentasi yang diagitasi dimana zat cair yang tak larut dalam air tersuspensi dalam fase cair.*

Jenis fermentasi ini dan mekanisme pengambilan substrat dengan yang kedua kecuali substrat bersifat cair.

4. *Fermentasi yang tidak diagitasi dimana substratnya larut dalam fase air.*

Pada fermentasi ini substrat larut dalam air tetapi medianya tidak diagitasi atau dikocok. Pengambilan substrat melalui fase cair. Medium didistribusikan berupa larutan yang dangkal dalam suatu baki atau dalam suatu wadah yang mempunyai permukaan yang luas dan dalamnya media biasanya 2.5-5.0 cm untuk produksi yang tinggi.

Untuk produksi komponen-komponen pakan yang paling banyak digunakan adalah fermentasi cair jenis pertama, menyusul jenis keempat terutama untuk memproduksi asam-asam organik seperti

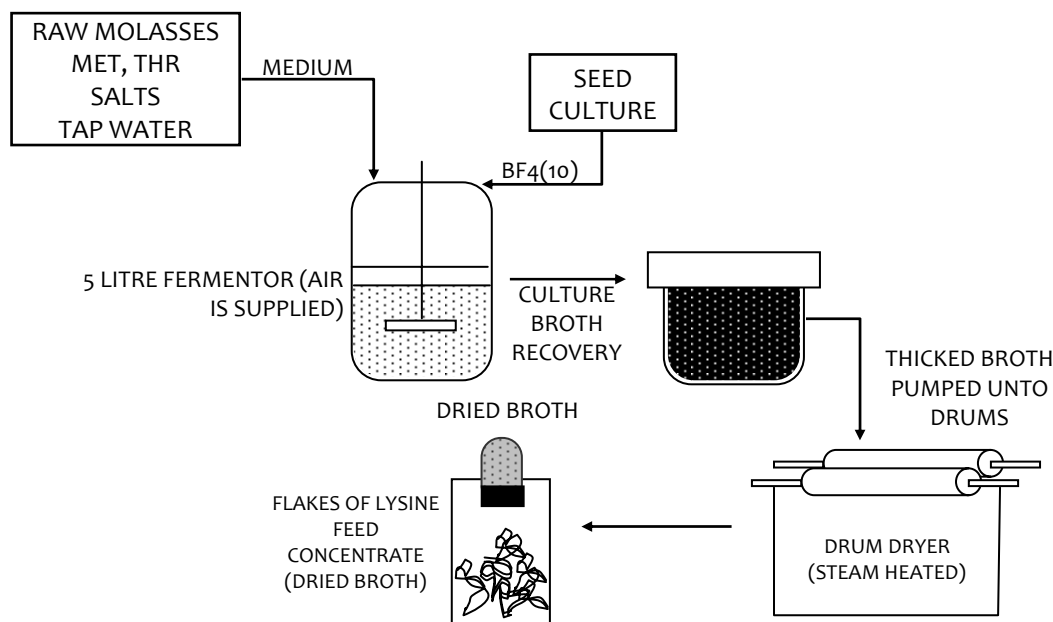
asam sitrat, asam glutamat dan jenis ketiga untuk produksi sel tunggal protein (PST).

Fermentasi media cair untuk memproduksi pakan secara langsung memungkinkan dilakukan jika proses fermentasi telah terbentuk komponen yang diinginkan disamping sejumlah biomassa yang dapat digunakan. Proses ini biasanya masih membutuhkan proses tambahan setelah akhir fermentasi, misalnya dalam produksi *lysine feed concentrate* (LFC).

LFC berasal dari proses fermentasi yang menghasilkan L-lysine (oleh suatu mikroba penghasil L-lysine) dengan menggunakan sumber karbon gula atau molases. Pada akhir proses fermentasi, cairan hasil fermentasi yang masih mengandung sel diuapkan pada suhu 60-80°C lalu ditambah dengan bahan pengisi (*filler*) dan dikeringkan. Skema proses ini dapat dilihat pada Gambar 28. Dengan cara ini Yao-Tung dan Shyang-Ling (1986) memperoleh LFC yang mengandung 40% padatan dengan kadar L-lysine (terhitung sebagai L-lysine HCl) antara 10-13%. Penurunan kadar lisin akibat pemanasan tidak melebihi 20%.

Keuntungan memproduksi LFC dibandingkan dengan memproduksi kristal L-lysine bila hanya digunakan untuk kebutuhan makanan ternak adalah:

1. Produk merupakan produk pekat yang kaya akan gizi, mengandung mineral, vitamin dan hormon pertumbuhan
2. Pabrik LFC memerlukan modal yang lebih rendah karena tidak memerlukan alat penukar ion dan pengkristal
3. Polusi yang biasanya menyertai pemurnian produk bila berasal dari bahan baku molases dapat dihilangkan karena aliran limbah dari tangki pengkristal tidak ada.



Gambar 28. Skema produksi *Lysine Feed Concentrate*

Tabel 45. Komposisi dari *Lysine Feed*

Komponen	Kadar (%)
Padatan	95-98
Lysin	35-48
Protein	10-15
Total asam amino (selain lysine)	1-3
Asam laktat	0.5-3
Asam-asam lain yang mengandung kurang dari 8 atom C	2-10
Polisakarida, oligosakarida	2-7
Zat lemak	1-6
Mineral	10-25
Air	0.5-3

Sumber: Rouy (1984)

6.4.2. Fermentasi Media Padat

Fermentasi media (substrat) padat mempunyai kandungan nutrisi per volume jauh lebih pekat sehingga hasil per volume dapat lebih besar. Produksi protein mikroba untuk pakan ternak dari keseluruhan hasil fermentasi dapat dilakukan dengan pengeringan sel-sel mikroba dan sisa substrat. Fermentasi substrat padat dengan kapang mempunyai keuntungan (Dharma, 1992) yaitu:

1. medium yang digunakan relatif sederhana.

2. ruang yang diperlukan untuk peralatan fermentasi relatif kecil, karena air yang digunakan sedikit.
3. inokulum dapat disiapkan secara sederhana.
4. kondisi medium tempat pertumbuhan fungi mendekati kondisi habitat alaminya.
5. aerasi dihasilkan dengan mudah karena ada ruang udara antara tiap partikel substrat.
6. produk yang dihasilkan dapat dipanen dengan mudah.

Faktor yang mempengaruhi fermentasi media padat diantaranya:

1. *Kadar air*: Kadar optimum tergantung pada substrat, organisme dan tipe produk akhir. Kisaran kadar air yang optimal adalah 50-75%. Kadar air yang tinggi akan mengakibatkan penurunan porositas, pertukaran gas, difusi oksigen, volume gas, tetapi meningkatkan resiko kontaminasi dengan bakteri.

2. *Temperatur*: Temperatur berpengaruh pada laju reaksi biokimia selama proses fermentasi.
3. *Pertukaran gas*: Pertukaran gas antara fase gas dengan substrat padat mempengaruhi proses fermentasi.

6.5. FERMENTASI DENGAN *Aspergillus niger*

Salah satu fermentasi substrat padat yang sudah sering dilakukan adalah menggunakan kapang *A. niger*. Fermentasi dengan *A. niger* ini dilakukan dalam dua tahap:

1. Fermentasi aerobik yang bertujuan untuk memproduksi sel kapang dan enzim hidrolisis. Pada tahap ini bahan yang akan difermentasi digiling halus, dicampur dengan air sampai kadar air bahan sekitar 60% dan dicampur dengan mineral dan dikukus. Mineral yang digunakan adalah: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, urea, NaH_2PO_4 , Mg SO_4 dan KCl.
2. Fermentasi enzimatik anerobik yang berguna untuk menghambat pertumbuhan kapang, tetapi membiarkan enzim yang telah terbentuk untuk tetap berfungsi.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kapang *A. niger* mampu memecahkan ikatan kompleks mineral asam fitat yang tidak larut (*insoluble mineral phytic complex*) pada dedak padi. Kandungan mineral terutama kalsium, fosfor dan magnesium cukup tinggi akan tetapi karena terikat dengan asam fitat maka tidak bisa dimanfaatkan oleh tubuh (Pilliang, 1997). Penelitian Akmal dan Mairizal (2003) menunjukkan bahwa proses fermentasi pada bungkil kelapa dengan menggunakan kapang *A. niger* dapat meningkatkan kandungan protein kasar dari 22,41% menjadi 35,27% dan menurunkan kandungan serat kasar dari 15,15% menjadi

10,24%. Fermentasi dengan kapang *A. niger* pada bungkil biji kapuk juga mampu meningkatkan kandungan protein dari 28,35% menjadi 38,08% dan menurunkan kandungan serat kasar dari 23,01% menjadi 18,23% (Mairizal dkk. 2001) dan fermentasi singkong dapat meningkatkan kandungan protein kasar sampai 35% (Kompiang dkk. 1994).

Fermentasi substrat padat dengan kapang *A. niger* seperti yang dicobakan oleh Purwadaria dkk. (1995) dengan prosedur sebagai berikut: Bahan yang sudah digiling halus dicampur dengan air (800 ml air untuk 1 kg bahan) dan campuran mineral sebanyak 66,75 gram dengan komposisi sebagai berikut 3,6% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2% urea, 0,75% NaH_2PO_4 , 0,25% Mg SO_4 dan 0,75% KCl. Semua bahan dicampur sampai homogen kemudian dikukus selama 30 menit dan didinginkan. Selanjutnya diinkubasi dengan spora *A. niger* sesuai dengan perlakuan. Setelah itu diinkubasi secara anaerobik dengan ketebalan 2 cm pada baki plastik yang ditutupi dengan plastik dan disimpan pada suhu ruang (26-29 °C) selama 3 hari. Setelah itu produk fermentasi diremas, diaduk, dimampatkan dan divakum dalam kantong plastik dengan ukuran 2 kg kemudian dilakukan inkubasi secara enzimatik selama 3 hari. Setelah itu produk bioproses dipanen dan selanjutnya dikeringkan lalu digiling.

6.6. PROTEIN SEL TUNGGAL

Protein Sel Tunggal (PST) atau *Single Cell Protein* (SCP) merupakan istilah yang digunakan untuk protein kasar atau murni yang berasal dari mikroorganisme bersel satu atau bersel banyak yang sederhana seperti: bakteri, khamir, jamur, ganggang dan protozoa. Produk PST dapat digunakan untuk makanan manusia dan makanan ternak.

Protein sel tunggal diperoleh setelah masa mikrobial dipisahkan (dipanen) dari masa substratnya. Bila mikroba yang digunakan tetap berada dan bercampur dengan massa substratnya maka seluruhnya dapat dinamakan produk biomassa mikrobial (PBM).

PST mengandung berbagai mikroorganisme baik uni maupun multiselular, seperti bakteri, khamir, jamur atau algae. PST bukan protein murni tetapi merupakan campuran protein, lemak, karbohidrat, asam nukleat, vitamin, mineral dan

terkadang mengandung beberapa toksin dan *trace of substances of the growing*.

Kandungan protein PST tergantung pada tipe mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi. Fermentasi dengan khamir menghasilkan protein 50-55%, bakteri 50-80%, ganggang 20-80% dan kapang 15-45%. Perbandingan antara kandungan zat makanan PST dengan tepung ikan dan bungkil kedelai serta koefisien cerna (%) dari PST pada babi tercantum pada Tabel 46 dan 47.

Tabel 46. Perbandingan komposisi zat makanan dari PST dengan bungkil kedelai dan tepung ikan (%).

Kandungan	Khamir	Bakteri	Kapang	Alga	Bungkil kedelai	Tepung ikan
Bahan kering	96	90	86	84	88	91
Protein kasar	60	74	32	52	41.1	67
Lemak kasar	9	8	5	15	2.6	4.6
Serat kasar	-	-	28	11	6.1	0.2
ME (kkal/kg)	-	-	-	-	2620	3000

Tabel 47. Koefisien cerna (%) PST pada babi

Kandungan	Khamir	Bakteri	Kapang	Algae	Bungkil kedelai
Bahan organik	92	90	79	-	83
Protein kasar	90	93	71	94	91
Lemak kasar	95	87	34	-	34
Serat kasar	-	-	99	-	-
BETN	94	-	-	-	94
ME (Kkal/kg)	3.600	3720	2940	-	3.190

Substrat untuk PST mulai dari hidrokarbon sederhana, metana, alkana kompleks (gas-oil, n-paraffin), alkohol, karbohidrat, limbah pertanian dan industri.

Industri protein sel tunggal mempunyai beberapa keuntungan dan masalah. Keuntungan yang diperoleh antara lain:

1. *Produktivitas tinggi*. Menggunakan peralatan yang lebih modern secara otomatis dan dikontrol dengan

komputer yang akan mengurangi penggunaan tenaga kerja bila dibandingkan dengan pertanian. Untuk memproduksi PST diperlukan luasan areal yang lebih kecil dibanding dengan metode pertanian konvensional. Menurut hitungan 10 persen pasokan makanan dunia dapat diproduksi dalam fermentor yang setara dengan 0.5 mil persegi dari tanah permukaan bumi.

2. *Laju pertumbuhan.* Proses produksi PST mempunyai laju pertumbuhan yang cepat. Reproduksi mikroorganisme seperti bakteri dan khamir dapat memberikan hasil yang berlipat ganda setiap jam atau dua jam, sedangkan ganggang memerlukan waktu hanya kurang dari satu hari. Ini merupakan laju pertumbuhan yang luar biasa dibandingkan pertumbuhan tanaman pertanian konvensional. Waktu penggandaan untuk *yeast* dalam suatu fermentor 2-4 jam, sebagian besar genus bakteri 15-45 menit.
3. *Penggunaan nutrien.* Mikroorganisme menggunakan nutrien sangat kompleks.
4. *Nilai biologi.* Asam amino pada protein mikroba khususnya bakteri hampir sama dengan protein hewani. Protein mikroba dari fungi rendah kandungan metionin tetapi dengan menambahkan metionin sintetis maka akan menyamai protein dari hewan. Semua PST kaya akan vitamin.
5. *Tidak tergantung pada kondisi tanah dan iklim.*
6. *Kebutuhan air rendah.* Pembuatan PST lebih mudah dan tidak menimbulkan masalah penanganan limbah, sebab hampir semua produksi PST dapat dikonsumsi dan limbah yang dihasilkan hanya dalam bentuk panas.

Masalah yang dihadapi adalah kandungan asam nukleat pada produk PST dari berat kering sel yang berkisar antara 5-20%.

Produk PST yang sudah dipasarkan terutama di Eropa dan Jepang antara lain adalah:

1. Ca-bi diproduksi di Czechoslovakia berasal dari sel yeast *Candida utilis* dan *Cryptococcus differents* dan Ca-bi + EtoH.
2. Pekilo Protein diproduksi di Finlandia .
3. Pruteen berasal dari methanol diproduksi oleh Imperial Chemical Industries Ltd. (ICI) Inggris
4. Viton dari sel *Candida paraffinica* pada n-paraffins diproduksi oleh Dainippon Ink Chemichals Tokyo Jepang.

Tabel 48 memperlihatkan perbandingan antara produk PST dengan bungkil kedelai dan tepung ikan. Kandungan lemak (1-10%), serat kasar (0.5-20%) dan asam nukleat (1-20%) pada produk-produk PST bervariasi. Kandungan mineral, vitamin, bahan organik dan anorganik tergantung pada substrat, strain mikroba dan teknologi yang digunakan.

Pruteen pada ransum broiler sebanyak 5%-10%, pada level ini akan meningkatkan penambahan berat badan dan meningkatkan penggunaan pakan. Bila lebih dari 10% akan menurunkan penambahan berat badan. Pada ayam broiler dapat digunakan 7.5%.

Tabel 48. Nilai gizi dan komposisi kimia beberapa produk protein sel tunggal.

Zat Gizi	Bungkil kedelai	Tepung ikan	Ca-bi	Ca-bi + etanol	Pruteen	Pekilo	Viton	Symba
Bahan kering	88	91	95.1	95.3	90	96.1	94.8	94
Protein kasar	41.1	67	57.0	60.0	74.0	56	50.8-51.3	48
Lemak kasar	2.6	4.6	7.22	7.92	8.50	0.9	5.6-6.0	3
Serat kasar	6.1	0.2	-	-	-	11.4	2.23-2.50	0.48
ME (kkal/kg)	2620	3000	2900	2900	3300	-	3000	-
Lysine	2.75	5.20	3.66	4.09	3.40	3.54	12.5	3.02
Methionine	0.55	1.95	0.73	0.76	1.33	0.85	3.71-3.94	0.72
Cystine	0.70	0.78	0	-	0.37	0.3	0.7-3.94	0.48
Tryptophan	0.55	0.65	0	-	0.74	1.05	0.7-0.82	0.62
Threonine	1.67	2.93	2.80	3.37	2.59	2.32	0.53-0.55	2.59
Isoleucine	2.36	3.12	2.28	2.66	2.59	2.30	2.41-2.59	2.06
Leucine	3.26	4.68	3.21	4.30	3.92	3.63	1.77-2.69	3.60
Valine	2.24	3.46	2.69	3.07	3.11	2.76	3.83-4.06	2.02
Phenylalanine	2.10	2.67	2.31	2.59	2.00	3.24	2.94-3.08	2.59
Tyrosine	-	-	1.89	2.12	1.70	1.95	2.09-2.38	2.30
Histidine	1.03	1.56	1.36	1.55	0.96	1.06	1.59-1.98	0.96
Arginine	3.22	4.10	2.69	2.85	2.59	3.42	1.03-1.05	2.21
Kalsium	0.27	4.6	-	-	0.06	0.13	6.7-7.8	2.64
Fosfor	0.68	2.60	2.72	1.66	2.30	0.50	0.10	0.34
Koef. cerna (%)	65	82	78	71	-	-	-	-

Sumber: Boda (1990)