

Effect of Soya Wastes Probiotic and Palm Kernel Addition Fermented by *Aspergillus niger* to the Cellulase Activity in Broilers Digestive Tract

Nurliana¹, Anna Farida², Sugito³, Al Azhar⁴, Razali¹, Cut Nila Thasmi⁵

¹Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: nunayafiq@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the cellulase activity in broilers digestive tract after the treatment of soya wastes and palm kernel fermented by A.niger (AKBIS Prob) in the ration. This study used a complete randomized factorial design, which consists of two factors, namely the AKBIS Prob composition factor and the duration of AKBIS Prob. Twenty four broilers were divided into four groups by randomized and three replications of each. The feed supplement combinations were P0 (commercial), P1 (commercial and AKBIS Prob 2%), P2 (commercial and AKBIS Prob 4%), and P3 (commercial and AKBIS Prob 6%). The intestine preparation was taken at the 22 and 36 days to extraction and detection the cellulase activity concentration. Data were analyzed using variance analysis of factorial patterns. AKBIS Prob 2,4 and 6% was no effect ($P > 0.05$) to the cellulase activity in the small and large intestine, while the treatment duration was significant ($P < 0,05$) in the small intestine but neither in the large intestine ($P > 0,05$) to the cellulase activity. The addition of AKBIS Prob 2.4 and 6% had no effect ($P > 0.05$) on the concentration of cellulase activity in the small intestine and large intestine, while the duration the treatment was very significant ($P < 0.05$) in the small intestine and neither in the large intestine ($P > 0.05$) on the concentration of cellulase activity. The AKBIS administration in the ration for 22 days can increase the activity and concentration of cellulase activity in the small intestine of the digestive tract of broiler chickens.

Key words: broilers, fermentation, A.niger probiotic, enzyme activity, cellulase

PENDAHULUAN

Ayam broiler mempunyai potensi yang besar dalam memberikan sumbangan dalam pemenuhan kebutuhan konsumsi protein hewani masyarakat Indonesia, karena sifat proses produksi relatif cepat (kurang dari 5 minggu) dan hasilnya dapat diterima masyarakat luas. Faktor utama dalam menentukan keberhasilan pemeliharaan ayam broiler adalah pakan (Andhika dkk., 2014).

Menurut Puspa dkk. (2011) faktor-faktor yang mempengaruhi produksi ayam broiler adalah pakan, genetik, lingkungan dan interaksi antara genetik dan lingkungan. Pakan menghabiskan kurang lebih 60-70% dari biaya produksi. Tingginya biaya

produksi dalam bentuk biaya pakan dapat ditekan dengan penggunaan bahan tambahan pakan lokal non konvensional yang harganya masih relatif murah.

Pemberian *feed additive* (bahan tambahan pakan) yang tidak sesuai cenderung menimbulkan masalah antara lain, peningkatan resistensi mikroba, sulitnya pengobatan akibat infeksi mikroba dan juga timbulnya residu dalam produk serta gangguan pertumbuhan ayam (Bouliane, 2003).

Ayam merupakan hewan monogastrik yang menghasilkan sedikit enzim pemecah serat, protein, pati dan phytat dalam ususnya, sehingga pemberian pakan serat tinggi dan komponen lain yang tidak mampu dipecahkan akan menurunkan

produktivitas dan kesehatan ayam. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan pemberian produk hasil proses fermentasi. Proses fermentasi banyak menggunakan bakteri dan cendawan, karena kemampuannya menghasilkan enzim pemecah serat (Masfufatun, 2013).

Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa adalah selulase. Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri. Kapang yang bisa menghasilkan selulase adalah *Aspergillus niger*, *Trichoderma viridae*, dan lain-lain. Sedangkan bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas* dan *Bacillus*. Diantara beberapa jenis kapang dan bakteri yang bisa menghasilkan selulase, yang potensial untuk dikembangkan dalam pembuatan enzim selulase salah satunya adalah kapang *A. niger* (Arnata, 2009). Disamping itu *A. niger* dapat digunakan sebagai probiotik yang dapat mempengaruhi kinerja saluran pencernaan berdasarkan enzim yang dihasilkannya (Fardiaz, 1989).

Aspergillus niger adalah cendawan yang menghasilkan beberapa jenis enzim (selulase, protease, amilase, pektinase dan amiloglukosida) dan banyak digunakan pada berbagai industri (Inggrid dan Suharto, 2012).

Penggunaan ampas kedelai dan serat buah sawit (bungkil inti sawit) yang difermentasi *A. niger* akan menghasilkan produk yang berbeda dengan bahan asal dan kemungkinan sangat mudah dicerna karena enzim yang dihasilkan *A. niger* dapat mencerna serat kasar dan meningkatkan daya cerna kedua limbah tersebut (Nurliana dkk., 2015). Produk yang dihasilkan dari penelitian Nurliana dkk, (2015) berpotensi sebagai probiotik, karena mengandung *A. niger* 10^{6-7} /g bahan hasil fermentasi (ampas kedelai dan bungkil inti sawit).

Fermentasi selulolitik merupakan cara mengatasi kendala bahan kaya selulosa. Mikrobia melepas enzim selulase untuk mendegradasi dan mentransformasi makromolekul selulosa menjadi molekul sederhana yang mudah diabsorpsi sel. Degradasi dinding sel akibat hidrolisis enzimatik menyebabkan terbebaskannya isi sel, sehingga dapat dicerna oleh enzim endogen unggas dan memudahkan akses kerja enzim pencernaan (Sulistiyawan, 2015).

Oleh karena itu, potensi AKBIS Prob sebagai probiotik dapat diketahui dengan melihat aktivitas selulase. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat aktivitas selulase saluran pencernaan ayam broiler setelah diberi pakan tambahan ampas kedelai dan bungkil inti sawit fermentasi *Aspergillus niger*.

MATERI DAN METODE

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial (Tabel 1), yang terdiri dari dua faktor perlakuan, yaitu faktor penambahan AKBIS Prob dengan berbagai konsentrasi (2, 4 dan 6%) dalam ransum dan faktor lama pemberian AKBIS Prob berdasarkan fase pertumbuhan ayam broiler (fase *strater* dan fase *grower*). Fase *strater* diamati setelah pemeliharaan 22 dan fase *grower* diamati setelah pemeliharaan 36 hari. Setiap perlakuan terdiri dari 3 ekor ayam.

Prosedur Penelitian Proses membuat AKBIS Prob

Ampas kedelai yang telah diperas dan bungkil inti sawit yang telah dihaluskan dicampur dengan perbandingan 1:1,

selanjutnya disterilisasi. Setelah didinginkan difermentasi dengan menggunakan jamur *Aspergillus niger* sebanyak 8 g/kg bahan, diaduk sampai merata dan biarkan selama 7 hari pada suhu ruangan, kemudian digiling dengan menggunakan penggiling pakan, selanjutnya dikeringkan menggunakan oven selama 45 menit pada suhu 70°C dan dibiarkan hingga dingin. Prosedur ini dilaksanakan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Nurliana dkk. (2015).

Pemeliharaan ayam dan pemberian AKBIS Prob

Ayam diadaptasi dalam dua kandang selama 8 hari (Lampiran gambar 1.2). Setelah masa adaptasi pemeliharaan dilanjutkan dalam kandang litter. Pemberian pakan dilakukan secara *ad libitum*. Penggantian air minum dan pencucian tempat minum dua kali sehari pada pagi dan sore hari. Ketersediaan pakan diperiksa setiap 2 jam. Penggantian atau penambahan litter dilakukan seperlunya (apabila litter basah oleh feses, urin dan air minum yang tertumpah maka litter harus diganti atau ditambah). AKBIS Prob diberikan secara substitusi sesuai dengan konsentrasi perlakuan 2, 4 dan 6% ransum (Lampiran gambar 1.2).

Preparasi usus

Usus dipreparasi pada hari ke 22 dan 36 pemberian AKBIS Prob dalam ransum. Ayam dimatikan dengan cara ayam disembelih. Pengambilan usus ayam dilakukan dengan mengikat usus pada awal dan akhir saluran pencernaan serta pada batas antara usus besar dan usus kecil. Usus ayam dipotong dan dikeluarkan dari rongga tubuh, ditimbang beratnya. Selanjutnya isi dari masing-masing bagian usus dimasukkan ke dalam plastik dipisahkan antara isi usus

besar dan usus kecil masing-masing sebanyak 2 gr setelah itu dimasukkan ke dalam pendingin (*freezer*) untuk diuji lanjut (Lampiran gambar 1.3).

Ekstraksi selulase kasar isi usus

Proses ekstraksi isi usus ayam dilakukan berdasarkan metode yang dikemukakan Nurliana dkk. (2015). Isi usus ayam untuk setiap perlakuan dan ulangan diencerkan dalam akuades injek steril dengan perbandingan 1:1, isi usus ditimbang sebanyak 2 gr dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, kemudian ditambahkan dengan akuades injek steril sebanyak 2 mL, dikocok menggunakan *rotary shaker* selama 1 jam pada suhu ruang. Disaring menggunakan *whatman filter* ke dalam mikrotube selanjutnya disentrifus pada 10000 rpm dengan suhu 4°C selama 10 menit, supernatan dituang ke dalam mikrotube dan disimpan untuk diuji terhadap aktivitas selulase (Lampiran gambar 1.4).

Deteksi aktivitas selulase kasar menggunakan metode *Well diffusion*

Deteksi aktivitas selulase dilakukan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Nurliana dkk. (2015). Metode *Well diffusion* menggunakan agar 0,7% ditambah dengan 0,5% CMC dalam akuades dididihkan dan di *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dituang ke dalam *Petridish* dan didinginkan selama 30 menit, dilubangi menjadi seperti sumur menggunakan tabung Durham (diameter 3mm). Setiap lubang diisi dengan ekstrak kasar enzim selulase sebanyak 25 µl, sebagai kontrol satu sumur diisi dengan akuades steril, kemudian media agar tersebut diinkubasi 24 jam pada suhu 30°C. Selanjutnya setiap sumur dikeringkan. Media agar tersebut disiram

dengan larutan congo red 0,1% dalam alkohol 70% selama 15 menit, kemudian disiram 1 M NaCl selama 15 menit. Sumur yang menunjukkan adanya zona bening menandakan adanya aktivitas selulase ekstrak uji (Lampiran gambar 1.5).

Pengukuran konsentrasi aktivitas selulase

Konsentrasi aktivitas selulase menggunakan metode DNS yang dikemukakan Wood (1998) yang telah dimodifikasi oleh Desi (2012). Untuk membuat larutan DNS (*Dinitrosalicylic acid*) menggunakan formulasi dalam 100ml akuades dibutuhkan DNS 1g, phenol 0,2g, Na2SO3 0,05g, NaOH 1gr.

Blanko, 1,8ml substrat (CMC 1%) ditambahkan dengan 0,2ml buffer asetat pH 5. 1,8ml substrat CMC 1% ditambahkan 0,2ml ekstrak enzim kasar kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* lalu inkubasi pada inkubator suhu 30°C selama 30 menit (aktivitas enzim dihentikan pada air mendidih selama 15 menit). Dari larutan ini diambil 1ml lalu tambahkan 1ml DNS panaskan kembali pada air mendidih selama 15 menit (Lampiran gambar 1.7). Absorbansi diukur pada panjang gelombang $\lambda = 575$ nm. Aktivitas selulase dinyatakan dalam satuan internasional unit per milliliter (IU/ml).

Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji statistik analisis sidik ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap aktivitas selulase diuji menggunakan uji beda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi Aktivitas Selulase Usus Halus dan Usus Besar

Deteksi aktivitas selulase usus halus dan usus besar setelah diberi ransum komersial dengan penambahan probiotik AKBIS (ampas kedelai dan bungkil inti sawit yang sudah difermentasi *A.niger*) dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Deteksi aktivitas selulase usus halus (dalam mm)

Lama pemberian AKBISprob dalam ransum (hari)	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
22	7,0	8,5	9,2	8,7
36	5,3	5,5	4,7	6,3

Berdasarkan analisis statistik menggunakan analisis sidik ragam menunjukkan penambahan AKBIS Prob 2, 4, 6 % dalam ransum tidak memengaruhi aktivitas selulase dalam usus halus ayam broiler, sedangkan lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum selama 22 dan 36 hari memengaruhi sangat nyata terhadap aktivitas selulase usus halus ayam broiler. Aktivitas selulase yang berbeda nyata tersebut menunjukkan bahwa lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum dapat meningkatkan aktivitas selulase usus halus ayam broiler.

Tabel 3. Deteksi aktivitas selulase usus besar (dalam mm)

Lama pemberian AKBISprob dalam ransum (hari)	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
22	8,7	8,5	10,2	9,5
36	8,0	9,8	9,7	10,0

Berdasarkan analisis statistik menggunakan analisis sidik ragam

menunjukkan penambahan AKBIS Prob 2, 4, 6 % dalam ransum dan lama pemberian AKBIS Prob selama 22 dan 36 hari dalam ransum tidak mempengaruhi aktivitas selulase dalam usus besar ayam broiler. Aktivitas selulase yang tidak nyata tersebut menunjukkan bahwa penambahan AKBIS Prob dan lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum tidak meningkatkan aktivitas selulase usus besar ayam broiler.

Enzim selulase yang diproduksi oleh *A. niger* untuk mendegradasi substrat dapat dideteksi menggunakan gabungan dua metode yaitu metode berdasarkan pengikatan zat warna dan metode lempeng agar yang dikombinasikan dengan *well diffusion* atau metode agar sumur, pada prinsipnya media agar yang digunakan merupakan media yang mengandung senyawa yang akan dirombak oleh enzim yang akan dideteksi (Nurliana dkk., 2015).

Selulosa yang digunakan pada penelitian ini adalah substrat selulosa komersial yaitu *Carboxymethyl Cellulose* (CMC). CMC adalah selulosa murni yang mudah terlarut dalam medium dan mudah terhidrolisis dibandingkan jika selulosa yang diambil dari alam yang masih berikatan dengan lignin dan hemiselulosa serta masih memiliki struktur yang tidak mudah larut (kristalin) yang tinggi (Astutik, 2012). CMC diketahui merupakan substrat efektif untuk produksi enzim endoglukanase (Tae-II dkk., 2000), lebih lanjut Zhang dkk. (2006) menyatakan bahwa CMC merupakan substrat yang memiliki spesifikasi untuk pengujian aktivitas enzim endoglukanase dibandingkan dengan substrat selulosa yang lain. Aktivitas enzim bergantung pada kandungan dan struktur setiap substrat yang berbeda-beda.

Deteksi aktivitas selulase dengan

penambahan CMC sebagai substrat selulosa memberikan zona bening yang tidak tampak secara visual, untuk itu diperlukan pewarnaan menggunakan congo red untuk melihat zona bening yang dihasilkan (Ramadhan, 2012). Hal ini dikarenakan pewarna congo red memiliki interaksi sangat kuat dengan polisakarida yang mengandung unit-unit β -D-Glukan seperti selulosa (Teather and Wood, 1981). Kemampuan interaksi ini dijadikan indikator degradasi selulosa dalam medium agar dengan penambahan CMC yang ditunjukkan oleh adanya zona bening setelah diberi pewarna congo red (Ramadhan, 2012).

Dari data yang diperoleh, terlihat bahwa deteksi aktivitas selulase pada usus besar menunjukkan diameter yang lebih luas dibandingkan dengan usus halus. Enzim selulase pada usus besar banyak dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) (Wido dkk., 2015).

Penelitian Harimurti dkk. (2014) melaporkan adanya pertumbuhan BAL pada sekum ayam broiler, dikarenakan lingkungan usus besar yang sesuai untuk tumbuh. Penelitian Mirzaie dkk. (2012) menyebutkan pH sekum 6,09, sedangkan penelitian yang dilakukan Mabelebele dkk. (2013) menyebutkan pH sekum sebesar 6,20 dan pH ini sangat baik untuk pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL).

Konsentrasi Aktivitas Selulase Usus Halus dan Usus Besar

Konsentrasi aktivitas selulase usus halus dan usus besar setelah diberi ransum komersial dengan penambahan probiotik AKBIS (ampas kedelai dan bungkil inti sawit yang sudah difermentasi *A.niger*) dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 4. Konsentrasi aktivitas selulase usus halus (IU/mL)

Lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum (hari)	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
22	21,0	25,4	30,7	24,6
36	20,7	11,5	12,0	21,4

Berdasarkan analisis statistik menggunakan analisis sidik ragam menunjukkan penambahan AKBIS Prob 2, 4, 6 % dalam ransum tidak mempengaruhi konsentrasi aktivitas selulase dalam usus halus ayam broiler, sedangkan lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum selama 22 dan 36 hari mempengaruhi sangat nyata terhadap konsentrasi aktivitas selulase usus halus ayam broiler. Konsentrasi aktivitas selulase yang berbeda nyata tersebut menunjukkan bahwa lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum dapat meningkatkan konsentrasi aktivitas selulase usus halus ayam broiler.

Tabel 5. Konsentrasi aktivitas selulase usus besar (IU/mL)

Lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum (hari)	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
22	7,8	13,7	17,0	6,2
36	10,0	11,5	14,4	12,9

Berdasarkan analisis statistik menggunakan analisis sidik ragam menunjukkan penambahan AKBIS Prob 2, 4, 6 % dalam ransum dan lama pemberian AKBIS Prob selama 22 dan 36 hari dalam ransum tidak mempengaruhi konsentrasi aktivitas selulase dalam usus besar ayam broiler. Konsentrasi aktivitas selulase yang

tidak nyata tersebut menunjukkan bahwa penambahan AKBIS Prob dan lama pemberian AKBIS Prob dalam ransum tidak meningkatkan konsentrasi aktivitas selulase usus besar ayam broiler.

Menurut Wahyuningtyas dkk. (2013) enzim selulase merupakan enzim yang berperan dalam degradasi tumbuhan materi selulosa menjadi gula sederhana. Produksi enzim memerlukan substrat yang biasanya berasal dari bahan berpati maupun bahan berselulosa. Pada penelitian ini substrat yang digunakan adalah ampas kedelai dan bungkil inti sawit. Pemilihan substrat ini didasarkan pada potensi kandungan nutrisinya.

Proses biodegradasi yang disebabkan oleh *Aspergillus niger* pada penelitian ini sebenarnya diperlukan untuk menyederhanakan partikel bahan pakan, sehingga produk yang dihasilkan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pakan (BTP) yang akan meningkatkan daya cerna dan nilai gizinya. Bahan/substrat yang telah mengalami degradasi akan terjadi peningkatan kualitas dari bahan baku asal/sebelumnya (Nurliana dkk, 2015).

Enzim selulase merupakan sistem enzim yang terdiri atas tiga tipe enzim utama yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase (Anon., 2013). Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis mendegradasi selulosa dan melepaskan gula reduksi (selobiosa dan glukosa) sebagai produk akhirnya. Enzim selulase akan memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 di dalam selulosa yang memiliki ikatan β -1,4-glikosidik pada polimer glukosanya sehingga menjadi gula sederhana turunannya (Chasanah dkk., 2013). Menurut Masfufatun (2013) dalam melakukan kerjakatalitiknya, aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi substrat, pH, suhu, konsentrasi enzim dan waktu reaksi.

Daya cerna serat kasar pada unggas dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kadar serat dalam pakan, komposisi penyusun serat kasar dan aktifitas mikroorganisme. Menurut Rasyaf (1994) kebutuhan serat kasar untuk ayam pedaging sebesar 3-5%. Penggunaan ampas kedelai umumnya maksimal 10% (Anonymous, 2010) dan menurut Anggorodi (1995) yang disitasi Ichwan (2005) mengungkapkan bahwa penggunaan ampas kedelai untuk pakan ayam pedaging untuk periode *starter* dan *finisher* 0-10%.

Salah satu indikasi pencernaan pakan yang baik dalam saluran pencernaan unggas adalah dengan mengamati karakteristik usus yaitu viskositas usus dan aktivitas enzim serta berat organ dalam. Hasil penelitian Fitasari (2009) menunjukkan bahwa semakin rendah viskositas usus dan semakin tinggi aktivitas enzim berkorelasi dengan berat badan ayam pedaging yang semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa pakan dapat dicerna dengan baik ketika berada di dalam usus halus sementara itu pencatatan konsumsi pakan oleh peternak unggas juga ditunjukkan untuk mengetahui perubahan-perubahan dalam hal kesehatan dan produktivitas (Fadilah dkk., 2007).

Menurut Chasanah dkk. (2013) pada fase *grower* aktivitas enzim selulase lebih besar karna pada fase ini penyerapan nutrisi lebih tinggi dan pada fase *finisher* aktivitas enzim selulase sudah menurun karna penyerapan nutrisi sudah berkurang dan nutrisi banyak yang terbuang ke usus besar.

Usus halus terjadi penyerap berbagai jenis makromineral dan nutrisi penting yang ada pada pakan. Matin dkk. (2013) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa pada usus halus terjadi penyerapan jenis makromineral. Mitchell dan Lemme (2008) menjelaskan bahwa dalam usus halus terjadi penyerapan asam amino dan glukosa.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa,

1. Deteksi aktivitas selulase usus halus menunjukkan bahwa pemberian AKBIS Prob konsentrasi berbeda tidak berpengaruh sedangkan lama pemberian berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas selulase usus halus saluran pencernaan ayam broiler. Deteksi aktivitas selulase usus besar pemberian AKBIS Prob konsentrasi berbeda maupun lama pemberian tidak berpengaruh terhadap aktivitas selulase usus besar saluran pencernaan ayam broiler.

2. Konsentrasi aktivitas selulase usus halus menunjukkan bahwa pemberian AKBIS Prob konsentrasi 2,4 dan 6% tidak berpengaruh sedangkan lama pemberian berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi aktivitas selulase usus halus saluran pencernaan ayam broiler. Konsentrasi aktivitas selulase usus besar pemberian AKBIS Prob konsentrasi berbeda maupun lama pemberian tidak berpengaruh terhadap konsentrasi aktivitas selulase usus besar saluran pencernaan ayam broiler.

DAFTAR PUSTAKA

- Andhika, KS., Sukanto B. dan Dwiloka B. 2014. Efisiensi penggunaan protein pada ayam broiler dengan pemberian pakan mengandung tepung daun kayambang (*Salvinia molesta*). **Agripet**. 14(2) : 23-27.
- Anon, D. 2004. Pengaruh penambahan probiotik *Bacillus sp* pada pakan komersil terhadap konversi pakan dan pertumbuhan ikan patin. **Jurnal Akuakultur Indonesia**. 3(1) :15-18.
- Anonimous. 2010. Fermentasi (<http://jajo66.files.wordpress.com/2008/03/06/fermentasi.pdf>). (10 Mei 2016).
- Arnata, I W. 2009. Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. **Tesis**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Astutik, R.P., Kuswytasari, N.D., Shovitri, M. 2011. Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xilanase Isolat Kapang Tanah Wonorejo Surabaya. **Laporan**

- Penelitian.** Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Surabaya.
- Bouliane, M. 2003. **Can We Farm Poultry Without Antimicrobials.** Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal.
- Chasanah E., Dini IR. dan Nisa RM. 2013. Karakterisasi enzim selulase PMP 0126Y dari limbah pengolahan agar. **JPB Perikanan.** 8(2) : 103–114.
- Fardiaz S. 1989. **Mikrobiologi Pangan.** Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fitasari, E. 2009. Pengaruh penggunaan probiotik dan enzim papain dalam pakan terhadap karakteristik dan mikroflora usus, serta penampilan produksi ayam pedaging. **Tesis.** Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Harimurti, S., E.S.Rahayu, Nasroedin dan Kurniasih. 2014. Bakteri asam laktat dari intestin ayam sebagai agensia probiotik. **Animal Production.** 9 (2) : 82-91.
- Ichwan, W.M.W. 2005. **Membuat Pakan Ayam Ras Pedaging.** Cetakan Kedua. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Inggrid, M dan Suharto. 2012. Fermentasi Glukosa oleh *Aspergillus niger* Menjadi Asam Glukonat. **Laporan Penelitian.** Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahayangan. Bandung.
- Mabelebele, M., Alabi, O.J., Ngambi, J.W., Norris, D. and Ginindza, M.M. 2013. Comparison of gastrointestinal tract and pH value of digestive organs of ross 308 broiler and indigenous vend chicken feed the same diet. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advance.** 1(7):1-6.
- Masfufatun. 2013. Isolasi dan karakterisasi enzim selulase. **Jurnal Biologi.** 15(2):29-33.
- Matin, M., Herlinasari dan Hermiati. 2013. Pengaruh penggunaan probiotik dalam ransum terhadap performans produksi susu peternakan sapi perah rakyat. **Jurnal Ilmu Ternak.** 17(2):42-47.
- Mirzaie, S., Zaghari, M., Aminzadeh, S and Shivazad, M. 2012. The effect of non starch *polysaccharides* content of wheat and xylanase supplementation on the intestinal amylase, aminopeptidase and lipase activities, ileal viscosity and fat digestibility in layer diet. **Iranian Journal of Biotechnology.** 10(3): 208-214.
- Mitchell dan Lemme. 2008. Treatment of commercial broiler chickens with a characterized culture of caecal bacteria to reduce *salmonella* colonization. **Poultry Sci.** 74:1093-1101.
- Nurliana, Sitti W. dan D. Masyitha. 2015. Pemberian ampas kedelai dan serat buah sawit yang difermentasi *Aspergillus niger* dalam pakan Untuk peningkatan produktivitas ayam petelur. **Laporan Penelitian.** Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Puspa, R.W., W. Busono dan R. Indrati. 2011. Pengaruh suhu kandang yang berbeda terhadap performans ayam pedaging periode starter. **Jurnal Ilmu Ternak.** 12(5) : 125-128.
- Ramadhan, N. 2012. Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Tanah Gambut di Perkebunan Karet Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Riau. **Disertasi.** Universitas Riau. Pekanbaru.
- Rasyaf, M. 1994. **Bahan Makanan Unggas di Indonesia.** Cetakan Ketiga. Kanisius. Yogyakarta.
- Sulistiyawan, I.H. 2015. Perbaikan kualitas pakan ayam broiler melalui fermentasi dua tahap menggunakan *Trichoderma reesei* dan *Saccaromyces cerevisiae*. **Agripet.** 15(1) : 66-71.
- Supriyadi, T. P., H. Hamid dan A. Sinurat. 1998. Fermentasi ampas inti sawit secara substrat padat dengan menggunakan *Aspergillus niger*. **Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner.** 3 (3) :165-170.
- Teather, R.M. and P.J.Wood. 1981. Use of congo red polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. **Applied and Environmental Microbiology.** 4:777-780.
- Wahyuningtyas, P., B.D.Argo dan W.A Nugroho. 2013. Studi pembuatan enzim selulase dari mikrofungi *Trichoderma reesei* dengan substrat jerami padi sebagai katalis hidrolisis enzimatis pada produksi bioetanol. **Jurnal Bioproses Komoditas Tropis.** 1(1):23-28.
- Wido, E.Gandara dan I.Mokoginta. 2015. Pengaruh penambahan probiotik *Bacillus sp.* pada pakan komersil terhadap konversi pakan dan pertumbuhan ikan patin. **Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia.** 6(2):62-67.
- Zhang, Y.H.P, M.E.Himmel dan J.R.Mielenz. 2006. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. **Biotechnol Adv.** 24: 452–481.