# e-journal **FADET UNUD**

# e-Journal

# **Peternakan Tropika**

**Journal of Tropical Animal Science** 

email: peternakantropika ejournal@yahoo.com email: jurnaltropika@unud.ac.id



# Udayana

# POPULASI MIKROBA INOKULAN YANG DIPRODUKSI DARI CAIRAN RUMEN SAPI BALI DAN RAYAP

DEWI, M. P. L., N. N. SURYANI DAN I M. MUDITA

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar Hp: 085792072323, Email: madeputrilaksmidewi@gmail.com

# **ABSTRAK**

Penelitian yang bertujuanuntuk mengetahui populasi mikroba inokulan yang telah diproduksi dengan menggunakan kombinasi cairan rumen sapi bali dan rayap, dilaksanakan dari tanggal 3 Mei 2013 sampai dengan akhir Oktober 2013 di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan yaitu Inokulan yang diproduksi menggunakan 10% cairan rumen dan 0,3% rayap (BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub>), 20% cairan rumen dan 0,2% rayap (BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>) serta 20% cairan rumen dan 0,3% rayap (BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>) dan tiga ulangan. Peubah yang diamati adalah populasi bakteri anaerob, populasi bakteri selulolitik, populasi bakteri asam laktat, populasi total fungi, populasi fungi selulolitik dan derajat keasaman inokulan. Hasil penelitian menunjukan bahwa populasi bakteri anaerob sebesar (3,99-5,49 x 10<sup>8</sup> koloni/ml,), populasi bakteri selulolitik (3,61-4,59 x 10<sup>8</sup> koloni/ml), populasi bakteri asam laktat (2,87-4,53 x 10<sup>7</sup> koloni/ml), populasi total fungi (4,40-5,60 x 10<sup>7</sup> koloni/ml) dan populasi fungi selulolitik (2,13-2,93x 10<sup>7</sup> koloni/ml) serta derajat keasaman inokulan masing-masing sebesar 4,46-4,66. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi cairan rumen sapi bali 20% dengan penggunaan rayap 0,2% dan 0,3% pada inokulan (BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub> dan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>) mampu meningkatkan populasi bakteri anaerob, bakteri selulolitik, dan fungi selulolitik, namun populasi bakteri asam laktat, populasi total fungi dan derajat keasaman tidak berpengaruh.

Kata kunci :Inokulan, Cairan Rumen dan Rayap, Populasi Mikroba

# MICROBIAL POPULATION OF INOCULANTS PRODUCED FROM WASTE BALI CATTEL RUMEN FLUID AND TERMITES

# **ABSTRACT**

The research aims to know the microbial population of the inoculate that have been produced using a combination of cow rumen liquid of bali and termites, conducted from May 3, 2013 until the end of October 2013 in the laboratory of nutrition and Food Microbiology laboratory of livestock and animal husbandry Faculty Udayana University. The experimental design used was Completely Randomized Design(CRD) with three treatments which are produced using 10% rumen fluid and 0,3% termites (BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub>), 20% rumen fluid and 0,2% of termites (BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>) as well as 20% rumen fluid and 0,3% termites (BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>) and three replicates. The observed variables are anaerobic bacterial population, the population of cellulolytic bacteria, lactic acid bacteria, total population of fungi, population fungi cellulosic and the degree of acidity of inoculate. The research

results showed that anaerobic bacteria population  $(3,99-5,49 \times 10^8 \text{ colonies/ml})$ , population of cellulolytic bacteria  $(3,61-4,59 \times 10^8 \text{ colonies/ml})$ , the population of lactic acid bacteria  $(2,87-4,53 \times 10^7 \text{ colonies/ml})$ , the total population of fungi  $(4,40-5,60 \times 10^7 \text{ colonies/ml})$  and a population of fungi cellulolytic  $(2,13-2,93 \times 10^7 \text{ colonies/ml})$  as well as the degree of acidity of inoculate each of 4,46-4,66. From these results it can be concluded that the use of rumen fluid combination of 20% with the use of termite 0,2% and 0,3% at inoculate  $(BR_2T_2 \text{ and } BR_2T_3)$  are able to improve the anaerobic bacterial populations, cellulolytic bacteria and cellulolytic fungi, but the population of lactic acid bacteria, total population of fungi and the degree of acidity of no effect.

Keyword : Inoculant, Rumen Fluid And Termites, Microbial Population

#### **PENDAHULUAN**

Penyediaan pakan yang berkualitas dalam jumlah yang cukup berkesinambungan menjadi salah satu kendala dalam pengembangan usaha peternakan saat ini. Hal ini disebabkan karena semakin sempitnya lahan untuk penanaman hijauan pakan serta semakin mahalnya harga bahan pakan (konvensional) dalam negeri yang umumnya dipakai peternak. Menurut Lahay dan Rinduwati (2007) sumber pakan sebaiknya memenuhi kriteria murah, berkesinambungan, mempunyai nilai gizi yang tinggi dan tidak bersaing dengan kebutuhan manusia.Oleh karena itu, dalam pengembangan usaha peternakan diperlukan suatu strategi yang mampu memperkuat sistem ketahanan pakan melalui swasembada pakan, yaitu dengan memanfaatkan sumber daya lokal asal limbah sebagai pakan. Limbah sebagai pakan jika dimanfaatkan secara tepat dan optimal, akan dapat menyediakan pakan yang murah dan bermutu, sehingga akan dapat meningkatkan pendapatan peternak dan produktivitas ternak, sekaligus dapat mengatasi pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh produksi limbah yang tidak ditangani dengan baik (Bidura, 2007).

Pemanfaatan limbah sebagai pakan perlu mendapat perhatian khusus karena beberapa jenis bahan pakan asal limbah memiliki kandungan protein yang rendah, fraksi serat kasar tinggi dan memiliki kecernaan yang rendah, sehingga pemanfaatan limbah kurang diminati oleh peternak.Pemanfaatan limbah sebagai pakan ternak secara langsung, tidak mampu memenuhi kecukupan nutrisi baik untuk hidup pokok, produksi maupun reproduksi (Putri *et al.*, 2009; Mudita *et al.*, 2010a,b), sehingga pemanfaatan limbah harus dibarengi dengan aplikasi teknologi pengolahan. Teknologi fermentasi merupakan salah satu teknologi yang dapat dilakukan dalam upaya menurunkan kandungan serat kasar dan senyawa anti nutrisi serta menaikkan kandungan nutrisi dan kecernaan pakan (Mudita *et* 

*al.*, 2009;2012). Teknologi fermentasi menggunakan inokulan berbasis cairan rumen sapi bali dan rayap merupakan salah satu teknologi yang diyakini mampu mengatasi permasalahan tersebut.

Isi rumen merupakan limbah rumah potong dari ternak ruminansia. Cairan rumen mengandung berbagai mikroorganisme baik bakteri, fungi maupun protozoa (Kamra, 2005). Cairan rumen sapi bali juga potensial dimanfaatkan sebagai inokulan kaya nutrisi mudah larut, mikroba dan enzim pendegradasi serat (Mudita *et al.*, 2009;2012), sedangkan rayap (*Termites sp*) sangat potensial dimanfaatkan sebagai inokulan mengingat sel tubuh, air liur dan saluran pencernaan rayap mengandung berbagai enzim pendegradasi serat (Watanabe *et al.*, 1998). Purwadaria *et al.* (2003a,b; 2004) menyatakan bahwa dalam saluran pencernaan rayap terdapat berbagai mikroba (bakteri, kapang/fungi, dan protozoa), menghasilkan kompleks enzim selulase yaitu *endo-\beta-D-1.4-glukanase/CMC-ase*, *aviselase*, *eksoglukanase* dan  $\beta$ -D-14-glukosidase, dan enzim hemiselulase seperti *endo-1,4-\beta-xilanase* serta enzim  $\beta$ -D-1,4-mannanase.

Hasil penelitian Mudita et al. (2012) menyatakan bahwa, pemanfaatan limbah cairan rumen sapi bali dari 10-20% dan penggunaan rayap 0,1-0,3% (BR<sub>1</sub>E<sub>1</sub>, BR<sub>2</sub>E<sub>1</sub>, BR<sub>1</sub>E<sub>2</sub>, BR<sub>2</sub>E<sub>2</sub>, BR<sub>1</sub>E<sub>3</sub> dan BR<sub>2</sub>E<sub>3</sub>) mampu menghasilkan inokulan dengan kualitas yang baik. Pada penelitian tersebut terpilih 3 inokulan yang mempunyai kualitas unggul yaitu inokulan yang diproduksi dari kombinasi 10% cairan rumen sapi bali dengan 0,3% rayap (BR<sub>1</sub>E<sub>3</sub>), kombinasi 20% cairan rumen sapi bali dengan 0,2% rayap (BR<sub>2</sub>E<sub>2</sub>) serta kombinasi 20% cairan rumen sapi bali dengan 0,3% rayap (BR<sub>2</sub>E<sub>3</sub>). Ketiga formula inokulan tersebut mempunyai kandungan nutrien dan mikrobiologi yang tinggi seperti kandungan protein terlarut (4,37 – 4,56%), mineral (Phosphor 159,14 – 161,26 mg/l, Kalsium 969,17 – 977,21 mg/l, Sulfur 245,67 – 247,00 mg/l dan Seng 7,95 – 8,09 mg/l.) dan populasi mikroba yang dihasilkan yaitu (total bakteri 13,70 – 14,23 x 10<sup>6</sup> kol/ml, populasi bakteri selulolitik 7,00 – 8,00 x 10<sup>6</sup> kol/ml dan populasi bakteri silanolitik 6,39 – 6,91 x 10<sup>6</sup> kol/ml). Terhadap efektivitas sebagai inokulan juga cukup baik, ditunjukkan dengan dihasilkannya silase ransum dengan VFA total (114,94 - 115,27 mM), NNH3 (18,45 – 18,47 mM), kecernaan bahan kering (Kc.BK) dan kecernaan bahan organik (Kc.BO) masing-masing sebesar 65,63-67,13% dan 67,55-69,45 namun berdasarkan data tersebut tampak bahwa tingkat kecernaan BK dan BO dari bioinokulan relatif masih rendah. Hal ini kemungkinan disebabkan karena populasi dan aktivitas mikroba yang masih rendah sebagai akibat komponen dan komposisi bahan medium yang hanya

menggunakan bahan alami mengakibatkan pertumbuhan mikroba inokulan relatif terbatas atau rendah. Leng (1997) menyatakan pertumbuhan tiap mikroba membutuhkan substrat yang spesifik, sehingga ketersediaan nutrien tertentu sangat penting untuk mendukung pertumbuhan mikroba yang optimal.

Berdasarkan kondisi tersebut, penulis tertarik untuk melanjutkan kegiatan penelitian dengan memanfaatkan 3 inokulan unggul tersebut, namun dengan merombak komponen dan komposisi medium inokulan dengan menambahkan beberapa bahan medium sintetis, yang berperan sebagai sumber karbon/energi bagi mikroba inokulan, sehingga pertumbuhan populasi mikroba perlu ditingkatkan. Populasi mikroba dari ketiga formula inokulan unggul yang diproduksi dari kombinasi cairan rumen dan rayap yang dibiakan pada medium inokulan kombinasi bahan alami dan sintetis belum diketahui, sehingga kegiatan penelitian ini dilaksanakan.

# MATERI DAN METODE

# Limbah cairan rumen sapi bali sebagai sumber inokulan

Limbah isi rumen sapi bali diperoleh dari Rumah Potong Hewan Pesanggaran, Denpasar. Limbah isi rumen segera diambil setelah sapi dipotong dan dimasukan ke dalam wadah tertutup rapat agar isi rumen tidak terkontaminasi udara luar. Sampel segera dibawa ke laboratorium untuk dipreparasi. Di labolatorium, sampel segera diperas untuk diambil airnya (cairan rumennya) kemudian dimasukan kedalam toples (yang sebelumnya sudah di sterilisasi dengan suhu 121°C selama 40 menit), kemudian cairan rumen dimasukan dan ditutup rapat hingga terbebas dari kontaminasi udara.

# Rayap sebagai sumber inokulan

Rayap yang digunakan dalam penelitian ini adalah rayap yang diperoleh dari kayu yang sedang melapuk yang terdapat di sekitar stasiun penelitian Fakultas Peternakan UNUD, Bukit Jimbaran. Preparasi rayap dilakukan dengan cara menggerus rayap menggunakan lumpang dengan jumlah sesuai perlakuan. Penggerusan dilakukan hingga halus dan segera dimasukkan kedalam wadah yang telah disiapkan.

# Medium inokulan dan Proses pembuatannya

Medium inokulan yang dipakai dalam produksi inokulan pada penelitian ini menggunakan kombinasi sumber nutrien alami dan sintetis yaitu gula aren, urea, *Carboxymethylcellulose* (CMC), xylanosa, asam tanat, tepung jerami padi, serbuk gergaji kayu, dedak padi, tepung tapioka, tepung dedak jagung, tepung kedele, CaCO<sub>3</sub>, garam

dapur dan multivitamin-mineral "pignox" (Tabel 1). Bahan medium padat (alami) terlebih dahulu dipreparasi dengan cara dikeringkan dalam *Draught Force Oven* (oven 70°C) selama 48 jam hingga tercapai kondisi berat kering. Kemudian bahan medium alami digiling menggunakan hammer mill dengan diameter gilingan 1 mm dan disterilisasi dalam *laminar air flow* selama 24 jam.

Pembuatan medium inokulan dilakukan dengan cara mencampur seluruh bahan medium hingga homogen, selanjutnya disterilisasi menggunakan autoclave T 121°C selama 15 menit. Kemudian medium didinginkan hingga mencapai T 40°C dalam wadah tertutup. Setelah itu baru dimanfaatkan dalam produksi inokulan.

Tabel 1. Komposisi bahan penyusun medium inokulan

Bahan Penyusun	Komposisi		
Gula aren (g)	50		
Urea (g)	5		
CMC (g)	0,02		
Xylanosa (g)	0,02		
Asam tanat (g)	0,02		
Tepung jerami padi (g)	1		
Tepung dedak padi (g)	1		
Tepung tapioka (g)	1		
Tepung dedak jagung (g)	1		
Tepung kedele (g)	1		
Serbuk gergaji kayu (g)	1		
Kapur/CaCO <sub>3</sub> (g)	0,1		
Garam dapur (g)	0,5		
Pignox (g)	0,1		
Air bersih	hingga volumenya menjadi 1 liter		
Kandungan Nutrien a)			
Phosphor/P (mg/l)	144,81		
Kalsium/Ca (mg/l)	936,07		
Belerang/Sulfur/ S (mg/l)	214,67		
Seng/Zincum/Zn (mg/l)	5,80		
Protein terlarut (%)	3,01		

Sumber: Mudita et al. (2013)

Keterangan: <sup>a)</sup>Hasil analisis Laboratorium Analitik UNUD

# Inokulan dan Teknik Produksinya

Inokulan yang digunakan pada penelitian ini adalah 3 formula inokulan unggul hasil penelitian Mudita *et al.* (2012) yaitu (BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>, BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub> dan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>) yang diproduksi dari limbah cairan isi rumen sapi bali dan rayap serta dibiakkan menggunakan medium kombinasi bahan alami dan sintetis

Produksi inokulan dilakukan dengan cara mencampur medium inokulan dan sumber inokulan sesuai perlakuan (Tabel 2) dalam wadah tertutup rapat. Inokulan yang baru diproduksi selanjutnya diinkubasi dalam inkubator T 39°C selama 1 minggu. Kemudian setelah 1 minggu, dilanjutkan dengan mencari kandungan nutrien inokulan (Tabel 3.)

Tabel 2. Tabel komposisi inokulan penelitian dalam 1 liter

No	Inokulan	Komposisi Campuran Inokulan			
		Cairan Rumen	Rayap (g)	Medium inokulan	
		(ml)		(ml)	
1	BR <sub>1</sub> T <sub>3</sub>	100	3	897	
2	$BR_2T_2$	200	2	798	
3	$BR_2T_3$	200	3	797	

Tabel 3. Kandungan nutrien inokulan yang diproduksi dari limbah isi rumen sapi bali dan rayap

No	Kandungan Nutrien –	Jenis Inokulan			SEM
		$BR_1T_3$	$BR_2T_2$	BR <sub>2</sub> T <sub>3</sub>	SEIVI
1	Kalsium/Ca (mg/l)	980,54	979,17	979,09	44,73
2	Phosphor/P (mg/l)	171,26	172,47	174,55	3,26
3	Belerang/S (mg/l)	245,67	246,00	247,00	4,97
4	Seng/Zn (mg/l)	7,95	8,07	8,09	0,55
5	Protein Terlarut (%)	7,67	7,82	7,85	0,04

Sumber: Mudita et al. (2013)

# Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak dan Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana, selama 6 bulan yaitu mulai awal Mei 2013 sampai dengan akhir Oktober 2013.

# Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan tiga formula inokulan unggul hasil penelitian Mudita *et al.* (2012). Penelitian didesain dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan.

Perlakuan didasarkan pada jenis inokulan yang diproduksi, yaitu:

- 1.  $BR_1T_3 = Inokulan yang diproduksi menggunakan 10% cairan rumen dan 0,3% rayap$
- 2.  $BR_2T_2$  = Inokulan yang diproduksi menggunakan 20% cairan rumen dan 0,2% rayap
- 3. BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub> = Inokulan yang diproduksi menggunakan 20% cairan rumen dan 0,3% rayap

# Variabel yang diamati

Variabel yang diamati adalah populasi mikroba yang meliputi populasi bakteri anaerob, populasi bakteri selulolitik, populasi total fungi, populasi fungi selulolitik, populasi bakteri asam laktat/BAL dan derajat keasaman/pH.

# A. Pembuatan larutan pengencer

Larutan pengencer dibuat menggunakan formulasi medium No. 14 bryant and Burkey (Ogimoto dan Imai, 1981) yaitu dengan komposisi 7,5 ml mineral I, 7,5 ml mineral II, 0,05 g HCl-cystein, 0,3 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,1 ml larutan rezasurin 0,1%, 100 ml H<sub>2</sub>O.Pembuatan larutan pengencer dilakukan dengan cara seluruh bahan/formula medium dicampur dalam tabung enlenmeyer dan dicampur hingga homogen kemudian ditutup rapat dengan kapas. Penghomogenan larutan dibantu dengan pemanasan dalam air mendidih selama 10 menit. Setelah homogen, larutan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Setelah larutan kembali dingin, larutan pengencer siap dimanfaatkan untuk kegiatan penelitian dan atau disimpan dalam refrigenerator (lemari es) sebagai sediaan.

Sedangkan larutan mineral dibuat mengikuti formula No. 32 Bryant and Burkey (Ogimoto dan Imai, 1981). Larutan mineral I dibuat dengan cara mencampur 6 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dalam 1 liter aquades. Larutan mineral II dibuat dengan melarutkan yang 6 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 12 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 12 g NaCl, 2,5 g MgSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O, 1,2 g CaCl<sub>2</sub> dalam 1 liter aquades. Setelah larutan tercampur rata/homogen, dapat segera dimanfaatkan.

# B. Penghitungan populasi mikroba inokulan

Populasi mikroba inokulan yang diamati yaitu terdiri dari jumlah total bakteri anaerob, jumlah bakteri selulolitik, jumlah total fungi, jumlah fungi selulolitik dan jumlah bakteri asam laktat, sedangkan evaluasi populasi mikroba dilakukan dengan metode *Direct Count* yaitu melalui pembiakan mikroba pada medium pertumbuhan selektif cawan petri. Mikroba inokulan yang akan dibiakkan terlebih dahulu diencerkan secara berseri menggunakan larutan pengencer (Medium No. 14 Bryant and Burkey, Ogimoto dan Imai, 1981). Selanjutnya diinokulasikan sebanyak 50 µl kedalam 20 ml medium padat cawan

petri (cawan petri berdiameter 8 cm). Medium pertumbuhan selektif dibuat dengan cara, sebagai berikut :

- 1) Untuk medium pertumbuhan populasi bakteri anaerob, tiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 2,98 g FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*), dengan 2,5 g bacto agar, dan ditambah aquades hingga volumenya 100 ml.
- 2) Untuk medium pertumbuhan populasi bakteri selulolitik, tiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 2,98 g FTM, 1 g CMC, dengan 2,5 g bacto agar, dan ditambah aquades hingga volumenya 100 ml.
- 3) Untuk medium pertumbuhan populasi bakteri asam laktat/BAL, tiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 5,2 g MRS (*de-Mann Rogosa Sharpe*) dan ditambah aquades hingga volumenya 100 ml.
- 4) Untuk medium pertumbuhan populasi total fungi, tiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 2,65 g PDB (*Potato Dextrosa Broth*), dengan 2,5 g bacto agar, 100 μl tetracyklin dan ditambah aquades hingga volumenya 100 ml.
- 5) Untuk medium pertumbuhan populasi fungi selulolitik, tiap 100 ml medium dibuat dengan mencampurkan 2,65 g PDB, dengan 2,5 g bacto agar, 100 μl tetracyklin, 1 g CMC dan ditambah aquades hingga volumenya 100 ml.

Medium yang baru dicampur selanjutnya dihomogenkan dengan cara di fortex dengan menggunakan digital hot stirer (dalam kondisi tertutup dengan aluminium poil) selama 10-15 menit pada suhu 100°C. Setelah homogen selanjutnya di sterilisasi dalam digital mini stand autoclave pada T 121°C selama 15 menit. Setelah selesai sterilisasi dan mulai mendingin (T±40°C) medium siap dimanfaatkan untuk penumbuhan mikroba selektif.

Proses pembiakan mikroba selektif dilakukan dalam *laminar air flow* dengan menggunakan 2 api spritus yang salah satunya dipakai sebagai indikator keberadaan oksigen (proses inokulasi mikroba dilaksanakan saat api spritus sebelah dalam mulai meredup). Proses inokulasi mikroba dilakukan dalam kondisi steril dan suasana *anaerob*. Inokulasi dilakukan dengan cara terlebih dahulu menuangkan 20 ml medium pertumbuhan mikroba selektif yang masih cair ( $T \pm 40^{\circ}$ C) pada cawan petri, selanjutnya diratakan dan didiamkan sebentar sampai medium memadat, setelah itu baru diinokulasikan 50 µl bioinokulan dari seri pengenceran  $10^{5}$  dan diratakan menggunakan batang bengkok. Setelah inokulasi dilanjutkan dengan inkubasi selama 5 hari dalam inkubator T  $39^{\circ}$ C.

# C. Evaluasi Derajat Keasamaan (pH)

Derajat keasaman inokulan yang dihasilkan diukur dengan menggunakan pH Meter Merk Beckman. Pengukuran pH tiap unit percobaan (tiap inokulan dengan 3 ulangan) dilakukan pada 3 sisi bagian tempat/wadah inokulan yang berbeda. Nilai pH yang diinput merupakan rataan dari ketiga pengukuran yang dilakukan.

# **Analisis Statistika**

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam/analisis varian (Anova) dan apabila terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05) antara perlakuan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Sastrosupadi, 2000).

# HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi mikroba suatu inokulan sangat dipengaruhi oleh sumber mikroba inokulan, nutrien yang tersedia serta kondisi lingkungan tempat mikroba tersebut tumbuh dan berkembang. Semakin banyak mikroba/sumber inokulan yang diinokulasikan serta didukung ketersediaan nutrisi dan kondisi lingkungan yang kondusif, maka populasi mikroba yang tumbuh akan semakin tinggi (Kamra, 2005). Hal yang sejalan terjadi pada hasil penelitian ini (Tabel 4.), dimana hasil penelitian menunjukan penggunaan 20% cairan rumen sapi bali dan 0,2-0,3% rayap meningkatkan secara nyata (P<0,05) populasi bakteri anaerob, bakteri selulolitik, dan fungi selulolitik.

Populasi bakteri anaerob merupakan seluruh jenis bakteri yang mampu beradaptasi dan tumbuh pada kondisi anaerob/tanpa oksigen. Populasi bakteri anaerob pada inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub> (5,49 x 10<sup>8</sup> kol/ml) yaitu 37,5% dan 3,19% lebih tinggi dan berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan inokulan BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub> dan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>. Hal tersebut membuktikan bahwa peningkatan populasi bakteri anaerob sejalan dengan peningkatan kombinasi limbah cairan rumen dan rayap yang dimanfaatkan dalam produksi inokulan. Tingginya populasi bakteri anaerob pada inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub> dapat disebabkan karena tingginya penggunaan persentase cairan rumen sapi bali yaitu 20% dan persentase rayap 0,3%, dibandingkan dengan inokulan BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub> dan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>, sehingga menyebabkan tingginya populasi bakteri yang dihasilkan pada inokulan. Hal ini juga didukung oleh pasokan nutrien yang berasal dari medium inokulan yang cukup tinggi (Tabel 1.), sehingga isolat-isolat bakteri yang ada pada limbah cairan rumen maupun rayap (khususnya yang berasal dari saluran pencernaannya) dapat tumbuh

dan berkembang dengan baik yang mengakibatkan populasi bakteri anaerob yang tinggi. Kamra (2005) menyatakan mikroba rumen pada ruminansia di daerah tropik yang umumnya mengkonsumsi pakan kaya serat terdiri dari bakteri  $(10^{10}-10^{11} \text{ sel/ml})$ , yang terdiri dari 50 jenis), protozoa bersilia  $(10^4-10^6/\text{ml})$ , terdiri dari 25 jenis), dan fungi anaerob  $(10^3-10^5 \text{ zoospore/ml})$ , terdiri dari 5 jenis).

Tabel 4. Pengaruh Perbedaan Level Pemberian Cairan Rumen Sapi Bali dan Rayap Terhadap Populasi Mikroba Inokulan yang Dihasilkan

Variabel	Inokulan <sup>1</sup>			- SEM <sup>3</sup>
v arrauci	$BR_1T_3$	$BR_2T_2$	$BR_2T_3$	- SEM
Populasi Bakteri Anaerob (x 10 <sup>8</sup> koloni/ml)	3,99 <sup>b</sup>	5,32 <sup>a</sup>	5,49 <sup>a</sup>	0,20
Populasi Bakteri Selulolitik (x 10 <sup>8</sup> koloni/ml)	3,61 <sup>b</sup>	4,51 <sup>a</sup>	4,59 <sup>a</sup>	0,18
Populasi Bakteri Asam Laktat (x 10 <sup>7</sup> koloni/ml)	$3,20^{a}$	4,53 <sup>a</sup>	2,87 <sup>a</sup>	1,07
Populasi Total Fungi (x 10 <sup>7</sup> koloni/ml)	$4,40^{a}$	4,47 <sup>a</sup>	$5,60^{a}$	0,48
Populasi Fungi Selulolitik (x 10 <sup>7</sup> koloni/ml)	$2,13^{b(2)}$	$2,80^{a}$	2,93 <sup>a</sup>	0,18
Derajat Keasaman/Ph	4,66 <sup>a</sup>	4,56 <sup>a</sup>	4,46 <sup>a</sup>	0,12

# Keterangan:

# 1)Jenis Inokulan:

BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub>= Inokulan yang diproduksi dari 10% cairan rumen dan 0,3% rayap

BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>= Inokulan yang diproduksi dari 20% cairan rumen dan 0,2% rayap

BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>= Inokulan yang diproduksi dari 20% cairan rumen dan 0,3% rayap

- 2) Huruf dengan superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)
- 3) SEM = "Standard Error of the Treatment Mean"

Hasil penelitian ini juga menunjukan penggunaan kombinasi cairan rumen sapi bali 20% dan rayap 0,3% (BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>)nyata lebih tinggi (P<0,05) meningkatkan populasi bakteri selulolitik 27,14% dibandingkan inokulan BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub>, serta lebih tinggi 1,77% dibandingkan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>, namun secara statistik berbeda tidak nyata (P>0,05).Hal ini dikarenakan selain dari persentase penggunaan sumber mikroba inokulan (cairan rumen dan rayap) yang cukup tinggi, juga dikarenakan medium yang digunakan mempunyai kandungan makro-mikro nutrien yang cukup tinggi sebagai makanan untuk tumbuh mikroba (Tabel 3.). Bakteri selulolitik berperan penting dalam perombakan serat kasar. Bakteri selulolitik merupakan bakteri heterotrop yang termasuk golongan saprofit, bakteri saprofit adalah bakteri yang dapat memanfaatkan sisa-sisa tumbuhan yang telah mati untuk memenuhi kebutuhan sel (Murni *et al.*, 2011). Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang mempunyai

kemampuan untuk memecah selulosa pada tanaman yang mengandung serat kasar tinggi (Hidayat, 2011). Faktor lain yang menyebabkan tingginya populasi bakteri selulolitik ini dapat dipengaruhi oleh pakan ternak semasih hidup, karena pada umumnya kelompok bakteri selulolitik akan dominan pada rumen bila ternak mengkonsumsi pakan hijauan. Begitupun dengan rayap yang merupakan serangga pemakan/dekomposer kayu yang mempunyai kemampuan dalam mendegradasi selulosa, karena keberadaan selulolitik dalam ususnya (Eutick et al., 1978). Hal ini sependapat dengan Weimer (1997) yang menyatakan bahwa peningkatan yang terjadi pada populasi bakteri, baik total bakteri, bakteri selulolitik, silanolitik, proteolitik maupun amilolitik juga disebabkan karena meningkatnya substrat yang dibutuhkan dalam hal ini nutrien (sumber selulosa) dalam medium inokulan. Hal yang serupa dinyatakan oleh Dewi et al. (2013) bahwa tersedianya nutrien yang cukup akan mendukung proses pertumbuhan dan aktivitas mikroba, sehingga populasi mikroba dapat meningkat.Beberapa contoh bakteri selulolitik Clostridium acetobutylicum, adalah Bacteriodes succinogenes, Ruminicoccus flavefaciens, Ruminicoccus albus, Cillobacterium cellulosolvens (Meryandini et al., 2009), sedangkan bakteri selulolitik yang telah berhasil diisolasi dari rayap adalah Coptotermen curnignathus adalah Bacillus cereus Razmin A, Enterobacter aerogenes Razmin B, Enterobacter cloaceae Razmin C, Chryseobacterium kwangyangense Strain Cb, Acinetobacter (Ramos et al., 2009). Tingginya populasi bakteri selulolitik yang dihasilkan pada inokulan menunjukkan inokulan tersebut mempunyai potensi yang sangat besar sebagai fermentor pakan/bahan pakan berkualitas rendah/kaya serat.

Terhadap populasi bakteri asam laktat/BAL pada semua inokulan yang diproduksi adalah sama yaitu 2,87-4,53 x 10<sup>7</sup> kol/ml. Hasil tersebut menunjukan peningkatan penggunaan kombinasi cairan rumen sapi bali dan rayap tidak mengakibatkan peningkatan populasi bakteri asam laktat yang dihasilkan. Pada inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub> menghasilkan populasi bakteri asam laktat (4,53x x 10<sup>7</sup> koloni/ml) yaitu 41,56% lebih tinggi dibandingkan BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub>. Hasil yang didapat dari penggunaan cairan rumen 20% dengan peningkatan persentase rayap 0,2% menjadi 0,3% (BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>) menghasilkan populasi bakteri asam laktat 36,64% lebih rendah dibandingkan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>. Hal ini dapat disebabkan penggunaan kombinasi cairan rumen sapi bali dan rayap pada inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub> merupakan kombinasi terbaik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, mengingat bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat (Rahmawati, 2010), sehingga kebutuhan akan gula-gula sederhana/karbohidrat mudah larut sebagai

sumber karbon sangat diperlukan oleh bakteri asam laktat untuk tumbuhnya, dibandingkan dengan bakteri lainya. Hal tersebut juga dapat dikarenakan ketersediaan senyawa karbohidrat yang mudah larut pada ketiga inokulan hampir sama sehingga populsi bakteri asam laktat yang tumbuh berbeda tidak nyata (P>0,05). Kosikwoksi (1977 dalam Murti 2010) yang menyatakan bahwa tinggi rendahnya bakteri asam laktat dipengaruhi oleh kemampuan bakteri asam laktat dalam membentuk asam laktat yang ditentukan oleh jumlah starter, jenis starter yang digunakan, lingkungan fermentasi dan jumlah nutrien yang tersedia selama masa inkubasi. Selain itu derajat keasaman/pH juga sangat berperan dalam pertumbuhan setiap bakteri terutama bakteri asam laktat, pH optimum untuk bakteri asam laktat adalah 4,5 (Todar, 2011). Hal ini serupa dengan penelitian Gallert dan Winter (1999), yang menyatakan bahwa penurunan pH setelah hari ke-0 yang menggambarkan terbentuknya tahap fermentasi yang menyebabkan pH lingkungan menjadi Perubahan kondisi lingkungan akan mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan bakteri awal, sehingga bakteri yang tidak mampu beradaptasi terhadap kondisi tersebut akan mengalami kematian karena kondisi lingkungan yang tidak mendukung proses metabolisme bakteri tersebut.

Hasil yang serupa didapat pada populasi total fungi terhadap semua inokulan yang diproduksi memiliki populasi yang tinggi namun berbeda tidak nyata (P>0,05), yaitu 4,40-5,60 x 10<sup>7</sup> kol/ml. Populasi total fungi merupakan total dari seluruh fungi yang tumbuh/ada pada inokulan. Peningkatan kombinasi cairan rumen sapi bali dan rayap yang digunakan tidak menghasilkan populasi total fungi yang berbeda nyata, hal ini dapat disebabkan karena kombinasi penggunaan cairan rumen dan rayap serta jumlah medium yang digunakan, mampu menghasilkan pertumbuhan fungi yang relatif tinggi dan kemungkinan besar kombinasi tersebut merupakan kombinasi optimal antara sumber inokulan dan medium inokulan. Pertumbuhan setiap kelompok fungi sangat ditentukan oleh ketersediaan nutrien/sumber karbon. Fungi mempunyai peranan penting dalam mencerna serat kasar (Soest, 1994). Fungi selulolitik merupakan fungi perombak selulosa yang membutuhkan selulosa sebagai sumber karbon/energinya, sehingga walaupun fungi selulolitik berbeda nyata terhadap populasi total fungi, namun secara keseluruhan populasi total fungi menjadi berbeda tidak nyata akibat adanya jumlah fungi lain yang kemungkinan lebih tinggi.

Populasi fungi selulolitik pada inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub> secara statistik menunjukan nyata lebih tinggi (P<0,05) sebesar 37,55% dibandingkan inokulan BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub>. Hal tersebut dapat dikarenakan penggunaan sumber inokulan (baik cairan rumen dan rayap) yang cukup

tinggi dengan suplai makro dan mikro nutrien untuk pertumbuhan bakteri seperti protein terlarut, phospor/P, belerang/S dan seng/Zn dapat tersedia dalam jumlah yang cukup yang sebagian besar berasal dari medium inokulan (Tabel 1.), sehingga isolat-isolat bakteri yang ada pada limbah cairan rumen maupun rayap dapat tumbuh dan berkembang dengan baik yang mengakibatkan populasi fungi selulolitik yang tinggi pada inokulan. Hal ini sependapat dengan Wibawa *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa peningkatan level cairan rumen sapi bali dan rayap akan meningkatkan populasi mikroba inokulan yang dihasilkan.Fungi selulolitik merupakan fungi perombak selulosa, kehadiran fungi akan membentuk koloni pada jaringan selulosa pakan, sehingga fungi dapat mengakibatkan terbukanya sel tanaman, agar dapat dicerna oleh enzim bakteri (Akin dan Borneman, 1990 disitasi oleh Wahyudi, A. 2009). Salah satu contoh fungi dalam rumen antara lain *Phycomycotes anaerob* yang pada umumnya terdapat pada sapi dan domba yang diberi makanan berserat tinggi (Prayitno, 2010).

Derajat keasaman (pH) merupakan satu diantara beberapa faktor penting yang mampu mempengaruhi proses pada fermentasi inokulan. Samsuri et al. (2007) menyatakan derajat keasaman optimum untuk proses fermentasi adalah 4-5, pada pH dibawah 3, proses fermentasi akan berkurang kecepatannya. Hasil penelitian menunjukan pH yang dihasilkan oleh inokulan semakin menurun seiring dengan peningkatan penggunaan kombinasi cairan rumen 10-20% dan rayap 0,2-0,3%. Secara statistika pH yang dihasilkan pada penelitian ini berbeda tidak nyata (P>0,05) (Tabel 4.), namun pH tertinggi dihasilkan oleh inokulan BR<sub>1</sub>T<sub>3</sub> (4,66) diikuti dengan inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub> (4,56) dan hasil terendah dimiliki oleh inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub> (4,46). Hal ini dapat dikarenakan kandungan protein terlarut pada inokulan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub> lebih tinggi dibandingkan inokulan lainnya sehingga seiring peningkatan penggunaan limbah cairan rumen dan rayap yang kaya akan mikroba sudah pasti akan meningkatkan laju proses fermentasi sehingga terjadi penurunan pH. Hal ini sependapat dengan Aisjah (1995) yang menyatakan semakin tinggi dosis inokulum, maka semakin banyak populasi mikroba dan semakin banyak pula komponen substrat yang dirombak menjadi asam-asam organik seperti VFA yang mengakibatkan terjadinya penurunan pH inokulan.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi cairan rumen sapi bali 20% dan penggunaan rayap 0,2% dan 0,3% pada inokulan (BR<sub>2</sub>T<sub>2</sub>

dan BR<sub>2</sub>T<sub>3</sub>) mampu meningkatkan populasi bakteri anaerob, bakteri selulolitik, dan fungi selulolitik, namun populasi bakteri asam laktat, populasi fungi dan derajat keasaman tidak berpengaruh.

#### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasihsetulus-tulusnya serta apresiasi yang tinggi kepada bapakI Made Mudita, S.Pt., MP,atas fasilitas berupa tempat dan materi penelitian serta selaku Dewan Pengelola/Penyunting Jurnal Peternakan Tropika. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih atas bimbingan dalam penelitian serta arahan selama penelitian berlangsung sampai selesai. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Bapak/Ibu Dosen Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang telah banyak memberikan saran dan masukan dalam penulisan karya ilmiah ini.Semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan rahmat-Nya atas segala bantuan dan budi baik bapak / ibu serta rekan – rekan sekalian.

# **DAFTAR PUSTAKA**

- Aisjah, T. 1995. Biokonversi Limbah Umbi Singkong menjadi Bahan Pakan Sumber Protein oleh Jamur Rhizophus serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Ayam Pedaging. Disertasi. Universitas Padjajaran Bandung.
- Bidura, I G. N. G. 2007. Limbah Pakan Ternak Alternatif dan Aplikasi Teknologi. Buku Ajar. Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar
- Dewi, G.A.M. K, I.W wijana, Ni W Siti dan I.M. Mudita. 2013. Optimalisasi Pemanfaatan Limbah dan Gulma Tanaman Pangan dalam Usaha Peternakan Itik Bali Melalui Produksi Biosuplemen Berprobiotik Berbasis Limbah Isi Rumen. Laporan Penelitian Hibah Penelitian Unggulan Udayana.
- Eutick ML, O'Brien RW, and Slaytor M. 1978. Bacteria from the gut of Australian termites. Applied and Environmental Microbiology. 1978;35(5):823-828.
- Gallert, C. and J. Winter. 1999. Bacterial Metabolism in Wastewater Treatment Systems. Environmental Processes I. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.
- Hidayat, W. 2011. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Produksi Enzim Selulase. Departement of Biology-UNS.https://gedangmatikenekvirus.wordpress.com/2011/05/01/bakteri-selulolitik-dan-enzim-selulase/ (dikunjungi 24 Januari 2015).
- Kamra, D. N. 2005. *Rumen Microbial Ecosystem*. Special Section: Microbial Diversity. Current Science. Vol. 89. No. 1. hal 124-135. Available from: URL: <a href="http://www.ias.ac.in/currsci/jul102005/124.pdf">http://www.ias.ac.in/currsci/jul102005/124.pdf</a> (dikunjungi 2 Desember 2006).

- Lahay, N. dan Rinduwati. 2007. Meningkatkan Nilai Nutrisi Feses Broiler dan Feses Puyuh dengan Teknologi Efektivitas Mikroorganisme sebagai Bahan Pakan Broiler. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor. hlm. 567-571.
- Leng, R.A. 1997. Tree Foliage in ruminant nutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. Rome.
- Mirni L., T. P. Nugroho, S. Chusniati, K. Rochiman. 2011. Eksplorasi Bakteri Selulolitik Asal Cairan Rumen Sapi Potong sebagai Bahan Inokulum Limbah Pertanian. Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan Vol. 4, No. 1, Februari 2011. Universitas Airlangga.
- Mudita, I M., T.I. Putri, T.G.B. Yadnya, dan B. R. T. Putri. 2010<sup>a</sup>. Penurunan Emisi Polutan Sapi Bali Penggemukan Melalui Pemberian Ransum Berbasis Limbah Inkonvensional Terfermentasi Cairan Rumen. Prosiding Seminar Nasional, Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto. ISBN: 978-979-25-9571-0
- Mudita, I M., I W. Wirawan Dan AA. P.P. Wibawa. 2010<sup>b</sup>. Suplementasi Bio-Multi Nutrien Yang Diproduksi Dari Cairan Rumen Untuk Meningkatkan Kualitas Silase Ransum Berbasis Bahan Lokal Asal Limbah. Laporan Penelitian Dosen Muda Unud, Denpasar.
- Mudita, I.M., I W. Wirawan, AA.P.P. Wibawa, I G. N. Kayana . 2012. PenggunaanCairan Rumen dan Rayap dalam Produksi Bioinokulan Alternatifserta Pemanfaatannya dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif dan Sustainable. Laporan Hibah Penelitian Fakultas Peternakan Universitas Udayana.
- Murti, T,W. 2010. Evaluasi Komposisi Kimia Susu Kambing Segar yang Difortifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Kehadiran Ekstrak Susu Kedelai. Semarang: Unika. Soegijapranata.
- Samsuri, M. M. Gozan, R. Mardias, M. Baiquni, H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, dan M. Nasikin.2007. Pemanfaatan Sellulosa Bagas untuk Produksi Ethanol melalui Sakarafikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase. Makara, Teknologi, Vol.11, NO.1 April 2007. Departermen Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. Depok. Jakarta.
- Ogimoto, K. and S. Imai. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Poress, Tokyo
- Putri, T. I., T.G.B. Yadnya, I M. Mudita, dan Budi Rahayu T.P. 2009. Biofermentasi Ransum Berbasis Bahan Lokal Asal Limbah Inkonvensional dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif dan Sustainable. Laporan Penelitian Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional. Universitas Udayana, Denpasar.
- Purwadaria, T., Pesta A. Marbun, Arnold P. Sinurat dan P. Ketaren. 2003<sup>a</sup>. Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap. JITV Vol. 8 No. 4 Th 2003:213-219
- Purwadaria, T., Pius P. Ketaren, Arnold P. Sinurat, dan Irawan Sutikno. 2003<sup>b</sup>. *Identification and Evaluation of Fiber Hydrolytic Enzymes in The Extract of*

- Termites (Glyptotermes montanus) for Poultry Feed Application. Indonesian Journal of Agricultural Sciences 4(2) 2003; 40-47
- Purwadaria, T., Puji Ardiningsip, Pius P. Ketaren dan Arnold P. Sinurat. 2004. Isolasi dan Penapisan Bakteri Xilanolitik Mesofil dari Rayap. Jurnal Mikrobiologi Indonesia, Vol. 9, No. 2.September 2004, hlm. 59-62
- Prayitno, C. H. dan Hidayat, N. 2011. Aktivitas Selulolitik dan Produk Asam Lemak Volatile dari Bakteri Rumen Sapi pada Substrat Jerami Padi. J. Anim. Prod. 1(1): 1-9.
- Ramos, S., M. L. Tejido, M. E. Martínez, M. J. Ranilla and M. D. Carro. 2009. Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations, and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage-to-concentrate ratio and type of forage. *J. Anim. Sci.* 87:2924-2934
- Rahmawati, A., dan Astuti., Pendidikan dan Penerapan MIPA, Asimilasi Kolestrol dan Dekunjugasi Garam Empedu oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Limbah Kotoran Ayam Secara In Vitro, Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Universitas Negeri Yogyakarta, 15 Mei 2010.
- Sastrosupadi, A.. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Edisi Revisi. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Soest, V.P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Second Edition. Cornell University Press. London.
- Todar, K., 2011. Fermentation of food by lactic acid bacteria. Todars Online Textbook of Bacteriology.
- Wahyudi, A. 2009. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri serta Jamur Lignoselulolitik Saluran Pencernaan Kerbau, Kuda dan Feses Gajah. Hibah Penelitian Doktor. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Watanabe H, Noha H. Tokuda G, Lo N. 1988. *A Cellulase Gene of Termite Origin*. Nature 394: 330-331
- Wibawa, A.A.P.P., I.M. Mudita, I.W. Wirawan dan I.G.L.O Cakra. 2010. Aplikasi teknologi suplementasi dan biofermentasi dalam wafer ransum komplit berbasis limbah konvensional dalam pengembangan peternakan kambing sustainablee dengan emisi polutan rendah. Laporan Penelitian Hibah Bersaing II UNUD, Denpasar.