



KANDUNGAN NUTRIEN DAN POPULASI BAKTERI DARI INOKULAN YANG DIPRODUKSI DENGAN MEMANFAATKAN ISOLAT BAKTERI KOLON SAPI BALI DAN SAMPAH ORGANIK

Suardita, I K.G., I M. Mudita, N W. Siti, Dan A.A.P.P. Wibawa

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar

E-mail: geriasuardita@yahoo.co.id, HP. 081936516532

ABSTRAK

Penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kandungan nutrisi dan populasi bakteri dari inokulan yang diproduksi menggunakan kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik telah dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Penelitian dilaksanakan dengan Rancangan Acak Lengkap/RAL 12 perlakuan dan 3 ulangan yang didasarkan pada sebelas jenis inokulan yang diproduksi dan ditambah satu medium inokulan sebagai kontrol. Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi kandungan protein terlarut, kalsium, fosfor, seng, belerang, total bakteri anaerob, populasi bakteri lignoselulolitik, populasi bakteri asam laktat dan derajat keasaman/pH inokulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulan yang diproduksi dari isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik (perlakuan BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ dan BS₁₂K₁₂) mampu menghasilkan inokulan dengan derajat keasaman/pH lebih rendah serta kandungan nutrisi (protein terlarut, fosfor, kalsium, seng, dan belerang) yang lebih tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan medium inokulan (IS₀K₀). Terhadap populasi bakteri inokulan, pemanfaatan isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik (perlakuan BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ dan BS₁₂K₁₂) mampu meningkatkan total bakteri anaerob, bakteri lignoselulolitik maupun bakteri asam laktat secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan medium inokulan (IS₀K₀). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik sebagai sumber inokulan dapat meningkatkan kandungan nutrisi dan populasi bakteri inokulan yang dihasilkan.

Kata kunci : Inokulan, Kandungan Nutrien, Populasi Bakteri

THE NUTRIENTS CONTENT AND BACTERIAL POPULATIONS OF INOCULANT PRODUCED BY USING BACTERIA ISOLATES FROM BALI CATTLE COLON AND ORGANIC WASTE

ABSTRACT

The research aimed to determine the nutrients content and bacterial populations of inoculants manufactured using a combination of superior 1 and/or 2 bacteria isolated from bali cattle colon and organic waste has been carried out in the Laboratory of Animal Nutrition and Feed, Faculty of Animal Husbandry at Udayana University. The research was conducted with completely randomized design/CRD 12 treatments and 3 replications based

on eleven produced the type of inoculant and inoculant plus one medium as a control. The variables were observed in this research were the content of soluble protein, calcium, phosphorus, zinc, sulfur, the population of anaerobic bacteria, the population of lignocellulolytic bacteria, the population of lactic acid bacteria and acidity/pH inoculant. The results showed that inoculants manufactured from superior 1 and/or 2 bacteria isolated from bali cattle colon and organic waste (treatment BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ and BS₁₂K₁₂) able to produce inoculants with lower of acidity degree/pH and higher nutrients content (soluble protein, phosphorus, calcium, zinc, and sulfur) and significantly different ($P < 0.05$) than medium inoculant (IS₀K₀). The population of bacteria inoculant, the use of superior 1 and/or 2 bacteria isolated from bali cattle colon and organic waste (BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ and BS₁₂K₁₂) were able to significantly ($P < 0.05$) increased of anaerobic bacteria population, lignocellulolytic bacteria, and lactic acid bacteria compared than medium inoculant (IS₀K₀). Based on the results of this study concluded that the use of a combination of superior 1 and 2 bacteria isolated from bali cattle colon and organic waste as a source of inoculants can increased nutrients content and bacteria population of inoculant.

Keywords: Inoculants, Nutrients Content, Bacterial Populations

PENDAHULUAN

Pemanfaatan limbah pertanian sebagai bahan pakan merupakan salah satu solusi alternatif yang dapat dilakukan untuk mengurangi keberadaan limbah dan mengatasi kekurangan pakan. Dilihat dari segi nutrisi yang terkandung, limbah pertanian mempunyai kandungan nutrisi yang cukup tinggi bagi ternak. Namun, pemanfaatan limbah pertanian sebagai pakan sering menghadapi kendala terutama dalam proses degradasi bahan asal limbah tersebut. Tingginya kandungan serat kasar terutama senyawa lignoselulosa merupakan faktor pembatas utama dalam pemanfaatan limbah pertanian sebagai produk yang bermanfaat, sehingga perlu diberikan perlakuan untuk menghilangkan atau memutuskan ikatan yang terjadi diantara komponen serat. Oleh karena itu, diperlukan aplikasi teknologi pengolahan untuk mengatasi berbagai kendala yang ada dalam pemanfaatan limbah pertanian sebagai pakan. Teknologi fermentasi menggunakan inokulan melalui pemanfaatan bakteri yang berasal dari limbah kolon sapi bali dan sampah organik merupakan salah satu strategi yang potensial untuk dikembangkan dalam mengatasi permasalahan tersebut.

Kolon sapi kaya bakteri pendegradasi serat pakan, baik bakteri lignolitik, selulolitik, hemiselulolitik, amilolitik maupun proteolitik serta berbagai probiotik (Chiquette, 2009; Rigobelo dan Avila, 2012; Singh *et al.*, 2001). Wahyudi *et al.* (2010) mengungkapkan bahwa bakteri lignoselulolitik dari kolon dan sekum kerbau mempunyai kemampuan degradasi serat yang lebih tinggi daripada bakteri rumen yang ditunjukkan tingkat aktivitas enzim

lignoselulase (*lignase, cellulase, dan xylanase*) yang lebih tinggi. Hasil penelitian Mudita *et al.* (2014) menunjukkan bahwa isolat bakteri dengan kode BCC 4 LC dan BCC 12.1 LC asal kolon sapi bali mempunyai kemampuan degradasi substrat yang tinggi yaitu dengan luas zone bening masing-masing sebesar 3,357 cm²; 0,045 cm²; 4,206 cm²; 5,864 cm² dan 3,130 cm²; 0,044cm²; 3,901 cm²; 5,759 cm² untuk substrat lignoselulosa, asam tanat, CMC dan xylan. Pada hasil penelitian tersebut juga tampak bahwa isolat bakteri dengan kode BCC 4 LC dan BCC 12.1 LC mempunyai aktivitas enzim *lignase, cellulase* dan *xylanase* yang tinggi masing-masing sebesar 0,0563 U dan 0,0563 U; 0,0682 U dan 0,0716 U; 6,4018 U dan 21,3392 U.

Sampah organik juga berpotensi sebagai sumber bakteri lignoselulolitik. Sampah organik yang telah mengalami pelapukan atau pengomposan seperti misalnya sampah organik yang menumpuk di TPA mengandung banyak bakteri lignoselulolitik yang mempunyai kemampuan degradasi serat yang tinggi (Pathma dan Sakthivel, 2012; Permana, 2008; Sarkar *et al.*, 2011). Pathma dan Sakthivel (2012) mengungkapkan bakteri yang terdapat pada kompos sampah organik juga mempunyai kemampuan mendegradasi berbagai senyawa antinutrisi serta berperan sebagai *growth promotor*. Hasil penelitian Mudita *et al.* (2014) menunjukkan bahwa isolat bakteri dengan kode BW 1 LC dan BW 4 LC asal sampah organik mempunyai kemampuan degradasi substrat yang tinggi yaitu dengan luas zone bening masing-masing sebesar 2,314 cm²; 0,051 cm²; 1,548 cm²; 0,435 cm² dan 3,603 cm²; 0,047 cm²; 1,565 cm²; 0,419 cm² untuk substrat lignoselulosa, asam tanat, CMC dan xylan. Pada hasil penelitian tersebut juga tampak bahwa isolat bakteri dengan kode BW 1 LC dan BW 4 LC mempunyai aktivitas enzim *lignase, cellulase* dan *xylanase* yang tinggi masing-masing sebesar 0,0597 U dan 0,0563 U; 0,0780 U dan 0,0759 U; 29,5806 U dan 32,3767 U.

Adanya bakteri lignoselulolitik dan *growth promotor*, mengakibatkan limbah kolon sapi bali dan sampah organik mempunyai potensi yang cukup tinggi sebagai sumber inokulan konsorsium bakteri yang berkualitas dan mempunyai kemampuan tinggi dalam mendegradasi serat. Penggunaan kombinasi isolat dari sumber yang berbeda sebagai sumber inokulan sudah tentu akan mempengaruhi kandungan nutrisi dan populasi bakteri dari inokulan yang diproduksi. Sehubungan dengan hal tersebut, maka penelitian ini perlu dilaksanakan untuk mengetahui kandungan nutrisi dan populasi bakteri dari inokulan yang diproduksi dengan menggunakan kombinasi isolat bakteri kolon sapi bali dan sampah organik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kandungan nutrisi dan populasi bakteri dari inokulan yang diproduksi dari kombinasi isolat

bakteri kolon sapi bali dan sampah organik serta menjadi salah satu solusi dalam optimalisasi pemanfaatan limbah pertanian sebagai pakan.

MATERI DAN METODE

Isolat Bakteri Sumber Inokulan

Isolat yang dipergunakan sebagai sumber inokulan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri unggul hasil penelitian Mudita *et al.* (2014) yaitu isolat bakteri unggul 1 (BCC_{12.1}LC atau *Bacteria Cattle Colon 12.1 Lignocellulolytic*) dan isolat bakteri unggul 2 (BCC₄LC atau *Bacteria Cattle Colon 4 Lignocellulolytic*) dari limbah isi kolon sapi bali serta isolat bakteri unggul 1 (BW₁LC atau *Bacteria Waste 1 Lignocellulolytic*) dan isolat bakteri unggul 2 (BW₄LC atau *Bacteria Waste 4 Lignocellulolytic*) dari sampah organik.

Medium Inokulan dan Teknik Produksinya

Pembuatan medium inokulan dilakukan dengan memanfaatkan bahan-bahan seperti yang disajikan pada Tabel 1. Bahan-bahan alami seperti jerami padi, serbuk gergaji kayu, dan dedak padi terlebih dahulu dipreparasi dengan cara dikeringkan dalam oven 70-80°C selama 48 jam untuk mendapatkan berat keringnya kemudian dilanjutkan dengan penggilingan halus dengan saringan berdiameter 1 mm. Sedangkan bahan-bahan lainnya langsung dimanfaatkan dalam produksi medium inokulan. Pencampuran semua bahan medium dilakukan hingga homogen menggunakan digital hot stirrer “vorteks” selama 30 menit pada temperatur 80-100°C. Medium inokulan yang telah tercampur homogen selanjutnya disterilisasi pada *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah medium inokulan mulai mendingin (suhu \pm 40°C), medium siap dimanfaatkan untuk produksi inokulan.

Tabel 1. Komposisi bahan penyusun medium inokulan alami (dalam 1 liter)

No	Bahan Penyusun	Komposisi
1	Thioglicollate Medium (g)	0,1
2	Molases (ml)	50
3	Urea (g)	1
4	Asam Tanat (g)	0,025
5	CMC (g)	0,025
6	Xilan (g)	0,025
7	Tepung Jerami padi (g)	0,25
8	Tepung/serbuk gergaji kayu (g)	0,25
9	Dedak Padi (g)	0,25
10	Tepung Tapioka (g)	0,25

11	Supernatan Cairan rumen (ml)	0,5
12	Mineral-vitamin "Pignox" (g)	0,15
13	Air Bersih	hingga volumenya menjadi 1 liter

Sumber: Mudita *et al.*, 2014

Sarana dan Prasarana Penunjang

Sarana dan prasarana penunjang yang digunakan pada penelitian ini meliputi medium pertumbuhan bakteri selektif (*thioglicollate medium*), larutan pengencer, medium cair, autoclave, *laminar air flow*, inkubator 39°C, oven 70-80°C, pH meter, mikropipet, pengaduk magnetik, pipet otomatis, api bunsen, vorteks, timbangan elektrik, tabung reaksi, gelas ukur, kapas, gelas beaker, erlenmeyer, cawan petri, ember, botol plastik, aquades, kantong kertas, lilin, korek api, dan alat tulis.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar selama 3 bulan yaitu mulai 1 januari 2015 sampai dengan 31 Maret 2015.

Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan Rancangan Acak Lengkap/RAL dengan 12 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan didasarkan pada sebelas (11) jenis inokulan yang diproduksi dan ditambah 1 perlakuan kontrol (medium inokulan tanpa isolat bakteri).

Perlakuan terdiri atas :

1. IS₀K₀ = Medium inokulan tanpa isolat bakteri (perlakuan kontrol)
2. BS₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 dari sampah organik
3. BK₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 dari kolon sapi bali
4. BS₁K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali
5. BS₁K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali
6. BS₂K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali
7. BS₂K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali
8. BS₁₂K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali
9. BS₁₂K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali

10. BS₁K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali
11. BS₂K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali
12. BS₁₂K₁₂= Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali

Pembuatan Larutan Pengencer

Larutan pengencer merupakan medium No. 14 Bryant and Burkey (Ogimoto dan Imai, 1981), dengan komposisi 7,5 ml mineral I; 7,5 ml mineral II; 0,05 g HCl-cystein; 0,3 g Na₂CO₃; 0,1 ml larutan rezasurin 0,1%; 100 ml H₂O. Seluruh bahan dicampur dalam tabung *erlenmeyer* dan disterilisasi dengan *autoclave* pada temperatur 45-50°C, tabung dialiri dengan gas CO₂ sampai indikator rezasurin berubah dari warna pink menjadi tidak berwarna, kemudian ditutup dengan penutup karet steril dan disimpan dalam refrigerator (lemari es) sebagai sediaan.

Larutan mineral yang dibuat merupakan formula No. 32 Bryant and Burkey (Ogimoto dan Imai, 1981). Larutan Mineral I dibuat dengan cara menimbang 6 g K₂HPO₄ dan melarutkannya dalam 1 liter aquades. Sedangkan Larutan Mineral II dibuat menggunakan 6 g KH₂PO₄; 12 g (NH₄)₂SO₄; 12 g NaCl; 2,5 g MgSO₄·7H₂O; 1,2 g CaCl₂ yang dicampur homogen dalam 1 liter aquades.

Pembuatan Medium Cair

Medium pertumbuhan cair untuk isolat-isolat bakteri lignoselulolitik asal kolon sapi bali dan sampah organik dibuat menggunakan *Fluid Thioglicollate Medium/FTM* ditambah CMC, asam tanat, xylan dan aquades. Setiap 100 ml medium cair yaitu menggunakan 2,98 g FTM ditambah 0,1 g asam tanat; 0,1 g CMC; 0,1 g xylan dan aquades hingga volume 100 ml. Semua bahan dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan dihomogenkan dengan cara di vorteks pada suhu 100°C selama 5 menit. Selanjutnya disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Penumbuhan Kultur Bakteri

Penumbuhan kultur bakteri dilaksanakan dengan cara terlebih dahulu menumbuhkan isolat bakteri yang telah diisolasi pada medium selektif padat ke dalam medium pertumbuhan cair dan/atau medium pertumbuhan cair selektif yang telah disiapkan. Isolat bakteri dari medium padat dilarutkan dalam larutan pengencer pada absorban 0,5 dengan panjang gelombang 600 nm dan diinokulasikan sebanyak 10% kedalam tabung *erlenmeyer*

yang telah berisi medium pertumbuhan cair tersebut. Kemudian diinkubasikan pada suhu 39°C selama 5 hari dan setiap hari dihomogenkan dengan cara divorteks. Kultur medium cair inilah yang selanjutnya digunakan dalam produksi inokulan.

Produksi Inokulan

Inokulan konsorsium bakteri diproduksi dengan menginokulasikan 1% kombinasi kultur isolat bakteri pada medium inokulan secara *anaerob*. Produksi inokulan konsorsium bakteri lignoselulolitik dilakukan dalam laminar air flow dengan cara mencampur kultur bakteri yang akan dipakai dengan medium inokulan dalam wadah botol plastik kapasitas 1 liter yang dilakukan dalam kondisi steril dan suasana anaerob (dialiri gas CO₂). Setelah bakalan inokulan tercampur homogen segera ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu 39°C selama 1 minggu. Inokulan yang telah jadi ditandai dengan aroma inokulan yang harum dan asam. Inokulan yang telah jadi atau tumbuh selanjutnya dianalisis kandungan nutrisi dan populasi bakterinya.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Kandungan nutrisi inokulan yaitu kandungan protein terlarut, kadar kalsium (Ca), kadar fosfor (P), kadar belerang (S), seng (Zn), dan derajat keasaman/pH.
2. Populasi bakteri inokulan yang meliputi jumlah total bakteri anaerob/*anaerob total plate count*, populasi bakteri lignoselulolitik dan populasi bakteri asam laktat.

Analisis Kandungan Nutrien dan Derajat Keasaman (pH) Inokulan

Kandungan nutrisi yang akan di evaluasi antara lain kandungan protein terlarut, kalsium (Ca), fosfor (P), belerang (S), dan seng (Zn). Analisis kandungan protein terlarut inokulan dilakukan dengan metode biuret pada panjang gelombang 520 nm standar BSA/Bovine Serum Albumin, Ca dianalisis dengan *EDTA Method*, analisis kadar P dan Zn menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometre (AAS)* pada panjang gelombang 660 nm, dan penentuan kadar S dengan metode Iodometri. Derajat keasaman/pH inokulan diukur dengan menggunakan pH meter merk Beckman.

Penghitungan Populasi Bakteri Inokulan

Populasi bakteri yang diamati adalah total bakteri anaerob/*anaerob total plate count*, populasi bakteri lignoselulolitik dan populasi bakteri asam laktat. Perhitungan populasi

bakteri dilakukan dengan metode pengenceran berseri menggunakan medium pertumbuhan selektif cawan petri (Jenie dan Pardiaz, 1989). Medium pertumbuhan selektif dibuat dengan cara sebagai berikut :

- 1) Untuk medium pertumbuhan total bakteri anaerob, setiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 2,98 g FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*), 2,5 g bacto agar, dan ditambahkan aquades hingga volumenya 100 ml.
- 2) Untuk medium pertumbuhan populasi bakteri lignoselulolitik, setiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 2,98 g FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*), 1 g asam tanat, 1 g CMC, 1 g xylan, dengan 2,5 g bacto agar, dan ditambahkan aquades hingga volumenya 100 ml.
- 3) Untuk medium pertumbuhan populasi bakteri asam laktat, setiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 5,2 g MRS (*de-Mann Rogosa Sharpe*) dan ditambahkan aquades hingga volumenya 100 ml

Medium yang baru dicampur selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan digital hot stirrer “vorteks” (dalam kondisi tertutup dengan aluminium poil) selama 10-15 menit pada suhu 100⁰C. Setelah homogen selanjutnya disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Setelah selesai sterilisasi dan mulai mendingin (suhu \pm 40⁰C) medium siap dimanfaatkan untuk penumbuhan bakteri selektif. Proses pembiakan bakteri selektif dilakukan dalam *laminar air flow*. Proses inokulasi bakteri dilakukan dalam kondisi steril dan suasana *anaerob* (tanpa oksigen). Inokulasi dilakukan dengan cara terlebih dahulu menuangkan 250 μ l inokulan dari seri pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁷ pada cawan petri, setelah itu baru tuangkan medium inokulan sebanyak 20 ml. Setelah inokulasi, dilanjutkan dengan inkubasi selama 24 jam dalam inkubator T 39⁰C. Setelah diinkubasi selama 24 jam baru dilakukan penghitungan populasi bakteri inokulan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini selanjutnya dianalisis dengan bantuan program SPSS 16.0 dan apabila pada pengujian terdapat hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan's (Hartono, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Nutrien dan Derajat Keasaman (pH) Inokulan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulan yang diproduksi dari isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik (perlakuan BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ dan BS₁₂K₁₂) mampu meningkatkan secara nyata (P<0,05) kandungan nutrisi baik protein terlarut, mineral fosfor/P, kalsium/Ca, seng/Zn dan belerang/S dibandingkan dengan kandungan nutrisi dari medium inokulan (IS₀K₀) (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri mempunyai peranan yang sangat penting dalam penentuan dan penyediaan nutrisi dari inokulan. Adanya isolat bakteri yang bekerja secara sinergis akan mampu meningkatkan degradasi substrat dari medium inokulan menjadi komponen yang lebih sederhana. Disamping itu, isolat bakteri (sel tubuh bakteri) mengandung berbagai nutrisi terutama protein dan berbagai mineral (Hungate, 1966; Leng, 1997; Ogimoto dan Imai, 1981) sehingga inokulasi isolat bakteri akan meningkatkan kandungan nutrisi inokulan.

Tabel 2. Kandungan nutrisi dan pH inokulan kolon sapi bali dan sampah organik

Inokulan ¹⁾	Kandungan Nutrien Inokulan					pH
	Protein Terlarut (%)	Fosfor/P (ppm)	Kalsium/Ca (ppm)	Seng/Zn (ppm)	Belerang/S (ppm)	
IS ₀ K ₀	2,29 ^a	144,81 ^a	836,07 ^a	4,80 ^a	204,67 ^a	5,40 ⁱ
BS ₁₂	2,75 ^{b2)}	153,42 ^b	917,21 ^b	7,07 ^b	241,97 ^b	4,47 ^h
BK ₁₂	2,70 ^b	161,30 ^c	917,59 ^b	7,11 ^b	245,32 ^{bc}	4,40 ^{gh}
BS ₁ K ₁	3,72 ^d	173,32 ^{ef}	929,33 ^{bcd}	7,15 ^b	255,48 ^{def}	4,21 ^{de}
BS ₁ K ₂	3,05 ^c	165,64 ^{cd}	919,30 ^{bc}	7,14 ^b	249,55 ^{cd}	4,30 ^f
BS ₂ K ₁	3,11 ^c	169,97 ^{de}	922,67 ^{bc}	7,15 ^b	249,81 ^{cd}	4,29 ^{ef}
BS ₂ K ₂	2,89 ^{bc}	162,32 ^c	915,96 ^b	7,11 ^b	246,22 ^{bc}	4,33 ^{fg}
BS ₁₂ K ₁	4,16 ^e	179,39 ^{fgh}	947,00 ^{cd}	7,64 ^c	258,43 ^{ef}	4,02 ^{ab}
BS ₁₂ K ₂	3,64 ^d	176,39 ^{efg}	940,33 ^{bcd}	7,57 ^c	255,08 ^{def}	4,17 ^{cd}
BS ₁ K ₁₂	4,03 ^e	182,72 ^{gh}	953,67 ^d	7,71 ^c	259,80 ^{ef}	4,09 ^{bc}
BS ₂ K ₁₂	3,73 ^d	174,72 ^{ef}	938,97 ^{bcd}	7,56 ^c	253,74 ^{de}	4,14 ^{cd}
BS ₁₂ K ₁₂	4,10 ^e	185,24 ^h	982,42 ^e	7,98 ^d	260,56 ^f	3,99 ^a
SEM ³⁾	0,08	2,22	8,77	0,08	1,92	0,03

Keterangan: Hasil Analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak Fapet UNUD (2015)

1) Perlakuan yang diberikan (Jenis inokulan yang diproduksi)

IS₀K₀ = Medium inokulan tanpa isolat bakteri (perlakuan kontrol); BS₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 dari sampah organik; BK₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 dari kolon sapi bali; BS₁K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali; BS₁K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali; BS₂K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali; BS₂K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali; BS₁₂K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali; BS₁₂K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali; BS₁K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali; BS₂K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul

- 1 dan 2 kolon sapi bali; BS₁₂K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali
- 2) Huruf dengan superskrip yang sama pada kolom yang sama, berbeda tidak nyata (P>0,05)
- 3) SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa inokulan yang diproduksi dari kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik (perlakuan BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ dan BS₁₂K₁₂) mampu menghasilkan inokulan dengan kandungan nutrisi yang lebih tinggi daripada inokulan yang diproduksi dari satu sumber isolat (perlakuan BS₁₂ dan BK₁₂) (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan penggunaan kombinasi isolat dari sumber yang berbeda mampu menciptakan efek sinergis dimana antar isolat bakteri saling menutupi kelemahan yang dimiliki oleh masing – masing isolat tersebut dalam mendegradasi substrat sehingga proses degradasi substrat dapat dilakukan secara sempurna yang mengakibatkan ketersediaan nutrisi pada inokulan menjadi tinggi. Penggunaan kombinasi isolat dari sumber yang berbeda mampu menghasilkan pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang lebih baik yang ditunjukkan adanya populasi bakteri yang tinggi (Tabel 3). Pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang tinggi telah mendukung dihasilkannya kandungan nutrisi inokulan yang lebih tinggi yang kemungkinan berasal dari pemecahan/degradasi senyawa kompleks dari bahan medium inokulan menjadi senyawa-senyawa sederhana serta nutrisi yang berasal dari komponen sel tubuh mikroba/bakteri yang memang tersusun atas protein/asam amino serta berbagai nutrisi lainnya baik senyawa organik maupun anorganik (Hungate, 1966; Leng, 1997; Ogimoto dan Imai, 1981).

Derajat keasaman/pH pada inokulan hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan pH secara nyata (P<0,05) dibandingkan medium inokulan (IS₀K₀). Medium inokulan (IS₀K₀) memiliki pH tertinggi yaitu sebesar 5,40, sedangkan inokulan perlakuan BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ dan BS₁₂K₁₂ memiliki pH berturut-turut sebesar 17,22%; 18,52%; 22,04%; 20,37%; 20,56%; 19,81%; 25,56%; 22,78%; 24,26%; 23,33%; 26,11% nyata lebih rendah (P<0,05) dari medium inokulan (IS₀K₀) (Tabel 2). Derajat keasaman (pH) dari inokulan mencerminkan lingkungan tempat tumbuhnya mikroba (khususnya bakteri) dari inokulan yang dipengaruhi oleh kandungan nutrisi khususnya asam-asam organik yang terdapat dalam medium inokulan. Derajat keasaman yang tinggi (nilai pH rendah) menunjukkan semakin banyaknya asam-asam organik yang terbentuk dari pemecahan substrat komponen medium inokulan. Pada

penelitian ini tampak bahwa peningkatan populasi bakteri asam laktat (Tabel 3) akan meningkatkan produksi asam-asam organik yang ditunjukkan oleh rendahnya pH pada inokulan. Terjadi penurunan pH pada inokulan diakibatkan oleh terjadinya peningkatan populasi bakteri dari inokulan tersebut. Populasi bakteri yang tinggi khususnya bakteri lignoselulolitik dan bakteri asam laktat (Tabel 3) akan meningkatkan degradasi substrat termasuk senyawa lignoselulosa menjadi asam-asam organik. Howard *et al.* (2003) menyatakan bahwa bakteri lignoselulolitik akan mendegradasi senyawa lignoselulosa menghasilkan asam-asam organik (VFA maupun asam malat), CO₂ dan H₂O. Ross (1984) menyatakan bahwa keberadaan bakteri asam laktat pada inokulan merupakan sesuatu yang vital dalam mempercepat dan meningkatkan produksi asam laktat sehingga semakin tinggi populasi bakteri asam laktat maka pH inokulan akan semakin rendah. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa populasi bakteri asam laktat yang tinggi pada inokulan (Tabel 3) akan menghasilkan derajat keasamaan inokulan yang tinggi pula (pH rendah) (Tabel 2). Hasil penelitian ini sejalan dengan Mudita *et al.* (2012) menunjukkan bahwa peningkatan populasi mikroba (bakteri dan fungi) akibat peningkatan level cairan rumen dan rayap akan meningkatkan derajat keasamaan inokulan yang dihasilkan. Lebih lanjut diungkapkan oleh Aisjah (1995) bahwa semakin tinggi dosis inokulum, maka semakin banyak populasi mikroba (bakteri dan fungi) dan semakin banyak pula komponen substrat yang dirombak menjadi asam-asam organik seperti VFA yang mengakibatkan terjadinya penurunan pH inokulan (derajat keasamaan tinggi).

Populasi Bakteri Inokulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulan yang diproduksi dari isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik (perlakuan BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂; BS₂K₁₂ dan BS₁₂K₁₂) mampu meningkatkan populasi bakteri anaerob, bakteri lignoselulolitik maupun bakteri asam laktat secara nyata ($P < 0,05$) terhadap medium inokulan (IS₀K₀) (Tabel 3). Peningkatan populasi bakteri pada inokulan yang diproduksi dengan memanfaatkan kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik menunjukkan adanya hubungan sinergis dimana bakteri saling mendukung dan bekerja sama dalam mendegradasi substrat sehingga proses degradasi substrat dapat berjalan dengan lebih baik yang mengakibatkan ketersediaan nutrisi siap pakai (*ready fermentable*) untuk pertumbuhan bakteri itu sendiri akan semakin tinggi. Ketersediaan nutrisi yang lebih tinggi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2 akan memberikan peluang peningkatan populasi bakteri yang semakin tinggi (Tabel

3). Hal ini sependapat dengan Kamra (2005) bahwa semakin banyak bakteri/sumber inokulan yang diinokulasikan serta didukung ketersediaan nutrisi dan kondisi lingkungan yang kondusif, maka populasi bakteri yang tumbuh akan semakin tinggi. Lebih lanjut diungkapkan oleh Dewi *et al.* (2013) bahwa tersedianya nutrisi yang cukup akan mendukung proses pertumbuhan dan aktivitas mikroba, sehingga populasi mikroba (bakteri dan fungi) inokulan dapat meningkat.

Tabel 3. Populasi bakteri inokulan kolon sapi bali dan sampah organik

Inokulan ¹⁾	Populasi Bakteri Inokulan		
	Total Bakteri Anaerob	Bakteri Lignoselulolitik	Bakteri Asam Laktat
	(x 10 ⁸ kol/ml)	(x 10 ⁸ kol/ml)	(x 10 ⁶ kol/ml)
IS ₀ K ₀	0,84 ^a	0,46 ^a	0,75 ^a
BS ₁₂	23,43 ^b	13,49 ^b	19,06 ^{b2)}
BK ₁₂	32,12 ^c	22,12 ^c	20,81 ^{bc}
BS ₁ K ₁	36,92 ^{efg}	26,92 ^{efg}	23,89 ^{def}
BS ₁ K ₂	35,23 ^{de}	25,23 ^{de}	23,09 ^{de}
BS ₂ K ₁	35,59 ^{def}	25,59 ^{def}	23,09 ^{de}
BS ₂ K ₂	34,47 ^d	24,49 ^d	22,76 ^{cd}
BS ₁₂ K ₁	38,13 ^g	28,12 ^g	27,14 ^{gh}
BS ₁₂ K ₂	37,25 ^{efg}	27,25 ^{efg}	25,13 ^{efg}
BS ₁ K ₁₂	37,49 ^{fg}	27,44 ^{fg}	26,08 ^{fgh}
BS ₂ K ₁₂	37,33 ^{efg}	27,29 ^{efg}	24,86 ^{def}
BS ₁₂ K ₁₂	38,13 ^g	28,13 ^g	27,50 ^h
SEM ³⁾	0,65	0,66	0,72

Keterangan: Hasil Analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak Fapet UNUD (2015)

1) Perlakuan yang diberikan (Jenis inokulan yang diproduksi)

IS₀K₀ = Medium inokulan tanpa isolat bakteri (perlakuan kontrol); BS₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 dari sampah organik; BK₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 dari kolon sapi bali; BS₁K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali; BS₁K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali; BS₂K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 1 limbah kolon sapi bali; BS₂K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali; BS₁₂K₁ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 1 kolon sapi bali; BS₁₂K₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 2 kolon sapi bali; BS₁K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali; BS₂K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 2 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali; BS₁₂K₁₂ = Inokulan isolat bakteri unggul 1 dan 2 sampah organik dan isolat unggul 1 dan 2 kolon sapi bali

2) Huruf dengan superskrip yang sama pada kolom yang sama, berbeda tidak nyata (P>0,05)

3) SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa inokulan BS₁₂K₁ dan BS₁₂K₁₂ mampu menghasilkan inokulan yang mempunyai kandungan total bakteri anaerob paling tinggi (38,13 x 10⁸ kol/ml) dan berbeda nyata (P<0,05) dengan inokulan IS₀K₀; BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₂; BS₂K₁ dan BS₂K₂ namun tidak berbeda nyata (P>0,05) dengan inokulan BS₁K₁; BS₁₂K₂; BS₁K₁₂ dan BS₂K₁₂. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kombinasi isolat

bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik mampu memberi dampak yang baik terhadap peningkatan populasi bakteri anaerob yang kemungkinan disebabkan karena kombinasi tersebut mampu menciptakan konsorsium yang sinergis. Konsorsium yang sinergis akan memberikan kondisi yang sesuai dimana bakteri dapat tumbuh dan berkembang dengan baik sebagai akibat semua bakteri bekerja saling mendukung dalam mendegradasi substrat, serta tidak terjadi kompetisi antar isolat bakteri sepanjang kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri terpenuhi dengan baik.

Penggunaan kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik sebagai sumber inokulan juga mampu meningkatkan populasi bakteri lignoselulolitik secara nyata ($P < 0,05$) terhadap medium inokulan (IS_0K_0). Inokulan $BS_{12}K_{12}$ mempunyai kandungan bakteri lignoselulolitik tertinggi sebesar $28,13 \times 10^8$ kol/ml dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap inokulan IS_0K_0 ; BS_{12} ; BK_{12} ; BS_1K_2 ; BS_2K_1 dan BS_2K_2 namun berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan inokulan BS_1K_1 ; $BS_{12}K_1$; $BS_{12}K_2$; BS_1K_{12} dan BS_2K_{12} . Tingginya populasi bakteri lignoselulolitik pada inokulan $BS_{12}K_{12}$ menunjukkan bahwa inokulan $BS_{12}K_{12}$ merupakan kombinasi terbaik untuk pertumbuhan bakteri lignoselulolitik sehingga populasi bakteri lignoselulolitik semakin tinggi serta didukung oleh pasokan nutrisi yang berasal dari medium inokulan yang cukup tinggi mengakibatkan bakteri dapat tumbuh dan berkembang dengan baik sehingga populasi bakteri lignoselulolitik pada inokulan menjadi tinggi. Kolon sapi kaya bakteri pendegradasi serat pakan, baik bakteri lignolitik, selulolitik, hemiselulolitik, amilolitik, proteolitik maupun probiotik (Chiquette, 2009; Rigobelo dan Avila, 2012; Singh *et al.*, 2001). Sampah organik juga mengandung berbagai bakteri lignoselulolitik (Permana, 2008; Sarkar *et al.*, 2011). Pathma dan Sakthivel (2012) mengungkapkan bahwa berbagai bakteri menguntungkan dapat diisolasi dari sampah organik seperti *Bacillus spp*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. pumilis*, *Rhizobium trifolli*, *R. japonicum*, dll. Tingginya populasi bakteri lignoselulolitik yang dihasilkan pada inokulan menunjukkan inokulan tersebut berpotensi sebagai fermentor yang mempunyai kemampuan tinggi sebagai pendegradasi senyawa lignoselulosa bahan pakan asal limbah pertanian.

Populasi bakteri asam laktat pada inokulan yang diproduksi dari kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik lebih tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap medium inokulan (IS_0K_0). Populasi bakteri asam laktat tertinggi terdapat pada inokulan $BS_{12}K_{12}$ sebesar $27,50 \times 10^6$ kol/ml dan berbeda nyata terhadap

inokulan IS₀K₀; BS₁₂; BK₁₂; BS₁K₁; BS₁K₂; BS₂K₁; BS₂K₂; BS₁₂K₂ dan BS₂K₁₂ namun berbeda tidak nyata ($P>0,05$) terhadap inokulan BS₁₂K₁ dan BS₁K₁₂ (Tabel 3). Peningkatan populasi bakteri asam laktat disebabkan karena penggunaan kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan/atau 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik sebagai sumber bakteri inokulan dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi pada inokulan tersebut sehingga pertumbuhan dan perkembangan bakteri menjadi cukup baik apalagi produksi inokulan dikondisikan pada kondisi anaerob juga akan mendukung peningkatan populasi bakteri asam laktat. Tinggi rendahnya bakteri asam laktat dipengaruhi oleh kemampuan bakteri asam laktat dalam membentuk asam laktat yang ditentukan oleh jumlah starter, jenis starter yang digunakan, lingkungan fermentasi dan jumlah nutrisi yang tersedia selama masa inkubasi (Kosikwoksi 1977 dalam Murti 2010). Selain itu, pH inokulan juga mempengaruhi dalam pertumbuhan setiap bakteri terutama bakteri asam laktat (Todar, 2011). Semakin rendah pH inokulan maka semakin tinggi populasi bakteri asam laktat pada inokulan tersebut. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa inokulan BS₁₂K₁₂ yang mempunyai pH terendah (Tabel 2) mempunyai kandungan bakteri asam laktat tertinggi (Tabel 3). Tingginya kandungan bakteri asam laktat pada inokulan menunjukkan inokulan tersebut sangat bagus jika digunakan sebagai fermentor. Ross (1984) mengungkapkan bahwa ketersediaan bakteri asam laktat merupakan sesuatu yang penting, mengingat bakteri asam laktat akan mampu menghasilkan produk fermentasi yang bersifat homofermentatif yang merupakan jenis fermentasi berkualitas tinggi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi isolat bakteri unggul 1 dan 2 asal kolon sapi bali dan sampah organik sebagai sumber inokulan dapat meningkatkan kandungan nutrisi dan populasi bakteri inokulan yang dihasilkan.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan untuk memanfaatkan inokulan BS₁₂K₁₂ sebagai starter fermentasi guna optimalisasi pemanfaatan limbah pertanian sebagai pakan ternak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada bapak Andi Udin Saransi; Dr. Ir. Ni Putu Mariani, M.Si; Ni Made Witariadi, S.Pt., MP dan Ir. Tjokorda Istri Putri, MP yang telah membantu penulis dari awal penulisan sampai akhir penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisjah, T., 1995. Biokonversi limbah umbi singkong menjadi bahan pakan sumber protein oleh jamur rhizophus serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan ayam pedaging. Disertasi. Universitas Padjajaran Bandung.
- Chiquette, J. 2009. The role of probiotics in promoting dairy production. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 21: 143-157
- Dewi, G.A.M.K, I W. Wijana, N W. Siti dan I M. Mudita. 2013. Optimalisasi Pemanfaatan Limbah dan Gulma Tanaman Pangan dalam Usaha Peternakan Itik Bali Melalui Produksi Biosuplemen Berprobiotik Berbasis Limbah Isi Rumen. Laporan Penelitian Unggulan Udayana.
- Hartono. 2008. *SPSS 16.0 Analisis Data Statistika dan Penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Howard R. L., Abotsi E., J.V. Rensburg E.L., dan Howard S. 2003. Lignocellulose biotechnology; Issues of Bioconversion and Enzyme Production. *Review. African Journal of Biotechnology*. 2 (12) : 602-619
- Hungate, R.E. 1966. *The Rumen and Its Microbes*. Academic Press, inc., New York
- Jenie, B.S.L dan S. Fardiaz. 1989. *Petunjuk Laboratorium Uji Sanitasi dalam Industri Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kamra, D.N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Special Section: Microbial Diversity. Current Science*. 89 (1) : 124-135. Available from: URL: <http://www.ias.ac.in/currsci/jul102005/124.pdf> (akses 12 Januari 2016)
- Leng, R.A. 1997. *Tree Foliage in Ruminant Nutrition*. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, Italy.
- Mudita, I M., A.A.P.P. Wibawa, dan I W. Wirawan. 2014. Isolasi dan Pemanfaatan Konsorsium Bakteri Lignoselulolitik Kolon Sapi Bali dan Sampah TPA sebagai Inokulan Biosuplemen Berprobiotik Peternakan Sapi Bali Berbasis Limbah Pertanian. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun I. Universitas Udayana, Denpasar
- Mudita, I M., I W. Wirawan, A.A.P.P. Wibawa, dan I G.N. Kayana. 2012. Penggunaan Cairan Rumen dan Rayap dalam Produksi Bioinokulan Alternatif serta Pemanfaatannya dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif dan Sustainable. Fakultas Peternakan Universitas Udayana

- Murti, T.W. 2010. Evaluasi Komposisi Kimia Susu Kambing Segar yang Difortifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Kehadiran Ekstrak Susu Kedelai. Semarang: Unika. Soegijapranata
- Ogimoto, K. dan S. Imai. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Poress, Tokyo
- Pathma, J. dan N. Sakthivel. 2012. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. Springer Plus. 1 (26) : 1-19
- Permana, 2015. Kandungan Nutrien dan Populasi Mikroba Inokulan yang Diproduksi dari Level Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*). Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Udayana.
- Permana, Y.A. 2008. Identifikasi Bakteri Aerob Pendegradasi Sampah Organik di TPA Sampah Benowo Surabaya. Tesis. Institut Teknologi Surabaya
- Rigobelo, E.C., dan F.A.D. Avila. 2012. Protective Effect of Probiotics Strain in Ruminants. Chapter 2. In Probiotic in Animal. Edited by Everlon Cid Rigobelo. Intech.
- Ross, G.D. 1984. Microbiology of Silage. Silage in The 80s. Proceeding of a National Workshop, Armidale, New South Wales, Australia.
- Sarkar, P., M. Meghvanshi dan R. Singh. 2011. Microbial consortium; a new approach in effective degradation of organic kitchen waste. International Journal of Environmenmtal Science and development. 2 (3) : 170-174
- Singh, B., Tej K. Bhat dan Bhupinder Singh. 2001. Exploiting gastrointestinal microbes for livestock and industrial development. Review. Asian-aust. J. Anim. Sci. 14 (4) : 567-586
- Todar, K., 2011. Fermentation of Food by Lactic Acid Bacteria. Todars Online Textbook of Bacteriology.
- Wahyudi, A., M.N. Cahyanto, M. Soejono, dan Z. Bachruddin. 2010. Potency of lignocellulose degrading bacteria isolated from buffalo and horse gastrointestinal tract and elephant dung for feed fiber degradation. J. Indonesian Trop. Anim.Agric. 35 (1) : 34-41