

Peningkatan Kualitas Sabut Kelapa Melalui Teknologi Fermentasi Menggunakan Mikroba Pencerna Serat Terseleksi dari Cairan Rumen Kerbau

S. Aminah^{1*}, L. K. Nuswantara², B. I. M. Tampoebolon², S. Sunarso²

¹Program Studi Magister Ilmu Ternak, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia 50275

²Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia 50275

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kultur mikroba pencerna serat terbaik dari cairan rumen kerbau dan mengkaji pengaruh perbedaan lama pemeraman dan persentase penggunaan starter mikroba pencerna serat terseleksi terhadap komponen proksimat sabut kelapa fermentasi. Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap I adalah seleksi mikroba pencerna serat dari cairan rumen kerbau menggunakan substrat yang berbeda. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Peubah yang diamati adalah aktivitas dan aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase. Tahap II adalah perlakuan fermentasi sabut kelapa menggunakan kultur terseleksi dengan perbedaan persentase penggunaan inokulum (0, 2,5 dan 5%) dan lama peram (0, 7 dan 14 hari). Percobaan menggunakan RAL faktorial 3x3 dan 4 ulangan. Peubah yang diamati adalah komponen proksimat. Data dianalisis menggunakan analisis ragam, dilanjutkan Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian tahap I menunjukkan aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase tertinggi ($P < 0,05$) pada penggunaan substrat kulit kacang, berturut-turut sebesar 0,020; 0,022; 0,018 unit/ml/menit. Hasil penelitian tahap II menunjukkan kadar serat kasar (SK) terendah ($P < 0,05$) terjadi pada kombinasi perlakuan P₁H₂, P₂H₁ dan P₂H₂, berturut-turut sebesar 51,70; 49,90; 49,91%. Kadar lemak kasar (LK) dan abu tertinggi ($P < 0,05$) secara berturut-turut terjadi pada kombinasi perlakuan P₂H₂ sebesar 16,03% dan P₁H₂ sebesar 16,99%. Kesimpulan penelitian ini adalah penggunaan substrat kulit kacang menghasilkan kultur mikroba pencerna serat terbaik dan meningkatkan kualitas sabut kelapa. Peningkatan kualitas terjadi seiring dengan peningkatan penggunaan inokulum dan lama pemeraman. Kualitas sabut kelapa terbaik terjadi pada penggunaan inokulum sebanyak 5% dan pemeraman selama 14 hari ditinjau dari kadar protein kasar (PK) dan SK.

Kata kunci: Cairan rumen kerbau, Sabut kelapa, Fermentasi, komponen proximat, Enzim pencerna serat

Improving The Quality of Coconut Husk Through Fermentation Technology Using Selected Fiber Degrading Microbes from Buffalo Rumen Fluid

ABSTRACT

The study aims to obtain the best fiber-degrading microbial culture from buffalo rumen fluid and examine the effect of differences fermented period and percentage of selected fiber-degrading microbes starter on fermented coconut husk proximate component. This research was conducted into two experiments. First experiment was fiber-degrading microbes selection from buffalo rumen fluid using different substrates. Completely randomized design with 5 treatments and 5 replications was used in this experiment. Variables observed were endoglucanases, exoglucanases and xylanases enzymes activity and specific activities. Second experiments was treatment of coconut husk fermentation used selected cultures with different treatments of inoculum level (0, 2.5 and 5%) and fermentation period (0, 7 and 14 days). Completely randomized factorial design 3x3 with 5 replications was used in this experiment. Variables observed were proximate component. Analysis of variance was used and continued by Duncan's Multiple Range Test. First experiment results showed nutshells substrate the highest ($P < 0.05$) endoglucanases, exoglucanases and xylanases enzyme specific activities, respectively 0.020; 0.022; 0.018 units/ml/minute. Second experiment results showed that the lowest ($P < 0.05$) level of crude fiber was occurs at treatments combination P₁H₂, P₂H₁ and P₂H₂, respectively 51.70; 49.90; 49.91%. The highest ($P < 0.05$) level of crude lipid and ash value respectively was occurs at treatments combination P₂H₂ of 16.03% and P₁H₂ of 16.99%. Nutshells substrate produces the best fiber-degrading microbial culture and coconut husk quality. The best quality was occurs at 5% of inoculum and 14 days of fermented period in terms of crude protein and crude fiber.

Keywords: Buffalo rumen fluid, Coconut husk, Fermentation, Proximate component, Fiber-degrading enzymes

PENDAHULUAN

Ketersediaan pakan lokal berkesinambungan menentukan keberlanjutan usaha peternakan. Namun, ketersediaan hijauan pada saat ini menjadi terbatas dikarenakan pengaruh musim atau pergeseran fungsi lahan pertanian menjadi non-pertanian. Ketersediaan pakan yang mencukupi secara kualitas dan kuantitas, dapat meningkatkan produktivitas ternak (Sitindaon,

2013). Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan upaya untuk menggunakan dan meningkatkan kualitas nutrisi dari pakan alternatif yang ketersediaannya melimpah. Tahun 2018 Indonesia menghasilkan kelapa sebanyak 2,9 juta ton (BPS, 2018) dengan proporsi sabutnya sebanyak 35% dalam satu butir kelapa (Haryanto dan Suheryanto, 2014), berdasarkan hal tersebut diperkirakan sabut kelapa yang dihasilkan sebanyak 1,01 juta ton. Sabut kelapa mengandung kadar air 5,43%, abu 3,95%, dan serat kasar 30,34% (Adeyi, 2010) dan protein kasar 3,13% (Lorica dan Uyenco, 1982). Sabut kelapa juga kaya kandungan nutrisi

*Penulis Korespondensi: Siti Aminah
Alamat: Desa Padomasan, Reban, Batang, Jawa Tengah, 51273
E-mail: sitiaminah23@gmail.com

makro yaitu kalium dan fosfor (Neto *et al.*, 2004; Rahmadani, 2011). Hal tersebut menunjukkan bahwa ketersediaan sabut kelapa yang melimpah dapat digunakan sebagai alternatif pakan pengganti hijauan, namun tingginya kandungan serat kasar dan rendahnya kandungan protein kasar menyebabkan rendahnya nilai pencernaan sehingga perlu upaya untuk meningkatkan kualitas nutrienya.

Sabut kelapa dapat ditingkatkan kualitas nutrienya dengan cara pengolahan pakan menggunakan teknologi fermentasi. Fermentasi dapat diterapkan dengan memanfaatkan mikroorganisme dari rumen ternak ruminansia yang dapat menghasilkan enzim pendegradasi serat. Isolasi mikroba pencerna serat dari rumen kerbau didasari atas kemampuannya dalam memanfaatkan pakan menjadi lebih efisien dibandingkan sapi pada kondisi pemeliharaan yang sama (Wanapat *et al.*, 1994). Hal tersebut terkait dengan tingginya jumlah total bakteri dan persentase mikroba selulolitik dari rumen kerbau dibanding sapi (Pradhan, 1994) yaitu sebanyak $3,3 \times 10^9$ CFU/ml (Wanapat *et al.*, 2009a), sedangkan sapi sebanyak $2,7 \times 10^8$ CFU/ml (Wanapat *et al.*, 2009b).

Serat tanaman terdiri dari beberapa bagian, yaitu bagian amorf, kristalin, selobiosa dan xilan. Kandungan selulosa dan hemiselulosa pada tiap-tiap tanaman memiliki jumlah yang berbeda, sehingga diperlukan substrat yang mampu mewakili keragaman jenis selulosa dan hemiselulosa. Sabut kelapa, pucuk tebu, tongkol jagung, kulit kacang dan eceng gondok merupakan bahan yang dapat ditemukan sepanjang tahun, selain itu bahan tersebut memiliki kandungan selulosa dan hemiselulosa yang tinggi. Penggunaan kelima bahan tersebut sebagai substrat pada kultur mikroba pencerna serat dari cairan rumen kerbau belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan kajian tentang pengaruh penggunaan substrat yang berbeda pada inokulum cairan rumen kerbau terhadap aktivitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase. Hal tersebut untuk menentukan starter fermentasi terbaik sebelum diaplikasikan pada sabut kelapa. Tujuan dari penelitian ini adalah: 1) mendapatkan kultur mikroba pencerna serat terbaik dari cairan rumen kerbau, dan 2) mengkaji pengaruh perbedaan lama pemeraman dan persentase penggunaan starter mikroba terseleksi terhadap komponen proksimat sabut kelapa fermentasi.

Tabel 1. Kandungan serat substrat

Substrat	Kandungan Serat dalam 100% BK		
	Hemiselulosa	Selulosa	Lignin
	------(%)-----		
Sabut Kelapa	8,49	15,90	14,28
Pucuk Tebu	17,04	20,65	10,50
Tongkol Jagung	33,29	30,57	15,80
Kulit Kacang	9,01	40,88	28,02
Eceng gondok	27,12	22,99	8,51

Hasil analisis penelitian di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang 2019

MATERI DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – September 2019 di laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap I adalah seleksi mikroba pencerna serat. Tahap II adalah aplikasi fermentasi sabut kelapa dengan menggunakan kultur terpilih dari hasil penelitian tahap I.

Penelitian Tahap I

Bahan yang digunakan adalah cairan rumen kerbau, *avicel* PH 101 dan glukosa. Cairan rumen kerbau diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH) Desa Prambatan Kidul, Kudus. Substrat yang digunakan yaitu sabut kelapa, pucuk tebu, tongkol jagung, kulit kacang, dan eceng gondok. Kandungan selulosa dan hemiselulosa substrat dapat dilihat pada Tabel 1. Medium isolasi berupa medium cair yang tersusun dari larutan mineral I, mineral II, *yeast* ekstrak (Merck, Germany), tripton (Sigma-Aldrich, Amerika), cairan rumen kerbau yang telah disentrifuse, H₂O, Na₂CO₃ 12%, sistein HCl dan 0,1 % resazurin. Larutan mineral I terdiri dari 0,3% K₂HPO₄, sedangkan larutan mineral II terdiri dari 0,3% K₂HPO₄; 0,6% (NH₄)₂SO₄; 0,6% NaCl; 0,06% MgSO₄ dan 0,06% CaCl₂.H₂O. Alat yang digunakan yaitu *waterbath* merk Memmert WNB 45, autoklaf merk All American model No. 75x, sentrifus merk Hettich Zentrifugen Universal 320R, erlenmeyer, gas CO₂, pH meter elektrik dan pipet ukur.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan RAL dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Metode yang digunakan dengan cara mengisolasi mikroba pencerna serat dari cairan rumen kerbau menggunakan medium selektif cair dan dengan menggunakan substrat yang berbeda, yaitu T₁: sabut kelapa, T₂: pucuk tebu, T₃: tongkol jagung, T₄: kulit kacang dan T₅: eceng gondok.

Inkubasi Seleksi Kultur

Cairan rumen kerbau yang baru diambil dari RPH diinkubasi pada suhu 39°C selama 16 jam dengan menambahkan 1% *avicel* dan 2% glukosa. Isolasi dilakukan dengan menggunakan 50 ml medium selektif cair dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang telah berisi substrat sesuai perlakuan yang diberikan, kemudian menambahkan 2% cairan rumen kerbau yang telah diinkubasi dengan dialiri gas CO₂. Tabung erlenmeyer ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu 39°C selama 6 hari (Bachrudin *et al.*, 1998).

Kultur mikroba dipanen dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, kemudian diuji aktivitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase menggunakan metode *dinitro salisilic acid* (DNS) (Miller, 1959). Aktivitas enzim spesifik dihitung dengan membagi aktivitas enzim dengan kadar protein terlarut supernatan (Machfoed *et al.*,

1989). Kadar protein terlarut dihitung dengan menggunakan metode Lowry (Plummer, 1971).

Uji aktivitas enzim endoglukanase dan eksoglukanase dilakukan dengan membuat kurva standar glukosa, yakni membuat larutan glukosa dengan konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mg/ml. Pengukuran aktivitas enzim endoglukanase dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml larutan CMC 10 mg/ml pada tabung reaksi, sedangkan pengukuran aktivitas enzim eksoglukanase dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml larutan *avicel* 10 mg/ml pada tabung reaksi. 1 ml buffer sitrat 0,5 M dan 0,5 ml supernatan ditambahkan pada tabung reaksi kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Larutan DNS sebanyak 3 ml ditambahkan, kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Aquades ditambahkan sebanyak 20 ml, kemudian diukur serapan pada panjang gelombang λ 540 nm dan dicatat nilai absorbannya. Hasil pengukuran absorbansi supernatan dikoreksikan dengan blanko. Aktivitas endoglukanase dan eksoglukanase (unit/ml/menit) dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{\text{mg gula pereduksi} \times \text{pengenceran}}{\text{volume supernatan} \times \text{berat molekul glukosa} \times \text{waktu inkubasi}}$$

Uji aktivitas enzim xilanase diukur dengan membuat kurva standar xilosa, yakni membuat larutan xilosa dengan konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mg/ml. Pengukuran aktivitas enzim xilanase dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml larutan xilan 10 mg/ml, 1 ml buffer sitrat 0,5 M dan 0,5 ml supernatan pada tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Larutan DNS sebanyak 3 ml ditambahkan pada larutan tersebut, kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Langkah selanjutnya yaitu menambahkan aquades sebanyak 20 ml pada larutan tersebut kemudian diukur serapan pada panjang gelombang λ 540 nm dan dicatat nilai absorbannya. Hasil pengukuran absorbansi supernatan dikoreksikan dengan blanko. Aktivitas xilanase (unit/ml/menit) dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{mg gula pereduksi} \times \text{pengenceran}}{\text{volume supernatan} \times \text{berat molekul xylosa} \times \text{waktu inkubasi}}$$

Uji kadar protein terlarut dilakukan dengan membuat kurva standar larutan *bovine serum albumin*

(BSA) dengan konsentrasi 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/ml. Pengukuran kadar protein terlarut supernatan dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml supernatan, 5 ml reagen lowry ke dalam tabung rekasi, kemudian digojok dan didiamkan selama 10 menit. Langkah selanjutnya menambahkan 0,5 ml folin kemudian digojok, didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan diukur nilai absorbannya menggunakan spektrofotometer pada λ 650 nm. Penentuan aktivitas spesifik enzim (unit/g protein/jam) menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Aktivitas enzim}}{\text{Kadar protein terlarut supernatan}}$$

Penelitian Tahap II

Bahan yang digunakan adalah sabut kelapa, inokulum (dengan penambahan kultur terpilih), aquades, molases dan urea. Alat yang digunakan yaitu toples kedap udara.

Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan RAL dengan pola faktorial 3 x 3 dan 4 ulangan. Faktor A adalah persentase penggunaan inokulum (0, 2,5 dan 5% (ml inokulum / g BK sabut kelapa)). Faktor B adalah lama waktu pemeraman (0, 7 dan 14 hari).

Fermentasi Sabut Kelapa

Kultur hasil biakan penelitian tahap I disimpan di lemari pendingin selama dua minggu, kemudian direinokulasi pada medium cair selama 16 jam untuk digunakan sebagai inokulum pada proses fermentasi. Sabut kelapa dicacah ukuran 1 – 2 cm, kemudian ditimbang \pm 1 kg BK. Fermentasi dilakukan dengan menambahkan 0,1% urea, 3% molases, aquades (perhitungan kebutuhan kadar air sebanyak 60% berdasarkan bahan kering sabut kelapa) dan inokulum sebanyak perlakuan yang diberikan. Sabut kelapa yang telah dicampur rata, dimasukkan ke dalam toples kedap udara dan diperam selama waktu perlakuan pemeraman. Sabut kelapa perlakuan diukur komponen proksimatnya berdasarkan metode menurut *Association of Official Analytical Chemist (AOAC)* (2005).

Analisis kadar PK dilakukan dengan cara menimbang sampel \pm 1 g, 0,3 g dan 0,4 g katalisator *selenium reagent mixture* (potassium sulfat + cupri

Tabel 2. Rata-rata nilai aktivitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase

Perlakuan	Parameter		
	Endoglukanase	Eksoglukanase	Xilanase
	------(U/ml/menit)-----		
T ₁	0,585 \pm 0,06 ^c	0,669 \pm 0,04 ^c	0,217 \pm 0,05 ^d
T ₂	0,857 \pm 0,09 ^a	0,940 \pm 0,05 ^a	0,823 \pm 0,04 ^a
T ₃	0,617 \pm 0,06 ^{bc}	0,702 \pm 0,04 ^c	0,725 \pm 0,10 ^b
T ₄	0,687 \pm 0,09 ^b	0,780 \pm 0,07 ^b	0,625 \pm 0,02 ^c
T ₅	0,782 \pm 0,02 ^a	0,797 \pm 0,04 ^b	0,842 \pm 0,07 ^a

^{a,b,c} superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05). T₁ = sabut kelapa; T₂ = pucuk tebu; T₃ = tongkol jagung; T₄ = kulit kacang; T₅ = eceng gondok

sulfat) dan 15 ml H₂SO₄ pekat didestruksi di dalam lemari asam sampai berwarna hijau jernih. Proses destilasi dilakukan dengan menggunakan larutan penangkap H₃BO₃ 4% sebanyak 20 ml kemudian ditambahkan 2 tetes indikator campuran MR (*methyl red*) + BCG (*brom condeor green*). 70 ml aquadest dan 60 ml NaOH 45% ditambahkan. Proses destilasi menggunakan HCl 0,1 N sampai larutan penangkap berubah warna dari ungu menjadi hijau. Kadar PK dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{(\text{titran sampel} - \text{blangko}) \times \text{NHCl} \times ,014 \times 6,25}{\text{Sampel}} \times 100\%$$

Analisis kadar SK dilakukan dengan menimbang kertas saring Whatman 41 yang telah dikeringkan di dalam oven. Sampel ditimbang kemudian masukkan ke dalam gelas beaker 250 ml. Secara berturut-turut ditambahkan larutan H₂SO₄ 0,3 N 50 ml, larutan NaOH 1,5 N 25 ml, masing-masing dimasak sampai mendidih selama 30 menit. Larutan disaring menggunakan kertas saring, endapan dicuci berturut-turut dengan 50 ml aquades panas, 50 ml H₂SO₄ 0,3 N, 50 ml aquades panas dan 25 ml N-hexane. Kertas saring dan isinya dimasukkan dalam cawan porselain (CP), dioven pada suhu 110°C selama 8 jam, kemudian dipijarkan dalam tanur listrik pada suhu 600°C selama 4 jam. Tanur dibiarkan dingin, kemudian ditimbang. Kadar SK dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{(\text{CP} + \text{sampel setelah oven}) - (\text{CP} + \text{sampel setelah tanur}) - \text{kertas saring}}{\text{Sampel}} \times 100\%$$

Analisis kadar LK dilakukan dengan cara sampel ditimbang dan dibungkus menggunakan kertas saring, kemudian dioven pada suhu 110°C sampai diperoleh berat konstan misal beratnya **a** g. Sampel dimasukkan ke dalam alat soxhlet. Pelarut dietil eter dimasukkan ke dalam soxhlet selanjutnya pasang alat pendingin balik yang dialiri air pendingin, sirkulasi dilakukan sampai jenuh. Sampel dioven sampai diperoleh berat konstan misal beratnya **b** g. Kadar LK dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{(\text{CP} + \text{sampel setelah oven}) - \text{CP}}{\text{Sampel} \times (\text{bahan kering} / 100)} \times 100\%$$

Analisis kadar abu dilakukan dengan cara menimbang CP dan sampel, kemudian dipijarkan dalam tanur listrik pada suhu 600°C selama 4 jam. Tanur dibiarkan dingin kemudian ditimbang. Kadar abu dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{(\text{CP} + \text{sampel setelah tanur}) - \text{CP}}{\text{Sampel}} \times 100\%$$

$$\text{BETN} (\%) = 100 - (\% \text{ KA} + \% \text{ abu} + \% \text{ PK} + \% \text{ LK} + \% \text{ SK})$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam, jika terdapat pengaruh nyata perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS Versi 24.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim Selulase

Rata - rata nilai aktivitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase disajikan pada Tabel 2. Analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan substrat yang berbeda berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim endoglukanase dan eksoglukanase ($P < 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa penggunaan substrat yang berbeda menghasilkan aktivitas enzim yang berbeda pula. Hal tersebut disebabkan karena aktivitas enzim selulase dipengaruhi oleh struktur dari substrat. Khoshnevisan *et al.* (2011) melaporkan menyatakan struktur substrat dapat mempengaruhi produksi enzim, sehingga dapat menurunkan atau meningkatkan efisiensi aktivitasnya. Yuniarti *et al.* (2015) melaporkan kerapatan dinding sel meningkat sejalan dengan meningkatnya kandungan selulosa dan derajat kristalinitas selulosa.

Hasil uji jarak berganda Duncan bahwa aktivitas enzim endoglukanase dan eksoglukanase tertinggi terjadi pada kultur dengan penggunaan substrat berupa pucuk tebu dengan hasil berturut – turut sebesar 0,857 dan 0,940 U/ml/menit. Hal tersebut disebabkan karena kandungan ligninnya relatif rendah dibandingkan dengan substrat yang lain, sehingga selulosa lebih mudah dihidrolisis oleh mikroba dan digunakan untuk memproduksi enzim selulase. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Lee *et al.* (2009) bahwa renggangnya ikatan lignin terhadap selulosa akan memudahkan mikroorganisme menghidrolisis substrat, sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan ataupun produksi enzim selulase. Guman *et al.* (2010) melaporkan mikroorganisme sulit menghidrolisis selulosa disebabkan karena masih dilindungi oleh lignin.

Uji jarak berganda Duncan menunjukkan aktivitas enzim endoglukanase dan eksoglukanase terendah terjadi pada kultur dengan penambahan substrat berupa sabut kelapa dengan hasil berturut – turut sebesar 0,585 dan 0,669 U/ml/menit. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan selulosa yang relatif rendah dibandingkan dengan substrat lain, sehingga kandungan selulosa yang tersedia belum mampu mengoptimalkan produksi enzim selulase. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Russel *et al.* (2009) bahwa penurunan pertumbuhan spesifik enzim disebabkan karena tingkat penambahan substrat yang lebih rendah, tetapi penurunan jumlah sel yang diproduksi per unit substrat menunjukkan jalan lain pemanfaatan sumber energi, sehingga bakteri akan tumbuh lebih cepat jika kebutuhan hidup pokoknya terpenuhi. Berdasarkan hal

tersebut, diketahui bahwa ketersediaan jumlah substrat pada medium berpengaruh terhadap produksi dan aktivitas enzim.

Enzim endoglukanase dan eksoglukanase merupakan enzim pendegradasi selulosa. Singhania *et al.* (2013) melaporkan enzim endoglukanase menghidrolisis secara acak bagian amorf menghasilkan oligosakarida dengan panjang yang berbeda dan terbentuk ujung rantai baru. Meryandini *et al.* (2009) melaporkan menyatakan bahwa enzim eksoglukanase bekerja memotong ujung substrat selulosa kristalin, dimana ujung rantai oligosakarida menjadi selobiosa.

Aktivitas Enzim Xilanase

Hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa aktivitas xilanase tertinggi terjadi pada kultur dengan menggunakan substrat berupa pucuk tebu dan eceng gondok. Tongkol jagung memiliki kandungan hemiselulosa paling tinggi, tetapi hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim xilanasenya lebih rendah dibandingkan dengan kultur dengan menggunakan substrat berupa pucuk tebu dan eceng gondok ($P < 0,05$). Hal tersebut dapat terjadi karena kandungan lignin pada tongkol jagung lebih tinggi dari pada pucuk tebu dan eceng gondok, sehingga mikroba sulit untuk mendegradasi sehingga produksi enzim xilanase tidak optimal. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Judoamidjojo *et al.* (1989) yang melaporkan bahwa hambatan proses hidrolisis serat baik secara asam atau enzimatik adalah adanya lignin yang berfungsi sebagai pelindung serat. Ryu dan Mendels (1980) dan Biely (1993) melaporkan level produksi xilanase akan menjadi rendah apabila hemiselulosa tidak dapat masuk ke dalam sel mikroba, sehingga substrat tidak dapat menginduksi dan menstimulasi translasi gen penghasil hemiselulase. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar lignin, maka semakin besar pula hemiselulosa yang akan terikat oleh lignin, sehingga hemiselulosa sulit didegradasi oleh enzim xilanase.

Enzim xilanase termasuk kelompok enzim xilanolitik yang menghidrolisis struktur dasar xilan. Richana *et al.* (2008) melaporkan xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan xilosa.

Aktivitas Spesifik Enzim Endoglukanase, Eksoglukanase dan Xilanase

Rata-rata nilai aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase disajikan pada Tabel 3. Analisis ragam menunjukkan substrat yang berbeda berpengaruh nyata terhadap aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase ($P < 0,05$).

Hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa aktivitas spesifik tertinggi dihasilkan dari substrat kulit kacang. Tingginya aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase tidak sejalan dengan aktivitas enzim yang dihasilkan. Hal tersebut disebabkan karena jumlah protein terlarut supernatan kulit kacang lebih rendah dari jumlah protein terlarut supernatan substrat perlakuan lain. Jumlah protein terlarut supernatan dengan substrat sabut kelapa; pucuk tebu; tongkol jagung; kulit kacang; dan eceng gondok berturut – turut adalah 43,436 mg/ml; 73,436 mg/ml; 51,474 mg/ml; 35,130 mg/ml; dan 47,433 mg/ml. Machfoed *et al.* (1989) melaporkan bahwa jumlah aktivitas spesifik enzim ditentukan dari nilai aktivitas enzim dengan protein terlarut dalam supernatan enzim. Lehninger (2006) menyatakan bahwa aktivitas enzim dalam mengkatalis substrat dipengaruhi oleh kelengkapan komponen penyusunnya. Daya katalik enzim akan hilang apabila tidak sesuai dengan subunit bagiannya, begitu pula jika komponen asam amino penyusun enzim tidak sesuai atau rusak, aktivitas kataliknya juga akan rusak dan hanya terhitung sebagai protein. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa kandungan protein terlarut semakin tinggi, akan semakin menurunkan aktifitas spesifik enzim.

Aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase pada inokulum yang diisolasi menggunakan medium selektif cair dan dengan penambahan substrat kulit kacang menunjukkan bahwa enzim yang dihasilkan oleh mikroba tersebut memiliki aktivitas katalik yang paling tinggi dibandingkan dengan inokulum lain ($P < 0,05$). Agustini *et al.*, (2017) berpendapat bahwa aktivitas spesifik enzim mengindikasikan tingkat kemurnian enzim. Bisswanger (2014) menyatakan bahwa nilai aktivitas spesifik suatu enzim yang semakin besar menunjukkan bahwa

Tabel 3. Rata-rata nilai aktivitas spesifik enzim endoglukanase, eksoglukanase dan xilanase

Perlakuan	Parameter		
	Endoglukanase	Eksoglukanase	Xilanase
	------(U/ml/menit)-----		
T ₁	0,014±0,002 ^c	0,016±0,002 ^{bc}	0,005±0,001 ^d
T ₂	0,012±0,002 ^c	0,013±0,001 ^d	0,011±0,001 ^c
T ₃	0,012±0,002 ^c	0,014±0,002 ^{cd}	0,014±0,004 ^b
T ₄	0,020±0,003 ^a	0,022±0,001 ^a	0,018±0,001 ^a
T ₅	0,017±0,001 ^b	0,017±0,001 ^b	0,018±0,001 ^a

^{a,b,c} superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). T₁ = sabut kelapa; T₂ = pucuk tebu; T₃ = tongkol jagung; T₄ = kulit kacang; T₅ = eceng gondok

semakin murni kadar enzim tersebut pada suatu larutan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan jumlah pemberian yang sama, masing-masing substrat dapat memiliki konsentrasi kristalin, amorf dan xilan yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa kulit kacang memiliki konsentrasi yang lebih tinggi sehingga aktivitas kataliknya lebih tinggi. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Herbert *et al.* (1956) melaporkan bahwa laju pertumbuhan spesifik sebanding dengan konsentrasi substrat, sehingga secara berkelanjutan enzim yang diproduksi perunit substrat tidak konstan. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat maka kecepatan reaksi katalis semakin tinggi.

Berdasarkan nilai aktivitas spesifik dari ketiga jenis enzim, dapat disimpulkan bahwa proses fermentasi sabut kelapa akan lebih efektif apabila menggunakan inokulum dengan substrat berupa kulit kacang. Pemilihan ini berdasarkan bahwa nilai aktivitas spesifik merupakan gambaran dari kemurnian suatu enzim.

Kualitas Nutrisi Sabut Kelapa Fermentasi

Kadar protein kasar (PK)

Pengaruh perlakuan terhadap kadar PK disajikan pada Tabel 4. Analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan penggunaan persentase inokulum dengan lama peram. Akan tetapi, masing-masing perlakuan penggunaan persentase inokulum dan lama peram berpengaruh nyata terhadap kadar PK ($P < 0,05$). Hal ini berarti kedua faktor perlakuan tidak atau belum saling mempengaruhi peningkatan kadar PK.

Kadar PK meningkat seiring dengan semakin meningkatnya persentase pemberian inokulum sampai 5% dan lama waktu peram sampai 14 hari berdasarkan perlakuan yang dicobakan. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan penambahan inokulum yaitu 0, 2,5 dan 5% yang mana inokulum tersebut berisi mikroba sehingga dihitung sebagai protein kasar. Waktu pemeraman sampai 14 hari menyebabkan meningkatnya kesempatan mikroba untuk melakukan pertumbuhan dan fermentasi. Hal tersebut mempengaruhi peningkatan jumlah mikroba dan akan menambah jumlah PK. Adanya penurunan kadar serat kasar dengan semakin lamanya waktu pemeraman sampai 14 hari juga mempengaruhi terjadinya peningkatan kadar protein kasar secara relatif. Hal ini sejalan dengan pendapat Pasaribu (2007) bahwa penanaman mikroba pada substrat membutuhkan lama pemeraman tertentu agar mikroba dapat mengoptimalkan kerja enzim pencerna serat dan meningkatkan kadar protein kasar. Purwadaria *et al.* (1997) melaporkan bahwa selama proses fermentasi, mikroba berperan sebagai penghasil enzim untuk memecah serat dan meningkatkan kadar protein substrat. Pendapat lain menyatakan bahwa peningkatan jumlah mikroba akan menyebabkan meningkatnya kandungan protein pada produk fermentasi (Wina, 2008).

Kadar Serat Kasar (SK)

Pengaruh perlakuan terhadap kadar SK disajikan pada Tabel 4. Analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara persentase inokulum dan lama peram terhadap kadar SK ($P < 0,05$). Kadar SK menurun seiring dengan semakin meningkatnya persentase

Tabel 4. Komponen proksimat abut kelapa fermentasi

Perlakuan	Parameter				
	PK	SK	LK	ABU	BETN
----- (%) -----					
Persentase Inokulum x Lama Peram					
P ₀ H ₀	1,89±0,49 ^{ns}	62,46±2,34 ^a	7,04±1,47 ^c	8,41±0,59 ^e	20,21±3,16 ^{ns}
P ₁ H ₀	1,95±0,08 ^{ns}	62,40±2,02 ^a	7,60±0,63 ^c	8,01±0,69 ^e	20,04±2,63 ^{ns}
P ₂ H ₀	2,17±0,03 ^{ns}	62,36±2,88 ^a	7,94±0,39 ^c	8,88±0,57 ^e	18,61±3,53 ^{ns}
P ₀ H ₁	1,91±0,06 ^{ns}	61,96±1,64 ^a	7,90±0,83 ^c	7,89±0,22 ^e	20,14±1,55 ^{ns}
P ₁ H ₁	2,06±0,16 ^{ns}	55,48±4,36 ^b	8,77±4,34 ^c	13,75±1,74 ^c	19,95±7,23 ^{ns}
P ₂ H ₁	2,33±0,09 ^{ns}	49,90±0,85 ^c	13,53±4,51 ^{ab}	16,41±1,48 ^{ab}	17,83±7,23 ^{ns}
P ₀ H ₂	1,94±0,05 ^{ns}	61,34±2,86 ^a	7,63±0,40 ^c	9,14±0,46 ^d	19,95±3,02 ^{ns}
P ₁ H ₂	2,09±0,05 ^{ns}	51,70±2,74 ^c	10,10±0,90 ^c	16,99±0,54 ^a	19,12±3,09 ^{ns}
P ₂ H ₂	2,49±0,19 ^{ns}	49,91±1,44 ^c	16,03±1,79 ^a	12,55±0,74 ^{cd}	19,02±2,56 ^{ns}
Persentase Inokulum					
P ₀	1,92±0,50 ^c	61,92±2,02 ^a	7,54±0,98 ^b	8,48±0,67 ^b	20,43±0,98 ^{ns}
P ₁	2,03±0,12 ^b	56,53±5,46 ^b	8,82±2,57 ^b	12,91±4,01 ^a	19,12±2,57 ^{ns}
P ₂	2,33±0,18 ^a	54,06±6,37 ^c	12,50±4,35 ^a	12,80±3,34 ^a	18,50±4,3 ^{ns}
Lama Peram					
H ₀	2,00±0,14 ^b	62,41±2,21 ^a	7,53±0,94 ^b	8,43±0,67 ^b	19,63±0,92 ^{ns}
H ₁	2,10±0,21 ^a	55,78±5,40 ^b	10,07±4,91 ^a	12,88±3,91 ^a	19,64±4,42 ^{ns}
H ₂	2,17±0,26 ^a	54,32±5,83 ^b	11,27±3,83 ^a	12,89±3,40 ^a	19,36±2,66 ^{ns}

^{a,b,c} superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). ^{ns}(non signifikan) = menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). P₀ = Penambahan inokulum 0%; P₁ = Penambahan inokulum 2,5%; P₂ = Penambahan inokulum 5%; H₀ = Pemeraman 0 hari; H₁ = Pemeraman 7 hari; H₂ = Pemeraman 14 hari.

pemberian inokulum sampai 5% dan lama waktu peram sampai 14 hari berdasarkan perlakuan yang dicobakan. Hal tersebut disebabkan karena dengan peningkatan jumlah starter sampai 5% dan peningkatan lama waktu pemeraman sampai 14 hari, secara bersama-sama menyebabkan kemampuan mendegradasi serat menjadi lebih tinggi dan meningkatkan kesempatan mikroba pencerna serat untuk melakukan pertumbuhan dan fermentasi. Hal ini sejalan dengan pendapat Musnandar (2006), bahwa lama waktu fermentasi dan jumlah inokulum yang cukup akan meningkatkan kecepatan mikroba untuk mendegradasi serat. Pendapat lain menyatakan bahwa bakteri selulolitik menghasilkan enzim selulase yang mampu memecah selulosamenjadi glukosa, selanjutnya glukosa yang akan digunakan sebagai sumber karbon dan energi untuk kebutuhan hidupnya (Gamayanti *et al.*, 2012). Hal tersebut menunjukkan bahwa inokulum hasil isolasi mampu mendegradasi serat sabut kelapa pada jumlah penggunaan inokulum sampai 5% dan lama peram sampai 14 hari, sehingga mampu menurunkan kadar SK.

Kadar Lemak Kasar (LK)

Pengaruh perlakuan terhadap kadar LK disajikan pada Tabel 4. Analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi antara perlakuan penggunaan persentase inokulum dengan lama peram terhadap kadar LK ($P < 0,05$). Hal ini berarti kedua faktor perlakuan sama-sama saling mempengaruhi kadar LK. Kadar LK meningkat seiring dengan meningkatnya persentase pemberian inokulum sampai 5% dan lama waktu pemeraman sampai 14 hari. Peningkatan kadar LK diiringi dengan penurunan kadar SK pada perlakuan tersebut. Hal tersebut disebabkan karena komponen proksimat yang lain berubah, sehingga persentase LK menjadi naik. Selain itu, starter yang digunakan untuk fermentasi sabut kelapa adalah starter yang hanya mengandung mikroba pencerna serat, sehingga enzim yang produksi hanya dapat mendegradasi substrat berupa serat dan tidak dapat mendegradasi substrat lain. Hal ini sejalan dengan pendapat Lehninger (2006) yang menjelaskan bahwa mikroba hanya dapat mensintesis enzim dengan kerja spesifik pada substrat tertentu. Elyza *et al.* (2015) melaporkan bahwa enzim lipase dihasilkan oleh mikroba lipolitik untuk mendegradasi lemak.

Kadar Abu

Pengaruh perlakuan terhadap kadar abu disajikan pada Tabel 4. Analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan penggunaan persentase inokulum dengan lama peram terhadap kadar abu ($P < 0,05$). Hal ini berarti kedua faktor perlakuan sama-sama saling mempengaruhi kadar abu.

Kadar abu merupakan gambaran dari kandungan bahan organik. Kadar abu yang semakin rendah merepresentasikan kandungan bahan organik yang semakin tinggi. Meningkatnya kadar abu pada perakuan P_1 dan P_2 yang diberi perlakuan H_1 dan H_2

menunjukkan bahwa bahan organik pada sabut kelapa telah dicerna oleh mikroba selama proses fermentasi, sehingga kandungan bahan organiknya semakin menurun. Hal ini sejalan dengan pendapat Purwadaria *et al.* (1997) bahwa peningkatan kadar abu menunjukkan berkurangnya bahan organik substrat. Irawan *et al.* (2012) melaporkan bahwa pada proses fermentasi, mikroba mencerna bahan organik menjadi gula sederhana.

Kadar Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen (BETN)

Rata-rata kadar BETN sabut kelapa fermentasi disajikan pada Tabel 4. Analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara penggunaan persentase inokulum dengan lama peram terhadap kadar BETN. Hal ini berarti kedua faktor perlakuan secara bersama-sama tidak saling mempengaruhi kadar BETN. Masing-masing perlakuan penggunaan persentase inokulum dan lama peram juga tidak berpengaruh nyata terhadap kadar BETN.

Berdasarkan hasil analisis ragam, semua perlakuan menghasilkan nilai yang sama sehingga tidak terjadi perubahan kandungan BETN pada sabut kelapa fermentasi. Hal tersebut disebabkan oleh adanya penambahan molases pada campuran sabut kelapa yang akan difermentasi, sehingga mikroba menggunakan gula sederhana dari molases untuk digunakan sebagai energi pada proses. Hal tersebut berpengaruh terhadap aktivitas mikroba untuk tidak banyak menggunakan BETN yang terkandung pada sabut kelapa sebagai sumber energi utama. Kusmiati *et al.* (2007) dan Yunartono *et al.* (2017) melaporkan bahwa molases berfungsi sebagai sumber karbon dan penghasil energi utama untuk mikroba pada proses fermentasi.

KESIMPULAN

Penggunaan substrat kulit kacang menghasilkan kultur mikroba pencerna serat terbaik. Kualitas sabut kelapa dapat meningkat seiring dengan peningkatan penggunaan inokulum dan lama pemeraman. Kualitas fermentasi sabut kelapa terbaik terjadi pada penggunaan inokulum sebanyak 5% dan pemeraman selama 14 hari ditinjau dari kadar protein kasar dan serat kasar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeyi, O. 2010. Proximate composition of some agricultural wastes in Nigeria and their potential use in activated carbon production. *Journal Applied Sciences Environmental Management* 14(1): 55-58.
- Agustini, L., R.S.B. Irianto, M. Turjaman, S.A. Faulina, R. Ariantari, S. Stephandra, H. Yuniar, Aryanto, Najmulah dan A. Yani. 2013. Pengaruh kondisi kultur pada aktivitas selulase isolat *Pycnoporus* sp. dan *Phlebiopsis* sp. *Jurnal Selulosa* 7(2): 79-90.

- AOAC. 2005. Official methods of analysis of the association of analytical chemist. 18th Ed. Assoc of Offi. Anal. Chem. Arlington.
- Bachrudin, Z., A.S.M. Sofro and B.I.M. Tampoebolon. 1998. The characterization of cellulase produced by buffalo rumen microbe: determination of michaleis constantas (Km and maximum velocity (Vm)). Indonesian Journal of Biotechnology 6: 185-188.
- Badan Pusat Statistik. 2018. Statistik Perkebunan Indonesia. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Biely, P. 1993. Biochemical aspects of the production of microbial hemicellulase. In: Hemicellulose and Hemicellulases (Ed. Coughlan, M.P. and G.P. Hazlewood). Portland Press. London. pp. 29-51.
- Bisswanger, H. 2014. Enzyme assays. Perspectives in Science 1: 41-55.
- Elyza, F., N. Gofar dan Munawar. 2015. Identifikasi dan uji potensi bakteri lipolitik limbah SBE (spent bleaching earth). Jurnal Ilmu Lingkungan 13(1): 12-18.
- Gamayanti, K.Y., A. Pertiwinigrum dan L.M. Yusiaty. Pengaruh penggunaan limbah cairan rumen dan lumpur gambut sebagai starter dalam proses fermentasi metanogenik. 2012. Buletin Perternakan 36: 32-39.
- Guman, I.B.W., K. Buda dan I.M.Y.S. Guna. 2010. Pengaruh perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH dan konsentrasi substrat jerami padi terhadap produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264. Jurnal Biologi 14: 55-61.
- Haryanto, T. dan D. Suheryanto. 2014. Pemisahan sabut kelapa menjadi serat kelapa dengan alat pengolahan (defibring mechine) untuk usaha kecil. Dalam: Prossiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses. Semarang, Indonesia. pp. 1-9.
- Herbert, D., R. Elsworth and R.C. Telling. 1956. The continuous culture of bacteria: A theoretical and experimental study. Journal of General Microbiology 14(3): 601-622.
- Irawan, P., I. Sutrisno dan C.S. Utama. 2012. Komponen proksimat pada kombinasi jerami padi dan jerami jagung yang difermentasi dengan berbagai aras isi rumen kerbau. Animal Agriculture Journal 1(2): 17-30.
- Judoamidjojo, R.M., E.G Said dan L. Hartoto. 1989. Biokonversi. PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Khoshnevisan, K., A.K. Bordbar, D. Zare, D. Davoodi, M. Noruzi, M. Barkhi and M. Tabatabaei. 2011. Immobilization of cellulase enzyme on superparamagnetic nanoparticles and determination of its activity and stability. Chemical Engineering Journal 171(2): 669-673.
- Kusmiati, S.R. Tamat, E. Jusuf dan R. Istiningstih. 2007. Produksi glukosa dari dua galur *Agrobacterium* sp. pada media mengandung kombinasi molase dan urasil. Biodiversitas 8(1): 123-129.
- Lee, S.H., T.V. Doherty, R.J. Linhardt and J.S. Dordick. 2009. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. Biotechnology and Bioengineering 102(5) :1368-1376.
- Lehninger, D.N. 2006. Principles of biochemistry. 4th Edition. University of Wisconsin. Medison.
- Lorica, R.G. and F.R. Uyenco. 1982. Agricultural and food processing wastes as potential substrates. In: Microbial Protein Production: Chemical Analysis. Science Diliman Publisher. Quezon.
- Machfoed, E.G., Said dan Krisnani. 1989. Fermentor. Petunjuk Laboratorium. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. Makara Sains 13(1): 33-38.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31(3):426-428.
- Musnandar, E. 2006. Pengaruh dosis inokulum *Marasmius* sp. dan inkubasi terhadap kandungan komponen serat dan protein murni pada sabut kelapa sawit untuk bahan pakan ternak. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. 9(4): 225-234.
- Neto, C.P.C.T., F.F.H. Ferreira, F.C. Bezerra, R.F. Sousa and M.L.F. Cavalcanti. 2004. Efeito de diferentes substratos na aclimatizacão "ex-vitro" de mudas de *Violeta Africana* (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). Revista de Biologia e Ciências da Terra 4(2): 2-6.
- Pasaribu, T. 2007. Produk fermentasi limbah pertanian sebagai bahan pakan unggas di Indonesia. Wartazoa 17: 109-116.
- Plummer, D.T. 1971. An introduction to biochemistry analysis. Mc.Graw Hill Publ. Co. Ltd. Bombay.
- Pradhan, K. 1994. Rumen ecosystem in relation to cattle and buffalo nutrition. In: Wanapat, M. and K. Sommart (Eds.), Proc. The 1st Asian Buffalo Association Congress. Khon Kaen University, Khon Kaen. pp. 221-242.
- Purwadaria T., T. Haryati, A.P. Sinurat, I.P. Kompiang, Supriyati dan J. Darma. 1997. The correlation between amylase and selulase activity with starch and fiber content on the fermentation of "cassapro" (cassava protein) with *Aspergillus niger*. In: Proceeding of the Indonesian Biotechnology Consortium IUC Biotechnology. Bogor, Indonesia. pp. 379-390.
- Rahmadani, S. 2011. Pengaruh penambahan serat sabut kelapa terhadap parameter kuat geser tanah berpasir. Jurnal SMARTek 9(3): 187-195.
- Ryu, D.D. and M. Mendels. 1980. Cellulases: biosynthesis and application. Enzyme and Microbial Technology 2(2): 91-101.
- Singhania, R.R., A.K. Patel, R.K. Sukumaran, C.

- Larrochea and A. Pandey. 2013. Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production. *Bioresource Technology* 127 500-507.
- Sitindaon, S.H. 2013. Inventarisasi potensi bahan pakan ternak ruminansia di Provinsi Riau. *Jurnal Peternakan* 1(10): 18-23.
- Wanapat, M., R. Pilajun and P. Kongmun. 2009a. Ruminant ecology of swamp buffalo as influenced by dietary sources. *Journal Animal Feed Science and Technology* 151: 205-214.
- Wanapat, M., K. Sommart, C. Wachirapakorn, S. Uriyapongson and C. Wattanachant. 1994. Recent advances in swamp buffal nutrition and feeding. In: Wanapat, M., Sommart, K. (Eds.), *Proc. the 1st Asian Buffalo Association Congress*. Khon Kaen University, Khon Kaen. pp. 221-242.
- Wanapat, M., S. Polyorach, K. Boonnop, C. Mapato and A. Cherdthong. 2009b. Effects of treating rice straw with urea or urea and calcium hydroxide upon intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield of dairy cows. *Livestock Science* 125: 238-243.
- Wina, E. 2008. *Teknologi Pemanfaatan dalam Pakan untuk Meningkatkan Produktivitas Tenak Ruminansia di Indonesia*. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Yunianti, A.D., S. Suhasman and S. Sahriyanti. 2015. Basic properties and nanostructure of wood from four fast growing species from a community forest. *Journal of Indian Academy of Wood Science* 12(2): 94-98.
- Yanuartono, A. Nururrozi, S. Indarjulianto, H. Purnamaningsih dan S. Rahardjo. 2017. Molasses: dampak negatif pada ruminansia. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 27 (2): 25-34.