



**AKTIVITAS ENZIM LIGNOSELULASE INOKULAN YANG DIPRODUKSI DARI
BERBAGAI TINGKAT PENGGUNAAN CACING TANAH
(*Lumbricus rubellus*)**

Kusumajaya, K.D., I M. Mudita dan I N.S. Utama
Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar
E-mail: dodikusumajaya@yahoo.com Hp: 085792261300

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh peningkatan penggunaan cacing tanah terhadap aktivitas enzim *lignoselulase* dari inokulan serta tingkat penggunaan cacing tanah terbaik yang mampu menghasilkan inokulan dengan aktivitas enzim tertinggi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana selama 3 bulan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu inokulan yang diproduksi menggunakan 0,1% cacing tanah (BC1), inokulan yang diproduksi menggunakan 0,2% cacing tanah (BC2), inokulan yang diproduksi menggunakan 0,3% cacing tanah (BC3) dan inokulan yang diproduksi menggunakan 0,4% cacing tanah (BC4). Variable yang diamati pada penelitian ini adalah aktivitas enzim *lignase*, *selulase* dan *xylanase* pada 4 periode waktu inkubasi yaitu 30 menit, 1 jam, 2 jam dan 3 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan penggunaan cacing tanah dari 0,1% menjadi 0,2-0,4% dalam produksi inokulan dapat meningkatkan aktivitas enzim *lignase*, *selulase*, dan *xylanase* pada tiap periode waktu inkubasi dari inokulan yang diproduksi. Penggunaan tingkat cacing tanah 0,4% (BC4) mampu menghasilkan aktivitas enzim *lignase*, *selulase* dan *xylanase* yang tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) pada tiap waktu inkubasi (kecuali untuk aktivitas enzim selulase pada 3 jam inkubasi) dibandingkan dengan BC1. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa peningkatan penggunaan cacing tanah dapat meningkatkan aktivitas enzim *lignoselulase* serta penggunaan 0,4% cacing tanah mampu menghasilkan inokulan dengan aktivitas enzim *lignoselulase* tertinggi.

Kata Kunci: *Aktivitas Enzim Lignoselulase, Cacing Tanah, Inokulan, Waktu Inkubasi*

**LIGNOCELLULASE ENZYME ACTIVITY OF INOCULANT PRODUCE BY
DIFFERENT LEVEL OF EARTHWORM (*Lumbricus rubellus*)**

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the use of earthworms to the activity of the enzyme *lignoselulase* of inoculants and best use of earthworms levels capable of producing an inoculant with the highest enzyme activity. This research was conducted at the Laboratory of Animal Nutrition and Feed Faculty of Animal Husbandry Universitas Udayana for 3 months. The Research using a completely randomized design (CRD) 4 treatments and 3 replications. Treatments were inoculant are produced using 0.1% of earthworm (BC1), inoculant are produced using 0.2% of earthworm (BC2), inoculant are produced using 0.3% of earthworm (BC3) and inoculant are produced using 0.4%



earthworm (BC4). The variables were observed in this study was the enzyme activity of *lignase*, *cellulase* and *xylanase* in four periods of 30 minutes, 1 hour, 2 hours and 3 hours of incubation. The results showed that the increased use of earthworms from 0.1% to 0.2 to 0.4% in the production of inoculant can increase enzyme activity *lignase*, cellulase, and *xylanase* in each period of time incubation. The use of 0.4% earthworm level (BC4) was able to produce highest and significantly different ($P < 0.05$) of *lignase*, *cellulase* and *xylanase* enzyme activity at each time of incubation (except for *cellulase* enzyme activity at 3 hours incubation) compared with BC1. Based on the results research concluded that the increase of level earthworm can produce inoculant with higher lignocellulase enzyme activity and use 0.4% of earthworm can produce inoculant with highest *lignase*, *cellulase* and *xylanase* enzyme activity compared to others inoculant.

Key word: *Earthworm, Lignocellulase Enzyme Activity, Incubation Periods, Inoculant.*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan limbah dan gulma tanaman pangan sebagai pakan ternak untuk mengatasi masalah biaya pakan yang begitu tinggi dalam usaha peternakan merupakan salah satu alternatif solusi yang sangat mungkin untuk dilakukan. Dilihat dari segi nutrisi yang terkandung, limbah dan gulma tanaman pangan mempunyai kandungan nutrisi yang cukup bagi kebutuhan ternak. Dedak padi mempunyai kandungan protein kasar 7,6-13,8%, lemak kasar 3,7-14,1%, dan serat kasar 11,6-27,8% (Hartadi *et al.*, 2015). Hasil analisis kandungan nutrisi daun apu yang bersumber dari sawah, menunjukkan bahwa protein kasar daun apu sebesar 14,00%; serat kasar 19,71%; lemak kasar 1,54%; abu 19,70% dan kandungan energi termetabolisnya 1444,47 kkal/kg bahan (Sumaryono, 2003). Radjiman *et al.* (1999) menyatakan bahwa eceng gondok mempunyai kandungan protein kasar 13%, lemak kasar 1%, serat kasar 21,30% dan energi termetabolis 2.096,92 kkal/kg.

Walaupun mengandung nutrisi cukup, tetapi limbah maupun gulma tanaman pangan mempunyai kelemahan terkait dengan rendahnya nutrisi tersedia akibat kandungan serat kasar khususnya senyawa lignoselulosa yang tinggi dengan tingkat pencernaan yang rendah. Selain itu, limbah dan gulma tanaman pangan juga memiliki sifat yang mudah rusak dan mengandung berbagai senyawa anti nutrisi seperti lignin, silika, tannin, maupun asam sianida yang dapat menurunkan kualitas dari bahan pakan itu sendiri (Ginting, 2007). Oleh karena itu, upaya peningkatan pencernaan serat kasar khususnya senyawa lignoselulosa dari limbah dan gulma tanaman pangan melalui aplikasi teknologi



pengolahan pakan penting untuk dilakukan. Produksi inokulan melalui pemanfaatan cacing tanah sebagai sumber inokulan merupakan salah satu strategi yang potensial dikembangkan.

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) merupakan binatang yang mampu mendegradasi berbagai bahan organik karena dalam saluran pencernaannya mengandung konsorsium mikroba seperti bakteri, protozoa dan mikro fungi yang memproduksi enzim seperti *amilase*, *protease*, *selulase*, *chitinase*, dan *urease* (Pathma dan Sakthivel, 2012). Lebih lanjut diungkapkan mikroba cacing tanah mampu mendegradasi senyawa selulosa dan antinutrisi, memproduksi antibiotika dan *growth promotor*, serta menekan pertumbuhan dan aktivitas mikroba patogen. Antari (*unpublished*) menunjukkan isolat bakteri selulolitik asal cacing tanah mempunyai aktivitas enzim endoglukanase dan eksoglukanase cukup tinggi yaitu 0,031-0,059 U dan 0,044-0,074 U pada inkubasi 10 menit.

Pemanfaatan cacing tanah sebagai sumber inokulan diyakini mampu menghasilkan inokulan dengan kualitas khususnya kemampuan degradasi serat kasar yang tinggi. Perez *et al.* (2002) dan Howard *et al.* (2003) mengungkapkan bahwa degradasi serat kasar termasuk lignoselulosa dipengaruhi oleh kompleksitas ikatan lignoselulosa terutama kandungan lignin serta populasi, aktivitas dan produksi enzim dari mikroba yang bekerja. Mudita *et al.* (2012) mengungkapkan kualitas suatu inokulan sangat dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas sumber inokulan, populasi dan aktivitas mikroba serta produksi dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Semakin tinggi kualitas dan kuantitas penggunaan (level) sumber inokulan, populasi dan aktivitas mikroba serta aktivitas enzim yang dihasilkan semakin tinggi pula tingkat degradasi/kecernaan serat kasar yang dihasilkan. Hasil penelitian Putra *et al.* (2015) menunjukkan pemanfaatan 0,1-0,4% cacing tanah mampu menghasilkan inokulan dengan kandungan nutrisi dan populasi mikroba yang cukup tinggi. Juliartawan (*unpublished*) menambahkan inokulan yang diproduksi dari 0,1-0,4% cacing tanah mempunyai kemampuan degradasi substrat lignoselulosa yang cukup tinggi. Lebih lanjut diungkapkan, semakin tinggi level cacing tanah semakin tinggi pula kemampuan degradasi substrat *lignin dan xilan (hemiselulosa)* dari inokulan. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh penelitian Mudita (*unpublished*) yaitu penggunaan kombinasi berbagai bakteri lignoselulolitik asal rumen sapi bali dan rayap (BRmixTmix) menurunkan



degradasi lignoselulosa dibandingkan inokulan yang diproduksi dengan 1 jenis bakteri lignoselulolitik asal rumen dan/atau rayap. Kondisi ini disinyalir karena rendahnya aktivitas enzim *lignoselulase* yang dihasilkan akibat terjadinya kompetisi antar bakteri.

Aktivitas enzim *lignoselulase* (aktivitas enzim *lignase*, *selulase* dan/atau *hemiselulase*) sangat menentukan tingkat degradasi senyawa lignoselulosa dari suatu bahan pakan (Lo *et al.*, 2009; Howard *et al.*, 2003). Semakin tinggi aktivitas enzim *lignoselulase* semakin tinggi pula tingkat degradasi lignoselulosa yang dihasilkan (Wahyudi, 2009; Mudita *et al.*, 2012; 2013; 2014). Beberapa penelitian mengenai kualitas inokulan yang diproduksi dari berbagai tingkat penggunaan cacing tanah telah dilakukan khususnya terkait kandungan nutrisi, populasi mikroba dan kemampuan degradasi substrat (Putra, 2015; Juliartawan (*unpublished*). Mengingat hal itu penelitian untuk mengetahui tingkat aktivitas enzim *lignoselulase* dari inokulan yang diproduksi dari berbagai tingkat penggunaan cacing tanah penting untuk dilakukan.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Lama Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana Denpasar selama 3 bulan.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah :

BC1 = Inokulan yang diproduksi dari 0,1% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

BC2 = Inokulan yang diproduksi dari 0,2% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

BC3 = Inokulan yang diproduksi dari 0,3% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

BC4 = Inokulan yang diproduksi dari 0,4% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) yang digunakan sebagai sumber inokulan diperoleh dari areal Stasiun Penelitian Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Sebelum dimanfaatkan sebagai sumber inokulan, cacing tanah (*Lumbricus*



rubellus) terlebih dahulu dicuci bersih menggunakan aquades, selanjutnya dibuat menjadi larutan 10% menggunakan blender yaitu tiap 1 gram ditambahkan 9 ml NaCl 0,9%. Larutan cacing tanah yang telah homogen siap dimanfaatkan sebagai sumber inokulan.

Medium Inokulan dan Teknik Produksinya

Medium inokulan dibuat dari kombinasi bahan alami dan kimia (Tabel 1) yang dicampur homogen dan disterilisasi dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah mulai dingin (suhu $\pm 39^{\circ}\text{C}$) medium siap dimanfaatkan untuk produksi inokulan.

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

No.	Bahan penyusun	Komposisi
1	Thioglicolate (g)	1
2	Molases (g)	25
3	Urea (g)	1
4	Asam Tanat (g)	0,25
5	CMC (g)	0,25
6	Tepung Kedele (g)	1
7	Tepung Jagung (g)	1
8	Tepung daun Apu (g)	0,5
9	Tepung enceng gondok (g)	0,5
10	Tepung Tapioka (g)	0,5
11	Mineral-vitamin "Pignox" (g)	1
12	Air	hingga volumenya menjadi 1 liter

Inokulan dan Teknik Produksinya

Inokulan diproduksi dengan menginokulasikan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) (Larutan cacing tanah 10%) sesuai perlakuan pada medium inokulan (Tabel 2) secara *anaerob* (dialiri gas CO₂). Bakalan inokulan yang telah tercampur diinkubasi selama 7 hari pada suhu 39°C. Kandungan nutrisi, populasi mikroba dan kemampuan degradasi substrat dari inokulan disajikan pada Tabel 3-5. Inokulan yang telah jadi atau tumbuh selanjutnya dievaluasi aktivitas enzimnya.

Tabel 2 Komposisi inokulan dalam 1 Liter

Inokulan	Medium inokulan (ml)	Sumber inokulam (Larutan cacing tanah 10%) (ml)
BC 1	990	10
BC 2	980	20
BC 3	970	30
BC 4	960	40



Tabel 3 Kandungan nutrisi dari inokulan penelitian

Inokulan ¹	Kandungan Nutrien Inokulan					
	P	Ca	Zn	S	Protein Terlarut	pH
	g/l	g/l	g/l	g/l	%	
BC1	132,21 ^a	1275,00 ^a	7,29 ^a	227,33 ^a	4,03 ^a	3,81 ^a
BC2	149,95 ^b	1281,25 ^a	7,51 ^a	232,67 ^a	4,34 ^a	3,64 ^a
BC3	151,29 ^b	1242,50 ^a	7,76 ^a	232,67 ^a	4,39 ^a	3,53 ^a
BC4	132,47 ^a	1155,83 ^a	7,57 ^a	236,00 ^a	4,17 ^a	3,64 ^a
SEM	4,59	96,97	0,02	6,29	0,02	1,29

Sumber: Putra et al. (2015)

Tabel 4 Populasi Mikroba dari Inokulan Penelitian

POPULASI MIKROBA	INOKULAN				SEM ⁵
	BC1	BC2	BC3	BC4	
Total Bakteri ($\dots \times 10^9$ sel/ml)	7,77 ^a	8,85 ^a	8,88 ^a	9,40 ^a	0,43
Bakteri Lignolitik ($\dots \times 10^4$ sel/ml)	8,67 ^a	9,60 ^a	11,33 ^b	11,60 ^b	0,49
Bakteri Selulolitik ($\dots \times 10^8$ sel/ml)	1,18 ^a	1,35 ^a	1,73 ^a	1,76 ^a	0,14
Bakteri Xylanolitik ($\dots \times 10^8$ sel/ml)	4,53 ^a	7,20 ^b	8,13 ^{bc}	10,53 ^c	0,64
Bakteri Amilolitik ($\dots \times 10^8$ sel/ml)	6,60 ^a	6,87 ^a	7,37 ^a	6,73 ^a	0,91
Bakteri Proteolitik ($\dots \times 10^8$ sel/ml)	4,03 ^a	4,67 ^a	4,83 ^a	4,97 ^a	1,28
Total Fungi ($\dots \times 10^4$ sel/ml)	2,92 ^a	2,99 ^a	3,23 ^a	3,52 ^a	0,60

Sumber : 1) Putra et al. (2015)

2) Juliartawan (unpubhsied)

Tabel 5 Hasil uji kemampuan degradasi substrat dari inokulan yang diproduksi

No	Inokulan	Diameter Zone Bening (paper disc 0,6 cm)		
		As. Tanat	CMC	Xylan
1	BC1	0,813a	1,187a	1,233a
2	BC2	0,892ab	1,190a	1,247a
3	BC3	0,923ab	1,193a	1,250a
4	BC4	0,977b	1,277a	1,740b
	SEM ³	0,0260	0,0502	0,0939

Sumber : Juliartawan (unpubhsied)

Sarana dan Prasarana Penunjang

Sarana dan prasarana penunjang yang digunakan pada penelitian ini meliputi larutan NaCl 0,9%, medium pertumbuhan mikroba selektif (*thioglicollate medium*), buffer asetat 50 mM pH 5,5, larutan DNS, spektrofotometer uv-vis, stirrer, vortex, *laminar air flow*, *water bath*, incubator, mikropipet, pengaduk magnetik, autoklave, pipet otomatis, api bunsen, tanur, sentrifuge, lemari pendingin, *drough* timbangan elektrik, desikator, tabung reaksi, gelas ukur, kapas, gelas baker, erlenmeyer, ember, korek api, dan alat tulis.



Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Aktivitas Enzim *Lignase*, yaitu aktivitas enzim *lignase* pada waktu ke- 30 menit, 1 jam, 2 jam, dan 3 jam.
2. Aktivitas Enzim *Selulase*, yaitu aktivitas enzim *selulase* pada waktu ke- 30 menit, 1 jam, 2 jam, dan 3 jam.
3. Aktivitas Enzim *Xylanase*, yaitu aktivitas enzim *xylanase* pada waktu ke- 30 menit, 1 jam, 2 jam, dan 3 jam.

Teknik Evaluasi Aktivitas Enzim Inokulan

Aktivitas enzim dari inokulan yang dievaluasi adalah aktivitas enzim *lignase*, *selulase*, dan *xylanase* menggunakan peralatan spektrofotometer UV-Vis. Pengambilan ekstrak enzim dilakukan dengan cara mensentrifuse inokulan (2 kali) pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan ekstrak enzim bebas sel. Ekstrak enzim sesuai jenis mediumnya diuji pada beberapa substrat, masing-masing mengandung 1% Asam tanat/CMC/xylan dalam buffer asetat 50 mM, pH 5,5. Masing-masing larutan substrat dalam buffer diambil 8 ml, ditambahkan 1 ml sumber enzim dan 1 ml aquades. Campuran larutan digojok dalam inkubator bergoyang dan diukur aktivitasnya selama 30 menit, 1 jam, 2 jam dan 3 jam masing-masing dengan 3 kali ulangan. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung banyaknya produk yang dihasilkan dari reaksi enzim tersebut (Efiok, 1996). Produk yang diukur adalah gula reduksi (glukosa dari untuk sumber selulosa/CMC dan silosa dari sumber hemiselulosa/Xylan) serta vanilin untuk sumber lignin/asam tanat). Pengukuran produk yang dihasilkan dilakukan dengan cara sebagai berikut : Untuk gula reduksi, pengukuran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel ditambahkan pada 3 ml reagen dinitrosalisilat (DNS) dan 1 ml aquades (Miller, 1959), sedangkan untuk vanilin, pengukuran dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel ditambahkan pada 4 ml metanol, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang optimum dari masing-masing standar. Glukosa diukur pada panjang gelombang (λ) 508,5 nm ($Y=0,00622X + 0,14277$, $r^2 = 0,97$), silosa diukur pada λ 508 nm ($Y=0,00002X+0,20525$, $r^2=0,90$) dan vanilin diukur pada λ 508 nm ($Y=0,00635X+0,21098$, $r^2=0,92$) (Mudita *et al.*, 2013)



Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam. Apabila terdapat hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur/Honesty Significant Different/HSD (Sastrosupadi, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim *Lignase*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, aktivitas enzim *lignase* dari inokulan yang diproduksi dengan tingkat cacing tanah 0,1% (1 g/l) (BC1)) setelah diinkubasi selama 30 menit adalah 0,084 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% (BC2) mampu meningkatkan aktivitas enzim *lignase* sebesar 10,71% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P > 0,05$), sedangkan peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,3% dan 0,4% (BC3 dan BC4) mampu meningkatkan secara nyata ($P < 0,05$) aktivitas enzim *lignase* masing-masing sebesar 16,67% dan 17,86% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6).

Inokulan yang diproduksi dengan tingkat cacing tanah 0,1% (1g/l) (BC1) mempunyai aktivitas enzim *lignase* sebesar 0,058 U setelah diinkubasi selama 1 jam. Peningkatan penggunaan cacing tanah dalam produksi inokulan BC2, BC3 dan BC4 mampu meningkatkan aktivitas enzim *lignase* secara nyata ($P < 0,05$) masing-masing sebesar 88,97%, 88,28%, dan 87,76% dibandingkan dengan BC1. Pada tabel tersebut juga tampak bahwa penggunaan 0,4% cacing tanah (BC4) mampu menghasilkan aktivitas enzim *lignase* tertinggi yang berbeda nyata dengan BC1 dan BC2, namun berbeda tidak nyata dengan BC3 (Tabel 6).

Setelah diinkubasi selama 2 jam, aktivitas enzim *lignase* dari inokulan BC1 adalah 0,038 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2%, 0,3% dan 0,4% (BC2, BC3 dan BC4) mampu meningkatkan nyata ($P < 0,05$) masing-masing sebesar 18,42% dan 26,32% dibandingkan dengan BC1. Pada tabel tersebut juga tampak bahwa penggunaan 0,4% cacing tanah (BC4) mampu menghasilkan aktivitas enzim *lignase* tertinggi yang berbeda nyata dengan inokulan lainnya (Tabel 6).



Tabel 6 Aktivitas enzim dari inokulan yang diproduksi menggunakan berbagai tingkat cacing tanah berbeda

Variable ¹	Inokulan ¹				SEM ³
	BC1	BC2	BC3	BC4	
Aktivitas Enzim <i>Lignase</i> (Unit)					
30 Menit	0,084 ^{a2}	0,093 ^{ab}	0,098 ^b	0,099 ^b	0,0029
1 Jam	0,058 ^a	0,064 ^b	0,068 ^{bc}	0,071 ^c	0,0011
2 Jam	0,038 ^a	0,045 ^b	0,048 ^b	0,051 ^c	0,0006
3 jam	0,031 ^a	0,032 ^a	0,038 ^b	0,039 ^b	0,0006
Aktivitas Enzim <i>Selulase</i> (Unit)					
30 Menit	0,004 ^a	0,005 ^a	0,008 ^a	0,015 ^b	0,0011
1 Jam	0,024 ^a	0,026 ^a	0,028 ^b	0,029 ^b	0,0004
2 Jam	0,022 ^a	0,024 ^{ab}	0,025 ^b	0,027 ^c	0,0004
3 jam	0,021 ^a	0,021 ^a	0,023 ^a	0,023 ^a	0,0007
Aktivitas Enzim <i>Xylanase</i> (Unit)					
30 Menit	1,766 ^a	2,539 ^{ab}	2,649 ^{ab}	4,490 ^b	0,5143
1 Jam	9,308 ^a	11,534 ^b	13,429 ^c	14,643 ^c	0,3283
2 Jam	10,081 ^a	10,633 ^{ab}	10,771 ^{ab}	11,376 ^b	0,1659
3 jam	8,223 ^a	8,468 ^a	8,710 ^b	8,959 ^b	0,0699

Keterangan: Hasil analisis Lab. Analitik UNUD

1) Perlakuan yang diberikan (Jenis inokulan yang diproduksi)

BC1 = Inokulan yang diproduksi dari 0,1% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

BC2 = Inokulan yang diproduksi dari 0,2% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

BC3 = Inokulan yang diproduksi dari 0,3% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

BC4 = Inokulan yang diproduksi dari 0,4% (b/v) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*)

2) Nilai dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$).

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

Setelah diinkubasi selama 3 jam, aktivitas enzim *lignase* BC1 adalah 0,031 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% (BC2) mampu meningkatkan nyata sebesar 3,23% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,3% dan 0,4% (BC3 dan BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *lignase* secara nyata ($P < 0,05$) masing-masing sebesar 22,58% dan 25,81% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6).

Penggunaan 0,1-0,4% cacing tanah mampu menghasilkan inokulan yang mempunyai aktivitas enzim *lignase* yang cukup tinggi yaitu 0,084-0,099 U; 0,058-0,071 U; 0,038-0,051 U; dan 0,031-0,039 U masing-masing setelah kontak selama 30 menit, 1 jam, 2 jam dan 3 jam dengan substrat asam tanat (sumber lignin) (Tabel 6). Hal ini menunjukkan inokulan yang dihasilkan mempunyai kemampuan mendegradasi lignin (asam tanat) menjadi komponen penyusunnya yaitu senyawa fenol aromatik (dalam



analisis ini berupa vanilin) mengingat analisis aktivitas enzim ini dilakukan dengan cara mengukur konsentrasi vanilin yang terbentuk dari pemecahan asam tanat sebagai sumber lignin (Efiok, 1996). Adanya aktivitas enzim *lignase* pada keempat inokulan disebabkan juga oleh adanya bakteri lignolitik dan total fungi yang cukup tinggi (Tabel 4) yang mampu menghasilkan enzim *lignase* yang akan mendegradasi lignin menjadi komponen penyusunnya. Disamping itu, fungi juga mempunyai hifa yang mampu merenggangkan ikatan lignoselulosa sehingga lignin menjadi lebih mudah didegradasi (Perez *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003).

Peningkatan penggunaan cacing tanah dari 0,1 menjadi 0,2-0,4% mampu meningkatkan aktivitas enzim *lignase* dari inokulan yang diproduksi serta penggunaan cacing tanah 0,4% (BC4) mampu menghasilkan aktivitas enzim tertinggi pada setiap periode waktu kontak dengan substrat sumber lignin (Tabel 6). Hal ini menunjukkan peningkatan penggunaan cacing tanah yang disertai terjadinya peningkatan populasi bakteri lignolitik dan total fungi (Tabel 4) mampu memproduksi enzim *lignase* lebih tinggi sehingga aktivitas enzim *lignase* juga meningkat. Pada Tabel tersebut juga tampak bahwa inokulan BC4 mempunyai populasi bakteri lignolitik dan total fungi tertinggi sehingga aktivitas enzim yang dihasilkanpun juga tertinggi. Akin dan Benner (1988) mengungkapkan populasi mikroba lignolitik (khususnya bakteri dan fungi) memegang peranan penting dalam degradasi lignin. Semakin tinggi populasi mikroba yang bekerja secara sinergis akan semakin tinggi aktivitas enzim yang dihasilkan. Hal ini secara nyata tampak dengan adanya degradasi substrat asam tanat tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,5$) pada inokulan BC4 dibandingkan BC1 (Tabel 6).

Keempat inokulan (BC1, BC2, BC3 dan BC4) mempunyai aktivitas enzim *lignase* tertinggi pada 30 menit awal kontak dengan substrat sumber lignin (asam tanat) yang semakin menurun seiring waktu kontak dengan substrat (Tabel 6). Hal ini kemungkinan besar disebabkan karena lignin merupakan senyawa kompleks yang sangat sulit terdegradasi sehingga enzim yang diproduksi dipaksa bekerja secara optimal diawal kontak yang akhirnya menyebabkan kemampuan aktivitas enzim akan semakin menurun seiring dengan waktu dari aktivitas enzim bersangkutan. Hal ini kemungkinan juga disebabkan karena degradasi senyawa lignin umumnya membutuhkan kerja kompleks enzim *lignase*



yang terdiri dari lignin peroksidase/Li-P, mangan peroksidase/Mn-P dan lakase/Lac yang bekerja secara sinergis. Ketiadaan salah satu enzim akan mengakibatkan aktivitas enzim terganggu/menurun (Perez *et al.*, 2002). Kondisi ini kemungkinan terjadi pada inokulan yang diproduksi mengingat tidak semua mikroba mampu menghasilkan semua kompleks enzim lignase dengan baik. Martini *et al.* (2003) mengungkapkan setiap mikroba menghasilkan enzim yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Prabowo *et al* (2007) juga mengungkapkan penggunaan 1 jenis mikroba/sumber mikroba akan menghasilkan aktivitas enzim lebih rendah dari pada penggunaan kombinasi mikroba. Sehingga penggunaan 1 sumber inokulan pada penelitian ini yaitu cacing tanah belum mampu menghasilkan semua kompleks enzim *lignase* (Li-P, Mn-P dan/atau Lac) sehingga aktivitas enzim tinggi berkesinambungan tidak terjadi.

Aktivitas Enzim *Selulase*

Aktivitas enzim *selulase* dari inokulan yang diproduksi dengan tingkat cacing tanah 0,1% (1 g/l) (BC1)) setelah diinkubasi selama 30 menit adalah 0,004 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% dan 0,3% (BC2, BC3) mampu meningkatkan masing-masing sebesar 25,00% dan 100% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,4% (BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *selulase* secara nyata ($P<0,05$) sebesar 275% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6). Setelah diinkubasi selama 1 jam, aktivitas enzim *selulase* BC1 adalah 0,024 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,3 dan 0,4% (BC3, BC4) mampu meningkatkan secara nyata ($P<0,05$) masing-masing sebesar 16,67% dan 20,83% dibandingkan dengan BC1, sedangkan peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% (BC2) mampu meningkatkan aktivitas enzim *selulase* sebesar 8,33% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P>0,05$) (Tabel 6).

Setelah diinkubasi selama 2 jam, aktivitas enzim *selulase* BC1 adalah 0,022 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% (BC2) mampu meningkatkan aktivitas enzim *selulase* sebesar 9,09%, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,3% dan 0,4% (BC3 dan BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *selulase* secara nyata ($P<0,05$) masing-masing sebesar 13,64% dan 22,73% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6). Setelah diinkubasi



selama 3 jam, aktivitas enzim *selulase* BC1 adalah 0,021 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2%, 0,3% dan 0,4% (BC2, BC3 dan BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *selulase* masing-masing sebesar 0,00%, 9,52 dan 9,52% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) (Tabel 6).

Terhadap aktivitas enzim *selulase*, hasil penelitian menunjukkan penggunaan 0,1-0,4% (b/v) cacing tanah mampu menghasilkan inokulan dengan aktivitas enzim selulase cukup tinggi yaitu 0,004-0,0015 U; 0,024-0,029 U; 0,022-0,027 U dan 0,021-0,023 U masing-masing setelah inkubasi (kontak) selama 30 menit; 1 jam; 2 jam dan 3 jam dengan substrat carboxy methyl cellulose/CMC (sumber selulosa). Dihasilkannya aktivitas enzim *selulase* oleh keempat inokulan pada setiap periode waktu pengamatan menunjukkan penggunaan 0,1-0,4% (b/v) cacing tanah cukup efektif untuk menghasilkan inokulan yang mampu mendegradasi selulosa menjadi komponen penyusunnya yaitu glukosa. Hal ini disebabkan adanya bakteri selulolitik pada keempat inokulan (Tabel 4) yang mampu menghasilkan enzim selulase yang berperan dalam degradasi selulosa menjadi glukosa (Perez *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003). Hal ini secara nyata tampak dengan adanya degradasi substrat CMC oleh keempat inokulan (Tabel 5) yang lebih menegaskan dihasilkannya aktivitas enzim *selulase* oleh inokulan yang diproduksi.

Peningkatan penggunaan cacing tanah dari 0,1 menjadi 0,2-0,4% mampu meningkatkan aktivitas enzim *selulase* serta penggunaan 0,4% cacing tanah menghasilkan aktivitas enzim tertinggi pada periode waktu 30 menit sampai 2 jam, sedangkan setelah kontak selama 3 jam aktivitas enzim keempat inokulan menjadi berbeda tidak nyata (Tabel 6). Hal ini kemungkinan sebagai akibat secara kuantitatif terjadi peningkatan populasi bakteri selulolitik, akibat peningkatan penggunaan cacing tanah sebagai sumber inokulan dan inokulan BC4 mempunyai populasi bakteri selulolitik secara kuantitatif tertinggi (Tabel 4). Adanya peningkatan secara kuantitatif populasi bakteri selulolitik akan meningkatkan produksi enzim dan aktivitas enzim yang dihasilkan yang berperan dalam degradasi selulosa menjadi glukosa. Lo *et al.* (2009) mengungkapkan bahwa populasi dan spesies bakteri akan menentukan kualitas aktivitas enzim yang dihasilkan. Semakin tinggi populasi bakteri apalagi spesies bakteri yang mempunyai kualitas enzim baik akan semakin tinggi pula aktivitas enzim yang dihasilkan.



Aktivitas enzim dari tiap inokulan tertinggi diperoleh setelah inkubasi (kontak) dengan substrat selama 1 jam setelah itu aktivitas enzim tiap inokulan mulai menurun (Tabel 6). Hal ini menunjukkan periode kontak 1 jam merupakan waktu yang optimal dari aktivitas enzim dari tiap inokulan yang diproduksi, setelah periode waktu tersebut kerja enzim sudah mulai jenuh dan/atau produk hasil degradasi dari enzim yang sebelumnya tidak dilanjutkan oleh aktivitas enzim yang lain sehingga kerja enzim menjadi terganggu. Hal ini didukung Susanti (2011) yang menyatakan bahwa apabila waktu reaksi enzimatik telah mencapai optimum dalam menghasilkan produk maka aktivitas enzim mengalami penurunan dengan penambahan waktu inkubasi. Kondisi ini sangat mungkin terjadi mengingat selulosa merupakan senyawa kompleks dimana degradasi secara sempurna hanya dapat dilakukan tatkala enzim yang bekerja juga merupakan kompleks enzim yang minimal terdiri dari 3 jenis enzim selulase yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan glukosidase. Ketiadaan salah satu dan/atau konsentrasi yang tidak seimbang akan mengganggu aktivitas kerja enzim secara keseluruhan (Perez *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003).

Aktivitas Enzim Xylanase

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim *xylanase* dari inokulan yang diproduksi dengan tingkat cacing tanah 0,1% (1 g/l) (BC1)) setelah diinkubasi selama 30 menit adalah 1,766 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% dan 0,3% (BC2 dan BC3) mampu meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* masing-masing sebesar 43,77% dan 50% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,4% (BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* secara nyata ($P < 0,05$) sebesar 154,25% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6).

Setelah diinkubasi selama 1 jam, aktivitas enzim *xylanase* BC1 adalah 9,308 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2%, 0,3% dan 0,4% (BC2, BC3 dan BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* secara nyata ($P < 0,05$) masing-masing sebesar 23,91% , 44,27% dan 57,32% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6). Setelah diinkubasi selama 2 jam, aktivitas enzim *xylanase* BC1 adalah 10,081 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2 dan 0,3% (BC2 dan BC3) mampu meningkatkan



aktivitas enzim *xylanase* masing-masing sebesar 5,48% dan 6,84% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,4% (BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* secara nyata ($P<0,05$) sebesar 12,85% dibandingkan dengan BC1, (Tabel 6).

Setelah diinkubasi selama 3 jam, aktivitas enzim *xylanase* BC1 adalah 8,223 U. Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,2% (BC2) mampu meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* sebesar 2,98% dibandingkan dengan BC1, namun secara statistik berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Peningkatan penggunaan cacing tanah menjadi 0,3% dan 0,4% (BC3, BC4) mampu meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* secara nyata ($P<0,05$) masing-masing sebesar 5,92% dan 8,95% dibandingkan dengan BC1 (Tabel 6).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan 0,1-0,4% cacing tanah mampu menghasilkan inokulan dengan aktivitas enzim *xylanase* yang tinggi yaitu 1,766-4,490 U; 9,308-14,643 U; 10,081-11,376 U dan 8,223-8,959 U masing-masing periode inkubasi 30 menit, 1 jam, 2jam dan 3 jam pada substrat xylan (Tabel 6). Tingginya aktivitas enzim *xylanase* inokulan sejalan dengan tingginya populasi bakteri xylanolitik dari inokulan yang diproduksi (Tabel 4). Lo *et al.* (2009) mengungkapkan bahwa populasi bakteri akan menentukan aktivitas enzim yang dihasilkan. Semakin tinggi populasi bakteri semakin tinggi pula aktivitas enzim yang dihasilkan.

Peningkatan penggunaan cacing tanah dari 0,1 menjadi 0,2 sampai 0,4% akan meningkatkan aktivitas enzim *xylanase* inokulan yang diproduksi serta penggunaan 0,4% cacing tanah menghasilkan inokulan dengan aktivitas enzim *xylanase* yang tertinggi. Hal ini juga sejalan dengan populasi bakteri xylanolitik dari inokulan yang diproduksi yang menunjukkan semakin tinggi jumlah/konsentrasi cacing tanah yang dipakai akan semakin tinggi pula populasi bakteri xylanolitik dan kemampuan degradasi substrat xylan yang dihasilkan (Tabel 4 dan 5). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Bansal *et al.* (2012) yang menunjukkan peningkatan populasi bakteri *Bacillus subtilis* NS7 akan meningkatkan pula aktivitas kompleks enzim *xylanase-selulase* yang dihasilkan. Hasil penelitian Mudita *et al.* (2012) juga menunjukkan peningkatan penggunaan cairan rumen dan rayap akan meningkatkan populasi bakteri lignoselulolitik (lignolitik, selulolitik dan



xylanolitik), aktivitas enzim dan kemampuan degradasi substrat lignoselulosa yang dihasilkan.

Secara umum waktu inkubasi optimum terjadi pada 1 jam kontak dengan substrat xylan (kecuali inokulan BC1). Hal ini menunjukkan waktu 1 jam merupakan waktu optimum untuk kerja enzim dari inokulan dalam mendegradasi substrat kompleks menjadi komponen penyusunnya. Setelah waktu tersebut, rata-rata aktivitas enzim mulai menurun sebagai akibat kerja enzim yang mulai jenuh dan/atau ketidakseimbangan produksi tiap komponen kompleks enzim *xylanase* yang dihasilkan. Coughlan and Hazlewood (1993) mengungkapkan bahwa degradasi sempurna dari xilan yang merupakan heteropolisakarida membutuhkan enzim-enzim yang bekerja secara sinergis, seperti *endo-1,4- β -xylanase*, *1,4- β -xilosidase*, *α -glukuronidase*, *α -L-arabinofuranosidase*, *asetil*, *feruloil*, *p-kumaril-esterase* dan *asetil-esterase*. Enzim *endo-1,4- β -xylanase* bertugas menghidrolisis ikatan β -1,4 dalam rantai silan menghasilkan silooligomer pendek yang selanjutnya akan dihidrolisis menjadi unit silosa tunggal oleh *β -silosidase*. Enzim *α -D-glukorosidase* menghidrolisis ikatan α -1,2-glikosidik dari asam 4-O-metil-D-glukoronik rantai samping silan. *Asetil esterase* menghidrolisis substitusi asetil pada silosa dan *feruloil esterase* yang menghidrolisis ikatan ester antara substitusi arabinosa dan asam ferulik. *Feruloil esterase* dapat melepaskan hemiselulosa dari lignin dan sehingga lebih mudah didegradasi oleh *hemiselulase* lain.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Peningkatan penggunaan cacing tanah dalam produksi inokulan mampu meningkatkan aktivitas enzim *lignoselulase*, seperti *lignase*, *selulase* dan *xylanase* yang dihasilkan
2. Penggunaan 0,4% cacing tanah mampu menghasilkan inokulan dengan aktivitas enzim *lignoselulase* yang tertinggi

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada kepada Dekan Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang sudah memberikan fasilitas dan dukungan selama mengikuti perkuliahan. Terima kasih kepada seluruh dosen Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang sudah memberikan pengetahuan dan pengalman selama perkuliahan.



DAFTAR PUSTAKA

- Akin, D. E., and R. Benner. 1988. Degradation of Polysaccharides and Lignin by ruminal Bacteria and Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*; 1117-1125.
- Bansal, N., R. Soni, C. Janveja, and S. K. Soni. 2012. Production of Xylanase-Cellulase Complex by *Bacillus subtilis* NS7 for The Biodegradation of Agro-Waste Residues. Peer Reviewed Article. *Lignocellulose* 1 (3); 196-209.
- Coughlan, M.P. and G.P. Hazlewood. 1993. β -1,4-D-Xylan-degrading enzyme systems: Biochemistry, molecular biology, and applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 17:259-289.
- Efiok, B. J. S. 1996. Basic Calculation for Chemical and Biological Analysis. AOAC International, Maryland, USA.
- Ginting, S.P., 2007. Tantangan dan Peluang Pemanfaatan Pakan Lokal Untuk Pengembangan Peternakan Kambing di Indonesia. Materi Loka Penelitian Kambing Potong Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Diakses 11/12/2015 dikutip dari [Http://Peternakan.litbang.deptan.go.id](http://Peternakan.litbang.deptan.go.id).
- Hartadi, H., S. Reksohadiprodjo, A. D. Tillman. 2015. Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia. Cetakan Kelima. Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta
- Howard, R. L., E. Abotsi, J. V. Rensburg, and Howards. 2003. lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion and enzyme Production. *African Journal of biotechnology* 2:6002-619. Available from: URL: [Http://www.vtt.fi/inf/pdf](http://www.vtt.fi/inf/pdf) [cited 2008, February 25].
- Lo, Y. C., G. D. Saratale, W. M. Chen, M. D. Bai, J. S. Chang. 2009. Isolation of cellulosehydrolytic bacteria and applications of the cellulolytic enzymes for cellulosic biohydrogen production. *Enzyme and Microbial Technology Journal* 44; (6-7); 417 – 425.
- Martini, E., N. Haedar dan S. Margino. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Lignin dari Beberapa Substrat Alami. *Gama Sains* V (2): 32-35.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic Acid reagent. Method for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
- Mudita, I M., A.A.P.P.Wibawa, I W. Wirawan dan I G. N. Kayana . 2013a. Penggunaan Cairan Rumen dan Rayap dalam Produksi Bioinokulan Alternatif Serta Pemanfaatannya dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif Dan Sustainable. Penelitian Lanjutan Hibah Unggulan Perguruan Tinggi. Fakultas Peternakan Universitas Udayana.



- Mudita, I M., I W. Wirawan, A. A. P. P. Wibawa, I G. N. Kayana. 2012. Penggunaan Cairan Rumen dan Rayap dalam Produksi Bioinokulan Alternatif serta Pemanfaatannya dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif dan Sustainable. Laporan Penelitian Hibah Unggulan Perguruan Tinggi. Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar.
- Mudita, I M., I W. Wirawan, dan I. B. G. Partama. 2013b. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Lignoselulolitik Limbah Isi Rumen Dan Rayap Dalam Formulasi Inokulan Fermentasi Limbah Sistem Pertanian Terintegrasi. Laporan Penelitian Hibah Unggulan Perguruan Tinggi. Fakultas Peternakan Universitas Udayana.
- Mudita, I M., I. Wirawan, A. A. P. P. Wibawa, dan I. B. G. Partama. 2014. Kemampuan Degradasi Senyawa Lignoselulosa dari Isolat Bakteri Limbah Isi Rumen Sapi Bali. Prosiding Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian. Universitas Mahasaraswati. Denpasar 27 – 28 Februari 2014. Hal. 590-600.
- Pathma, J. and N. Sakthivel. 2012. Microbial Diversity of Vermicompost bacteria that Exhibit Useful Agricultural Traits and Waste Management Potential. SpringerPlus. Vol. 1(26);1-19.
- Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. De la Rubia, and J. Martinez. 2002. Biodegradation and Biological Treatment of Cellulose, Hemicellulose and Lignin; an overview. Int. Microbial, 5: 53-56.
- Prabowo, A., S. Padmowijoto, Z. Bachrudin, dan A. Syukur. (2007). Potensi Mikrobia Selulolitik Campuran dari Ekstrak Rayap, Larutan Feses Gajah dan Cairan Rumen Kerbau. J. Indon. Trop. Anim. Agric. 32[3] Sept. 2007.
- Putra, I K. P. 2015. Kandungan Nutrien Dan Populasi Mikroba Inokulan Yang Diproduksi Dari Level Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) Berbeda. Skripsi Fakultas Peternakan, Universitas Udayana.
- Radjiman, D. A., T. Sutardi dan L. E. Aboenawan. 1999. Efek Substitusi Rumput Gajah dengan Eceng Gondok dalam Ransum Domba terhadap Kinerja proses Nutrisi dan Pertumbuhan. Laporan Penelitian, fakultas peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Sastrosupadi, A., 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisus. Yogyakarta.
- Sumaryono. 2003. Kajian Penggunaan Tepung Kayu Apu (*Pistia Stratiotes*) dalam Ransum dan Pengaruhnya terhadap Komposisi Fisik Karkas Ayam Kampung Umur 11 Minggu. Skripsi, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar.



e-Journal
FADET UNUD

e-Journal
Peternakan Tropika

Journal of Tropical Animal Science
email: peternakantropika_ejournal@yahoo.com
email: jurnaltropika@unud.ac.id



Universitas
Udayana

Susanti, 2011. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Sistem Selulase dari *Bacillus circulans* strain Lokal dengan Induser Avicel. *Jurnal Ilmu Dasar* Vol. 12 No. 1: 40 – 49.

Wahyudi, A. 2009. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri serta Jamur Lignoselulolitik Saluran Pencernaan Kerbau, Kudan dan Feses Gajah. Hibah Penelitian Doktor. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.