

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Bacillus mycoides*

*Bacillus mycoides* mempunyai ciri-ciri sebagai bakteri gram positif, sel berbentuk batang dan cukup besar, berukuran 3-4  $\mu\text{m}$ , mempunyai ujung yang persegi dan tersusun dalam rantai panjang, mempunyai spora dan sering bergerak dengan flagella *peritrichous*, dalam uji secara konvensional bakteri ini dapat memfermentasi gula-gula seperti glukosa, laktosa dan maltosa. Bakteri ini dapat tumbuh pada medium Nutrient Broth dan termasuk ke dalam bakteri anaerob fakultatif. Bakteri ini bersifat motil dan suhu pertumbuhan antara 25°C-40°C. Bakteri ini resisten terhadap penisilin, positif membentuk Beta-hemolisa, positif mengkatalisis hidrogen tanpa oksidase, positif mereduksi nitrat dan mereduksi methylene (Franco *et al.*, 2002). Klasifikasi dari bakteri *Bacillus mycoides* menurut Holt (2000) sebagai berikut:

Kingdom : Bakteri

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Order : Bacillales

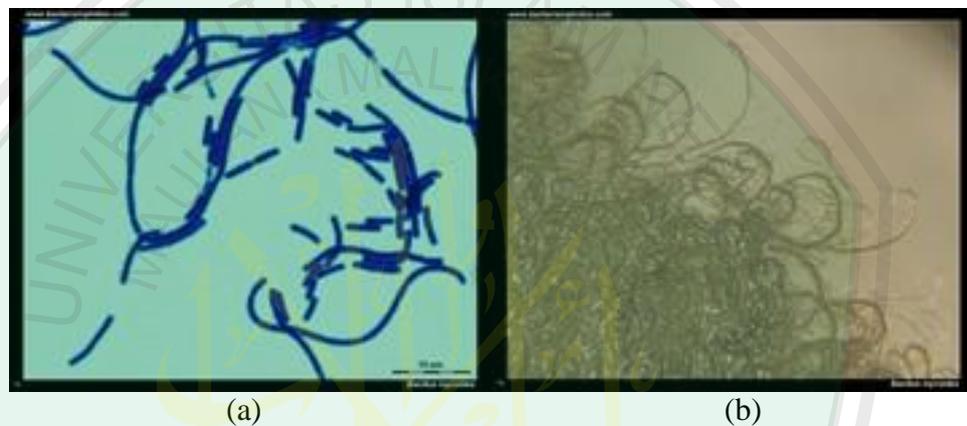
Famili : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus mycoides*

Spesies *Bacillus* sangat cocok untuk produksi enzim, kecuali *Bacillus cereus* dan *Bacillus anthracis*. Mikroba jenis *Bacillus* tidak menghasilkan toksin,

mudah ditumbuhkan dan tidak memerlukan substrat yang mahal. Kemampuan *Bacillus* untuk bertahan pada temperatur tinggi, tidak adanya hasil samping metabolik dan berkemampuan untuk menghasilkan protein ekstrasel membuat *Bacillus* merupakan organisme favorit untuk industri. Saat ini *Bacillus mycooides* dipakai sebagai organisme inang untuk studi DNA (Franco *et al.*, 2002). Berikut gambar pewarnaan Gram bakteri dan koloni dari *Bacillus mycooides* :



(a)

(b)

Gambar 2.1.

(a) Pewarnaan Gram *Bacillus mycooides*, (b) koloni *Bacillus mycooides*  
( Sumber: Franco *et al.*, 2002)

Isyarat diciptakannya bakteri atau makhluk yang lebih kecil dari padanya telah difirmankan oleh Allah SWT. dalam QS. Albaqarah (2):26 dibawah ini:

﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ  
ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا  
أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ  
بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴾

Artinya: "Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu<sup>[33]</sup>. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud

*Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah<sup>[34]</sup>, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik" (QS. Al-baqarah (2):26)*

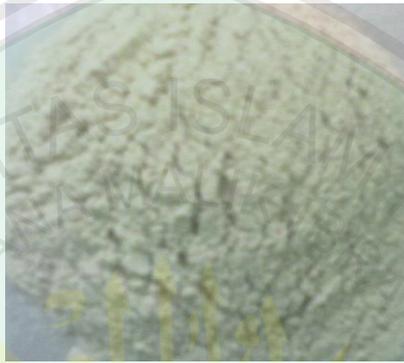
Ibnu Katsir menafsirkan bahwa kata (yang lebih rendah dari itu), menunjukkan bahwa Allah SWT kuasa untuk menciptakan apa saja, yaitu penciptaan apapun dengan obyek apa saja, baik yang besar maupun yang lebih kecil. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh sesuatu pun yang Dia ciptakan meskipun hal itu kecil. Orang-orang yang beriman meyakini bahwa dalam perumpamaan penciptaan yang dilakukan oleh Allah memiliki manfaat bagi kehidupan manusia (Al-mubarak, 2006). Sebagaimana Allah menciptakan bakteri endofit seperti *Bacillus mycoides*, meskipun ukurannya sangat kecil tetapi keberadaannya memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan manusia dan hewan.

## **2.2 Onggok**

Onggok adalah limbah hasil pengolahan singkong menjadi tepung tapioka. Proses pengolahan singkong menjadi tepung tapioka akan menghasilkan limbah 2/3 sampai 3/4 dari bahan mentahnya. Setiap ton ubi kayu dapat dihasilkan 250 kg tepung tapioka dan 114 kg onggok (Tarmudji,2004). Pengolahan ubi kayu menjadi tepung tapioka dapat dibagi menjadi tiga tahap yaitu pengolahan pendahuluan, ekstraksi pati dan pengepakan (Tjokroadikoesoemo, 1986). Pada proses penyaringan, pati yang dihasilkan kurang lebih 20-25%, kulit ketela 15-20% dan ampas 5-20% (Murtinah, 1984).

Limbah tepung tapioka terdiri dari limbah padat yang biasa disebut onggok dan limbah cair. Limbah padat berupa kulit dan ampas. Kulit diperoleh

dari proses pengupasan sedangkan ampas yang berupa serat dan pati diperoleh dari proses penyaringan. Limbah cair industri tapioka dihasilkan selama proses pembuatan, mulai dari pencucian sampai proses pengendapan (Martono,2007). Berikut gambar onggok gambar 2.2.



Gambar 2.2 Onggok (Martono, 2007)

Unsur utama nutrisi onggok adalah karbohidrat, serat kasar merupakan nutrisi khas penyusun dinding sel tanaman yang sebagian besar berupa selulosa. Selulosa adalah polimer D- glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik (Mulyono, 1999). Kandungan zat makanan onggok sangat bervariasi, hal ini dipengaruhi oleh varietas ubi kayu, umur panen, dan cara pengolahan (Murtinah, 1984). Kandungan zat makanan onggok dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Kandungan zat makanan pada onggok dalam 100% berat kering

Parameter	Kandungan Zat Makanan Onggok
Protein kasar	1,33-1,88%
Serat kasar	15,52-15,62%
Lemak kasar	0,25-0,29%
BETN	80,80-81,10%

Sumber : (Wizna *et al.*, 2009), Mursyid *et al.*,(2009)

### 2.3 Fermentasi

Fermentasi adalah proses perubahan kimiawi dari senyawa-senyawa organik (karbohidrat, lemak, protein dan bahan organik lain) baik dalam keadaan aerob maupun anaerob, melalui kerja enzim yang dihasilkan oleh mikroba (Fardiaz, 1988). Pada proses fermentasi terjadi reaksi oksidasi-reduksi di dalam sistem biologi yang menghasilkan energi, dimana sebagai donor dan aseptor elektron digunakan senyawa organik (Winarno dan Fardiaz, 1980).

Winarno (2007) menyatakan bahwa fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Pada proses fermentasi jumlah mikroba dan kegiatan metabolismenya di dalam makanan meningkat. Jenis mikroba yang digunakan disesuaikan dengan hasil akhir yang dikehendaki. Selanjutnya dinyatakan bahwa terjadinya fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat bahan makanan sebagai akibat pemecahan kandungan zat makanan tersebut yang dihasilkan oleh mikroba.

Fermentasi media padat ini sering disebut sebagai proses “ koji ”. Bahan padat yang dapat digunakan sebagai substrat ialah berbagai jenis hasil pertanian dan limbah pertanian. Fermentasi media padat mempunyai beberapa kelebihan, antara lain operasinya sederhana, kontaminasi bukan masalah penting, bahan untuk media atau substrat mudah diperoleh dan relatif murah harganya. Sedangkan kelemahannya antara lain memerlukan ruang yang luas, membutuhkan banyak tenaga kerja, sulit mengatur komposisi komponen-komponen media dan meniadakan komponen berpengaruh negatif terhadap proses fermentasi dan sulit mengatur kondisi lingkungan fermentasi (Rahman,1992).

Proses fermentasi media padat biasanya dilakukan pada suhu ruang yang relatif konstan dan merupakan kultur yang statis walaupun sekali-kali dilakukan pengadukan. Pertumbuhan pada media padat dengan kelembapan tinggi (kadar air tinggi) menyerupai sifat pertumbuhannya di alam. Melalui fermentasi padat sering diperoleh enzim-enzim spesifik yang sulit timbul dalam kultur cair. Pada umumnya fermentasi padat membutuhkan jumlah inokulum yang lebih optimum (Rahman,1992).

Menurut Astawan *et al.*, (1989) fermentasi media padat adalah suatu jenis fermentasi dimana terjadi proses degradasi komponen kimia padat oleh mikroba yang ditandai dengan tidak adanya air bebas dalam sistem fermentasi tersebut.

### **2.3.1 Fermentasi dengan Kapang**

Fermentasi substrat padat menggunakan kapang memiliki kelemahan dimana kandungan serat pada substrat masih tinggi. Supriyati (2003) menyatakan bahwa kandungan serat kasar tidak mengalami perubahan, kandungan serat yang menurun menjadi naik lagi setelah fermentasi. Hal ini disebabkan terjadi pertumbuhan *Aspergillus niger* sehingga serat yang teranalisis kemungkinan besar juga termasuk dinding sel *Aspergillus niger*. Suprayogi (2010) juga menyatakan bahwa inokulum kapang mempunyai kandungan serat kasar yang lebih tinggi dibandingkan dengan inokulum lain seperti bakteri. Hidayat *et al.*, (2006) juga menyatakan bahwa kapang *Rhizopus oligosporus* memproduksi enzim pendegradasi karbohidrat seperti amilase, selulase, xylanase dan sebagainya. Selama fermentasi karbohidrat akan berkurang karena dirombak menjadi gula-gula sederhana dan kandungan serat kasar akan meningkat akibat pertumbuhan

kapang. Shurtleff dan Aoyagi (1979) juga menyatakan kandungan serat kasar akan meningkat selama fermentasi karena adanya pertumbuhan miselium kapang yang kaya akan serat kasar.

Pengolahan secara fermentasi dengan menggunakan kapang terhadap bahan pakan yang mengandung pati dan serat tinggi mempunyai suatu kelemahan dimana hifa dari kapang tersebut merupakan serat kasar sehingga kandungan serat kasar substrat tetap tinggi (Wizna *et al.*, 2005) selain itu memerlukan waktu yang lebih lama sehingga sebagian besar pati yang terkandung dalam bahan pakan tersebut berkurang (Wizna *et al.*, 2007). Bakteri sebagai inokulum dalam proses fermentasi membutuhkan waktu lebih sedikit dibandingkan kapang karena waktu generatifnya lebih cepat yaitu berkisar 1 sampai 2 jam, sedangkan kapang 3 sampai 6 hari (Fardiaz, 1988).

### **2.3.2. Fermentasi dengan Bakteri**

*Bacillus mycoides* telah dilaporkan mampu memproduksi enzim protease (Grata *et al.*, 2010; Fatichah 2011; Indria 2012), enzim selulase (Andriyani 2010 dan Fatichah 2011) dan enzim amylase (Shinta 1974 dan Liestianty 2001). Fermentasi kulit singkong menggunakan *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium* dan *Aspergillus tamaris* mampu menaikkan kadar protein kasar dari 4,63% menjadi 10,91% dan menurunkan kadar serat kasar dari 13,04% menjadi 6,36% (Andriyani *et al.*, 2012). Fermentasi onggok menggunakan *Bacillus sp.* dapat meningkatkan kadar protein kasar dari 1,97% menjadi 9,98% dengan kadar protein terlarut 0,299 mg/ml (Sofiyani, 2006). Penelitian yang lain pada fermentasi bungkil kelapa sawit menggunakan *Bacillus sp.* mampu menaikkan kadar protein

dari 13,91% menjadi 15,37% dan menurunkan kadar serat kasar dari 17,74% menjadi 5,8% (Khasani dan Pemungkas, 2010).

Fermentasi menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* pada onggok mampu menaikkan kadar protein kasar dari 2,19% menjadi 7,9% dan menurunkan kadar serat kasar 16,98% menjadi 11,55% (Wizna *et al.*, 2009). Fermentasi yang juga menggunakan bakteri juga dilakukan oleh (Aang *et al.*, 2012) dalam meningkatkan kualitas kandungan nutrisi pada buah ketapang (*Ficus lyrata*) dengan *Bacillus licheniformis* mampu meningkatkan protein dari 4,89% menjadi 8,85% dan menurunkan serat kasar dari 14,95% menjadi 11,88%.

### 2.3.3 Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu:

#### 1. Jumlah inokulum

Menurut Rahman (1992), terlalu banyak inokulum dalam substrat akan menimbulkan kompetisi dalam memperoleh makanan, sehingga kemampuan mikroorganisme untuk melakukan fermentasi terhadap substrat akan menjadi berkurang. Wizna *et al.*, (2009) juga menyatakan bahwa kepadatan inokulum yang tinggi membuat inokulum sulit untuk tumbuh sempurna yang pada gilirannya menyebabkan kematian mikroba. Raimbault dan Alazard (1980) melaporkan bahwa dosis optimal untuk *Aspergillus niger* tumbuh pada tepung singkong sebagai substrat adalah  $10^6$ - $10^7$  spora/g substrat, sedangkan  $10^8$  spora/g substrat pertumbuhan inokulum menurun dan setelah pengamatan mikroskopis, menunjukkan bahwa beberapa spora telah gagal untuk tumbuh.

## 2. Lama fermentasi

Lama fermentasi berkaitan dengan fase pertumbuhan mikroba yang akan terus berubah dari waktu ke waktu selama proses fermentasi berlangsung. Menurut Aisjah (1995) waktu inkubasi yang singkat mengakibatkan terbatasnya kesempatan mikroba untuk terus tumbuh dan berkembang biak sehingga jumlah komponen substrat yang dapat diubah menjadi massa sel juga sedikit. Sebaliknya dengan waktu inkubasi yang lebih lama berarti akan semakin banyak kesempatan mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak sampai tercapai stasioner, yaitu laju pertumbuhan sama dengan nol dan jumlah massa sel total konstan.

Lamanya inkubasi fermentasi pada umumnya tergantung pada jenis mikroorganisme dan substrat yang digunakan. Fermentasi onggok dengan *Bacillus amilolyquefaciens* dengan hasil terbaik adalah fermentasi 6 hari dengan dosis inokulum 2% (Wizna *et al.*, 2009) sedangkan fermentasi onggok dengan *Aspergillus oryzae* memberikan hasil terbaik pada lama fermentasi 3 hari dengan inokulum 10 % (Mursyid dan Zuprizal, 2005).

## 3. Perlakuan awal pada substrat

Perlakuan awal pada substrat ini bertujuan untuk mempersiapkan substrat bagi pertumbuhan mikroba. Menurut Hardjo *et al* (1989) perlakuan awal dapat berupa penggilingan substrat atau pengukusan substrat yang bertujuan untuk mempermudah penetrasi mikroba ke dalam substrat agar pertumbuhannya menjadi cepat dan diharapkan akan menjadi pembentukan protein mikrobial yang tinggi.

#### 4. Penambahan air pada substrat

Menurut Sinurat *et al* (1998) kadar air substrat awal bahan mempengaruhi kandungan protein produk fermentasi. Air sangat diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme dan juga sangat mempengaruhi terjadinya reaksi enzimatik, karena air bebas membantu difusi enzim dalam substrat.

#### 5. Substrat

Substrat sebagai sumber energi yang diperlukan oleh mikroba untuk proses fermentasi. Energi yang dibutuhkan berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral dan zat gizi lainnya yang terdapat dalam substrat. Bahan energi yang banyak digunakan oleh mikroorganisme adalah glukosa. Mikroba fermentasi harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya (Sinurat *et al.*, 1998).

#### 6. Suhu

Suhu selama proses fermentasi sangat menentukan jenis mikroorganisme dominan yang akan tumbuh. Machfud *et al.*, (1989) menyatakan suhu sangat mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme, laju sintesa enzim dan laju inaktivasi enzim.

### 2.4 Serat Kasar

#### 2.4.1 Definisi Serat Kasar

Serat kasar adalah bagian dari karbohidrat yang telah dipisahkan dengan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) yang terutama terdiri dari pati, dengan cara analisis kimia sederhana (Tillman *et al.*, 1989). Serat kasar terdiri atas selulosa, hemiselulosa dan lignin. Fraksi serat kasar dapat diukur berdasarkan kelarutannya

dalam larutan-larutan detergen, yaitu menggunakan analisis Van Soest (Tillman *et al.*, 1989). Menurut Sutardi (1980), analisa Van Soest merupakan sistem analisis bahan makanan yang lebih relevan manfaatnya bagi ternak, khususnya sistem evaluasi nilai gizi hijauan.

Serat kasar terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin (Tillman *et al.*, 1989). Bagi hewan ruminansia, selulosa merupakan sumber energi bagi mikroorganisme dalam rumen dan sebagai bahan pengisi rumen, sedangkan bagi hewan-hewan monogastrik selulosa adalah komponen yang tidak dapat dicerna. Meskipun bagi hewan non-ruminansia selulosa tidak memiliki peran spesifik, namun keberadaannya penting dalam meningkatkan gerak peristaltik. Setiap penambahan 1% serat kasar dalam tanaman menyebabkan penurunan daya cerna bahan organiknya sekitar 0,7-1,0 unit pada ruminansia (Tillman *et al.*, 1989).

## **2.4.2 Penyusun Serat Kasar**

### **2.4.2.1 Selulosa**

Selulosa adalah zat penyusun tanaman yang jumlahnya banyak, sebagai material struktur dinding sel semua tanaman (Tillman *et al.*, 1989). Selulosa dicerna dalam tubuh ternak dalam saluran pencernaan oleh selulase hasil jasad renik dan menghasilkan selubiosa, yang kemudian dihidrolisis lebih lanjut untuk menghasilkan glukosa. Hasil pencernaan oleh jasad renik terhadap selulosa adalah asam-asam lemak terbang (VFA) yang terdiri dari campuran asam asetat, asam propionat dan asam butirrat, dan sebagai hasil sampingan adalah gas metan dan CO<sub>2</sub> (Tillman *et al.*, 1989).

#### 2.4.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah polisakarida pada dinding sel tanaman yang larut dalam alkali dan menyatu dengan selulosa. Hemiselulosa terdiri atas unit D-glukosa, Dgalaktosa, D-manosa, D-xylosa, dan L-arabinosa yang terbentuk bersamaan dalam kombinasi dan ikatan glikosilik yang bermacam-macam (McDonald *et al.*, 2002).

Hemiselulosa terdapat bersama-sama dengan selulosa dalam struktur daun dan kayu dari semua bagian tanaman dan juga dalam biji tanaman tertentu. Hemiselulosa yang terhidrolisis akan menghasilkan heksosa, pentosa dan asam uronat. Hemiselulosa dihidrolisa oleh jasad renik dalam saluran pencernaan dengan enzim hemiselulase, hasil akhir fermentasinya adalah VFA (Tillman *et al.*, 1989).

#### 2.4.2.3 Lignin

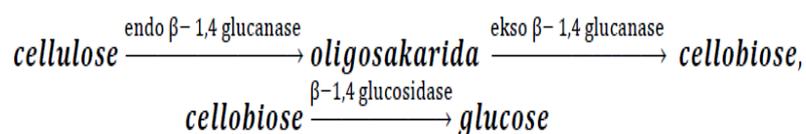
Lignin merupakan komponen yang tidak memiliki hasil akhir dari proses pencernaan dan keberadaannya dapat menghambat proses pencernaan pada ternak. Pada tanaman kandungan lignin akan bertambah seiring bertambahnya umur tanaman dan mencapai level tertinggi pada saat tanaman sudah dewasa (Tillman *et al.*, 1989). Lignin merupakan komponen dinding sel yang sulit dicerna oleh bakteri, sehingga dengan kadar lignin yang lebih rendah bakteri akan lebih mudah mendegradasi zat-zat makanan yang terdapat dalam isi sel (McDonald *et al.*, 2002).

Lignin adalah gabungan beberapa senyawa yang hubungannya erat satu sama lain, mengandung karbon, hidrogen dan oksigen, namun proporsi karbonnya

lebih tinggi dibanding senyawa karbohidrat. Lignin sangat tahan terhadap degradasi kimia, termasuk degradasi enzimatik (Tillman *et al.*, 1989). Pengerasan dinding sel kulit tanaman yang disebabkan oleh lignin menghambat enzim untuk mencerna serat dengan normal. Hal ini merupakan bukti bahwa adanya ikatan kimia yang kuat antara lignin, polisakarida tanaman dan protein dinding sel yang menjadikan komponen-komponen ini tidak dapat dicerna oleh ternak (McDonald *et al.*, 2002).

#### 2.4.3 Mekanisme Penurunan Serat Kasar Pada Fermentasi Onggok

Bakteri genus *Bacillus* memiliki kemampuan dalam mendegradasi selulosa karena mampu memproduksi enzim selulase yang ditunjukkan dengan adanya zona bening dalam tes iodine (Pelczar dan Chan, 1986) termasuk juga pada *Bacillus mycoides* (Fatichah, 2011). Enzim selulase mampu menguraikan komponen serat kasar menjadi komponen yang lebih sederhana seperti selobiosa (disakarida) dan glukosa. Tipe enzim selulase yang dimiliki genus *Bacillus* termasuk enzim endo  $\beta$ -1,4 glukonase yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa menjadi oligosakarida dan ekso  $\beta$ -1,4 glukonase yang mampu mendegradasi oligosakarida menjadi selobiosa serta  $\beta$ -glukosidase yang mendegradasi selobiosa menjadi glukosa (Andriyani *et al.*, 2012). Berikut skema degradasi serat kasar oleh mikroba penghasil enzim (Andriyani *et al.*, 2012):



Scheme 1. Crude fibre degradation by enzymatic of microbes

Menurut Fardiaz (1988) pada proses fermentasi mikroba menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi setelah terlebih dahulu dipecah menjadi glukosa. Karbohidrat dalam proses fermentasi digunakan oleh mikroba sebagai sumber karbon (C), pemecahan karbohidrat dapat menyebabkan penurunan serat kasar.

Mekanisme penurunan serat kasar pada onggok dengan adanya enzim selulase yang dihasilkan oleh *Bacillus mycoides* ini merupakan sebuah fenomena alam yang menunjukkan tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi manusia yang mau berfikir. Dalam Al-Qur'an surat Al-Ra'd (13): 33 disebutkan:

وَهُوَ الَّذِي مَدَّ الْأَرْضَ وَجَعَلَ فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْهَارًا وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ  
 جَعَلَ فِيهَا زَوْجَيْنِ اثْنَيْنِ يُغْشَى اللَّيْلَ النَّهَارَ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ  
 لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٣٣﴾

Artinya: “Dan Dia-lah Tuhan yang membentangkan bumi dan menjadikan gunung-gunung dan sungai-sungai padanya. Dan menjadikan padanya semua buah-buahan berpasang-pasangan<sup>[765]</sup>, Allah menutupkan malam kepada siang. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan” (Al-Ra'd (13): 33)

## 2.5 Protein Kasar

### 2.5.1 Definisi Protein Kasar

Protein kasar merupakan nilai kandungan total N (nitrogen) suatu bahan dikalikan bilangan 6,25. Protein kasar dihitung melalui pendekatan kandungan total N dari suatu bahan, sehingga hasil identifikasi kadar protein kasar

merupakan kadar nitrogen total bahan baik dari sumber protein sejati (true protein) maupun dari sumber nitrogen bukan protein (non protein nitrogen) (Mangunwidjaja *et al.*, 2011). Di dalam protein rata-rata mengandung nitrogen 10% (kisaran 13- 19%). Metode yang sering digunakan dalam analisa protein adalah metode Kjeldhal yang melalui proses destruksi, destiasasi, titrasi dan perhitungan. Dalam analisis ini yang dianalisis adalah unsur nitrogen bahan, sehingga hasilnya harus dikalikan dengan faktor protein untuk memperoleh nilai protein kasarnya. Apabila diketahui secara tepat macam pakan yang dianalisis misal air susu maka faktor proteinnya adalah 6.38, tetapi secara umum biasanya menggunakan 6.25. Terdiri dari asam-asam amino yang saling berikatan (ikatan peptida), amida, amina dan semua bahan organik yang mengandung Nitrogen (Tim Laboratorium IPB, 2009).

### **2.5.2 Mekanisme Peningkatan Protein Pada Fermentasi Onggok**

Kenaikan kadar protein pada substrat fermentasi padat diakibatkan oleh penambahan protein yang diperoleh dari perubahan nitrogen inorganik menjadi protein sel selama pertumbuhan kapang (Purwadaria dan Laelasari, 2004). Tingginya peningkatan protein pada substrat padat karena kapang sendiri mengandung asam nukleat yang dapat memberikan kontribusi N (Kompang *et al.*, 1994).

Populasi mikroba yang tinggi mengakibatkan kandungan protein kasar tinggi karena mikroba sebagian besar terdiri dari protein (Wizna *et al.*, 2009). Crueger dan Crueger (1984), melaporkan bahwa kadar protein berbagai jenis mikroba bervariasi, bakteri mengandung protein 70-78%. Selain itu, (Pasaribu,

1998) menyatakan bahwa kenaikan protein pada proses fermentasi dapat disebabkan oleh perubahan nitrogen anorganik seperti urea, gas amonia atau garam amonia menjadi protein sel.

Peningkatan kandungan protein pada pakan disebabkan terjadi peningkatan unsur nitrogen yang terdapat pada bahan makanan berkarbohidrat dalam bentuk garam amonium atau nitrat (Gaman dan Sherington, 1992) selain itu juga terjadi penambahan unsur nitrogen dari sel mikroorganisme atau senyawa volatil yang lepas (Winedar *et al.*, 2006). Peningkatan protein dalam proses fermentasi dapat diakibatkan oleh terbentuknya protein sel tunggal (Mendoza *et al.*, 1994) dan asam amino (Ghanem *et al.*, 1991). Peningkatan kandungan protein kasar disebabkan oleh penambahan protein sel tunggal (PST) yang berasal dari N substrat menjadi N mikrobial. Penambahan protein kasar terjadi akibat biomassa sel bakteri yang menempel pada substrat. Bakteri mempunyai kandungan protein cukup tinggi yaitu antara 60-80% (Halid, 1991). Peningkatan protein dan asam amino pada onggok terfermentasi merupakan akumulasi dari protein onggok, protein mikrobial dan protein enzim ekstraseluler produksi mikrobial (Gianfreda dan Rao, 2004).

## **2.6 Zat Hara yang Diperlukan untuk Pertumbuhan Bakteri**

Bakteri untuk tumbuh memerlukan zat hara yang ditambahkan ke dalam media. Berbagai zat hara yang diperlukan adalah (Lay dan Hastowo, 1992):

### 1. Nitrogen

Nitrogen diperlukan sebagai bahan dasar untuk protein, asam nukleat dan vitamin. Bakteri pada umumnya tidak dapat langsung menggunakan nitrogen bebas dari udara sehingga keperluannya diberikan dalam bentuk garam. N ini berupa N inorganik misalnya  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dan N organik misalnya pepton.

### 2. Karbon

Sebagai sumber karbon digunakan berbagai gula, pati, glikogen. Untuk dapat menggunakan sumber karbon ini bakteri menguraikannya menjadi molekul yang lebih kecil yang kemudian digunakannya untuk bahan dasar protein, polisakarida, lipida dan asam nukleat.

### 3. Garam Mineral

Beberapa garam inorganik merupakan kebutuhan esensial. Termasuk dalam kelompok ini adalah:

1. Sulfur diberikan dalam  $\text{NH}_4\text{SO}_4$ . S ini diperlukan sebagai koenzim, asam amino dan komponen lainnya.
2. P ditemukan dalam asam nukleat dan fosfolipida dan juga ATP. P diberikan sebagai  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
3. K, Mg, Mn, Fe dan Ca berfungsi sebagai kofaktor dalam berbagai enzim selain juga diperlukan untuk pertumbuhan.
4. Unsur inorganik yang diperlukan dalam jumlah kecil yaitu kobalt, molibdenum, Zn dan Cu.

#### 4. Air

Bakteri terdiri dari air sebanyak 80% sehingga air diperlukan untuk pertumbuhan dan pembiakan bakteri. Air yang digunakan dalam pembuatan media adalah aqua destilata oleh karena dalam air kran terkandung bahan inorganik ataupun organik. Selain itu bahan inorganik atau organik ini tidak selalu sama, sehingga pembuatan media sebaiknya menggunakan aqua destilata.

#### 2.7 Kurva Pertumbuhan Bakteri

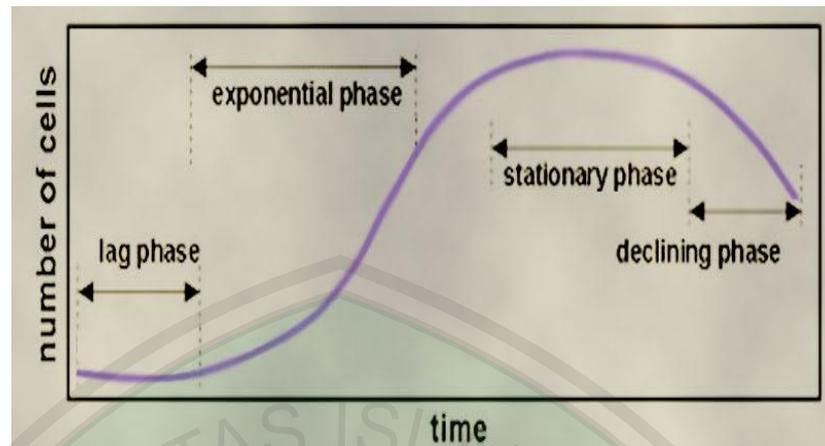
Pertumbuhan dapat diamati dari meningkatnya jumlah sel atau massa sel (berat kering sel). Pada umumnya bakteri dapat memperbanyak diri dengan pembelahan biner yaitu dari satu sel membelah menjadi 2 sel baru, maka pertumbuhan dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel. Waktu yang diperlukan untuk membelah diri dari satu sel menjadi dua sel sempurna disebut waktu generasi. Waktu yang diperlukan oleh sejumlah sel atau massa sel menjadi dua kali jumlah atau massa sel semula disebut *doubling time* atau waktu penggandaan. Waktu penggandaan tidak sama antara berbagai mikroba, dari beberapa menit, beberapa jam sampai beberapa hari tergantung kecepatan pertumbuhannya. Kecepatan pertumbuhan merupakan perubahan jumlah atau massa sel per unit waktu (Sumarsih,2003).

Berdasarkan kurva pertumbuhan bahwa terdapat fase-fase pertumbuhan bakteri sebagai berikut (Sumarsih, 2003):

1. Fase permulaan. Fase ini bakteri masih menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru, sehingga sel belum membelah diri. Sel mikroba mulai membelah

diri pada fase pertumbuhan yang dipercepat, tetapi waktu generasinya masih panjang. Fase permulaan sampai fase pertumbuhan dipercepat sering disebut *lag phase*.

2. Fase pertumbuhan logaritma atau pertumbuhan eksponensial. Fase ini kecepatan sel membelah diri paling cepat dengan waktu generasi pendek dan konstan. Selama fase logaritma, metabolisme paling aktif, sintesis bahan sel sangat cepat dengan jumlah konstan sampai nutrisi habis atau terjadinya penimbunan hasil metabolisme yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan.
3. Fase pertumbuhan yang mulai terhambat, kecepatan pembelahan sel berkurang dan jumlah sel yang mati mulai bertambah.
4. Fase stasioner maksimum jumlah sel yang mati semakin meningkat sampai terjadi jumlah sel hidup hasil pembelahan sama dengan jumlah sel yang mati, sehingga jumlah sel hidup konstan, seolah-olah tidak terjadi pertumbuhan (pertumbuhan nol).
5. Fase kematian yang dipercepat kecepatan kematian sel terus meningkat sedang kecepatan pembelahan sel nol, sampai pada fase kematian logaritma maka kecepatan kematian sel mencapai maksimal, sehingga jumlah sel hidup menurun dengan cepat seperti deret ukur. Walaupun demikian penurunan jumlah sel hidup tidak mencapai nol, dalam jumlah minimum tertentu sel mikrobial akan tetap bertahan sangat lama dalam medium tersebut. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada gambar 2.6.



Gambar 2.6. kurva pertumbuhan bakteri (Sumarsih, 2003)

