

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Wheat Pollard*

Wheat pollard merupakan bahan pakan yang berasal dari limbah penggilingan gandum yang baik untuk pertumbuhan unggas karena memiliki kandungan nutrisi cukup baik seperti protein dan energi tinggi, lemak dan kadar air yang rendah, serta mengandung vitamin B terutama vitamin B1 dan B kompleks (Ilmiawan *et al.*, 2015). *Wheat pollard* memiliki karakteristik fisik, kimia dan mempunyai sifat NSP (Amerah, 2015). Serat dan oligosakarida yang tinggi dapat mengakibatkan flatulensi (timbulnya gas) dalam saluran pencernaan dan mengganggu kesehatan manusia sehingga perlu dilakukan pengolahan (Utama *et al.*, 2018).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan Utama *et al.* (2017) menunjukkan proses pengolahan *wheat pollard* dengan cara pemanasan mampu mengubah struktur serat maupun glanula pati, sehingga dapat berperan sebagai bahan pakan fungsional. Pakan fungsional adalah pakan yang mempunyai sifat fungsional apabila pakan tersebut mengandung komponen baik nutrisi maupun non nutrisi serta mempunyai kemampuan dalam mencegah terjadinya gangguan kesehatan, karena mengandung komponen bioaktif antara lain prebiotik, probiotik, serat pangan (*dietary fiber*) dan pati resisten (*resistant starch*) (Sutrisna, 2014).

Kandungan nutrisi *wheat pollard* mengandung 8,04% SK, 4,7% LK, 88,17% BK, dan 4,78% abu (Fajri *et al.*, 2018). *Wheat pollard* banyak

mengandung SK dalam bentuk polisakarida struktural tinggi seperti selulosa, hemiselulosa, selebiosia, lignin dan silika (Utama *et al.*, 2013). Kekurangan dari *wheat pollard* salah satunya mengandung NSP yang dapat mengganggu saluran pencernaan unggas. *Non starch polisacharida* (NSP) pada *wheat pollard* bisa dihilangkan dengan cara dipanaskan menggunakan *autoclave*, sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam saluran pencernaan unggas (Sulistiyanto *et al.*, 2017). Pemanfaatan NSP oleh mikroorganisme akan menghasilkan *short chain fatty acids* (SCFA) yaitu asam asetat, propionat dan butirrat yang memberikan dampak positif bagi saluran pencernaan unggas (Utama *et al.*, 2019).

Pengolahan *wheat pollard* selain dengan cara dipanaskan dapat dilakukan dengan fermentasi (Sulistiyanto *et al.*, 2019). *Wheat pollard* fermentasi mempunyai kandungan BK 28,13%, abu 15,78%, PK 20,19%, LK 4,30%, SK 4,76% dan total bakteri probiotik sebanyak $2,4 \times 10^8$ CFU/g (Ilmiawan *et al.*, 2015). *Wheat pollard* yang diolah dengan cara fermentasi menggunakan jus kubis fermentasi memberikan nilai tambah pada substrat dan mengandung bakteri menguntungkan seperti *L. plantarum*, *L. brevis*, *Rhizopus oryze* dan *Sacchamomyces cerevise*, selain itu juga mampu merombak serat kasar yang terkandung dalam *wheat pollard*, sehingga dapat berperan sebagai pakan fungsional (Utama *et al.*, 2013). *Wheat pollard* fermentasi ragi tempe 0,2% mengalami peningkatan nilai persentase protein sebesar 14,88% jika dibandingkan dengan nilai protein *wheat pollard* murni, peningkatan tersebut merupakan kontribusi protein sel tunggal dari mikroorganisme fermenter serta

adanya terjadi biokonversi senyawa-senyawa organik dan anorganik menjadi protein yang terakumulasi dalam bentuk koloni selama proses fermentasi (Munir *et al.*, 2015).

2.2. Fermentasi Limbah Sayuran

Fermentasi adalah salah satu teknologi untuk meningkatkan kualitas pakan asal limbah, karena keterlibatan mikroorganisme dalam mendegradasi SK mengurangi kadar lignin dan senyawa anti nutrisi, sehingga nilai pencernaan pakan asal limbah dapat meningkat (Haq *et al.*, 2018). Produksi limbah pasar sayur yang ketersediannya tinggi dapat di manfaatkan sebagai bahan fermentasi. Limbah pasar sayur dapat di ekstrak menjadi larutan fermentasi. Data BPS tahun 2016 menunjukkan produksi kubis di Indonesia mencapai 1.513.315 ton. Ekstrak limbah pasar sayur merupakan larutan hasil fermentasi (Utama *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ilmiawan *et al.* (2015) tentang pembuatan cairan limbah sayuran fermentasi diawali dengan cara limbah sayuran dicacah \pm 2-3 cm, ditambahkan garam 8% dan molasses 6,7% dari berat segar limbah sayuran, selanjutnya diaduk dan dimasukkan ke dalam plastik *trash bag* lalu diperam selama 6 hari dalam keadaan *anaerob fakultatif* kemudian pemisahan antara cairan dan ampas dilakukan dengan cara diperas menggunakan kain saring.

Limbah pasar sayur merupakan limbah padat organik yang berasal dari kumpulan berbagai macam sayuran setelah disortir karena sudah tidak layak jual seperti limbah kubis dan sawi (Utama dan Mulyanto, 2009). Pengolahan limbah pasar sayur yaitu dengan memfermentasikannya menggunakan garam dalam

suasana anaerob fakultatif (Utama *et al.*, 2013). Limbah sayuran yang sering digunakan sebagai bahan fermentasi asam laktat adalah limbah sayur kubis dan sawi (Hersoelistyorini *et al.*, 2014). Kandungan asam tinggi dan mikroorganisme yang menguntungkan dalam limbah pasar sayur seperti kubis dan sawi berpotensi sebagai starter fermentasi (Wikanastri *et al.*, 2012). Syarat sebagai starter fermentasi adalah mengandung bakteri asam laktat yang menyebabkan asam lebih cepat diproduksi dan diikuti dengan penurunan pH, sehingga berperan sebagai penghambat bakteri patogen (Ekaputra *et al.*, 2018).

Pembuatan ekstrak limbah kubis dan sawi dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu fermentasi, kadar garam, jenis dan kualitas sayuran serta kondisi sanitasi proses fermentasi dilaksanakan (Utama *et al.*, 2013). Proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh keberhasilan dalam mengoptimalkan faktor pertumbuhan mikroorganisme, yang akan memberikan kondisi berbeda untuk setiap mikroorganisme sesuai dengan lingkungan hidupnya masing-masing (Sharah *et al.*, 2015). Proses fermentasi pada asinan kubis melibatkan beberapa mikroorganisme, pada tahap awal yaitu *Enterobacter cloacae* dan *Erwinia herbicola*, tahap intermediete *Leuconostoc mesentroides* dan tahap akhir *L. plantarum* (Utama *et al.*, 2018).

Fermentasi limbah sayur kubis dan sawi berpotensi sebagai starter fermentasi, dengan kandungan mikroorganisme antara lain: *Lactobacillus sp*, *Saccharomyces sp*, *Aspergillus sp*, dan *Rhizopus sp* (Hersoelistyorini *et al.*, 2014). Hasil fermentasinya sebagian besar adalah asam lemak rantai pendek (SCFA) atau *volatile fatty acids*, *methane*, yang berupa asetat, propionat dan butirrat, merupakan

produk utama hasil fermentasi yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam darah, menjaga keseimbangan mikroflora usus dan meningkatkan penyerapan mineral didalam usus (Zubaidah *et al.*, 2014).

2.3. Vitamin sebagai Nutrien Mikroorganisme

Mikroorganisme memerlukan media untuk tumbuh dan berkembangbiak yang biasa disebut dengan media pertumbuhan mikroorganisme (Wulandari *et al.*, 2019). Salah satu media pertumbuhan mikroorganisme adalah vitamin. Vitamin berfungsi sebagai media tumbuh mikroorganisme seperti bakteri, kapang atau khamir (Atma, 2018). Vitamin adalah senyawa kimia yang terkandung dalam bahan pakan yang dibutuhkan oleh tubuh (Maulana *et al.*, 2019).

Vitamin termasuk dalam komponen makronutrien esensial yang berfungsi untuk metabolisme organisme hidup, akan tetapi tidak dapat disintesis oleh mamalia (Laily *et al.*, 2013). Vitamin dapat disintesis oleh mikroorganisme dan tanaman. Produktivitas sintesis protein mikroorganisme dan optimalisasi fungsi mikroorganisme dapat dihasilkan dari penambahan vitamin (Putri dan Dewantari, 2017).

Fungsi vitamin seperti vitamin B₁₂ dibutuhkan *Lactobacillus* untuk pertumbuhan hidupnya (Hidayat *et al.*, 2018). Vitamin B₁₂ juga mempunyai fungsi esensial dalam pembelahan sel terkait dengan fungsinya sebagai koenzim (Sasmaya *et al.*, 2013). Vitamin B₁₂ juga berperan dalam metabolisme alga sebagai kofaktor untuk metionin sintase (Martin *et al.*, 2005). Vitamin C atau

asam askorbat sebagai kofaktor dan antioksidan karena secara efektif menangkap radikal bebas terutama senyawa oksigen reaktif, sehingga vitamin C berperan dalam menjaga integritas membran sel (Adawiah *et al.*, 2015). *Lactobacillus helveticus* yang merupakan bakteri penghasil asam laktat membutuhkan vitamin C, vitamin B5 (asam pantotenat) dan biotin untuk pertumbuhan dan mempengaruhi mekanisme transportasi intraseluler bakteri (Yao *et al.*, 2018). Vitamin E merupakan vitamin larut dalam lemak berperan sebagai sumber antioksidan, dapat bertindak sebagai reduktor dan menangkap radikal bebas (Cahyaningsih *et al.*, 2013).

2.4. Mineral sebagai Nutrien Mikroorganisme

Penambahan mineral dalam *wheat pollard* fermentasi mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Media pertumbuhan mikroorganisme membutuhkan mineral sebagai nutrisi tumbuh dan berkembangbiak mikroorganisme tersebut (Wulandari *et al.*, 2019). Mineral digunakan oleh bakteri sebagai akseptor elektron dalam metabolisme glukosa dan gula lainnya. Mineral dapat memacu produktivitas sintesis protein mikroorganisme dan optimalisasi fungsi mikroorganisme (Putri dan Dewantari, 2017). Mineral yang ditambahkan dalam bahan pakan dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai kofaktor enzim (Hidayat *et al.*, 2018).

Jenis mineral dalam bahan pangan dikategorikan dalam mineral makro dan mineral mikro. Contoh mineral makro antara lain natrium (Na), fosfor (P), sulfur (S), kalium (K), kalsium (Ca) dan magnesium (Mg), sedangkan contoh mineral mikro antara lain besi (Fe), mangan (Mn), zink (Zn), tembaga (Cu) dan iodium (I)

(Atma, 2018). Mineral mikro merupakan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah sangat sedikit. Fungsi mineral seperti mineral Sulfur (S) merupakan mineral yang esensial bagi mikroorganisme pencernaan serat yang berfungsi untuk menyokong pembentukan asam amino yang mengandung sulfur dan sintesis protein mikroorganisme (Nurhaita *et al.*, 2010).

Mineral Kalsium (Ca) dapat meningkatkan populasi dan aktivitas bakteri rumen sehingga dapat meningkatkan proses terjadinya fermentasi pada rumen (Suharti *et al.*, 2018). Pemberian mineral Seng (Zn) dapat memacu pertumbuhan mikroorganisme rumen (Muhtarudin dan Liman, 2006). Mineral Seng (Zn) merupakan komponen penting pada struktur dan fungsi membran sel, sebagai antioksidan, dan melindungi tubuh dari serangan lipid peroksidase (Arifin, 2008). Mineral Mangan (Mn) mempengaruhi metabolisme pertumbuhan mikroorganisme sehingga dapat meningkatkan populasi bakteri (Cho *et al.*, 2018). Penambahan mineral Fosfat (P) dan Kalium (K) pada tanaman lada dan mentimun mampu membantu ko-inokulasi bakteri *Bacillus sp.* dalam menyerap mineral dan pertumbuhan tanaman lada dan mentimun (Han *et al.*, 2006). Mineral Kalsium (Ca) berperan dalam fungsi struktural dan fungsional sel khamir, mineral Klorida (Cl) berperan dalam mengatur keseimbangan asam basa larutan dan mengatur netralitas elektrokimia (Saraswati *et al.*, 2017).

Mineral mikro yang ditambahkan dalam bahan pakan seperti Fe, Co, Mn dan Zn menunjukkan bahwa mineral-mineral tersebut memainkan peranan dalam mikroorganisme (Thalib *et al.*, 2000). Mineral Kobalt (Co) mempunyai peranan penting dalam pertumbuhan bakteri rumen untuk mensintesis vitamin karena

Cobalt merupakan bagian dari vitamin B₁₂ (Arifin, 2008). Mineral Besi (Fe) dibutuhkan oleh bakteri batang gram negatif sebagai sumber energi untuk proses oksidasi (Douglass and Beveridge, 1998). Mineral Besi (Fe) juga berperan dalam membantu proses oksidasi oleh mikroorganisme *anaerob* (Schadler *et al.*, 2009). Monosodium glutamat (MSG) merupakan garam natrium yang berikatan dengan asam amino berupa asam glutamat dan berbentuk kristal putih yang diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme (Sari dan Shovitri, 2017).

Efek negatif dari penambahan mineral yang berlebih seperti Se, Cu, Zn, Ni dan Mn dibutuhkan oleh sel mikroorganisme dalam jumlah tertentu, apabila tingkat konsentrasinya cukup tinggi maka akan menyebabkan racun bagi mikroorganisme (Imamuddin, 2011). Pertumbuhan bakteri *Aspergillus*, *Alternaria* dan *Penicillium* akan terhambat akibat penambahan Cu pada fermentasi pakan cair sedangkan pertumbuhan bakteri *Fusarium* dapat terhambat akibat penambahan Zn (Dai *et al.*, 2020). Mineral Cu dan Ag yang terdapat dalam bahan pakan bersifat antimikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan suatu mikroba (Kurnia *et al.*, 2012).

2.5. Bakteri Gram

Mikroorganisme yang melakukan fermentasi pada produk fermentasi sayuran adalah dari jenis bakteri penghasil asam laktat. Berbagai jenis mikroorganisme yang dapat melakukan proses fermentasi antara lain bakteri, fungi dan khamir. Bakteri merupakan sel prokariotik khas uniseluler dan tidak mengandung struktur pembatas membran di dalam sitoplasma (Pelzar dan Chan,

1986). Bakteri adalah organisme bersel tunggal yang bereproduksi dengan pembelahan biner, sebagian besar hidup bebas, serta mengandung informasi genetik dan memiliki sistem biosintetik dan penghasil energi yang penting untuk pertumbuhan dan reproduksi. Total mikroorganisme terdiri dari semua mikroorganisme yang hidup, tinggal dan berkembang pada suatu media (Fardiaz, 1989).

Faktor keberhasilan fermentasi diantaranya berasal dari pertumbuhan mikroorganismenya. Mikroorganisme pada proses fermentasi dapat tumbuh dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu sekitar 20 – 30°C, pertumbuhan bakteri proses fermentasi tidak membutuhkan oksigen atau dalam keadaan *anaerob*, dan bakteri biasanya dapat tumbuh pada pH 4 – 8 (Jannah, 2010).

Beberapa kelompok bakteri dapat diklasifikasikan dengan cara pewarnaan gram. Pewarnaan gram merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi. Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram sehingga akan berwarna merah bila diamati dengan mikroskop, sedangkan bakteri gram positif akan berwarna ungu (Fitri dan Yasmin, 2011). Bakteri gram positif memiliki dinding sel tebal yang terdiri dari suatu jaringan multilayer peptidoglikan (sekitar 30 – 70% dari bobot total dinding sel) sedangkan pada bakteri gram negatif mempunyai dinding sel yang relatif tipis dari peptidoglikan

yang tersisip diantara dua membran (<10% dari bobot total dinding sel) (Mukodiningsih *et al.*, 2018).

Salah satu bakteri gram positif yang tumbuh dalam *wheat pollard* fermentasi antara lain jenis *Lactobacillus sp* (Utama *et al.*, 2013). Bakteri asam laktat secara fisiologis dikelompokkan sebagai bakteri gram positif yang berbentuk *coccus* atau batang, tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat (Sumarsih *et al.*, 2012). Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri yang diperlukan dalam fermentasi sayuran. Bakteri asam laktat (BAL) termasuk dalam kelompok *Lactobacteriaceae* secara morfologi tidak homogen (berbentuk batang panjang, pendek, dan berbentuk kokus), tetapi dari segi fisiologis dapat dikarakteristikan relatif baik (Utama *et al.*, 2013). Bakteri ini secara alami terdapat pada sayuran itu sendiri. Hampir semua jenis sayuran dapat difermentasi secara alami oleh bakteri laktat, karena sayuran mengandung gula yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri tersebut.

Perendaman sayuran atau buah dalam larutan garam kadar rendah atau tinggi akan menyebabkan tumbuhnya mikroorganisme dari golongan bakteri *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus heterofermentatif* memproduksi gas dan senyawa-senyawa volatil lain sebagai pembentuk cita rasa dalam produk fermentasi, ketidakmampuan mensintetis vitamin sehingga tidak dapat tumbuh pada makanan dengan kandungan vitamin rendah dan memiliki ketahanan terhadap panas (termodurik) pada kebanyakan spesies *Lactobacillus* (Utama *et al.*, 2013). Bakteri ini terlibat dalam pembentukan asam laktat selama fermentasi.

Bakteri gram negatif memiliki ciri-ciri, yaitu dinding sel dengan peptidoglikan yang relatif sedikit serta lebih kompleks secara struktural jika dibandingkan dengan bakteri gram positif, selain itu dinding sel bakteri gram negatif mengandung lipopolisakarida, yaitu karbohidrat yang terikat dengan lipid (Campbell *et al.*, 2003). Bakteri gram negatif memiliki dinding sel lebih kompleks yang terdiri dari lipopolisakarida dan lapisan peptidoglikan yang rentan mengalami kerusakan mekanik dan kimiawi (Harti, 2015).

Lapisan lipopolisakarida yang terletak di permukaan membran luar bakteri gram negatif dapat rusak akibat asam laktat, sehingga antimikroorganisme lain seperti diasetil, bakteriosin, hidrogen peroksida masuk ke dalam membran sitoplasma (Mukodiningsih *et al.*, 2018). Asam laktat masuk ke dalam sitoplasma menyebabkan pH intraseluler turun. Hal ini menyebabkan jumlah bakteri gram negatif menurun.

Beberapa bakteri gram negatif seperti *Salmonella* dan *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada suatu bahan pakan akan dihambat pertumbuhannya jika dalam bahan pakan terdapat BAL (Sumarsih *et al.*, 2012). Bakteri gram negatif lainnya yang sering mengganggu bagian saluran pencernaan ternak, yakni bakteri *E. Coli*. Bakteri *E. Coli* merupakan bakteri gram negatif yang digunakan sebagai indikator adanya cemaran (Faridz *et al.*, 2007). Bakteri *E. Coli* yang akan berkembang dalam saluran pencernaan dapat ditekan dengan adanya bakteri asam laktat, sehingga diharapkan dapat meningkatkan sistem kekebalan ternak.