

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Singkong**

Berdasarkan sejarahnya tanaman singkong yang ada di Indonesia tidak diketahui secara pasti, tetapi pada tahun 1852 Kebun Raya Bogor mendatangkan bibit singkong dari Suriname, setelah itu bibit-bibit tersebut diperbanyak, dan pada tahun 1854 dikirim ke semua Keresidenan di seluruh pulau Jawa, akibat berkobarnya Perang Dunia 1 dan macetnya impor beras, penanaman singkong diperluas dengan cepat, karena dikhawatirkan akan timbul bahaya kekurangan bahan pangan (Sosrosoedirjo, 1992).

Taksonomi tanaman singkong menurut Grace (1977) adalah sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiosperma
Klas	: Dicotyledoniae
Ordo	: Geraniales
Famili	: Euphorbiaceae
Subfamili	: Euphorbiaceae(Contonoideae)
Tribe	: Manihoteae
Genus	: Manihot
Spesies	: <i>Manihot esculante Crantz</i> atau <i>Manihot utilisima</i>

Tanaman singkong memiliki beberapa kelebihan diantaranya dapat tumbuh di segala tanah, tidak memerlukan tanah yang subur asal cukup gembur, tetapi sebaliknya tidak tumbuh dengan baik pada tanah yang terlalu banyak airnya (Ciptadi, 1980). Allen (1979) menambahkan bahwa singkong merupakan tanaman berumur panjang yang tumbuh di daerah tropika dengan kemampuan adaptasi terhadap lingkungan yang tinggi, tahan terhadap musim kemarau dan mempunyai kelembaban yang tinggi, tetapi sensitif terhadap suhu rendah. Tanaman singkong mempunyai adaptasi yang luas. Tanaman ini dapat tumbuh dengan baik pada dataran rendah sampai tinggi, yaitu dari 0 sampai 2500 m di atas permukaan laut, maupun di daerah kering dengan curah hujan sekitar 500 mm/tahun, asalkan air tidak sampai tergenang diperakarannya (Soenarjo, 1979). Hal inilah yang

menyebabkan singkong dapat ditanam dimana-mana dan dapat ditanam setiap waktu sepanjang tahun dengan resiko kegagalan kecil.

Potensi nutrisi tanaman singkong dalam beberapa bagiannya, dapat dilihat dalam tabel 2.1.

**Tabel 2.1. Komposisi Kimia Singkong**

Kandungan nutrisi	Daun (%)	Batang (%)	Umbi (%)	Kulit umbi (%)
Protein kasar	23,2	10,9	1,7	4,8
Serat kasar	21,9	22,6	3,2	21,2
Ekstrak eter	4,8	9,7	0,8	1,22
Abu	7,8	8,9	2,2	4,2
Ekstrak tanpa N	42,2	47,9	92,1	68
Ca	0,972	0,312	0,091	0,36
P	0,576	0,341	0,121	0,112
Mg	0,451	0,452	0,012	0,227
Energi metabolis	2590	2670	1560	2960

Sumber: DEVENDRA (1977)

## 2.2 Kulit Singkong

Kulit singkong merupakan limbah kupasan hasil pengolahan gapek, tapioka, tape, dan panganan berbahan dasar singkong lainnya. Potensi kulit singkong di Indonesia sangat melimpah, seiring dengan eksistensi negara ini sebagai salah satu penghasil singkong terbesar di dunia dan terus mengalami peningkatan produksi dalam setiap tahunnya. Kulit singkong terkandung dalam setiap umbi singkong dan keberadaannya mencapai 16% dari berat umbi singkong tersebut. Berdasarkan data BPS tahun 2008, diketahui produksi umbi singkong pada tahun 2014 adalah sebanyak 24,5 juta ton sedangkan untuk di wilayah Sumatera Selatan, produksi singkong sebesar 203.920 ton dengan luas panen 10.870 ha (Badan Pusat Statistik, 2014), artinya potensi kulit singkong di Indonesia mencapai angka 3,92 juta ton/tahun, bentuk fisik dari kulit singkong dapat dilihat pada gambar 2.1.



**Gambar 2.1. Kulit Singkong**

Limbah kulit singkong ini bisa dimanfaatkan menjadi pakan ternak apabila dilihat dari jumlah ketersediaannya, namun Selain kandungan protein yang rendah serta serat kasar yang tinggi yang menjadi sumber kendala pemanfaatan kulit singkong, terdapat pula kendala lainnya yaitu keberadaan HCN yang ada di dalamnya. HCN merupakan zat anti nutrisi dan dapat berperan sebagai racun bagi ternak yang mengkonsumsinya. HCN ada dalam semua bagian tanaman singkong. HCN atau glukosida sianogenat berupa *linamarin* dan *lotaustralin*. Glukosida ini disintesa pada daun dan kemudian hasilnya dibawa ke umbi dan bagian lain dari tanaman tersebut. Senyawa *linamarin* dan *lotaustralin* akan menghasilkan racun HCN bila senyawa tersebut bereaksi dan dipecah oleh enzim *linamarase* atau *βglukosidase*. Enzim *linamarase* dan *βglukosidase* akan aktif pada saat tanaman singkong mengeluarkan getah akibat perlakuan pematangan, penyayatan, pemotongan, dan pengupasan.

Kadar HCN dalam singkong tidak konstan, tetapi berubah-ubah dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Sosrosoedirjo, 1992). Jika tanaman singkong mengalami musim kering yang sangat panjang selama pertumbuhannya, kadar HCN-nya meningkat. Disamping itu juga zat N yang terdapat di dalam pupuk dapat mempertinggi kadar HCN singkong.

Kompiang *et al* (1993) menambahkan bahwa kandungan HCN dalam suatu bahan pakan dapat dikurangi atau dihilangkan dengan proses fermentasi. Tabel kandungan dari kulit singkong dapat dilihat di Tabel 2.2:

**Tabel 2.2 Kandungan Kulit Singkong.**

Zat Gizi	Kandungan
HCN (ppm)	459.56
Protein Kasar (%)	4.8
Serat Kasar (%)	21.2
Ekstrak Eter (%)	1.22
Abu (%)	4.2
Ekstral tanpa N (%)	68
Ca (%)	0.36
P (%)	0.112
Mg (%)	0.227
Energi Metabolis (Kkal/kg)	2960

(Sumber: Devendra (1997\* Supriyadi (1995)) \* Vyta W. Hanifah (2010

## 2.3 Kandungan Kulit Singkong

### 2.3.1 Protein

Protein adalah suatu kelompok makronutrisi berupa senyawa asam amino yang berfungsi sebagai zat pembangun dan pendorong metabolisme. Zat ini tidak dapat dihasilkan sendiri kecuali lewat makanan seperti halnya makanan yang mengandung protein.

Protein merupakan salah satu dari biomolekul raksasa, selain diantaranya polinukleotida, polisakarida, lipid, dan yang merupakan penyusun utama dalam perkembangan makhluk hidup. Protein juga merupakan salah satu molekul yang paling banyak diteliti dalam biokimia. Protein ditemukan pertama kali oleh Jons Jakob Berzelius pada tahun 1838.

Karena protein mengandung sekitar 16% nitrogen, maka jumlah protein dalam ransum dapat diperkirakan dengan menentukan jumlah nitrogen dalam ransum dan mengalikannya dengan 6,25 ( $100:16 = 6,25$ ). Protein yang ditentukan dengan cara demikian disebut protein kasar. Bagaimanapun, cara tersebut hanya memberikan suatu perkiraan, karna dianggap bahwa semua protein mengandung 16% nitrogen dan bahwa semua nitrogen ada dalam bentuk protein. Tidak ada anggapan yang tepat seratus persen.

Protein yang beraneka ragam tidak dapat dibedakan satu yang lain dengan suatu cara kimia sederhana, jadi penggolongannya berdasarkan terutama pada bentuk, sifat-sifat fisis, dan susunan khemis. Meskipun bukan penggolongan resmi, perincian berikut memberikan gambaran tentang protein sebagaimana protein tersebut berhubungan dengan ilmu nutrisi ternak dan metabolisme. Penggolongan tersebut adalah sebagai berikut:

a. Protein sederhana

Termasuk golongan protein sederhana ini adalah protein yang pada hidrolisis menghasilkan hanya asam-asam amino atau devirat-deviratnya: albumin, globulin, glutelin, prolamin, dan skleroprotein.

b. Protein konjugasi

Protein konjugasi menghasilkan beberapa zat selain asam amino. Zat tersebut dapat berupa ferrum, fosfor, lemak atau glikogen. Termasuk kedalam golongan ini adalah protein yang protein sederhananya bergabung dengan radikal bukan protein (grup prostetik). Missal jenis ini dengan sumber dan grup prostetik, berturut turut adalah: nukleoprptein (ribosom; RNA), fosfoprotein (kasein susu; fosfat), glikoprotein.

c. Protein yang diperoleh

Protein yang dimaksudkan ini adalah protein asli yang mengalami perubahan kompleks. Merupakan hasil pemecahan protein konjugasi. Termasuk golongan ini adalah: protamine, histone, protein yang diubah sifatnya hasil hidrolitik, proteosa dan pepton, serta peptida.

Protein sederhana dan protein konjugasi merupakan protein penting dalam nutrisi. Istilah protein nabati dan protein hewani adalah istilah bersama dalam arti bahwa protein sederhana dan protein konjugasi kedua duanya termasuk kedalamnya. Glutelin tumbuh-tumbuhan umumnya defisien terhadap satu atau lebih asam amino atau mempunyai beberapa zat atau bentuk molekuler yang mengurangi ketersediaan asam-asam amino.

Kulit singkong memiliki kandungan protein kasar yang sangat rendah yaitu sebesar 4,8% berat. Salah satu cara yang digunakan untuk meningkatkan kandungan protein kulit singkong adalah dengan melakukan proses fermentasi

menggunakan *saccharomyces cerevisiae*. Kogan dan Kocher (2007) mengemukakan bahwa 75% dari dinding sel ragi *saccharomyces* tersusun dari polisakarida, bagian karkasnya terbentuk secara kovalen (1→3)-β-D-glucan, dan chitin, sementara bagian matriks dan lapisan serat pada permukaan kulit selnya tersusun dari manoprotein. Ganzle (2012); Texiera *et al* (2012) menggambarkan bahwa *saccharomyces cerevisiae* juga mengandung enzim α-galaktosidase. Hasil Lie *et al* (2004) mengindikasikan bahwa senyawa β-glucan pada *saccharomyces cerevisiae* dapat merombak ikatan polisakarida menjadi senyawa sederhana sehingga mudah dicerna enzim, sehingga akan terjadi penurunan kadar polisakarida setelah fermentasi. Gula ini kemudian akan digunakan mikroorganisme sebagai sumber karbonnya untuk menghasilkan biomassa. Protein miselia dari biomassa ini juga berperan dalam peningkatan protein setelah fermentasi (Iyayi, 2004), terutama bila fermentasi kulit singkong dilakukan dengan penambahan N-anorganik (Kopiang *et al*, 1995). Selain N-anorganik, penambahan mineral makro lain seperti MgSO<sub>4</sub> (450 ppm) meningkatkan kadar protein.

### 2.3.2 Karbohidrat

Karbohidrat yaitu senyawa organik terdiri dari unsur karbon, hidrogen, dan oksigen. Terdiri atas unsur C, H, O dengan perbandingan 1 atom C, 2 atom H, 1 atom O. Karbohidrat banyak terdapat pada tumbuhan dan binatang yang berperan struktural & metabolik. sedangkan pada tumbuhan untuk sintesis CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O yang akan menghasilkan amilum/selulosa, melalui proses fotosintesis, sedangkan Binatang tidak dapat menghasilkan karbohidrat sehingga tergantung pada tumbuhan. karbohidrat merupakan sumber energi dan cadangan energi, yang melalui proses metabolisme.

Banyak sekali makanan yang kita makan sehari hari adalah sumber karbohidrat seperti : nasi/beras, singkong, umbi-umbian, gandum, sagu, jagung, kentang, dan beberapa buah-buahan lainnya, dll.

Rumus umum karbohidrat yaitu C<sub>n</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>m</sub>, sedangkan yang paling banyak kita kenal yaitu glukosa : C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, sukrosa : C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>, sellulosa : (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>

Karbohidrat merupakan struktur kimiawi kompleks sederhana terdiri dari pati, selulosa, pentose, beberapa gula, dan bentuk- bentuk lain. Fungsi karbohidrat pada aneka ternak dan unggas adalah sebagai sumber energi dan panas serta disimpan sebagai lemak bila jumlahnya berlebihan. Butir-butiran dan hasil ikatannya merupakan sumber utama karbohidrat dalam ransum aneka ternak unggas.

Hasil akhir pencernaan karbohidrat adalah gula-gula sederhana dan hasil akhir metabolisme karbohidrat adalah air, karbon dioksida, dan energi. Beberapa produk biokemis yang dihasilkan dari metabolisme karbohidrat dapat bertindak sebagai katalisator, memacu oksidasi dan merupakan bahan pemula untuk sintesis biologik senyawa jenis lain dalam tubuh, seperti asam-asam lemak dan asam amino tertentu.

Kulit singkong memiliki kandungan karbohidrat yang sangat tinggi yaitu sekitar 78% yang sangat berpotensi baik apabila dimanfaatkan sebagai pakan ternak alternatif.

#### 2.3.2.1 Klasifikasi Karbohidrat

1. Monosakarida : terdiri atas 3-6 atom C dan zat ini tidak dapat lagi dihidrolisis oleh larutan asam dalam air menjadi karbohidrat yang lebih sederhana. Berikut macam-macam monosakarida dengan ciri utamanya memiliki jumlah atom C berbeda-beda : triosa (C3), tetrosa (C4), pentosa (C5), heksosa (C6), heptosa (C7).

Triosa : Gliserosa, Gliseraldehid, Dihidroksi aseton

Tetrosa : threosa, Eritrosa, xylulosa

Pentosa : Lyxosa, Xilosa, Arabinosa, Ribosa, Ribulosa

Hexosa : Galaktosa, Glukosa, Mannosa, fruktosa

Heptosa : Sedoheptulosa

2. Disakarida : senyawanya terbentuk dari 2 molekul monosakarida yg sejenis atau tidak. Disakarida dapat dihidrolisis oleh larutan asam dalam air sehingga terurai menjadi 2 molekul monosakarida.

hidrolisis : terdiri dari 2 monosakarida

sukrosa : glukosa + fruktosa (C 1-2)

maltosa : 2 glukosa (C 1-4)

trehalosa 2 glukosa (C1-1)

Laktosa : glukosa + galaktosa (C1-4)

3. Oligosakarida : senyawa yang terdiri dari gabungan molekul monosakarida yang banyak gabungan dari 3 – 6 monosakarida, misalnya maltotriosa.
4. Polisakarida : senyawa yang terdiri dari gabungan molekul monosakarida yang banyak jumlahnya, senyawa ini bisa dihidrolisis menjadi banyak molekul monosakarida. Polisakarida merupakan jenis karbohidrat yang terdiri dari lebih 6 monosakarida dengan rantai lurus/cabang.

### 2.3.3 Asam Sianida (HCN)

Asam sianida disebut juga hidrogen sianida (HCN), biasanya terdapat dalam bentuk gas atau larutan dan terdapat pula garam – garam alkali seperti potassium sianida yang dipakai untuk membersihkan logam.

HCN Hidrogen sianida murni mempunyai sifat tidak berwarna, mudah menguap pada suhu kamar, dan mempunyai bau yang khas. Hidrogen sianida mempunyai berat molekul yang ringan, sukar terionisasi, mudah berdifusi dan cepat diserap melalui paru-paru, saluran cerna, dan kulit (Dep Kes RI, 1989 : 37).

Asam sianida (HCN) bersifat toksik, yang dimaksud dengan toksis ( racun ) dari suatu zat pada dasarnya merupakan kemampuan zat yang dapat menyebabkan kerusakan atau kerugian pada organisme hidup. Zat beracun alami yang terdapat pada bahan pangan nabati disebut toksitan nabati. Toksitan nabati pada tanaman berfungsi untuk membantu dan mengatur metabolisme serta melindungi tanaman terhadap serangan hama.

Pelepasan HCN tergantung dari adanya enzim glikosidase serta adanya air. Senyawa HCN mudah menguap pada proses perebusan, pengukusan, dan proses memasak lainnya. Glikosida sianogenik artinya suatu ikatan organik yang dapat menghasilkan racun biru / HCN yang bersifat sangat toksik. Zat glikosida dinamakan linamarin. Linamarin oleh enzim  $\beta$  glikosidase akan diuraikan menjadi HCN, benzaldehid, dan glukosa. ( Achmad, 1998 : 17 ).

Dosis HCN yang dapat mengakibatkan kematian adalah 0,5-3,5 mg HCN per kg berat badan. Gejala yang timbul mati rasa pada seluruh tubuh dan pusing. Hal ini diikuti oleh kekacauan mental dan pingsan, kejang-kejang dan akhirnya koma (pingsan lama). Dosis yang lebih rendah dapat mengakibatkan sakit kepala, sesak pada tenggorokan dan dada berdebar-debar serta kelemahan pada otot-otot. HCN dapat menyebabkan tekanan pada sistem pernafasan saraf pusat sehingga akan terjadi kelumpuhan dan kegagalan pernafasan, jika tidak segera ditolong akan menyebabkan kematian.

HCN dalam bentuk gas maupun cairan sangat beracun dan dikenal sebagai racun yang mematikan. HCN akan menyerang langsung serta menghambat sistem antar ruang sel, yaitu menghambat sistem sitokrom oksidase dalam sel-sel, hal ini menyebabkan zat pembakaran (oksigen) tidak dapat beredar ke tiap jaringan sel-sel dalam tubuh. Dengan sistem keracunan itu maka menimbulkan tekanan sistem pernafasan saraf pusat sehingga terjadilah kelumpuhan dari alat pernafasan yang menyebabkan kegagalan pernafasan, menghentikan pernafasan dan jika tidak tertolong akan menyebabkan kematian. Dosis HCN yang dapat menyebabkan kematian adalah 0,5-3,5 mg HCN/kg berat badan (Winarno, F.G. 1986 : 230).

#### a. Pengobatan Keracunan Sianida

##### 1. Nitrit dan Thiosulfat

merupakan pengobatan standar Cara : 0,3 natrium nitrit dalam 10 ml air diberikan secara intravena dan kemudian diikuti dengan pemberian 25 gram natriumthiosulfat dalam 50 % larutan secara perlahan (10 menit). Jika gagal, pengobatan ini dapat diulangi tetapi jangan dalam waktu kurang dari 1 jam.

##### 2. EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetat*)

Hanya diberikan bila yang menyebabkan keracunan tidak diketahui secara pasti. Dosis total dari EDTA adalah 300 mg yang diberikan dalam 2 dosis dengan jarak waktu pemberian 10 menit.

##### 3. Oksigen

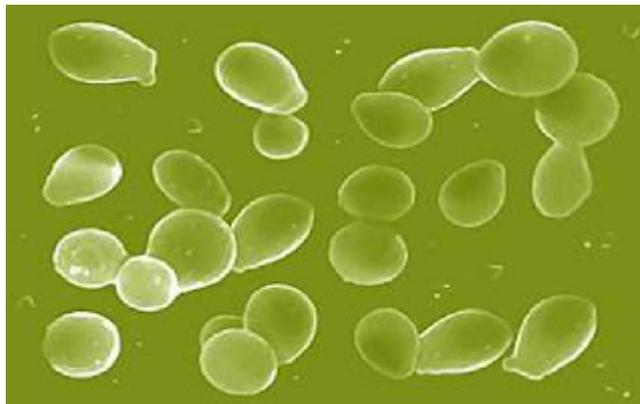
Merupakan pengobatan tambahan pada pengobatan keracunan sianida dengan nitrit dan biosulfat.

#### 4. Bilasan Lambung

Dapat dikerjakan bila keracunan sianida yang berasal dari tumbuh – tumbuhan (Dep Kes RI, 1989 : 41)

#### 2.4 *Saccharomyces Cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan kelompok mikroba yang tergolong dalam khamir (yeast). *Saccharomyces cerevisiae* secara morfologis umumnya memiliki bentuk elipsodial dengan diameter yang tidak besar, hanya sekitar 1-3 $\mu$ m sampai 1-7 $\mu$ m, Bentuk elipsodial *saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada gambar 2.2.



(Sumber : <http://salamahligizi.blogspot.com/2012/04/saccharomyces-cerevisiae.html>)

**Gambar 2.2. Bentuk Elipsodial *Saccharomyces Cerevisiae***

Yeast yang sangat berperan dalam proses fermentasi ini termasuk eukariota uniseluler yang mempunyai keunggulan yaitu mudah dikulturkan, pertumbuhannya cepat, peta genomnya sudah dapat dipetakan dengan jelas serta mudah menerima transfer gen. *Saccharomyces cerevisiae* dapat ditumbuhkan di laboratorium dengan menumbuhkannya pada media tertentu, baik media padat maupun media cair. Dari segi warna, yeast yang juga sangat berperan dalam proses fermentasi alkohol ini mempunyai warna putih kekuningan yang dapat dilihat diatas permukaan tumbuh koloni, sehingga tidak seperti khamir lainnya yang seringkali tidak terlihat dibawah miskroskop karena tidak kontras dengan mediumnya. Penampilan makroskopisnya yaitu bentuk koloni yang bulat, warna yang kuning muda keputihan, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak dan memiliki sel bulat dengan askopora 1-8 buah. Dilihat dari dinding

selnya, *saccharomyces cerevisiae* memiliki dinding sel yang mengandung a-D-Glukan, kitin, dan manoprotein. Dinding selnya ini diketahui mempunyai 3 lapisan, yaitu lapisan dalam *alkali in-soluble* (30-35%), lapisan tengah *alkali-soluble a glukon* (20-22%), serta lapisan luar adalah glikoprotein (30%) yaitu suatu karbohidrat yang tersusun dari manan yang terfosforilasi.

*Saccharomyces cerevisiae* bersifat fakultatif anaerobik. Cara hidupnya kosmopolitan dan mudah dijumpai pada permukaan buah-buahan, nektar bunga dan dalam cairan yang mengandung gula, namun ada pula yang ditemukan pada tanah dan serangga. Selain kosmopolitan, *saccharomyces cerevisiae* ini dapat pula hidup secara saprofit maupun bersimbiosis.

Komposisi kimia *saccharomyces cerevisiae* terdiri atas : protein kasar 50-52%, karbohidrat ; 30-37%; lemak 4-5%; dan mineral 7-8% (Rees dan Nagodawithana, 1991) . Suriawiria (1990) melaporkan komposisi kimia sel khamir yang hampir sama dan kandungan asam aminonya yang dapat dilihat pada tabel 2.3 dan 2.4.

**Tabel 2.3 . Komposisi Sel Khamir *Saccharomyces Cerevisiae***

Senyawa	Jumlah (%)
Abu	5,0-9,5
Asam Nukleat	6,0-12,0
Lemak	2,0-6,0
Nitrogen	7,5-8,5

*Sumber: Suriawiria (1990)*

**Tabel 2.4 . Kandungan Ssam Amino dalam Khamir *Saccharomyces Cerevisiae***

Asam amino	Jumlah (%)
Fenilalanin	4,1-4,8
Isoleusin	4,6-5,3
Lisin	7,7-7,8
Leusin	7,0-7,8
Metionin	1,6-1,7
Sistin	0,9
Treonin	4,8-5,4

*Sumber: Suriawiria (1990)*

*Saccharomyces cerevisiae* mempunyai beberapa enzim yang mempunyai fungsi penting yaitu intervas, peptidase dan zimase . Enzim peptidase mempunyai 96 gen dan yang homolog inaktif sebanyak 32 (Peptisase, 2004).

#### 2.4.1 Cara Reproduksi

*Saccharomyces cerevisiae* dapat berkembang biak secara seksual dan aseksual. Perkembangbiakan aseksual diawali dengan menonjolnya dinding sel ke luar membentuk tunas kecil. Tonjolan membesar dan sitoplasma mengalir ke dalamnya, sehingga sel menyempit pada bagian dasarnya. Selanjutnya nukleus dalam sel induk membelah secara mitosis dan satu anak inti bergerak ke dalam tunas tadi. Sel anak kemudian memisahkan diri dari induknya atau membentuk tunas lagi hingga membentuk koloni. Dalam keadaan optimum satu sel dapat membentuk koloni dengan 20 kuncup.

Perkembangbiakan seksual terjadi jika keadaan lingkungan tidak menguntungkan. Pada prosesnya, sel *Saccharomyces cerevisiae* berfungsi sebagai askus. Nukleusnya yang diploid ( $2n$ ) membelah secara meiosis, membentuk empat sel haploid ( $n$ ). Inti-inti haploid tersebut akan dilindungi oleh dinding sel sehingga membentuk askospora haploid ( $n$ ). Dengan perlindungan ini askospora lebih tahan terhadap lingkungan buruk. Selanjutnya, empat askospora akan tumbuh dan menekan dinding askus hingga pecah, akhirnya spora menyebar. Jika spora jatuh pada tempat yang sesuai, sel-sel baru akan tumbuh membentuk tunas, sebagaimana terjadi pada fase aseksual. Dengan demikian *saccharomyces cerevisiae* mengalami fase diploid ( $2n$ ) dan fase haploid ( $n$ ) dalam daur hidupnya.

#### 2.4.2 Pemanfaatan *Saccharomyces Cerevisiae* sebagai Probiotik Makan Ternak

Probiotik adalah imbuhan pakan berbentuk mikroba hidup yang menguntungkan dan mempengaruhi induk semang melalui perbaikan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Fuller, 1992) dan (Karpinska *et al*, 2001). *Saccharomyces cerevisiae* termasuk salah satu mikroba yang umum dipakai untuk ternak sebagai probiotik (Shin *et al*, 1989). Pengujian terhadap *saccharomyces cerevisiae* yang dipakai sebagai *feed additive* dalam

bentuk probiotik terlebih dahulu diuji secara *in vitro* dengan melakukan uji kemampuan daya hidup terhadap asam-asam organik, garam empedu, dan pH rendah (Agarwal *et al*, 2000). Pemanfaatan *saccharomyces cerevisiae* untuk berbagai jenis ternak dapat dilihat pada tabel 2.5:

**Tabel 2.5. Pemanfaatan *Saccharomyce Cerevisiae* untuk Berbagai Jenis Ternak**

Jenis ternak	Pemanfaatan	Sumber (pustaka)
<b>Ruminansia</b>		
Sapi	Meningkatkan produksi susu dan bobot badan	Wina (2000)
Domba	Meningkatkan bobot badan	Ratnaningsih (2002)
<b>Unggas</b>		
Ayam	Menurunkan kuman <i>E. coli</i> Meningkatkan bobot badan	Kumprecht <i>et al.</i> (1994) Kompiang (2002); Kumprechtova <i>et al.</i> , (2001)

Sumber: Ratnaningsih (2002)

Perlu dipertimbangkan pengaruh buruk jika pemberian secara berlebihan akan mengganggu keseimbangan mikroflora di dalam tubuh sehingga mengakibatkan terjadinya pengaruh patogen pada ternak yaitu penyakit "Saccharomikosis".

## 2.5 Fermentasi

Fermentasi ialah proses perubahan suatu senyawa menjadi senyawa lain menggunakan mikroorganisme dalam kondisi aerobik atau anaerobik. Berdasarkan kadar substrat dan air, fermentasi dibagi menjadi dua tipe, yaitu fermentasi kultur terendam (kadar air sekitar 90%) dan fermentasi substrat padat (kadar air 40-75%). Proses fermentasi hasil samping tanaman perkebunan (bungkil inti sawit dan kelapa), tanaman pangan (dedak padi dan polard gandum),

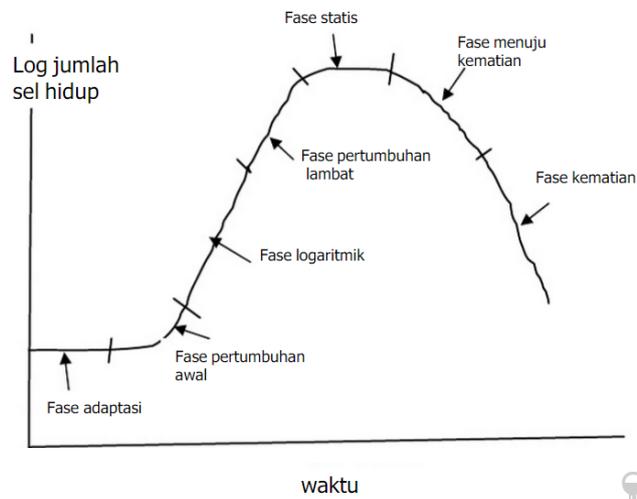
serta industri pertanian (kulit singkong, onggok dari pabrik tapioka) untuk bahan pakan umumnya dilakukan dengan fermentasi substrat padat. Fermentasi substrat padat dinilai lebih baik, karena volume proses fermentasi lebih rendah dibandingkan kultur terendam yang mengandung kadar air lebih tinggi. Pemanenan pada fermentasi substrat padat lebih sederhana, karena tak perlu memisahkan sel mikroorganisme dengan sisa substrat, sedangkan pada kultur terendam dibutuhkan pemisahan sel dengan sentrifugasi atau filtrasi. Pemisahan sel tentunya akan meningkatkan biaya produksi. Sisa substrat pada proses fermentasi substrat padat tetap mempunyai nilai gizi sebagai bahan pakan, karena mengandung molekul polimer substrat yang lebih sederhana atau lebih mudah tercerna dan mengandung enzim hidrolisis yang juga berguna pada pencernaan unggas (Purwadaria *et al*, 1997; 1998).

Teknik fermentasi dapat menghilangkan HCN dari suatu bahan pakan. Selama ini proses fermentasi sudah banyak digunakan sebagai upaya untuk meningkatkan kandungan nutrisi suatu bahan pakan terutama kandungan proteinnya, juga dapat mengurangi dan menghilangkan HCN (Kompiani *et al*, 1993). Maka teknik fermentasi adalah salah satu proses yang sangat tepat dalam mengolah kulit singkong sebelum diberikan kepada ternak.

Pada prinsipnya teknologi fermentasi ini adalah proses pembiakkan mikroorganisme terpilih pada media kulit singkong dengan kondisi tertentu sehingga mikroorganisme tersebut dapat berkembang dan merubah komposisi kimia media tersebut sehingga menjadi bernilai gizi lebih baik. Pada beberapa penelitian yang sudah dilakukan di Balai Penelitian Ternak, fermentasi dilakukan dengan menggunakan *Aspergillus niger* karena lebih mudah tumbuh pada media dan nilai gizi hasil fermentasinya pun dianggap cukup baik (Sinurat, 2006).

#### 2.5.1 Pertumbuhan Mikroba

Pertumbuhan mikroba dalam suatu kultur mempunyai kurva seperti yang terlihat pada gambar 2.3.



(Sumber : [https://www.academia.edu/4856004/TEKNOLOGI\\_FERMENTASI](https://www.academia.edu/4856004/TEKNOLOGI_FERMENTASI))

**Gambar 2.3. Kurva Pertumbuhan Mikroba**

## 2.6 Faktor- Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Faktor yang menentukan keberhasilan proses fermentasi adalah suhu pertumbuhan, ketebalan substrat, bentuk dan ukuran partikel, kelembaban, aerasi, dan jumlah mikroba dalam inokulum (Saono, 1976).

### 1. Air

Mikroba tidak akan tumbuh tanpa adanya air. Air bertindak sebagai pelarut dan sebagian besar aktivitas metabolik dalam sel dilakukan dalam lingkungan air. Air merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba dan kelangsungan proses fermentasi.

### 2. Konsentrasi Substrat dan Nutrien

Pertumbuhan kapang akan optimal jika nutrien yang diperlukan dan kondisi media sesuai (Fardiaz, 1989). Semua mikroba memerlukan nutrien dasar untuk kehidupan dan pertumbuhannya yaitu sebagai sumber karbon, nitrogen, energi, serta faktor pertumbuhannya seperti vitamin dan mineral.

### 3. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) merupakan petunjuk aktivitas ion H dalam suatu larutan. Pada proses fermentasi, pH sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba, dan berhubungan erat dengan suhu. Jika suhu naik, pH

optimum untuk pertumbuhan juga naik (Fardiaz, 1989). *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada selang pH 2,8 - 8,8. Pada selang nilai tersebut terdapat nilai pH yang mendukung pertumbuhan optimum (Shurtleff dan Aoyagi, 1979).

#### 4. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting dalam mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Masing-masing mikroba mempunyai suhu optimum, minimum, dan maksimum untuk pertumbuhannya. Suhu akan berpengaruh terhadap ukuran sel, produk metabolik seperti pigmen dan toksin, kebutuhan zat gizi, reaksi enzimatik, dan komposisi kimia sel. *Aspergillus niger* berspora pada suhu 30 °C dan tumbuh baik pada suhu 35-37 °C (Shurtleff dan Aoyagi, 1979).

#### 5. Dosis Inokulum

Dalam lingkungan tertentu, dosis inokulum yang digunakan menentukan panjang pendeknya waktu inkubasi untuk mendapatkan hasil fermentasi yang baik. Inokulum mengandung spora yang pada pertumbuhannya menghasilkan enzim yang dapat menguraikan substrat menjadi komponen yang lebih sederhana, lebih mudah larut serta menghasilkan flavor dan aroma yang khas. Jumlah spora yang terlalu sedikit akan memperlambat laju pertumbuhan sehingga memberikan kesempatan kepada mikroba lain yang mampu bersaing dengan mikroba yang ada. Jumlah mikroba yang terlalu banyak akan menyebabkan sporulasi yang terlalu cepat sehingga sebagian energi tidak digunakan untuk memperbanyak sel. Jumlah koloni mikroba yang optimal untuk fermentasi adalah  $1 \times 10^7$  (Tanuwidjaja, 1975).

#### 6. Lama Inkubasi

Lama inkubasi berkaitan erat dengan waktu yang dapat digunakan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak (Setyatwan, 2007). Semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak kandungan zat yang digunakan kapang untuk hidupnya sehingga kandungan zat makanan yang tersisa semakin sedikit.

#### 7. Aerasi

Aerasi bertujuan untuk mensuplai oksigen dan membuang CO<sub>2</sub> pada fermentasi aerobik. Oksigen diperlukan untuk mendapatkan energi melalui oksidasi CO<sub>2</sub> dan air. Aerasi yang baik adalah mengalirnya udara ke seluruh

bagian media. *Aspergillus niger* merupakan jenis kapang aerob fakultatif, karena itu aerasi pada substrat perlu diperhatikan.

#### 8. Bentuk dan ukuran partikel

Keseragaman partikel substrat akan mempermudah penyebaran spora yang diinokulasikan dalam substrat tersebut. Ukuran partikel yang terlalu kasar atau terlalu halus akan mempersulit aerasi.

### 2.7 Protein Sel Tunggal

Protein sel tunggal adalah mikroba kering seperti ganggang, bakteri, ragi, kapang dan jamur tinggi yang ditumbuhkan dalam kultur skala besar. Protein ini dipakai untuk konsumsi manusia atau hewan. Produksi itu juga berisi bahan nutrisi lain, seperti karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral.

Teknologi modern untuk membuat protein sel tunggal berasal dari tahun 1879 di Inggris, dengan diperkenalkannya adonan yang dianginkan untuk membuat ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*). Sekitar tahun 1900, di Amerika Serikat diperkenalkan alat pemusing untuk memisahkan sel ragi roti dari adonan pembiakan.

Kemajuan ilmu pengetahuan dalam bidang fisiologi, nutrisi, dan genetika mikroba telah banyak memperbaiki metode untuk menghasilkan protein sel tunggal dari berbagai macam mikroba dan bahan mentah. Umpamanya, bakteri dengan kandungan protein yang tinggi (72% lebih) dapat dihasilkan terus-menerus dengan menggunakan methanol sebagai bahan mentah, dan mikrobaanya berupa ragi yang dibiakan dalam media yang kadar selnya tinggi sekali, sehingga ini dapat mengurangi biaya energi untuk pengeringan.

Mikroba yang berfotosintesa dan yang tidak berfotosintesa dapat sama-sama dipakai untuk memproduksi protein sel tunggal. Sekurangnya mikroba ini memerlukan sumber karbon dan energi, sumber nitrogen, dan suplai unsur nutrisi lain, seperti fosfor, sulfur, besi, kalsium, magnesium, mangan, natrium, kalium dan unsur jarang, untuk tumbuh dalam lingkungan air. Beberapa mikroba tidak dapat mensintesa asam amino, vitamin, dan kandungan seluler lain dari sumber

karbon dan nitrogen sederhana. Dalam hal demikian, bahan-bahan tersebut harus juga disuplai agar mereka bisa tumbuh.

Pengubahan senyawa organik menjadi protein sel tunggal oleh mikroba yang tidak berfotosintesa dapat dibuat skemanya dengan persamaan reaksi berikut :

Karbon organik + nitrogen + mineral bahan nutrisi + oksigen → Protein sel tunggal + karbon dioksida + panas

## 2.8 Pakan Ternak

Pakan adalah semua yang bisa dimakan oleh ternak dan tidak mengganggu kesehatannya. Pada umumnya pengertian pakan (feed) digunakan untuk hewan yang meliputi kuantitatif, kualitatif, kontinuitas serta keseimbangan zat pakan yang terkandung di dalamnya (Anonim, 2009).

Bahan pakan adalah (bahan makanan ternak) adalah segala sesuatu yang dapat diberikan kepada ternak baik yang berupa bahan organik maupun anorganik yang sebagian atau semuanya dapat dicerna tanpa mengganggu kesehatan ternak (Anonim, 2009). Pakan memiliki peranan penting bagi ternak, baik untuk pertumbuhan ternak muda maupun untuk mempertahankan hidup dan menghasilkan produk (susu, anak, daging) serta tenaga bagi ternak dewasa. Fungsi lain dari pakan adalah untuk memelihara daya tahan tubuh dan kesehatan. Agar ternak tumbuh sesuai dengan yang diharapkan, jenis pakan yang diberikan pada ternak harus bermutu baik dan dalam jumlah cukup.

Berikut ini merupakan jenis-jenis makanan ternak yang ada diantaranya:

### 1. Hijauan Segar

Hijauan segar adalah semua bahan pakan yang diberikan kepada ternak dalam bentuk segar, baik yang dipotong terlebih dahulu (oleh manusia) maupun yang tidak (disengut langsung oleh ternak). Hijauan segar umumnya terdiri atas daun-daunan yang berasal dari rumput-rumputan, tanaman biji- bijian/ jenis kacang-kacangan. Rumput-rumputan merupakan hijauan segar yang sangat disukai ternak, mudah diperoleh karena memiliki kemampuan tumbuh tinggi, terutama di daerah tropis meskipun sering dipotong/ disengut langsung oleh ternak sehingga menguntungkan para peternak/ pengelola ternak. Hijauan banyak

mengandung karbohidrat dalam bentuk gula sederhana yang sangat berperan dalam menghasilkan energi.

## 2. Konsentrat (pakan penguat)

Contoh: dedak padi, jagung giling, bungkil kelapa, garam dan mineral.

Dari beberapa jenis makanan ternak diatas dapat diperoleh nutrisi dan manfaatnya bagi ternak itu sendiri.

### 2.7.1 Sumber Energi

Termasuk dalam golongan ini adalah semua bahan pakan ternak yang kandungan protein kasarnya yang kurang dari dengan konsentrasi serat kasar di yang rendah. Berdasarkan jenisnya, bahan pakan sumber energi dibedakan menjadi empat kelompok, yaitu:

1. Kelompok biji-bijian (jagung, tepung kedelai, dedak kasar, separator, tepung jagung)
2. Kelompok hasil sampingan sereal (ampas air tebu, minyak ikan lemuru)
3. Kelompok umbi (ketela rambat, ketela pohon dan hasil sampingannya)
4. Kelompok hijauan yang terdiri dari beberapa macam rumput (rumput gajah, rumput benggala dan rumput setaria).

### 2.7.2 Sumber Protein

Golongan bahan pakan ini meliputi semua bahan pakan ternak yang mempunyai kandungan protein minimal 20% (berasal dari hewan/ tanaman).

Golongan ini dibedakan menjadi 3 kelompok:

1. Kelompok hijauan sebagai sisa hasil pertanian yang terdiri atas jenis daun-daunan sebagai hasil sampingan (daun nangka, daun pisang, daun ketela rambat, ganggang dan bungkil kedelai)
2. Kelompok hijauan yang sengaja ditanam, misalnya lamtoro, turi kaliandra, gamal dan sentero
3. Kelompok bahan yang dihasilkan dari hewan (tepung ikan, tepung tulang dan sebagainya).

### 2.7.3 Sumber Vitamin dan Mineral

Hampir semua bahan pakan ternak, baik yang berasal dari tanaman maupun hewan, mengandung beberapa vitamin dan mineral dengan konsentrasi sangat

bervariasi tergantung pada tingkat pemanenan, umur, pengolahan, penyimpanan, jenis dan bagian-bagiannya (biji, daun dan batang). Disamping itu beberapa perlakuan seperti pemanasan, oksidasi dan penyimpanan terhadap bahan pakan akan mempengaruhi konsentrasi kandungan vitamin dan mineralnya. misalnya tepung batu (*lime stone*), kapur, urea dan beberapa mineral lainnya.

## 2.9 Klasifikasi Bahan Pakan Menurut Asalnya

Pakan merupakan sumber energi dan materi bagi pertumbuhan dan kehidupan makhluk hidup. Zat yang terpenting dalam pakan adalah protein. Pakan mempunyai peranan sangat penting sebagai sumber energi untuk pemeliharaan tubuh, pertumbuhan dan perkembangbiakan. Pakan berkualitas adalah pakan yang kandungan protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitaminnya seimbang.

Pakan yang berkualitas baik atau mengandung gizi yang cukup akan berpengaruh baik terhadap yaitu tumbuh sehat, cepat gemuk, berkembang biak dengan baik, jumlah ternak yang mati atau sakit akan berkurang, serta jumlah anak yang lahir dan hidup sampai disapih meningkat. Sehingga pada intinya pakan dapat menentukan kualitas ternak.

Pakan dapat dikatakan berkualitas baik jika mampu memberikan seluruh kebutuhan nutrisi secara tepat, baik jenis, jumlah, serta imbangannya nutrisi tersebut bagi ternak. Dengan pakan yang berkualitas baik, proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh ternak akan berlangsung secara sempurna, sehingga ternak akan dapat memberikan hasil akhir berupa daging sesuai dengan harapan.

Sebelum menyusun ransum, sebaiknya kita harus mengetahui bahan baku pakan ternak berdasarkan bentuk fisik, asal dan kelasnya dan mengelompokkannya beberapa sampel bahan baku pakan ternak berdasarkan bentuk, fisik, asal, dan kelasnya dari suatu bahan pakan.

Berikut ini klasifikasi bahan pakan menurut asalnya yang terbagi atas 3 yaitu (Santoso, 1996) :

### 1. Bahan pakan nabati

Adalah bahan pakan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Bahan pakan nabati ini umumnya mempunyai serat kasar tinggi, misalnya dedak dan daun-daunan.

Disamping itu bahan pakan nabati banyak pula yang mempunyai kandungan protein tinggi seperti bungkil kelapa, bungkil kedele dan bahan pakan asal kacang-kacangan, dan tentu saja kaya akan energi seperti jagung.

## 2. Bahan pakan asal hewan.

Umumnya merupakan limbah industri, sehingga sifatnya memanfaatkan limbah. Bahan pakan hewani yang biasa digunakan adalah tepung ikan, tepung tulang, tepung udang dan tepung kerang. Beberapa bahan pakan hewan yang lain adalah cacing, serangga, ulat dan lain-lain. Bahan-bahan pakan ini ditemukan ayam yang dipelihara secara intensif, cacing, serangga dan lain-lain tidak diberikan. Tetapi bekicot yang banyak didapat di musim hujan, sudah mulai ditenakkan, merupakan bahan pakan alternatif yang dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan protein pada ransum ayam

## 3. Bahan Pakan Asal Ikan

Adalah pakan ternak yang berasal ikan, contohnya yakni tepung ikan dan tepung kepala udang (tepung rese). Tepung ikan berasal dari ikan sisa atau buangan yang tidak dikonsumsi oleh manusia, atau sisa pengolahan industri makanan ikan, sehingga kandungan nutrisinya beragam, tapi pada umumnya berkisar antara 60 – 70%. Mineral kalsium dan fosfornya pun sangat tinggi, dan karena berbagai keunggulan inilah maka harga tepung ikan menjadi mahal

### **2.10 Syarat Pakan Ternak**

Bahan baku yang akan dimanfaatkan sebagai pakan untuk ternak memiliki beberapa syarat yaitu:

#### 1. Memiliki kandungan nutrisi yang baik

Kandungan nutrisi yang perlu diketahui antara lain energi metabolisme (EM), protein kasar, lemak, serat kasar, air, kalsium, fosfor maupun asam amino. Bahan baku utama penyusun ransum biasanya dikatakan memiliki kandungan nutrisi yang baik jika memiliki kandungan EM dan protein kasar yang tinggi serta serat kasarnya rendah. Kandungan nutrisi yang baik tersebut terdapat dalam bahan baku yang kualitas fisik, kimia dan biologinya juga baik.

#### 2. Ketersediaannya kontinyu

Bahan baku yang akan digunakan harus terjamin ketersediaannya (mudah didapat), karena pergantian bahan baku yang terlalu sering dapat menyebabkan stres dan gangguan produksi pada ayam. Di Indonesia, kontinuitas atau ketersediaan bahan baku ransum secara rutin dengan kualitas yang stabil menjadi permasalahan yang cukup sulit diatasi. Terlebih lagi, jika penggunaan bahan baku tersebut masih harus bersaing dengan pemenuhan kebutuhan manusia, contohnya pada kasus ketersediaan jagung dan kedelai. Untuk menekan biaya ransum, hendaknya dalam *self mixing* kita dapat meminimalkan penggunaan bahan baku konvensional, contohnya seperti jagung dan kedelai tersebut. Ada baiknya jika kita bisa memanfaatkan bahan baku non konvensional yang ada di daerah sekitar peternakan seperti limbah perikanan, sorgum, bungkil kelapa sawit, bungkil biji matahari maupun tepung galek sebagai campuran ransum dalam *self mixing*

3. Harganya kompetitif

Biaya ransum mencakup 70-80% dari seluruh biaya pengelolaan peternakan. Dengan harga bahan baku yang kompetitif diharapkan biaya ransum dapat ditekan

4. Tidak mengandung racun/antinutrisi

Syarat mutlak bahan baku ransum yaitu tidak mengandung racun (toksik) yang dapat mengganggu kesehatan dan produktivitas ayam. Selain itu, perhatikan juga zat anti nutrisi dalam ransum yang dapat menurunkan pencernaan ransum. Adanya zat antinutrisi seringkali menjadi faktor penghambat dalam pemakaian bahan baku ransum alternative.

Suatu bahan pakan dikatakan baik apabila dapat memenuhi kebutuhan nutrisi dari ternak. Kebutuhan nutrisi dari ternak berbeda beda tergantung dari jenis ternaknya dan hasil yang ingin didapatkan dari ternak tersebut. Kandungan nutrisi yang diperlukan oleh ayam boiler dapat dilihat pada tabel 2.6:

**Tabel 2.6. Kebutuhan Nutrisi Ayam Boiler**

Zat Nutrisi	Starter	Finisher
Protein Kasar (%)	23	20
Lemak Kasar (%)	4	3-4
Serat Kasar (%)	3-5	3-6
Calcium (%)	1	0,9
Phospor (%)	0,45	0,4
Energi Metabolis (kkal/kg)	3200,0	3200,0

### 2.11 Penetapan Protein Metode Kjeldhal

Metode Kjeldahl dikembangkan pada tahun 1883 oleh pembuat bir bernama Johann Kjeldahl. Makanan didigesti dengan asam kuat sehingga melepaskan nitrogen yang dapat ditentukan kadarnya dengan teknik titrasi yang sesuai. Jumlah protein yang ada kemudian dihitung darikadar nitrogen dalam sampel.

Prinsip dasar yang sama masih digunakan hingga sekarang, walaupun dengan modifikasi untuk mempercepat proses dan mencapai pengukuran yang lebih akurat. Metode ini masih merupakan metode standart untuk penentuan kadar protein. Karena metode Kjeldahl tidak menghitung kadar protein secara langsung, diperlukan faktor konversi (F) untuk menghitung kadar protein total dan kadar nitrogen.

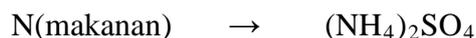
Faktor konversi 6,25 (setara dengan 0,16 g nitrogen per gram protein) digunakan untuk banyak jenis makanan, namun angka ini hanya nilai rata-rata, tiap protein mempunyai faktor konversi yang berbeda tergantung komposisi asam aminonya. Metode Kjeldahl terdiri dari tiga langkah : digesti, netralisasi dan titrasi

#### 2.9.1 Prinsip

##### a. Digestion

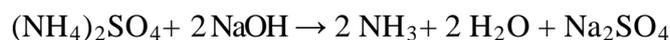
Sampel makanan yang akan dianalisa ditimbang dalam labu digesti dengan pemanasan dan penambahan asam sulfat (sebagai oksidator), ntrium sulfat anhidrat (untuk mempercepat tercapainya titik didih) katalis seperti tembaga (Cu), selenium, titanium, atau merkuri (untuk mempercepat reaksi).

Digesti mengubah nitrogen dalam makanan (selain yang dalam bentuk nitrat atau nitrit) menjadi amonia, sedangkan unsur organik lain menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O. Gas amonia tidak dilepaskan ke dalam larutan asam karena berada dalam bentuk ion amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) yang terikat dengan ion sulfat (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) sehingga yang berada dalam larutan adalah :

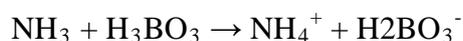


#### b. Netralisasi

Setelah proses digesti sempurna, labu digesti dihubungkan dengan labu penerima (*receiving flask*) melalui sebuah tabung. Larutan dalam labu digesti dibasakan dengan penambahan NaOH, yang mengubah amonium sulfat menjadi gas amonia :



Gas amonia yang terbentuk dilepaskan dari larutan dan berpindah keluar dari labu digesti masuk ke labu penerima, yang berisi asam borat berlebih. Rendahnya pH larutan di labu penerima mengubah gas amonia menjadi ion amonium serta mengubah asam borat menjadi ion borat:



#### c. Titrasi

Kandungan nitrogen diestimasi dengan titrasi ion amonium borat yang terbentuk dengan asam sulfat atau asam hidroklorida standar, menggunakan indikator yang sesuai untuk menentukan titik akhir titrasi.



Kadar ion hidrogen (dalam mol) yang dibutuhkan untuk mencapai titik akhir titrasi setara dengan kadar nitrogen dalam sampel makanan.

Gambar persamaan 2.4 dapat digunakan untuk menentukan kadar nitrogen dalam mg sampel menggunakan larutan HCl × M untuk titrasi.

$$\% N = \frac{x \text{ moles}}{1000 \text{ cm}^3} \times \frac{(V_3 - V_2) \text{ cm}^3}{m \text{ g}} \times \frac{14 \text{ g}}{\text{moles}} \times 100$$

Gambar 2.4. Persamaan Menentukan Kadar Nitrogen

Dimana  $v_s$  dan  $v_b$  adalah volume titrasi sampel dan blanko, 14 gram adalah berat molekul untuk nitrogen N. Penetapan blanko biasanya dilakukan pada saat yang sama dengan sampel untuk memperhitungkan nitrogen residual yang dapat mempengaruhi hasil analisis. Setelah kadar nitrogen ditentukan, dikonversi menjadi kadar protein dengan faktor konversi yang sesuai :

$$\% \text{ Protein} = F \times \%N.$$

### 2.9.2 Keuntungan dan Kerugian Penetapan Kadar Protein Metode Kjeldhal

Keuntungan :

1. Metode Kjeldahl digunakan secara luas di seluruh dunia dan masih merupakan metode standar dibanding metode lain.
2. Sifatnya yang universal, presisi tinggi dan reproduibilitas baik membuat metode ini banyak digunakan untuk penetapan kadar protein.

Kerugian :

1. Metode ini tidak memberikan pengukuran protein sesungguhnya, karena tidak semua nitrogen dalam makanan bersumber dari protein.
2. Protein yang berbeda memerlukan faktor koreksi yang berbeda karena susunan residu asam amino yang berbeda.
3. Penggunaan asam sulfat pada suhu tinggi berbahaya, demikian juga beberapa katalis.
4. Teknik ini membutuhkan waktu lama.