



Submitted Date: January 14, 2020

Editor-Reviewer Article: A.A. Pt. Putra Wibawa & Eny Puspani

Accepted Date: January 22, 2021

## SIFAT FISIK, KECERNAAN DAN PRODUK METABOLIT SECARA *IN-VITRO* DARI BIOSUPLEMEN MENGGUNAKAN BIOKATALIS BAKTERI LIGNOSELULOLITIK

Rohman, M. F., I. B. G. Partama, dan I. M. Mudita

PS Sarjana Peternakan Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

Email: [fatkhurrohman@student.unud.ac.id](mailto:fatkhurrohman@student.unud.ac.id), Telepon 082244108805

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisik, pencernaan, dan produk metabolit secara *in-vitro* dari biosuplemen yang menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik. Studi ini dilaksanakan di Farm Sesetan dan Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang dilakukan mulai bulan Januari-Maret 2020. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri atas 6 perlakuan yaitu biosuplemen tanpa biokatalis bakteri lignoselulolitik sebagai kontrol (BS0), menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR<sub>4</sub>LG (BS1), menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR<sub>2</sub>CL (BS2), menggunakan biokatalis bakteri *Aneurinibacillus* sp. BT<sub>4</sub>LS (BS3), menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus* sp. BT<sub>3</sub>CL (BS4), dan menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus* sp. BT<sub>8</sub>XY (BS5). Masing-masing perlakuan terdapat 3 ulangan. Variabel yang diamati yaitu sifat fisik, pencernaan, dan produk metabolit. Data dianalisis menggunakan sidik ragam. Hasil penelitian menunjukkan, perlakuan BS2 secara kuantitatif menghasilkan densitas dan daya serap air tertinggi masing-masing sebesar 0,50 g/ml dan 135,05% ( $P > 0,05$ ) dan menghasilkan KcBK tertinggi sebesar 71,07% ( $P < 0,05$ ). Perlakuan BS3 menghasilkan KcBO dan VFA Total tertinggi masing-masing sebesar 71,35% dan 189,89 mM ( $P < 0,05$ ). Perlakuan BS4 menghasilkan N-NH<sub>3</sub> tertinggi sebesar 16,73 mM ( $P < 0,05$ ). Perlakuan BS5 secara kuantitatif menghasilkan daya larut air sebesar 75,27% ( $P > 0,05$ ). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan biokatalis bakteri lignoselulolitik tidak dapat meningkatkan sifat fisik, tetapi mampu meningkatkan pencernaan bahan kering serta bahan organik secara *in-vitro* dan produk metabolit (VFA dan N-NH<sub>3</sub>) dari biosuplemen. Biokatalis bakteri terbaik dalam penelitian ini adalah *Aneurinibacillus* sp. BT<sub>4</sub>LS karena mampu menghasilkan KcBO dan VFA Total tertinggi.

**Kata Kunci:** biokatalis bakteri lignoselulolitik, biosuplemen, pencernaan, produk fermentasi rumen, dan sifat fisik

# PHYSICAL PROPERTIES, DIGESTIBILITY AND METABOLITE PRODUCTS *IN-VITRO* FROM BIOSUPPLEMENTS USING LINOCELLULOLITIC BACTERIAL BIOCATALYSTS

## ABSTRACT

This study aims to determine the physical properties, digestibility, and metabolite products *in-vitro* of biosupplements using lignocellulolytic bacterial biocatalysts. This study was conducted at the Sasetan Farm and the Laboratory of Animal Nutrition and Forage, Faculty of Animal Husbandry, Udayana University, which was conducted from January to March 2020. The design used was a completely randomized design (CRD) consisting of 6 treatments, namely biosupplement without biocatalysts of lignocellulolytic bacteria as control (BS0), using the bacterium *Bacillus subtilis* BR4LG (BS1) biocatalyst, using the bacterial *Bacillus subtilis* BR2CL (BS2) biocatalyst, using the *Aneurinibacillus* sp. bacterial biocatalyst. BT4LS (BS3), using a bacterial biocatalyst *Bacillus* sp. BT3CL (BS4), and using a bacterial biocatalyst *Bacillus* sp. BT8XY (BS5). Each treatment had 3 replications. The variables observed were physical properties, digestibility, and metabolite products. Data were analyzed using variance. The results showed that quantitative BS2 treatment resulted in the highest density and water absorption of 0.50 g / ml and 135.05%, respectively ( $P > 0.05$ ) and resulted in the highest KcBK of 71.07% ( $P < 0.05$ ). The BS3 treatment resulted in the highest KcBO and VFA total, respectively 71.35% and 189.89 mM ( $P < 0.05$ ). BS4 treatment resulted in the highest N-NH<sub>3</sub> of 16.73 mM ( $P < 0.05$ ). Quantitative BS5 treatment resulted in water solubility of 75.27% ( $P > 0.05$ ). Based on the results of the study, it can be concluded that the use of lignocellulolytic bacterial biocatalysts could not improve physical properties, but was able to increase the *in-vitro* digestibility of dry matter and organic matter and metabolite products (VFA and N-NH<sub>3</sub>) from biosupplements. The best bacterial biocatalyst in this study was *Aneurinibacillus* sp. BT4LS for being able to produce the highest KcBO and VFA Total.

**Keywords:** *lignocellulolytic bacterial biocatalysts, biosupplement, digestibility, rumen fermentation products, and physical characteristics*

## PENDAHULUAN

Pengembangan usaha peternakan ditujukan untuk penyediaan pangan khususnya pangan hewani bagi masyarakat serta sebagai mata pencaharian sebagai sumber penghasilan bagi masyarakat. Sementara itu pengembangan usaha peternakan sering menghadapi berbagai permasalahan terutama kesediaan pakan sepanjang tahun. Pada saat musim kemarau peternak kesulitan untuk mencari pakan ternak, penyediaan pakan yang berkualitas dalam jumlah yang cukup menjadi salah satu kendala dalam pengembangan usaha peternakan. Hal ini disebabkan oleh semakin sempitnya lahan untuk penanaman hijauan pakan dan mahalny harga bahan pakan (konvensional) dalam negeri yang umumnya dipakai peternak. Menurut Lahay dan

Rinduwati (2007), sumber pakan sebaiknya memenuhi kriteria yaitu murah, berkesinambungan, mempunyai nilai gizi yang tinggi dan tidak bersaing dengan kebutuhan manusia

Pemanfaatan sumber daya lokal asal limbah agroindustri maupun limbah pertanian sebagai bahan pakan kurang optimal mengingat adanya senyawa anti nutrisi yang dapat menurunkan kualitas pakan yang dihasilkan. Disamping itu bahan pakan asal limbah mempunyai kualitas baik fisik, kimia maupun biologis yang rendah sebagai akibat tingginya kandungan serat kasar serta rendahnya kandungan nutrisi mudah terfermentasi/*ready fermentable* dan mineral-vitamin seperti Ca, P, Mg, Cu, Zn, Co, Mn, Fe, S serta vitamin A maupun E (Kaunang, 2004; Mudita, 2008). Aplikasi teknologi fermentasi terbukti mampu menurunkan kandungan serat kasar (8,36-14,41%) serta meningkatkan kualitas fisik, kimia maupun biologis dari bahan pakan berbasis sumber daya lokal asal limbah (Mudita dan Wibawa, 2008). Untuk mengatasi permasalahan tingginya kandungan serat kasar khususnya senyawa lignoselulosa serta rendahnya pencernaan pakan dari sumber daya lokal asal limbah, pemanfaatan bakteri lignoselulolitik sebagai biokatalis dalam proses fermentasi sumber daya lokal asal limbah sangat diperlukan.

Bakteri lignoselulolitik merupakan bakteri pendegradasi lignoselulosa yang terdiri atas bakteri pendegradasi lignin, selulosa dan/atau hemiselulosa. Bakteri ini menghasilkan kompleks enzim *lignoselulase* yang terdiri atas *lignase* (terutama *lignin-peroksidase/Li-P*, *mangan-peroksidase/Mn-P* dan *lacase/Lac*), *selulase* (*endo-β-glukanase*, *eksoglukanase*, dan *β-glukosidase*), dan *hemiselulase* (*xilanase* dan *mannanase*) (Perez *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003). Mudita (2019) telah berhasil mengisolasi dan menyeleksi bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali dan rayap yang mempunyai kemampuan merombak senyawa lignoselulosa serta menghasilkan aktivitas enzim lignoselulase tinggi, yaitu *Bacillus substilis BR<sub>4</sub>LG*, *Bacillus substilis BR<sub>2</sub>CL*, *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS*, *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL*, dan *Bacillus sp. BT<sub>8</sub>XY*.

Pemanfaatan bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali dan rayap sebagai biokatalisator pengolah limbah diyakini mempunyai potensi yang cukup tinggi. Studi pemanfaatan cairan rumen sapi dalam produksi inokulan (biokatalis cair) menunjukkan penggunaan 5-20% cairan rumen sapi bali (*As feed*) menghasilkan bioinokulan dengan kandungan nutrisi dan populasi mikroba yang tinggi. Mudita *et al.* (2012) juga telah mengaplikasikan inokulan *Bali-bio* (inokulan yang diproduksi dari cairan rumen sapi bali)

maupun *Bio BaliTani* (inokulan yang diproduksi dari cairan rumen sapi bali dan rayap) pada pengabdian masyarakat sebagai starter pengolah limbah baik untuk produksi silase pakan ternak maupun produksi pupuk organik pada kelompok ternak sapi bali di Desa Abiantuwung (2011) dan di Desa Banjarangkan (2012) yang telah menunjukkan hasil yang cukup positif. Inokulan yang diaplikasikan mampu berperan baik sebagai starter fermentasi limbah peternakan tersebut yang ditunjukkan dengan dihasilkannya pakan dan pupuk organik yang cukup berkualitas (Mudita *et al.*, 2013; Mudita *et al.*, 2014). Hasil penelitian Mudita (2019) juga menunjukkan bahwa pemanfaatan konsorsium bakteri lignoselulolitik terutama gabungan dari bakteri *Bacillus substilis BR<sub>4</sub>LG*, *Bacillus substilis BR<sub>2</sub>CL*, *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS*, *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL*, dan/atau *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>XY* terutama pada formula BR<sub>23</sub>T<sub>14</sub>; BR<sub>24</sub>T<sub>13</sub> dan BR<sub>34</sub>T<sub>1w2</sub> mampu menghasilkan biokatalis berkualitas dengan efektivitas sebagai starter limbah pertanian terbaik. Pemanfaatannya dalam produksi silase ransum limbah pertanian juga mampu meningkatkan produktivitas sapi bali.

Berdasarkan informasi tersebut, pemanfaatan konsorsium (gabungan) beberapa bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali maupun rayap telah terbukti mampu menghasilkan biokatalis berkualitas yang mampu meningkatkan kualitas baik kandungan nutrisi maupun pencernaan pakan berbasis limbah pertanian (Mudita, 2019). Howard *et al.* (2003) mengungkapkan setiap spesies bakteri mempunyai karakteristik dan aktivitas enzim yang berbeda beda. Perpaduan 2 atau lebih mikroba termasuk bakteri yang tidak sinergis malah akan menurunkan tingkat perombakan senyawa kompleks khususnya lignoselulosa (Pathma dan Sakthivel, 2012; Mudita 2019). Mengingat informasi mengenai sifat fisik, pencernaan, dan produk metabolit biosuplemen berbasis limbah pertanian yang dihasilkan dari pemanfaatan biokatalis isolat bakteri lignoselulolitik secara tunggal/terpisah belum ada, maka kegiatan penelitian ini penting untuk dilaksanakan.

## MATERI DAN METODE

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Farm Sesetan dan Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana dan dilaksanakan dari bulan Januari-Maret 2020.

## Rancangan percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan. Enam perlakuan Biosuplemen yaitu:

- BS<sub>0</sub> : Biosuplemen tanpa menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik
- BS<sub>1</sub> : Biosuplemen menggunakan B1 (biokatalis bakteri *Bacillus substilis BR<sub>4</sub>LG*)
- BS<sub>2</sub> : Biosuplemen menggunakan B2 (biokatalis bakteri *Bacillus substilis BR<sub>2</sub>CL*)
- BS<sub>3</sub> : Biosuplemen menggunakan B3 (biokatalis bakteri *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS*)
- BS<sub>4</sub> : Biosuplemen menggunakan B4 (biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL*)
- BS<sub>5</sub> : Biosuplemen menggunakan B5 (biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT<sub>8</sub>XY*)

## Pembuatan inokulum

### a. Isolat bakteri

Isolat bakteri merupakan bakteri yang diisolasi yang bertujuan untuk memisahkan strain dari populasi campuran mikroba. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali dan rayap yang berpotensi sebagai probiotik (Mudita, 2019) yaitu *Bacillus substilis BR<sub>4</sub>LG*, *Bacillus substilis BR<sub>2</sub>CL*, *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS*, *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL*, dan *Bacillus sp. BT<sub>8</sub>XY*. Kualitas isolat bakteri lignoselulolitik dalam Tabel 1.

### b. Medium inokulum

Medium yang digunakan dalam penumbuhan bakteri lignoselulolitik pada penelitian ini mengikuti medium kultur bakteri padat yang diformulasi Mudita *et al.*, (2019) yang terdiri atas empok jagung tepung maisena, molases, pupuk urea, pupuk ZA, Natrium Broth (NB), pignox, garam dapur, CMC dan aquades dengan komposisi bahan disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 1. Kualitas isolat bakteri lignoselulolitik**

Kualitas	Isolat Bakteri Lignoselulolitik <sup>1)</sup>				
	IBL1	IBL2	IBL3	IBL4	IBL5
Degradasi Substrat (cm/15µl isolat)					
1. Asam Tanat (cm/15µl)	0,237	-	0,308	-	-
2. CMC (cm/15µl)	-	0,525	0,710	0,697	-
3. Avicel (cm/15µl)	-	0,664	0,669	0,643	-
4. Xylan (cm/15µl)	-	-	0,844	-	0,822
5. Dedak Padi	0,660	0,775	0,973	0,821	0,835
6. Jerami Padi	0,343	0,628	0,792	0,616	0,769
Aktivitas Enzim inkubasi 30 menit (U = mmol/ml/menit)					
1. Ligninase (U)	3,044	-	1,739	-	-
2. Endoglukanase (U)	-	3,842	4,176	5,113	-
3. Eksoglukanase (U)	-	4,005	1,751	2,805	-
4. Xylanase (U)	-	-	725,959	-	749,306

Keterangan: Mudita (2019)

1) IBL1 = isolat *Bacillus substilis* BR<sub>4</sub>LG, IBL2 = isolat *Bacillus substilis* BR<sub>2</sub>CL, IBL3 = isolat *Aneurinibacillus* sp. BT<sub>4</sub>LS, IBL4 = isolat *Bacillus* sp. BT<sub>3</sub>CL, dan IBL5 = isolat *Bacillus* sp. BT<sub>8</sub>XY

**Tabel 2. Komposisi bahan penyusun medium inokulum**

No	Bahan Penyusun Kultur Bakteri Padat	Persentase (%)
1	Empok Jagung (gram)	41,67
2	Tepung Maisena	33,33
3	Molases (gram)	8,33
4	Urea	5,00
5	ZA	5,00
6	Natrium Broth (BN)	0,08
7	Pignox	3,33
8	Garam Dapur	3,17
9	CMC	0,08
<b>TOTAL</b>		<b>100</b>

Keterangan: Mudita (2019)

### c. Biokatalis

Biokatalis bakteri lignoselulolitik yang diproduksi pada penelitian ini adalah 5 jenis yaitu B1, B2, B3, B4 dan B5 yang masing-masing diproduksi menggunakan bakteri lignoselulolitik yang terlebih dahulu ditumbuhkan dalam medium pertumbuhan bakteri padat (kultur bakteri padat) dalam kondisi anaerob.

Biokatalis bakteri lignoselulolitik diproduksi dengan cara mencampur kultur bakteri padat (terdiri atas medium pertumbuhan bakteri dan isolat bakteri lignoselulolitik) dengan bahan pengisi biokatalis yang terdiri atas amilum (tepung maisena), CaCO<sub>3</sub>, Asam Sitrat, NaCl (Garam Dapur), CMC dan Asam Tanat. Komposisi bahan pengisi dari biokatalis bakteri lignoselulolitik disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Formula Bahan Pengisi Biokatalis Bakteri Lignoselulolitik**

No	Bahan Penyusun	Komposisi (%)
1	Amilum (Tepung Maisena)	76
2	CaCO <sub>3</sub>	20
3	Asam Sitrat	2
4	NaCl	1
5	CMC	0,5
7	Asam Tanat	0,5
<b>TOTAL</b>		<b>100</b>

Keterangan : Mudita (2019)

#### **Pembuatan biokatalis bakteri lignoselulolitik**

Biokatalis bakteri lignoselulolitik diproduksi dengan cara terlebih dahulu kultur bakteri yang telah tumbuh pada medium cair ditumbuhkan kembali pada medium pembawa biokatalis menjadi kultur bakteri padat dengan perbandingan 40% kultur bakteri cair ditambahkan dengan 60% bahan pembawa biokatalis (Tabel 3). Setelah campuran bakalan biokatalis homogen, dimasukkan kedalam kantong plastik (silo) dan dimampatkan untuk selanjutnya difermentasi selama 2 minggu. Setelah fermentasi selesai, selanjutnya dilakukan produksi biokatalis dengan cara mencampur secara homogen 50% bakalan biokatalis (kultur bakteri padat) dengan 50% bahan pengisi biokatalis (asfed) mengikuti metode Ansar *et al.* (2009).

**Tabel 4. Kualitas biokatalis bakteri lignoselulolitik**

Variabel	Perlakuan <sup>1)</sup>					
	B0	B1	B2	B3	B4	B5
Populasi Bakteri (x10 <sup>8</sup> CFU)	1,67 <sup>a</sup>	5,77 <sup>b</sup>	7,33 <sup>b</sup>	6,30 <sup>b</sup>	6,57 <sup>b</sup>	6,13 <sup>b2)</sup>
Degradasi Substrat (cm/15µl)						
1. Asam tanat (cm/15µl)	0,68 <sup>a</sup>	1,00 <sup>b</sup>	0,98 <sup>b</sup>	0,99 <sup>b</sup>	0,98 <sup>b</sup>	0,97 <sup>b</sup>
2. CMC (cm/15µl)	0,80 <sup>a</sup>	1,11 <sup>b</sup>	1,10 <sup>b</sup>	1,11 <sup>b</sup>	1,12 <sup>b</sup>	1,09 <sup>b</sup>
3. Avicel (cm/15µl)	0,89 <sup>a</sup>	1,21 <sup>b</sup>	1,22 <sup>b</sup>	1,16 <sup>b</sup>	1,15 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>
4. Xylan (cm/15µl)	1,01 <sup>a</sup>	1,28 <sup>b</sup>	1,31 <sup>b</sup>	1,21 <sup>b</sup>	1,29 <sup>b</sup>	1,30 <sup>b</sup>



#### Aktivitas Enzim inkubasi 30 menit

1. Ligninase (U)	0,21 <sup>a</sup>	0,79 <sup>b</sup>	0,77 <sup>b</sup>	0,78 <sup>b</sup>	0,78 <sup>b</sup>	0,77 <sup>b</sup>
2. Endoglukanase (U)	6,44 <sup>a</sup>	14,75 <sup>c</sup>	17,11 <sup>d</sup>	17,22 <sup>d</sup>	17,85 <sup>d</sup>	14,39 <sup>b</sup>
3. Eksoglukanase (U)	6,76 <sup>a</sup>	14,46 <sup>b</sup>	16,62 <sup>c</sup>	14,80 <sup>b</sup>	15,78 <sup>c</sup>	14,64 <sup>b</sup>
4. Xylanase (U)	42,49 <sup>a</sup>	228,94 <sup>b</sup>	240,62 <sup>b</sup>	241,72 <sup>b</sup>	237,67 <sup>b</sup>	243,38 <sup>b</sup>

Keterangan: Prabowo (*in-press*)

1) B0 = tanpa biokatalis bakteri lignoselulolitik, B1 = biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR<sub>4</sub>LG, B2 = biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR<sub>2</sub>CL, B3 = biokatalis bakteri *Aneurinibacillus* sp. BT<sub>4</sub>LS, B4 = biokatalis bakteri *Bacillus* sp. BT<sub>3</sub>CL, dan B5 = biokatalis bakteri *Bacillus* sp. BT<sub>8</sub>XY

2) Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata (P<0,05)

### Pembuatan biosuplemen

Biosuplemen yang diproduksi sebagai media evaluasi efektivitas dari tablet biokatalis bakteri lignoselulolitik diformulasi menggunakan bahan-bahan yang terdiri atas empok jagung, kedele, dedak padi, molases, garam dapur, dan multivitamin-mineral “pignox”, dengan komposisi bahan disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 5. Komposisi Bahan Penyusun Biosuplemen**

No	Bahan	Komposisi (%)
1	Empok Jagung	45
2	Polar	30
3	Kedele	15
4	Molases	8,8
5	Garam Dapur	1
6	Pignox	0,2
Total		100

Keterangan : Mudita (2019)

Pembuatan biosuplemen akan dilakukan dengan cara mencampur secara homogen semua bahan-bahan penyusun biosuplemen (Tabel 4) kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi yang dilakukan dengan cara terlebih dahulu setiap 1 kg bakalan biosuplemen (*Asfed*) ditambahkan 600 ml larutan biokatalis yang terdiri atas 10 g tablet biokatalis, 100 g molases dan 490 ml air bersih (untuk BSB<sub>0</sub>, biokatalis diganti dengan air bersih). Proses fermentasi dilakukan menggunakan kantong plastik (sebagai silo) dan difermentasi selama 1

minggu dalam kondisi *an-aerob*. Setelah 2 minggu biosuplemen dibuka untuk dievaluasi kualitasnya.

**Tabel 6. Kandungan nutrisi dari Biosuplemen yang difermentasi dengan biokatalis bakteri lignoselulolitik**

Variabel	Perlakuan <sup>1)</sup>						SEM <sup>2)</sup>
	BS0	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	
Bahan Kering (%)	95,49 <sup>a</sup>	95,82 <sup>a</sup>	96,79 <sup>a</sup>	95,79 <sup>a</sup>	96,65 <sup>a</sup>	96,10 <sup>a</sup>	0,30
Bahan Organik (%)	94,14 <sup>a</sup>	94,29 <sup>a</sup>	93,87 <sup>a</sup>	94,51 <sup>a</sup>	94,09 <sup>a</sup>	93,93 <sup>a</sup>	0,16
Protein Kasar (%)	12,86 <sup>a</sup>	19,00 <sup>b</sup>	19,07 <sup>b</sup>	18,97 <sup>b</sup>	19,25 <sup>b</sup>	19,24 <sup>b</sup>	0,12
Serat Kasar (%)	5,71 <sup>d</sup>	3,20 <sup>bc</sup>	3,06 <sup>a</sup>	3,23 <sup>c</sup>	3,14 <sup>b</sup>	3,18 <sup>bc</sup>	0,02
Lemak Kasar (%)	5,51 <sup>a</sup>	7,79 <sup>b</sup>	8,53 <sup>bc</sup>	8,85 <sup>bc</sup>	9,26 <sup>c</sup>	9,19 <sup>c</sup>	0,18
BETN (%)	65,92 <sup>a</sup>	60,13 <sup>b</sup>	60,01 <sup>bc</sup>	59,15 <sup>bc</sup>	59,09 <sup>c</sup>	58,42 <sup>c</sup>	0,53
Abu (%)	5,49 <sup>a</sup>	5,71 <sup>a</sup>	6,13 <sup>a</sup>	5,86 <sup>a</sup>	5,91 <sup>a</sup>	6,07 <sup>a</sup>	0,16

Keterangan: \* sumber = Sandro (*in-press*)

1) Biosuplemen tanpa biokatalis bakteri lignoselulolitik (BS0), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR4LG* (BS1), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR2CL* (BS2), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Aneurinibacillus sp. BT4LS* (BS3), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT3CL* (BS4), dan biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT8XY* (BS5)

2) *Standard Error Of The Treatment Means*

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

### Pengambilan cairan rumen

Cairan rumen dipakai untuk analisis pencernaan *in-vitro* dan produk fermentasi rumen, diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH) yang berada di Pesanggaran, Denpasar. Cairan rumen diambil menggunakan termos yang sebelumnya diisi air hangat, yang bertujuan untuk menciptakan suasana hangat ketika cairan rumen dimasukkan. Sesaat sebelum memasukkan cairan rumen, air panas dalam termos harus dibuang, agar tidak tercampur. Kemudian cairan rumen diperas menggunakan kain kasa dan dimasukkan ke dalam termos yang panas. Tutup rapat termos dan segera dibawa ke Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana untuk kegiatan analisis lebih lanjut.

### Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah sifat fisik (densitas/keambaan, daya serap air, dan daya larut air), pencernaan bahan kering dan bahan organik dan Produk fermentasi rumen (VFA Total dan N-NH<sub>3</sub>) secara *in-vitro* biosuplemen berbasis sumber daya .

## Analisis data

Data yang diperoleh pada penelitian ini, dianalisis menggunakan sidik ragam, apabila nilai rataan perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) pada peubah yang diamati, analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ)/*Honestly Significant Difference*/HSD (Sastrosupadi, 2000).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sifat Fisik

#### a. Densitas (g/ml)

Nilai densitas dari biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik menghasilkan rataan densitas berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ). Hal ini disebabkan karena turunnya kandungan serat kasar pada biosuplemen (Tabel 6), belum mampu secara nyata meningkatkan kandungan bahan organik maupun bahan anorganik (abu) dari biosuplemen sehingga densitas dari biosuplemen yang dihasilkan akan berbeda tidak nyata.

**Tabel 7. Sifat fisik, produk fermentasi rumen dan pencernaan *in-vitro* dari biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik**

Parameter	Perlakuan <sup>1)</sup>						SEM <sup>2)</sup>
	BS0	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	
Densitas (g/ml)	0,47 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,01
Daya Serap Air (%)	89,55 <sup>a</sup>	96,54 <sup>a</sup>	135,05 <sup>a</sup>	125,55 <sup>a</sup>	115,48 <sup>a</sup>	121,28 <sup>a</sup>	18,46
Daya Larut Air (%)	69,43 <sup>a</sup>	70,08 <sup>a</sup>	74,85 <sup>a</sup>	73,79 <sup>a</sup>	73,29 <sup>a</sup>	75,27 <sup>a</sup>	2,72
KcBK (%)	67,34 <sup>a</sup>	70,10 <sup>b</sup>	71,07 <sup>c</sup>	70,71 <sup>c</sup>	70,21 <sup>b</sup>	70,76 <sup>c</sup>	0,10
KcBO (%)	68,26 <sup>a</sup>	71,03 <sup>b</sup>	71,25 <sup>bc</sup>	71,35 <sup>c</sup>	71,22 <sup>bc</sup>	71,30 <sup>c</sup>	0,05
VFA Total (mM)	148,63 <sup>a</sup>	170,44 <sup>b</sup>	187,57 <sup>c</sup>	189,89 <sup>c</sup>	182,52 <sup>c</sup>	189,75 <sup>c</sup>	1,60
N-NH <sub>3</sub> (mM)	12,94 <sup>a</sup>	13,40 <sup>b</sup>	13,67 <sup>bc</sup>	15,66 <sup>c</sup>	16,73 <sup>c</sup>	15,66 <sup>c</sup>	0,09

#### Keterangan:

- 1) Biosuplemen tanpa biokatalis bakteri lignoselulolitik (BS0), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR<sub>4</sub>LG* (BS1), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR<sub>2</sub>CL* (BS2), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS* (BS3), biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL* (BS4), dan biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT<sub>8</sub>XY* (BS5)
- 2) *Standard Error Of The Treatment Means*
- 3) Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Namun secara kuantitatif penggunaan BS2 memperoleh rataan tertinggi sebesar 0,50 g/ml dibandingkan perlakuan lainnya (0,47-0,48 g/ml) (Tabel 6). Hal ini disebabkan karena penggunaan biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR<sub>2</sub>CL* terbukti mampu menurunkan kandungan serat kasar biosuplemen yang dihasilkan sehingga sifat *bulky* dari biosuplemen akan turun dan densitas biosuplemen akan meningkat. Sudarmin *et al.* (2019) menambahkan semakin rendah kandungan serat kasarnya maka semakin tinggi densitas ransum. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Putra *et al.* (2020) berupa silase jerami padi menggunakan *Bacillus subtilis BR<sub>2</sub>CL* memperoleh nilai densitas tertinggi sebesar 0,193 g/ml dari perlakuan lainnya sebesar 0,155-0,178 g/ml.

b. Daya serap air (%)

Persentase daya serap air dari biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik mempunyai rata-rata lebih tinggi dari perlakuan kontrol (BS0), namun secara statistik berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Hal ini disebabkan karena kandungan bahan organik yang dihasilkan berbeda tidak nyata (Tabel 6). Namun secara kuantitatif penggunaan BS2 memperoleh rataan tertinggi sebesar 135,05% dari perlakuan lainnya (89,55-121,28%) (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik mengandung serat kasar yang lebih rendah sebesar 3,06-3,23% dari perlakuan kontrol sebesar 5,71% (Tabel 6), sehingga pakan akan lebih mudah didegradasi oleh mikroba rumen. Suhartati *et al.* (2004) menambahkan daya serap air yang tinggi membuat pakan lebih terbuka terhadap serangan bakteri rumen sehingga pencernaan pakan juga menjadi meningkat. Hasil penelitian ini sejalan dengan Taqwa *et al.* (2020) berupa silase daun mengkudu menggunakan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* memperoleh nilai daya serap air sebesar 196,33% akibat dari kandungan serat kasar terendah sebesar 9,57% lebih rendah dari perlakuan lainnya sebesar 10,79-14,50%.

c. Daya larur air (%)

Persentase daya larut air dari biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik mempunyai rata-rata lebih tinggi dari perlakuan kontrol (BS0), namun secara statistik berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Hal ini disebabkan karena kandungan bahan organik yang dihasilkan berbeda tidak nyata (Tabel 6). Namun secara kuantitatif penggunaan BS5 memperoleh rataan tertinggi sebesar 75,27% dari perlakuan lainnya (69,43-74,85%) (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena kandungan hemiselulosa berupa xylan pada biosuplemen yang tinggi dan ditandai adanya aktivitas enzim xylanase inkubasi 30 menit yang tinggi sebesar

243,38 U (Tabel 4). Hemiselulosa kurang tahan terhadap reaksi kimia dibanding selulosa, sehingga akan lebih mudah dihidrolisis oleh bakteri hemiselulolitik menjadi monomer yang mengandung glukosa, galaktosa, xilosa dan arabinosa (Novika, 2013; Tuo, 2016; Tillman *et al.*, 1991). Deswanto *et al.* (2020) menambahkan bahan pakan yang mudah larut akan lebih mudah didegradasi di dalam rumen. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Putra *et al.* (2020) berupa silase jerami padi menggunakan *Bacillus sp. Strain BT<sub>3</sub>CL* memperoleh nilai daya larut air tertinggi sebesar 85,75% dari perlakuan lainnya sebesar 69,43-84,33%.

### **Kecernaan *in-vitro***

#### **a. Kecernaan bahan kering/KcBK (%)**

Biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR<sub>2</sub>CL* (BS2), memiliki rataan kecernaan bahan kering tertinggi sebesar 71,07% lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dari BS0, BS1, dan BS4 masing-masing sebesar 67,34%, 70,10%, dan 70,21%, serta lebih tinggi ( $P > 0,05$ ) dari BS3 dan BS5 masing-masing sebesar 70,71% dan 70,76% (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena pada perlakuan BS2 mampu menurunkan kandungan serat kasar pada biosuplemen. Sehingga pakan mudah dirombak oleh mikroba rumen dan mampu meningkatkan kecernaan pakan. Dibuktikan dengan kandungan serat kasar pada perlakuan BS2 mendapatkan hasil terendah sebesar 3,06% dari perlakuan lainnya (3,14%-5,71%) (Tabel 6). Menurut Dewi *et al.* (2020) semakin tinggi serat kasar maka semakin kuat dinding selnya, yang artinya semakin sulit bahan pakan tersebut terdegradasi. Hasil dalam penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Saputra *et al.* (2019) berupa silase jerami padi menggunakan 50 ml cairan rumen segar/kg jerami meningkatkan KcBK sebesar 49,20% akibat dari cairan rumen yang mengandung banyak mikroba rumen yang dapat membantu degradasi serat kasar yang terkandung dalam jerami padi, sehingga dapat meningkatkan kualitas silase jerami padi tersebut.

#### **b. Kecernaan bahan /KcBO (%)**

Biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Aneuribacillus sp. BT<sub>4</sub>LS* (BS3), memiliki rataan kecernaan bahan organik tertinggi sebesar 71,35% lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dari BS0 dan BS1 masing-masing sebesar 68,26%, dan 71,03%, serta lebih tinggi ( $P > 0,05$ ) dari BS4, BS2, dan BS5 masing-masing sebesar 71,22%, 71,25%, dan 71,30% (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena aktivitas enzim lignoselulosa yang mampu merombak serat kasar menjadi monomer yang lebih sederhana, sehingga mampu meningkatkan kecernaan pakan. Mudita

(2019) menambahkan bahwa lignoselulosa merupakan komponen utama dinding sel tanaman yang terdiri atas polimer selulosa, hemiselulosa, lignin dan beberapa bahan ekstraktif yang berikatan secara kuat yang menghambat proses perombakan nutrisi. Hasil penelitian ini mendapatkan persentase KcBO lebih tinggi dari KcBK karena BK masih mengandung abu yang mampu menghambat pencernaan pakan dan BO tidak mengandung abu. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Dewi *et al.* (2020) berupa silase batang pisang disuplementasi sampai level 30% hijauan kembang telang (*Clitoria ternatea*) menghasilkan KcBO lebih tinggi sebesar 60,95-73,08%, dibandingkan dengan KcBK sebesar 58,25-70,40%.

### **Produk fermentasi rumen**

#### **a. VFA Total (mM)**

Biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Aneuribacillus sp. BT<sub>4</sub>LS* (BS3), memiliki rata-rata VFA Total tertinggi sebesar 189,89 mM lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dari BS0 dan BS1 masing-masing sebesar 148 mM dan 170,44 mM, serta lebih tinggi ( $P > 0,05$ ) dari BS4, BS2 dan BS5 masing-masing sebesar 182,52 mM, 187,57 mM dan 189,75 mM (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena bahan organik yang dihasilkan secara kuantitatif lebih tinggi sebesar 94,51% dibandingkan dengan perlakuan lainnya sebesar 93,87-94,14% (Tabel 6). Menurut Saputra *et al.* (2019) banyaknya VFA pada silase menggambarkan indikator perombakan bahan organik selulosa. Basudewa *et al.* (2020) menambahkan VFA yang tinggi menunjukkan peningkatan kandungan protein dan karbohidrat mudah larut dalam pakan. Konsentrasi VFA Total yang dihasilkan pada penelitian ini adalah (148,63-189,75 mM). Dilihat dari pernyataan McDonald *et al.* (2011), bahwa produksi VFA Total bagi kelangsungan hidup ternak berkisar 70-150 mM. Hal ini menunjukkan konsentrasi VFA Total telah mendukung pertumbuhan dan aktivitas mikroba yang optimal.

#### **b. N-NH<sub>3</sub> (mM)**

Biosuplemen menggunakan biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL* (BS4), memiliki rata-rata N-NH<sub>3</sub> tertinggi sebesar 16,73 mM lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dari BS0 dan BS1 masing-masing sebesar 12,94 mM dan 13,40 mM, serta lebih tinggi ( $P > 0,05$ ) dari BS2, BS3 dan BS5 masing-masing sebesar 13,67 mM, 15,66 mM dan 15,66 mM (Tabel 7). Hal ini disebabkan karena adanya kandungan protein kasar tertinggi pada perlakuan BS4 sebesar 19,25% yang mengakibatkan N-NH<sub>3</sub> juga meningkat (Tabel 6). Menurut Saputra *et al.* (2019) peningkatan kandungan protein kasar akan mengakibatkan produksi NH<sub>3</sub> meningkat. Hristov *et al.* (2004)

menambahkan bahwa konsentrasi NH<sub>3</sub> rumen cenderung lebih besar pada ternak yang diberi pakan dengan tingkat pencernaan protein yang lebih tinggi dibanding dengan pemberian pakan dengan tingkat pencernaan protein yang rendah. Peningkatan NH<sub>3</sub> juga menunjukkan tingginya aktivitas proteolitik dalam rumen sebagai akibat bantuan bakteri lignoselulolitik khususnya bakteri *Bacillus sp. BT<sub>3</sub>CL* (BS4). Mudita (2019) menambahkan pemberian ransum terfermentasi inokulan unggul bakteri lignoselulolitik (RF<sub>2</sub> = *Bacillus subtilis strain BR<sub>4</sub>LG* dan *Paenibacillus dendritiformis strain BR<sub>3</sub>XY* asal cairan rumen sapi bali serta *Aneurinibacillus sp. strain BT<sub>4</sub>LS* dan *Bacillus sp. strain BT<sub>3</sub>CL* asal rayap) menghasilkan konsentrasi N-NH<sub>3</sub> cairan rumen sapi bali lebih tinggi sebesar 11,998 mM dari 9,545 mM. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Saputra *et al.*, (2019) berupa silase jerami padi menggunakan 50 ml cairan rumen segar/kg jerami meningkatkan NH<sub>3</sub> sebesar 8,29%, akibat dari kandungan protein kasar meningkat dari 4,10% menjadi 9,01% atas bantuan bakteri selulolitik yang diisolasi dari cairan rumen dalam proses fermentasi jerami padi.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan biokatalis bakteri lignoselulolitik tidak berpengaruh terhadap sifat fisik, tetapi mampu meningkatkan pencernaan bahan kering serta bahan organik secara *in-vitro* dan produk metabolit (VFA dan N-NH<sub>3</sub>) dari biosuplemen. Biokatalis bakteri terbaik dalam penelitian ini adalah *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS* karena mampu menghasilkan 71,35 % KcBO dan 189,89 mM VFA Total tertinggi.

### Saran

Dapat disarankan menggunakan Biokatalis bakteri *Aneurinibacillus sp. BT<sub>4</sub>LS* karena mampu menghasilkan KcBO dan VFA Total tertinggi.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr.dr. A. A. Rakasudewi, Sp.S (K) selaku Rektor Universitas Udayana dan Dr. Ir. I Nyoman Tirta Ariana, M.S selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Sajana Peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Udayana.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ansar, B. Rahardjo, Z. Noor, dan Rochmadi. 2009. Optimasi teknik pembuatan tablet *effervescent* sari buah dengan response surface method. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 20 (1): 25-31.
- Basudewa, I G. B., I G. L. O. Cakra, dan N. W. Siti. 2020. Kualitas fisik dan pencernaan in-vitro silase jerami padi yang disuplementasi daun gamal dan kaliandra. *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 8 (3): 530-544. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/64583/36610>
- Deswanto, I W. Suarna, dan N. N. Suryani. 2020. Sifat fisik dan kandungan serat kasar silase batang pisang disuplementasi berbagai level hijauan kembang telang (*Clitoria ternatea*). *Jurnal Peternakan Tropika* 8 (2): 268-278. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/61413/35388>
- Dewi, O., N. N. Suryani, dan I M. Mudita. 2020. Kecernaan bahan kering dan bahan organik secara in-vitro dari silase kombinasi batang pisang dengan kembang telang (*Clitoria ternatea*). *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 8 (1): 60-73. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/58294/34003>
- 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> [cited 2008, February 25].
- Hristov, A. N., R. P. Etter, J. K. Ropp, and K. L. Grandeen. 2004. Effect of dietary crude protein leve and degradability on ruminal and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science* Vol. 82 (11): 3219-3229
- Kaunang, C. L.. 2004. Respon Ruminan Terhadap Pemberian Hijauan Pakan yang Dipupuk Air Belerang. Disertasi. Program Pasca Sarjana IPB, Bogor. [diakses 20 Oktober 2019].
- Mudita, I. M.. 2008. Sintesis Protein Mikroba Rumen Sapi Bali Penggemukan yang diberi Ransum Komplit Berbasis Jerami Padi Amoniasi Urea dengan Suplementasi Multi Vitamin-Mineral. Tesis Program Magister Ilmu Peternakan. Pascasarjana Universitas Udayana, Denpasar.
- McDonald P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, and C. A. Morgan. 2011. *Animal Nutrition*. 7<sup>th</sup> edition. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Mudita, I. M. dan A. A. P. P. Wibawa. 2008. Evaluasi Kualitas Dan Kecernaan Nutrien Secara *In Vitro* Ransum Sapi Komplit Berbasis Bahan Lokal Asal Limbah yang Difermentasi Cairan Rumen dan Enzim Optyzim. Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Peternakan. Universitas Udayana, Denpasar.
- 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 Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Udayana. Denpasar.
- Mudita, I M., I. W. Wirawan, I. B. G. Partama. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Lignoselulolitik Limbah Isi Rumen dan Rayap dalam Formulasi Inokulan Fermentasi Limbah Sistem Pertanian Terintegrasi. Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Udayana. Denpasar.



- Mudita, I M., I G. N. Kayana, 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 Pertama. Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar.
- Mudita, I M. 2019. Penapisan dan Pemanfaatan Bakteri Lignoselulolitik Cairan Rumen Sapi Bali dan Rayap Sebagai Inokulan dalam Optimalisasi Limbah Pertanian Sebagai Pakan Sapi Bali. Disertasi. Program Studi Doktor Ilmu Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar.
- Novika, D. 2013. Degradasi Fraksi Serat (NDF, ADF, Selulosa dan Hemiselulosa) Ransum yang Menggunakan Daun Coklat secara In-vitro. Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.
- 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.
- Putra, I M. D. Y., I M. Mudita, dan I N. S. Utama. 2020. Sifat fisik, pencernaan, dan produk fermentasi rumen secara in-vitro silase jerami padi menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik. *Jurnal Peternakan Tropika*
- Saputra, I K. T. A., A. A. A. S. Trisnadewi, dan I G. L. O. Cakra. 2019. Kecernaan in vitro dan produk fermentasi dari silase jerami padi yang dibuat dengan penambahan cairan rumen. *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 7 (2): 647-660. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/50724/30051>
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang pertanian. Edisi Revisi. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Sudarmin, B. F., N. N. Suryani, dan N. P. Mariani. 2019. Komposisi kimia dan sifat fisik ransum sapi bali di penampungan ternak desa nongan. *E-Juournal Peternakan Tropika* Vol. 7 (1): 281-290. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/47707/28550>
- Suhartati, F. M., W. Suryapratama, dan S. Rahayu. 2004. Analisis sifat fisik rumput lokal. *Animal Production* Vol. 6 (1): 37-42.
- Taqwa, R. M., N. P. Mariani, dan I M. Mudita. 2020. Sifat fisik, produk fermentasi rumen dan pencernaan in-vitro silase daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) menggunakan inokulum berbeda. *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 8 (3): 462-473. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/63693/36308>
- Tillman, A. D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo, dan S. Lebdosoekadjo. 1991. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tuo, M. 2016. Kandungan Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin Silase Pakan Lengkap Berbahan Utama Batang Pisang (*Musa paradisiaca*) dengan Lama Inkubasi yang Berbeda. Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.