PENGARUH ENZIM SELULASE *Bacillus subtilis* TERHADAP PENURUNAN SERAT KASAR KULIT UBI KAYU UNTUK BAHAN BAKU PAKAN IKAN

THE EFFECTS OF Bacillus subtilis CELLULASE ENZYME ON THE DECREASING OF CRUDE FIBER OF CASSAVA PEELS FOR FISH FOOD INGREDIENTS

Irma Melati¹ dan Mas Tri Djoko Sunarno²

¹Pusat Penelitian Limnologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Raya Jakarta Bogor Km.46 Cibinong, Bogor, Indonesia.

²Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Balitbang KP, Jl. Sempur No. 1 Bogor, Indonesia

¹E-mail: irma@limnologi.lipi.go.id

ARTICLE INFO

Article history

Received date:

10 March 2016

Received in revised form date:

24 March 2016

Accepted date:

02 May 2016

Available online date:

31 May 2016

Abstract

High content of crude fiber in cassava peel limits its digestion ability in fish. Cellulose enzyme from *Bacillus subtilis* is known to be able to degrade crude fiber. This study was aimed to obtain an effective dose of cellulase enzyme which was added to cassava peel to reduce its crude fiber content. The research was conducted in a completely randomized design with three treatments and two replications. The cellulase enzyme was extracted from *Bacillus subtilis*. Three different doses of enzyme including control agent (0%, 25%, and 50%) were tested to degrade the crude fiber of cassava peels during two days of incubation period. Measured parameter are the fiber fraction of Neutral Detergent Fiber, Acid Detergent Fiber, lignin, selulosa, hemicellulose, reducing sugar, and soluble proteins. The data were analyzed using analysis of variance (F-test) and further with Duncan test to determine the mean difference between groups. The results of this study indicated that the most effective dose of cellulase enzyme to decrease the cassava peel crude fiber was 25%, in which the decrease of NDF, cellulose, and hemicellulose fractions were 16.27%, 18.04%, and 40.82% respectively, while reducing sugars and soluble protein contents increased into 57.50% and 38.94%, respectively. Our findings suggested that the addition of cellulase enzyme could improve cassava peels quality for fish food ingredients.

Keywords: Cellulase enzyme, *Bacillus subtilis*, Crude fiber, Cassava peels

Kata kunci:

Enzim selulase

Bacillus subtilis

Serat kasar

Kulit ubi kayu

Abstrak

Kandungan serat kasar yang tinggi dalam kulit ubi kayu (KUK) akan membatasi kecernaannya pada ikan. Enzim selulase dari *Bacillus subtilis* diketahui mempunyai kemampuan dalam menurunkan serat kasar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif enzim selulase dalam menurunkan fraksi serat kasar KUK. Percobaan didesain menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri atas tiga perlakuan dan dua ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah variasi dosis enzim selulase dari *Bacillus subtilis* (0%, 25%, dan 50%) selama dua hari masa inkubasi. Parameter yang diamati adalah fraksi serat (*Neutral Detergent Fiber*, *Acid Detergent Fiber*, lignin, selulosa, dan hemiselulosa), kadar gula pereduksi, dan protein terlarut. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (uji F) dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan antar-perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis enzim selulase yang paling efektif menurunkan serat kasar KUK adalah 25% dengan besar penurunan kadar NDF, selulosa, dan hemiselulosa berturut-turut sebesar 16,27%, 18,04% dan 40,82% dengan besar peningkatan kadar gula pereduksi dan protein terlarut yang dihasilkan berturut-turut sebesar 57,50% dan 38,94%. Adanya penurunan fraksi serat dan peningkatan gula pereduksi dan protein terlarut pada penelitian ini mengindikasikan terjadinya peningkatan kualitas KUK yang berpotensi dijadikan sebagai bahan baku pakan ikan.

PENDAHULUAN

Kulit Ubi Kayu (KUK) merupakan produk samping dari industri keripik dan tapioka serta industri lain yang memanfaatkan ubi kayu sebagai bahan baku utamanya. Pembuangan KUK ke lingkungan dapat menyebabkan pencemaran. KUK bisa dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat dan energi penting dalam pakan ternak, penyedia pakan utama atau sebagai suplemen (Aro 2008; Anaeto *et al.* 2013). Di Indonesia sendiri potensi KUK cukup tinggi mengingat Indonesia merupakan produsen ubi kayu keempat setelah Nigeria, Thailand, dan Brazil (FAO 2011). Badan Pusat Statistik (BPS) 2015 mencatat produksi ubi kayu tahun 2015 di Indonesia mencapai 22,91 juta ton dan 20% dari produk tersebut adalah hasil samping yang terbuang (Busairi and Hersoelistyorini 2009).

KUK layaknya hasil samping agro-industri lain mempunyai keterbatasan dalam pemanfaatan sebagai bahan baku pakan yaitu tingginya kandungan serat kasar (Lyayi, Tewe, and Oki 1997). Kandungan serat kasar dalam KUK sebesar 28-31%. Serat kasar termasuk di dalamnya lignin, selulosa, dan hemiselulosa merupakan faktor utama penyebab rendahnya pencernaan pakan, efisiensi pakan, dan penurunan performan pertumbuhan dari ternak (Alawa and C. Amadi 1991; Adegbola and Oduozo 1992; Murni *et al.* 2008). Ternak non-ruminansia seperti ikan kurang mampu mencerna serat (Halver 1989). Lebih lanjut dijelaskan bahwa serat kasar dapat menyebabkan peningkatan viskositas cairan usus yang berakibat terhadap penundaan waktu pengosongan lambung dan transit pakan dan penurunan interaksi antara enzim pencernaan dengan makromolekul pakan yang pada gilirannya akan berdampak langsung terhadap penurunan performa pertumbuhan ikan (Sinha *et al.* 2011).

Handajani (2007) menyatakan bahwa penggunaan kadar serat kasar lebih dari 10% pada pakan ikan Tilapia dapat menurunkan pertumbuhan sebagai akibat dari berkurangnya waktu pengosongan usus dan daya cerna pakan. Nilai pencernaan pakan dipengaruhi oleh nilai fraksi serat dalam pakan seperti *Neutral Detergent Fiber* (NDF), *Acid Detergent Fiber* (ADF), selulosa, dan lignin (Pamungkas 2012).

Penelitian tentang upaya penurunan serat kasar bahan baku pakan sudah banyak dilakukan antara lain melalui proses kimia (Abiola, Amalime, and Akadiri 2002; El Deek *et al.* 2009; Sudiyani *et al.* 2010) dan fermentasi menggunakan mikroba selulolitik (Song *et al.* 2013; Adeyemo *et al.* 2014; Sharawy, Goda, and Hassaan 2016). Proses kimia mempunyai kekurangan diantaranya biaya yang dikeluarkan cukup mahal dan tidak ramah lingkungan sedangkan fermentasi menggunakan mikroba menyebabkan banyak kehilangan bahan kering (biomass) dan munculnya efek samping yang ditimbulkan dari dinding sel mikroba itu sendiri yang tersusun atas polisakarida (peptidoglikan, glukosa, dan/atau kitin).

Upaya lain yang bisa digunakan untuk menurunkan serat kasar adalah penggunaan enzim selulase. Penelitian tentang pemanfaatan enzim selulase sudah mulai banyak dilaporkan (Stokes and Chen 1994; Beauchemin, Rode, and Sewaltl 1995; Cowan 1996; Hidayat *et al.* 2005; Adeyemo *et al.* 2014), tetapi masih sedikit informasi tentang pemanfaatan enzim selulase yang berasal dari *B. subtilis* untuk menurunkan serat kasar KUK. Hasil penelitian Melati *et al.* (2014) tentang produksi enzim selulase *B. subtilis* diberbagai substrat (KUK, daun kulit ubi kayu, dan selulosa murni) menunjukkan bahwa *B. subtilis* mempunyai aktivitas enzim selulase yang paling tinggi pada substrat KUK. Belum ada informasi kadar dosis enzim selulase

yang paling efektif dalam menghidrolisis KUK. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis efektif enzim selulase dalam menurunkan fraksi serat kasar KUK.

METODE

Tempat pelaksanaan penelitian, yaitu Laboratorium Nutrisi dan Teknologi Pakan Ikan, Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT), Bogor. Bahan yang digunakan adalah kulit ubi kayu yang diperoleh dari kabupaten Bogor, Jawa Barat serta *Carboxymethylcellulose* (CMC) (Merck), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (Merck), KNO_3 (Merck), K_2HPO_4 (Merck), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (Merck), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (Merck), ekstrak kamir (Merck), agar bakto (Merck), glukosa (Merck), sodium tartarat (Merck), asam dinitrosalisilat (DNS) (Sigma), buffer sitrat-fosfat pH 5 (Merck), congo red (Merck), tryptone soy broth (TSB), dan fenoksi etanol (Merck). Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap, yaitu pertama ekstraksi enzim selulase dari *B. subtilis* dan kedua penentuan dosis efektif enzim selulase dalam mendegradasi fraksi serat kasar KUK.

Ekstraksi Enzim Selulase *B. subtilis*

B. subtilis yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Nutrisi dan Teknologi Pakan Ikan BPPBAT Bogor. Sebanyak dua lup isolat *B. subtilis* dikultur ke dalam 50 mL media cair *carboxymethylcellulose* (CMC), kemudian diinkubasi pada suhu 50 °C di dalam penangas goyang dengan kecepatan agitasi 150 rpm, selama 78 jam. Kultur sel pada media produksi yang mengandung enzim selulase ekstraseluler disentrifugasi pada kecepatan 9.000 x g selama sepuluh menit untuk memisahkan larutan enzim dengan pelet bakteri. Supernatan hasil

sentrifugasi kemudian disimpan pada suhu 10 °C sebagai ekstrak enzim kasar.

Penentuan Dosis Efektif Enzim Selulase

Percobaan didesain menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri atas tiga perlakuan dan dua ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah dosis enzim selulase *B. Subtilis*, yaitu: 0, 25 dan 50%. Preparasi substrat dilakukan dengan cara substrat direndam dengan air selama 24 jam dan dikeringkan pada suhu 70 °C dalam oven selama tiga hari. Kemudian substrat dihaluskan menggunakan alat blender dan diayak dengan saringan 100 mesh. Sebanyak 50 g substrat dimasukkan ke dalam wadah plastik, kemudian ditambahkan air sebanyak 150% dan dikukus selama 30 menit. Setelah dingin ditambahkan enzim kasar selulase sesuai perlakuan dan kemudian diinkubasi selama dua hari pada suhu 50 °C. Parameter yang diamati adalah fraksi serat (NDF, ADF, lignin, selulosa, dan hemiselulosa) menggunakan metode Van Soest, Robertson, and Lewis (1991), kadar gula pereduksi menggunakan metode DNS (Miller, 1959), dan protein terlarut menggunakan metode UV-Vis (Stoscheck, 1990). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (uji F) dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan antar-perlakuan menggunakan program SPSS 16.0

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Enzim Selulase terhadap Kadar Fraksi Serat Kasar pada KUK

Pengaruh penambahan enzim selulase terhadap kadar fraksi serat kasar KUK (NDF, ADF, Selulosa, hemiselulosa, dan lignin) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar fraksi serat KUK pada berbagai dosis enzim selulase dari *B. subtilis*

Dosis (%)	Kadar Fraksi Serat (%) ^a x±sd				
	NDF	ADF	Lignin	Selulosa	He-miselulosa
0	39,75 ± 0,16a	24,19 ± 0,06a	8,74 ± 0,57a	14,85 ± 0,64a	15,57 ± 0,09a
25	33,28 ± 0,35b	23,96 ± 0,09ab	12,14 ± 0,03b	12,17 ± 0,04b	9,32 ± 0,45b
50	33,15 ± 0,43b	23,79 ± 0,13b	10,74 ± 0,38c	13,30 ± 0,10c	9,37 ± 0,56b

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% ($P > 0.05$).

Penambahan enzim selulase (25% dan 50%) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap penurunan kadar NDF dibandingkan kontrol ($P < 0,05$), tetapi peningkatan dosis enzim selulase (dari 25% ke 50%) tidak memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan kadar NDF ($P > 0,05$). Penambahan enzim selulase *B. subtilis* menurunkan kadar NDF sebesar 16,27%-16,60%. Penurunan NDF pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian serupa sebelumnya (Stokes and Chen 1994; Hidayat *et al.* 2005; Alemawor *et al.* 2009). Penelitian Hidayat *et al.* (2005) memperlihatkan adanya penurunan kandungan NDF pada jerami padi yang diberi perlakuan enzim selulase komersial yaitu sebesar 3,20% dan enzim selulase yang diisolasi dari *Tricoderma viride* (CETV), yaitu sebesar 14%. Begitu juga jagung yang diberi enzim selulase mengalami penurunan kadar NDF sebesar 12,05% (Stokes and Chen 1994). Penelitian Alemawor *et al.* (2009) menunjukkan terjadinya penurunan kadar NDF pada kulit coklat (*cocoa pod husk*) yang diberi enzim fibrolitik, yaitu sebesar 7,64-14,01%. Penurunan kadar NDF dan ADF disebabkan karena adanya pemutusan ikatan lignoselulosa (Akmal 1994).

Penambahan enzim selulase menyebabkan penurunan kadar ADF sebesar

0,95-1,65%. Dosis enzim 50% memberikan penurunan ADF tertinggi dan berbeda nyata dengan kontrol (0%) ($P < 0,05$). Hidayat *et al.* (2005) melaporkan terjadi penurunan kadar ADF pada jerami padi setelah diberi perlakuan enzim selulase komersial, yaitu sebesar 0,50% dan CETV sebesar 8,90%. Hal serupa diperoleh dari penelitian Stokes and Chen (1994) yang memperlihatkan adanya penurunan kadar ADF sebesar 11,00-13,00% pada jagung yang di beri enzim selulase. Alemawor *et al.* (2009) mencatat terjadi penurunan kadar ADF sebesar 5,84-11,09% pada kulit coklat (*cocoa pod husk*) yang diberi enzim fibrolitik.

NDF merupakan komponen serat tanaman yang terdiri atas ADF dan hemiselulosa, sedangkan ADF terdiri atas lignin dan selulosa yang merupakan bagian fraksi serat yang tidak larut dalam larutan detergen asam. ADF menentukan pencernaan beberapa bahan baku pakan dari hijauan, semakin tinggi kadar ADF maka semakin turun kualitas bahan baku pakan hijauan tersebut (Robinson, Putnam, and Mueller 1998). Menurut Van Soest, Robertson, and Lewis (1991) bahwa NDF dan ADF mempunyai korelasi yang negatif dengan pencernaan bahan pada hewan. Semakin tinggi kadar NDF dan ADF pada suatu bahan, semakin rendah pencernaan bahan tersebut. Penurunan kadar NDF dan ADF pada KUK diharapkan dapat meningkatkan pencernaan bahan (KUK) sehingga pada akhirnya dapat meningkatkan tingkat substitusi KUK terhadap sumber karbohidrat lain dalam pakan. Kadar serat kasar lebih dari 10% pada pakan ikan Tilapia dapat menurunkan pertumbuhan (Handajani 2007).

Hal yang sedikit berbeda diperoleh pada kadar selulosa KUK. Antar-perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). Penurunan kadar selulosa tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis 25%, yaitu sebesar 18,05% dan berbeda nyata

dengan perlakuan dosis 50%, yaitu sebesar 10,43%. Hasil yang serupa untuk kandungan hemiselulosa, perlakuan dosis 25% menghasilkan penurunan kandungan hemiselulosa tertinggi, yaitu sebesar 40,14% meskipun tidak berbeda nyata dengan dosis 50%, yaitu sebesar 39,82%. Hasil ini jauh lebih tinggi dibandingkan penelitian Alemawor *et al.* (2009) yang mencatat terjadinya penurunan kadar selulosa dan hemiselulosa pada kulit coklat (*cocoa pod husk*) yang diberi enzim fibrolitik berturut-turut sebesar 11,62% dan 15,29%. Enzim selulase dapat digunakan sebagai biokatalis untuk mendegradasi pakan berserat yang kaya akan hemiselulosa dan selulosa (Lamid 2008). Hemiselulosa merupakan komponen serat pertama kali yang dipecah karena hemiselulosa dihubungkan oleh ikatan kovalen dengan lignin yang mengelilingi selulosa dan strukturnya lebih sederhana dibandingkan dengan selulosa dan lignin.

Pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa komponen serat yang paling banyak mengalami penurunan adalah hemiselulosa (40,14%) dibandingkan komponen serat lain. Hal ini disebabkan hemiselulosa mempunyai berat molekul yang lebih rendah dibandingkan dengan selulosa (Anindyawati 2010). Hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis dengan asam menjadi monomer yang mengandung glukosa, mannanosa, galaktosa, xilosa, dan arabinosa (Pérez *et al.* 2002). Setelah hidrolisis hemiselulosa dilanjutkan dengan pemecahan struktur selulosa menjadi struktur yang lebih sederhana (glukosa). Penurunan kadar selulosa dan hemiselulosa KUK dengan penambahan enzim selulase mengindikasikan terjadinya peningkatan kualitas KUK yang berpotensi dijadikan sebagai bahan baku pakan ikan.

Kandungan lignin KUK yang diberi perlakuan enzim lebih tinggi dibandingkan kontrol. Hasil yang sama dilaporkan Hidayat *et al.* (2005) dimana kadar lignin

jerami padi mengalami peningkatan setelah diberi perlakuan enzim selulase komersial. Lignin merupakan kompleks polimer aromatik non-karbohidrat pada tanaman dan dapat berikatan secara kuat dengan polisakarida seperti selulosa dan hemiselulosa membentuk kompleks lignoselulolitik. Tingginya kadar lignin dan selulosa kristalin merupakan penghalang utama dalam kerja dalam memotong ikatan *non-strach polysaccharida* (NSPs) pada bahan baku pakan (Alemawor *et al.* 2009). Lignin merupakan struktur yang lebih tahan terhadap biodegradasi karena strukturnya yang kompleks dan heterogen yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa dalam jaringan tanaman. Kristalisasi selulosa dan pengerasan fibril selulosa oleh lignin membentuk suatu senyawa lignoselulosa yang keras. Komponen lignin merupakan komponen serat kasar yang paling rendah penurunannya dibanding selulosa dan hemiselulosa (Orth, Royse, and Tien 1993).

Tidak terjadinya penurunan lignin pada penelitian ini diduga karena enzim selulase yang dihasilkan dari bakteri *B. subtilis* tidak mempunyai aktivitas lignase, sehingga penambahan enzim ini tidak mampu menurunkan kadar lignin pada KUK. Terdapat dua sistem kerja enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroba: 1) sistem hidrolitik, yaitu sistem kerja enzim ekstraseluler yang menghasilkan enzim hidrolase yang bekerja merombak selulosa dan hemiselulosa; 2) sistem oksidatif dan sekresi lignase ekstraseluler dengan cara depolimerisasi lignin (Pérez *et al.* 2002). Enzim selulase yang dihasilkan bakteri *B. subtilis* diduga merupakan tipe enzim ekstraseluler dengan sistem kerja hidrolitik yang hanya bisa bekerja merombak selulosa dan hemiselulosa tetapi tidak untuk lignin. Namun demikian enzim yang dihasilkan *Tricoderma viride* (*T. Viride*) diketahui mempunyai kemampuan untuk menurunkan lignin. Hidayat *et al.* (2005) melaporkan

kan terjadinya penurunan kadar lignin jerami padi yang diberi enzim selulase dari *T. viride*. Enzim selulase dari *T. viride* diduga selain mempunyai aktivitas selulase juga mempunyai aktivitas lignase dan bisa memproduksi asam organik selama proses fermentasi sehingga mampu menurunkan kadar lignin. Asumsi ini didukung oleh pernyataan Peterson (1986) dalam Hidayat *et al.* (2005) bahwa enzim yang dihasilkan oleh *T. viride* mampu mendepolimerisasi lignin, Monsier *et al.* (2005) dalam (Harfiah 2010) mengindikasikan bahwa lignin membutuhkan enzim ekstraseluler yang tidak spesifik karena lignin mempunyai struktur acak dengan berat molekul yang tinggi. Lignin biasanya terakumulasi selama proses degradasi lignoselulosa.

Pengaruh Enzim Selulase terhadap Peningkatan Kadar Gula Pereduksi dan Protein Terlarut KUK.

Hirolisis serat kasar dengan enzim selulase menghasilkan gula pereduksi. Peningkatan kadar gula pereduksi tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis 50%, yaitu sebesar 59,41% (Gambar 1).

Gambar 1. Kadar gula pereduksi KUK yang dihidrolisis enzim selulase *B. subtilis* dengan dosis 0 (A), 25 (B) dan 50% (C)

Peningkatan kadar gula pereduksi seiring dengan penurunan kadar serat kasar (NDF dan ADF). Semakin tinggi penurunan serat kasar, maka semakin tinggi pula kadar gula pereduksi yang dihasilkan.

Hal ini menunjukkan bahwa serat kasar pada dasarnya berhasil didegradasi oleh enzim selulase menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu gula pereduksi. Selulosa diubah menjadi rantai linear dan unit-unit disakarida (selobiosa) yang selanjutnya diubah menjadi glukosa (gula pereduksi) oleh enzim selulase (Moore-Landecker 1990).

Hasil pengukuran protein terlarut KUK setelah di hidrolisis dengan berbagai dosis enzim selulase disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2. Kadar protein terlarut KUK yang dihidrolisis enzim selulase *B. subtilis* dengan dosis 0 (A), 25 (B), dan 50% (C)

Penambahan enzim selulase dapat meningkatkan kadar protein terlarut. Peningkatan kadar protein terlarut tertinggi terdapat pada perlakuan dosis 50%, yaitu sebesar 75,47%. Protein terlarut adalah jenis protein yang dapat dicerna oleh benih ikan (Tonheim *et al.* 2007). Peningkatan protein terlarut pada penelitian ini disebabkan telah terpecahnya dinding sel KUK oleh enzim selulase yang menyebabkan terlepasnya protein yang semula berikatan dengan dinding sel.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis enzim selulase yang paling efektif menurunkan serat kasar KUK adalah 25% dengan besar penurunan kadar NDF, selulosa, dan hemiselulosa berturut-turut

sebesar 16,27%; 18,04%; dan 40,82% dengan besar peningkatan kadar gula pereduksi dan protein terlarut yang dihasilkan berturut-turut sebesar 57,50% dan 38,94%. Adanya penurunan fraksi serat, peningkatan gula pereduksi dan protein terlarut pada penelitian ini mengindikasikan terjadinya peningkatan kualitas KUK yang berpotensi dijadikan sebagai bahan baku pakan ikan. Masih diperlukan upaya lebih lanjut untuk memaksimalkan kerja enzim selulase *B. subtilis* diantaranya dengan mengetahui kondisi optimum enzim tersebut (pH, temperatur dan inhibitor).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar atas bantuan selama pelaksanaan penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Maria Bintang, Dr. Cynthia Henny, Mulyasari, M.Si., dan Titin Kurniasih, M.Si. atas dukungan baik secara moril ataupun materil serta bimbingannya. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian peningkatan efisiensi dan kualitas bahan baku pakan (DUK dan hasil samping industri perikanan) untuk budidaya ikan air tawar melalui penggunaan mikroba.

DAFTAR ACUAN

- Abiola, S. S., A. C. Amalime, and K. C. Akadiri. 2002. "The Utilization of Alkali-Treated Melon Husk by Broilers." *Bioresource Technology* 84(3): 247–50. doi:10.1016/S0960-8524(02)00059-7.
- Adegbola, T. A., and P. C. Oduozo. 1992. "Nutrient Intake, Digestibility and Performance of Rabbits Fed Varying Levels of Fermented and Unfermented Cassava Peel Meal." *Journal of Animal Production* 12(1): 41–47.
- Adeyemo, A. I., A. Sani, T. A. Aderibigbe, M. O. Abdurrasheed, and J. O. Agbolade. 2014. "A Study of *Aspergillus Niger*-Hydrolyzed Cassava Peel Meal as a Carbohydrate Source on the Histology of Broiler Chickens." *SpringerPlus*, No. 3: 1–12.
- Akmal. 1994. "Pemanfaatan Wastesilage Jerami Padi sebagai Bahan Pakan Sapi FH Jantan." Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Alawa, J. P., and C. Amadi. 1991. "Voluntary Intake and Digestibility of Diets Containing Corn Cobs, Brewers Dried Grains and Wheat Bran by Rabbits." *J. Animal Production*, No. 11: 9–20.
- Alemawor, F., V. P. Dzogbafia, E. O. K. Oddoye, and J. H. Oldham. 2009. "Enzyme Cocktail for Enhancing Poultry Utilisation of Cocoa Pod Husk." *Academic Journals* 4(6): 555–59.
- Anaeto, M., A. F. Sawyerr, T. R. Alli, G. O. Tayo, J. A. Adeyeye, and A. O. Olarinmoye. 2013. "Cassava Leaf Silage and Cassava Peel as Dry Season Feed for West African Dwarf Sheep." *Global Journal Of Science Frontier Research* 13(2): 5 p.
- Anindyawati, T. 2010. "Potensi Selulase dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertanian Untuk Pupuk Organik." *Berita Selulosa* 45(2): 70–77.
- Aro, S. O. 2008. "Improvement in The Nutritive Quality of Cassava and Its by Products through Microbial Fermentation." *African Journal of Biotechnology* 7 (25): 4789–97.
- Beauchemin, K. A., L. M. Rode, and V. J. H. Sewalt. 1995. "Fibrolitic Enzymes Increase Fiber Digestibility and Growth Rate of Steers Fed Dry Forages." *Canadian Journal Of Animal Science*, No. Dm: 0–3.
- BPS. 2015. "Produksi Tanaman Pangan: Angka Ramalan II Tahun 2015."

- Busairi, A. M., and W. Hersoelistyorini. 2009. "Pengkayaan Protein Kulit Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi: Optimasi Nutrien Subtrat Menggunakan Respon Surface Methodology." dalam *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, 6 hal.
- Cowan, W. D. 1996. "Animal Feed." In *Industrial Enzymology*, edited by T Godfrey and S West, second edi, 360–71. London: Macmillan Press.
- El Deek, A. A., S. M. Hamdy, Y. A. Attia, and A. M. El-shahat. 2009. "Guava By-Product Meal Processed in Various Ways and Fed in Differing Amounts as a Component in Laying Hen Diets." *International Journal of Poultry Science* 8(9): 866–74.
- FAO. 2011. "The Cassava Transformation in Africa."
- Halver, 1989. *Fish Nutrition*. Second edi. New York: Academy Press Inc.
- Handajani, Hanny. 2007. "Pengaruh Pemberian Bekatul Berfermentasi Dengan Rhizopus Sp. sebagai Penyusun Pakan Ikan terhadap Daya Cerna dan Pertumbuhan Ikan Nila Gift (*Oreochromis Sp.*)." dalam *Seminar Nasional Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. UGM.
- Harfiah. 2010. "Optimalisasi Pakan Berse-rat Tinggi Melalui Sistem Pereng-gangan Ikatan Lignoselulosa dalam Meningkatkan Kualitas Limbah Per-tanian Sebagai Pakan Ruminansia." dalam *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 123–30.
- Hidayat, R., S. Wulandari, K. G. Wiryawan, and Suryahadi. 2005. "Production and Utilization of Cellulase from *Trichoderma Viride*." *Biotropia* 14(25): 50–59.
- Lamid, M. 2008. "Optimalisasi Potensi Enzim Xilanase Produksi Mikro-ba Rumen dalam Biodegrdasi Hemiselulosa pada Jerami Padi sebagai Strategi Pemberian Pakan Ruminansia." Universitas Brawijaya.
- Lyayi, E. A., O. O. Tewe, and R. T. Oki. 1997. "Processing Cassava Leaves for Broiler Production in South West Nigeria." *Nationally Coordinated Research Project (NCRP53)*, Uni-versity of Ibadan.
- Melati, I., Mulyasari, M. T. D. Sunarno, M. Bintang, and T. Kurniasih. 2014. "Produksi Enzim Selulase dari Bak-teri TS2b yang di isolasi dari Rumput Laut dan Pemanfaatannya dalam Menghidrolisis Kulit Ubi Kayu dan Daun Ubi Kayu sebagai Bahan Baku Pakan Ikan." *Jurnal Riset Akuakultur* 9(2): 263–70.
- Miller, G. L. 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar." *Analytical Chem-istry*, no. 31: 426–27.
- Moore-Landecker, E. 1990. *Fundamentals of The Fungi*. Fourth Edi. Prentice.
- Murni, R., Suparjo, Akmal, and B. L. Gint-ing. 2008. *Teknologi Pemanfaatan Limbah untuk Pakan*. Labotatorium Makanan Ternak, Fakultas Pe-ternakan, Universitas Jambi.
- Orth, A. B., D. J. Royse, and M. Tien. 1993. "Ubiquity of Lignin-Degrading Peroxidases Wood-Degrading Fungi Various." *Aplied and Enviromental Microbiology* 59(12): 4017–23.
- Pamungkas, W. 2012. "Koefisien Kecer-naan Fraksi Serat Bungkil Kelapa Sawit Yang Dihidrolisis Dengan Enzim Asal Cairan Rumen Domba Sebagai Pakan Benih Ikan Patin Siam (*Pangasius Hypophthalmus*)." *Jurnal Riset Akuakultur* 7(3): 437–45.
- Pérez, J., J. Muñoz-Dorado, T. De La Rubia, and J. Martínez. 2002. "Biodegrada-tion and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: An Overview." *International Micro-biology* 5(2): 53–63. doi:10.1007/s10123-002-0062-3.
- Robinson, Peter, dan Putnam, and Shannon Mueller. 1998. "Interpreting Your Forage Test Report." *California*

- Alfalfa and Forage Review*. Vol. 1. <http://animalscience.ucdavis.edu/faculty/Robinson/Articles/FullText/Pdf/Forstst.PDF>.
- Sharawy, Zaki, Ashraf M. A. S. Goda, and Mohamed S. Hassaan. 2016. "Partial or Total Replacement of Fish Meal by Solid State Fermented Soybean Meal with *Saccharomyces Cerevisiae* in Diets for Indian Prawn Shrimp, *Fenneropenaeus Indicus*, Postlarvae." *Animal Feed Science and Technology* 212. Elsevier B.V.: 90–99. doi:10.1016/j.anifeeds-ci.2015.12.009.
- Sinha, Amit K., Vikas Kumar, Harinder P. S. Makkar, Gudrun De Boeck, and Klaus Becker. 2011. "Non-Starch Polysaccharides and Their Role in Fish Nutrition - A Review." *Food Chemistry* 127(4). Elsevier Ltd: 1409–26. doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.042.
- Song, Na, Hai Yuan Cai, Zai Sheng Yan, and He Long Jiang. 2013. "Cellulose Degradation by One Mesophilic Strain *Caulobacter* Sp. FMC1 Under Both Aerobic and Anaerobic Conditions." *Bioresource Technology* 131 (January): 281–87. doi:10.1016/j.biortech.2013.01.003.
- Stokes, M. R., and J. Chen. 1994. "Effects of an Enzyme-Inoculant Mixture on the Course of Fermentation of Corn Silage." *Journal of Dairy Science* 77(11). Elsevier: 3401–9. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77282-9.
- Stoscheck, C. M. 1990. "Quantitation of Protein." In *Methods in Enzymology*, 182:50–68.
- Sudiyani, Y, K. C. Sembiring, H. Hendarsyah, N. Ariani, and S. Alawiyah. 2010. "Pengolahan Awal dengan Basa NaOH dan Sakarifikasi Enzimatis Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) untuk Produksi Etanol." *Menara Perkebunan* 78(1): 34–38.
- Tonheim, S. K., A. Nordgreen, I. Hogoy, K. Hamre, and I. Rønnestad. 2007. "In Vitro Digestibility of Water-Soluble and Water-Insoluble Protein Fractions of Some Common Fish Larval Feeds and Feed Ingredients." *Aquaculture* 262(2-4): 426–35. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.10.030.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. "Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition." *Journal of Dairy Science* 74(10). Elsevier: 3583–97. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.