

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAUN NANAS MENGGUNAKAN
Aspergillus niger DENGAN LEVEL BERBEDA TERHADAP
KONSENTRASI VFA DAN NH₃ SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**IRMAWATI
1814241012**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2022

ABSTRACT

THE EFFECT OF THE LONG FERMENTATION OF PINEAPPLE LEAVES USING *Aspergillus niger* WITH DIFFERENT LEVELS TO VFA AND NH₃ CONCENTRATION *IN VITRO*

By

Irmawati

This study aims to determine the best treatment between the length of fermentation and the level of administration of *Aspergillus niger* on pineapple leaves to the concentration of VFA and NH₃ *in vitro*. This research was conducted in January-March 2022 at the Dairy Animal Nutrition Science Laboratory, Faculty of Animal Husbandry, Bogor Agricultural University. This study used a factorial Completely Randomized Design consisting of 3 x 3 treatments and 3 replications so that there were 27 experimental units. The treatments used were D0L0 (0% *Aspergillus niger* level with 0 days of fermentation), D0L1 (0% *Aspergillus niger* level with 6 days of fermentation), D0L2 (0% *Aspergillus niger* level with 12 days of fermentation), D1L0 (2% *Aspergillus niger* level with 0 days of fermentation), D1L1 (2% *Aspergillus niger* level with 6 days of fermentation), D1L2 (2% *Aspergillus niger* level with 12 days of fermentation), D2L0 (4% *Aspergillus niger* level with 0 days of fermentation), D2L1 (4% *Aspergillus niger* level with 6 days of fermentation) and D2L2 (4% *Aspergillus niger* level with 12 days of fermentation). The data obtained were analyzed for variance at the 5% and or 1% significance level and continued using the BNT test. The results showed that there was a significantly different interaction between the duration of fermentation and the level of *Aspergillus niger* administration on the concentration of VFA and NH₃. The best combination of treatments was 4% *Aspergillus niger* level with 0 days of fermentation for VFA concentration of 121.73 mM and the treatment of *Aspergillus niger* 0%, 2%, 4% with a fermentation time of 0 days NH₃ concentration of 10.50; 10.65; and 10.80 mM.

Keywords: *Aspergillus niger*, NH₃, pineapple leaf, and VFA.

ABSTRAK

PENGARUH LAMA FERMENTASI DAUN NANAS MENGGUNAKAN *Aspergillus niger* DENGAN LEVEL BERBEDA TERHADAP KONSENTRASI VFA DAN NH₃ SECARA *IN VITRO*

Oleh

Irmawati

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan terbaik antara lama fermentasi dan level pemberian *Aspergillus niger* pada daun nanas terhadap konsentrasi VFA dan NH₃ secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan pada Januari-Maret 2022 bertempat di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 3x3 perlakuan dan 3 ulangan sehingga terdapat 27 unit satuan percobaan. Perlakuan yang digunakan yaitu D0L0 (level *Aspergillus niger* 0% dengan lama fermentasi 0 hari), D0L1 (level *Aspergillus niger* 0% dengan lama fermentasi 6 hari), D0L2 (level *Aspergillus niger* 0% dengan lama fermentasi 12 hari), D1L0 (level *Aspergillus niger* 2% dengan lama fermentasi 0 hari), D1L1 (level *Aspergillus niger* 2% dengan lama fermentasi 6 hari), D1L2 (level *Aspergillus niger* 2% dengan lama fermentasi 12 hari), D2L0 (level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 0 hari), D2L1 (level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 6 hari) dan D2L2 (level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 12 hari). Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan atau 1% dan dilanjutkan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil penelitian terdapat interaksi yang berbeda nyata antara lama fermentasi dan level pemberian *Aspergillus niger* terhadap konsentrasi VFA dan NH₃. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi pengaruh terbaik level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 0 hari terhadap konsentrasi VFA sebesar 121,73 mM dan kombinasi level *Aspergillus niger* 0%, 2%, 4% dengan lama fermentasi 0 hari pada konsentrasi NH₃ sebesar 10,55; 10,65; dan 10,80 mM.

Kata kunci: *Aspergillus niger*, NH₃, daun nanas, dan VFA.

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAUN NANAS MENGGUNAKAN
Aspergillus niger DENGAN LEVEL BERBEDA TERHADAP
KONSENTRASI VFA DAN NH₃ SECARA *IN VITRO***

Oleh

Irmawati

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PETERNAKAN**

Pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Penelitian : **PENGARUH LAMA FERMENTASI DAUN
NANAS MENGGUNAKAN *Aspergillus niger*
DENGAN LEVEL BERBEDA TERHADAP
KONSENTRASI VFA DAN NH₃ SECARA
IN VITRO**

Nama : **Irmawati**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814241012

Program Studi : Nutrisi dan Teknologi Pakan Ternak

Fakultas : Pertanian



Prof. Dr. Ir. Muhtarudin, M.S.
NIP 19610307 198503 1 006

Dr. Ir. Rudy Sutrisna, M.S.
NIP 19580506 198410 1 001

2. Ketua Jurusan Peternakan

A blue ink signature of Dr. Ir. Arif Oisthon, M.Si. The signature is written in a cursive style and includes the date '20/12/22'.

Dr. Ir. Arif Oisthon, M.Si.
NIP 19670603 199303 1 002

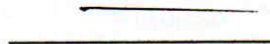
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Ir. Muhtarudin, M.S.



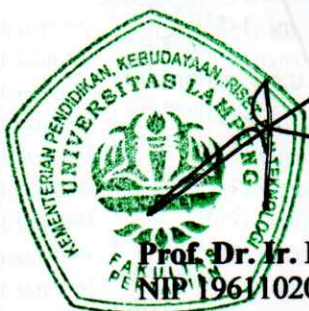
Sekretaris : Dr. Ir. Rudy Sutrisna, M.S.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Farida Fathul, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Juni 2022

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis berupa skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Sarjana) baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lain;
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan pembimbing;
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis dari publikasi orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dan disebutkan nama pengarang serta dicantumkan dalam Pustaka;
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi.

Bandar Lampung, 18 Juli 2022

Yang Membuat Pernyataan



Irmawati

NPM. 1814241012

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Mulang Maya, Kecamatan Kotabumi Selatan, Kabupaten Lampung Utara pada 10 November 1999, sebagai anak keempat dari 6 bersaudara dari pasangan Bapak Sarudin dan Ibu Ennah.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD N 01 Bandar Putih Kotabumi Selatan pada 2012, pendidikan menengah pertama di SMP N 08 Kotabumi pada 2015, dan pendidikan menengah atas di SMA PGRI 1 Kotabumi pada 2018. Pada tahun yang sama, penulis terdaftar sebagai mahasiswa program studi Nutrisi dan Teknologi Pakan Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada Februari-Maret 2021 di Desa Mulang Maya, Kecamatan Kotabumi Selatan, Kabupaten Lampung Utara. Pada Agustus-September 2021 penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Rukun Amrih Sentosa Farm Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu dan melaksanakan penelitian pada Januari--Maret 2022 di Institut Pertanian Bogor. Selama masa studi, penulis mengikuti kegiatan Ikatan Keluarga Mahasiswa Lampung Utara (Ikam Lampura) sebagai anggota PSDM periode 2019/2020 dan sebagai ketua bidang Kestari pada periode 2020/2021. Penulis juga aktif dikegiatan organisasi Himpunan Mahasiswa Peternakan (Himapet) sebagai anggota bidang pendidikan dan pelatihan pada periode 2020/2021. Penulis terpilih sebagai tutor FILMA (Forum Ilmiah Mahasiswa) yang diadakan oleh Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan sebagai asisten dosen Mikrobiologi Peternakan. Penulis juga pernah mengikuti proyek penelitian dosen dan aktif mengikuti Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) yang didanai oleh kampus Universitas Lampung.

MOTTO

“Allah-lah yang menciptakan kamu dari keadaan lemah, kemudian Dia menjadikan (kamu) setelah keadaan lemah itu menjadi kuat, kemudian Dia menjadikan (kamu) setelah kuat itu lemah (kembali) dan beruban. Dia menciptakan apa yang Dia kehendaki. Dan Dia Maha Mengetahui, Mahakuasa”
QS: Ar-Ruum (30) : 54

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”
QS. Al-Insyirah (94) : 5

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan?”
QS: Ar-Rahman (55) : 13

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Lama Fermentasi Daun Nanas Menggunakan *Aspergillus niger* dengan Level Berbeda terhadap Konsentrasi VFA dan NH₃ Secara *in vitro*”. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini melibatkan banyak pihak yang membantu dan membimbing.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.--selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung-- atas izin yang diberikan;
2. Bapak Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.--selaku Ketua Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung--atas bimbingan dan arahan yang diberikan;
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Muhtarudin, M.S.--selaku pembimbing utama--atas bimbingan, arahan, bantuan, saran dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi ini;
4. Bapak Dr. Ir. Rudy Sutrisna, M.S.--selaku pembimbing anggota sekaligus pembimbing akademik--atas bimbingan, bantuan, arahan dan nasehat selama penyusunan skripsi dan masa studi;
5. Ibu Dr. Ir. Farida Fathul, M.Sc.--selaku pembahas--atas bimbingan, bantuan, saran dan ilmu yang diberikan dalam penyusunan skripsi;
6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung atas arahan, bimbingan, ilmu dan nasehat yang diberikan selama masa studi;
7. PT. Great Giant Food atas izin dan bantuan yang diberikan selama penelitian
8. Bapak Sarudin dan Ibu ennah tercinta atas do'a yang tulus, dukungannya, kesabaran dalam membimbing dan menasehati, bantuan selama masa studi

baik materi, waktu maupun tenaga, pengorbanan yang ikhlas, dan motivasi semangat mengejar cita-cita yang diberikan kepada penulis.

9. Mba Sarniah, Kak Herman, dan Adik-adikku tersayang atas doa dan dukungan yang senantiasa memberikan semangat untuk keberhasilanku;
10. Bibik dan mamang sekeluarga besar atas doa, dukungan dan motivasi selama masa studi;
11. Teh ros dan sekeluarga besar atas dukungan dan nasehat selama masa studi;
12. Rekan seperjuangan tim daun nanas Siti Mukharomah, Nina Puspita Dewi, Bela Pristiya, Wahyu Silviyani, dan Rohmatin Nisak atas kerjasama tim, dukungan, kebersamaan, motivasi, bantuan selama penelitian, dan penyusunan skripsi;
13. Ratu haula, Aini, Doni, isma, dan teman-teman kelas Nutrisi yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas dukungan dan kebersamaan selama masa studi.
14. Ayu, yati, aswati, tika, dan sulas atas dukungan dan semangat yang diberikan selama masa studi.

Semoga seluruh pihak yang telah membantu penulis mendapatkan pahala dari Allah SWT dan penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 15 Juni 2022

Penulis,

Irmawati

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat Penelitian	3
D. Kerangka Pemikiran	3
E. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Nanas	6
B. Daun Nanas.....	8
C. Fermentasi.....	8
D. <i>Aspergillus niger</i>	10
E. Kecernaan	13
F. Teknik <i>in vitro</i>	13
G. <i>Volatile Fatty Acids</i> (VFA)	14
H. Amonia (NH ₃)	15
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	18
A. Waktu dan Tempat Penelitian	18
B. Bahan dan Alat Penelitian	18
1. Bahan penelitian	18
2. Alat penelitian	19
C. Metode Penelitian	19
D. Peubah yang Diamati.....	20
E. Pelaksanaan Penelitian.....	21
1. Perbanyakkan kapang <i>Aspergillus niger</i>	21

2. Fermentasi daun nanas	22
3. Tahapan persiapan sampel.....	23
4. Tahapan analisis pencernaan <i>in vitro</i>	23
a. Pembuatan larutan <i>Mc Dougall</i> (saliva buatan).....	23
b. Pengambilan cairan rumen	24
c. Analisis <i>in vitro</i>	25
d. Analisis VFA.....	26
e. Analisis NH ₃	27
F. Analisis Data	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
A. Pengaruh Lama Fermentasi dan Level Pemberian <i>Aspergillus niger</i> pada Daun Nanas terhadap Konsentrasi VFA Secara <i>in vitro</i>	29
B. Pengaruh Lama Fermentasi dan Level Pemberian <i>Aspergillus niger</i> pada Daun Nanas terhadap Konsentrasi NH ₃ Secara <i>in vitro</i>	33
V. SIMPULAN DAN SARAN	37
A. Simpulan.....	37
B. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Bahan penyusun larutan <i>Mc Dougall</i> (saliva buatan)	24
2. Pengaruh lama fermentasi dan level pemberian <i>Aspergillus niger</i> pada daun nanas terhadap konsentrasi VFA secara <i>in vitro</i>	29
3. Pengaruh lama fermentasi dan level pemberian <i>Aspergillus niger</i> pada daun nanas terhadap konsentrasi NH ₃ secara <i>in vitro</i>	33
4. Hasil analisis ragam VFA	44
5. Hasil analisis ragam NH ₃	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman nanas.....	7
2. <i>Aspergillus niger</i>	11
3. Fase pertumbuhan kapang.....	11
4. Tata letak percobaan	20
5. Skema perbanyakkan kapang <i>Aspergillus niger</i>	21
6. Skema pembuatan fermentasi daun nanas	22
7. Skema persiapan smapel analisis	23
8. Skema pembuatan larutan <i>Mc Dougall</i> (saliva buatan)	23
9. Skema pengambilan cairan rumen	24
10. Skema analisis <i>in vitro</i>	25
11. Skema analisis VFA.....	26
12. Skema analisis NH ₃	27
13. Boxplot kombinasi konsentrasi VFA.....	32
14. Boxplot kombinasi konsentrasi NH ₃	35
15. Proses mensterilkan alat laboratorium	51
16. Pembuatan media PDA	51
17. Pembuatan inokulum <i>Aspergillus niger</i>	51
18. Perbanyakkan <i>Aspergillus niger</i>	52
19. Fermentasi daun nanas	52
20. Sampel uji laboratorium daun nanas	52
21. Pemberian larutan asam borat sebanyak 1.0 ml.....	53
22. Mendiamkan cawan conway selama 24 jam.....	53
23. Proses mentitrasi dengan H ₂ SO ₄ 0,005 N sampai berwarna merah	53
24. Proses menempatkan erlenmeyer untuk proses destilasi	54

25. Menambahkan 1 ml H ₂ SO ₄ pada tabung destilasi.....	54
26. Proses mentitrasi dengan HCL 0,5 menjadi warna merah muda seulas.....	54

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Usaha bidang peternakan saat ini sedang mengalami kemajuan sebanding dengan peningkatan jumlah penduduk di Indonesia. Kesadaran masyarakat akan pentingnya mengkonsumsi protein hewani meliputi daging, telur, dan susu semakin meningkat yang disertai dengan meningkatnya pendapatan masyarakat. Protein hewani merupakan salah satu unsur penting dalam memenuhi kebutuhan hidup yang berperan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Kebutuhan protein hewani seperti daging dan susu belum terpenuhi di dalam negeri, sehingga sebagian besar kebutuhan protein hewani berasal dari impor. Oleh karena itu, diperlukan suatu usaha untuk meningkatkan produksi yang berasal dari ternak ruminansia untuk memenuhi kebutuhan protein di dalam negeri.

Ternak ruminansia adalah hewan pemamah biak yang dapat menghasilkan daging dan susu. Produksi ternak sangat tergantung pada pakan. Pakan memiliki peran penting dalam memenuhi kebutuhan ternak yang meliputi kebutuhan hidup pokok, produksi, dan reproduksi. Kualitas dan kuantitas pakan juga dapat mempengaruhi efisiensi penggunaan pakan, semakin rendah nilai nutrisi atau gizi dalam pakan maka semakin rendah pula efisiensi penggunaan pakan (Tillman *et al.*, 1991). Salah satu pakan ternak ruminansia adalah pakan hijauan. Produksi hijauan sangat tidak menentu, pada musim hujan produksi hijauan akan melimpah, namun pada musim kemarau jumlah produksi hijauan akan berkurang. Permasalahan utama di Indonesia yaitu sulitnya memenuhi kebutuhan pakan secara kontinyu. Saat ini masih terus dilakukan usaha untuk mencari bahan pakan yang murah namun memiliki nilai nutrisi dan penemuan teknologi tepat guna dalam

pemanfaatannya masih terus dilakukan, guna memecahkan permasalahan kekurangan pakan dan penyediaan pakan secara berkesinambungan baik kualitas maupun kuantitasnya. Oleh sebab itu, perlu upaya dalam penyediaan pakan dengan memanfaatkan sisa hasil pertanian yang mudah didapat dan murah.

Limbah nanas berpotensi menjadi pakan alternatif ternak karena masih memiliki nilai nutrisi dan jumlahnya melimpah. Provinsi Lampung merupakan salah satu sentra produksi buah nanas yang memberikan kontribusi besar bagi produksi nanas di Indonesia, yaitu sebesar 33%, diikuti oleh Provinsi Sumatera Utara, Provinsi Jambi, Provinsi Jawa Barat, Provinsi Jawa Timur, Provinsi Jawa Tengah, dan yang lainnya (Badan Pusat Statistik 2016). Produksi nanas di Provinsi Lampung pada tahun 2013 hingga 2016 mengalami penurunan, akan tetapi pada tahun 2017 produksi nanas mengalami peningkatan sebesar 6% hingga sekarang (Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung 2017). Melimpahnya jumlah produksi nanas tentunya akan menghasilkan limbah dalam jumlah banyak. Limbah yang dihasilkan meliputi daun nanas, kulit nanas, dan mahkota nanas. Bahan sisa hasil pertanian yang dapat dimanfaatkan adalah daun nanas yang berpotensi sebagai pakan alternatif ternak yang berkesinambungan, murah, dan mudah didapat.

Pemanfaatan daun nanas tidak dapat digunakan sebagai pakan ternak dalam keadaan segar, hal ini karena daun nanas memiliki kandungan serat kasar yang tinggi dan tekstur yang kasar. Pemberian pakan yang mengandung serat kasar tinggi tidak dapat dicerna secara optimal oleh saluran pencernaan sehingga penyerapan nutrisi pakan menjadi rendah, maka untuk mengatasi keterbatasan dibutuhkan suatu metode pengolahan pakan yang dapat meningkatkan nilai nutrisi melalui perlakuan fermentasi. Fermentasi adalah suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Pakan yang difermentasi akan mengalami kenaikan nilai nutrisi, salah satunya yaitu kandungan protein pakan. Pakan yang difermentasi juga dapat menurunkan kandungan serat kasar, hal ini dikarenakan adanya aktivitas mikroorganisme selama proses fermentasi berlangsung yang dapat merombak ikatan-ikatan selulosa sehingga dapat meningkatkan nilai

kecernaan pakan. Fermentasi dapat dilakukan dengan memanfaatkan teknologi bioproses menggunakan kapang *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* merupakan kapang yang dapat menghasilkan beberapa enzim ekstraseluler dan penghasil enzim selulase yang banyak mengandung β -glukosidase. Untuk menghasilkan produk bioproses yang ideal, maka perlu dilakukan penelitian pengaruh lama fermentasi daun nanas menggunakan *Aspergillus niger* dengan level berbeda terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 secara *in vitro*.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. mengetahui pengaruh lama fermentasi dan level pemberian *Aspergillus niger* pada daun nanas terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 ;
- b. mengetahui lama fermentasi dan level terbaik pemberian *Aspergillus niger* pada daun nanas terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 .

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan fermentasi daun nanas menggunakan *Aspergillus niger* dapat menjadi pakan alternatif ternak ruminansia dalam meningkatkan produktivitas ternak dan dapat memberikan informasi bagi peternak untuk memanfaatkan limbah daun nanas sehingga membantu mengatasi permasalahan kurangnya hijauan untuk pakan ternak.

D. Kerangka Pemikiran

Ternak ruminansia sangat membutuhkan pakan hijauan, namun jumlah produktivitas hijauan tidak dapat ditentukan. Keadaan musim hujan jumlah produktivitas hijauan akan melimpah dan selanjutnya akan menurun pada musim kemarau. Kebutuhan pakan ternak harus selalu terpenuhi, namun ketersediaan

hijauan di Indonesia belum memenuhi ketersediaan secara kontinyu baik mutu maupun jumlahnya. Oleh karena itu, perlu adanya suatu usaha untuk menangani masalah kekurangan pakan pada musim kemarau. Strategi yang dapat dilakukan yaitu dengan memanfaatkan sumber daya lokal yang melimpah dan bernilai gizi melalui limbah hasil pertanian.

Limbah buah nanas yang melimpah tidak dimanfaatkan akan menimbulkan bau dan memicu pelepasan gas metan. Limbah buah nanas belum dimanfaatkan secara optimal akan menimbulkan masalah lingkungan atau pencemaran lingkungan, maka pemanfaatan limbah buah nanas perlu diperhatikan untuk mengatasi hal tersebut. Salah satu alternatif pemanfaatan dari limbah buah nanas yaitu dapat digunakan sebagai pakan ternak. Daun nanas merupakan limbah dari tanaman nanas yang belum termanfaatkan secara optimal sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pakan alternatif ternak ruminansia.

Pemberian daun nanas pada ternak tidak dapat dilakukan secara langsung dalam bentuk segar. Hal ini dikarenakan daun nanas memiliki kandungan serat kasar yang tinggi. Menurut Andi *et al* (2015), daun nanas memiliki kandungan nutrisi protein kasar 9,1%, serat kasar 23,6%, abu 4,9%, lemak kasar 1,6%, dan BETN 60,8%. Kandungan serat kasar 23,6% daun nanas tergolong tinggi, pemberian pakan yang mengandung serat kasar tinggi tidak dapat dicerna secara optimal oleh saluran pencernaan ternak dan menyebabkan penyerapan nutrisi pakan menjadi rendah. Keterbatasan kandungan pakan seringkali menjadi kendala dalam memenuhi kebutuhan pakan ternak. Oleh sebab itu, untuk mengatasi keterbatasan kandungan pakan dibutuhkan suatu metode pengolahan pakan yang dapat meningkatkan nilai nutrisi melalui perlakuan fermentasi. Fermentasi merupakan suatu teknologi untuk meningkatkan kualitas pakan asal limbah, karena keterlibatan mikroorganisme dalam mendegradasi serat kasar, mengurangi kadar lignin, dan senyawa antinutrisi, sehingga nilai kecernaan pakan asal limbah dapat meningkat (Wina, 2005). Keuntungan dari pakan fermentasi yaitu dapat meningkatkan nilai nutrisi pakan seperti kandungan protein kasar dan dapat

menurunkan kandungan serat kasar, meningkatkan daya cerna pakan, dan pakan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

Fermentasi daun nanas dapat dilakukan menggunakan kapang *Aspergillus niger*. Berdasarkan penelitian Kusuma (2019), fermentasi limbah buah nanas (mahkota nanas, kulit nanas, dan hati nanas) menggunakan *Aspergillus niger* sebanyak 2% dengan lama waktu inkubasi selama 4 hari dapat mengubah kualitas fisik dan meningkatkan kandungan nutrisi protein kasar dari 4,41% menjadi 9,55%. Fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* terbaik untuk menaikkan kadar protein kasar pada lama fermentasi 4 hari terhadap kulit ubi kayu (Mirwandhono *et al.*, 2006). *Aspergillus niger* secara kultur tunggal sering digunakan dalam pengolahan pakan karena kemampuannya dalam degradasi selulosa maupun pati. *Aspergillus niger* tidak hanya menghasilkan enzim selulolitik, tetapi juga enzim amilolitik seperti amylase dan glucoamilase (Ratanaphadit *et al.*, 2010). *Aspergillus niger* menghasilkan bermacam-macam enzim seperti enzim mannase, selulase, dan enzim-enzim pemecah karbohidrat lainnya sehingga dalam proses fermentasi kapang ini mampu menguraikan serat lebih optimal (Wina, 2005). Untuk menghasilkan produk bioproses yang ideal perlu diketahui lama fermentasi dan level pemberian *Aspergillus niger* dalam fermentasi daun nanas. Produk fermentasi yang diharapkan dapat meningkatkan nilai nutrisi dan meningkatkan pencernaan pakan. Oleh sebab itu, dilakukan penelitian pengaruh lama fermentasi daun nanas menggunakan *Aspergillus niger* dengan level berbeda yang diharapkan dapat meningkatkan nilai pencernaan pakan.

E. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. terdapat pengaruh lama fermentasi dan level pemberian *Aspergillus niger* pada daun nanas terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 ;
- b. terdapat pengaruh terbaik lama fermentasi 6 hari dan level 2% pemberian *Aspergillus niger* pada daun nanas terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 .

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Nanas

Tanaman nanas (*Ananas Comosus*) berasal dari Amerika Selatan. Lokasi atau daerah yang sesuai untuk tanaman nanas yaitu lokasi yang cukup mendapat sinar matahari hingga ketinggian 500 m dari permukaan laut. Tanaman nanas memiliki daun berbentuk taji, ujung tepi memiliki duri, namun ada yang tidak berduri dan terdapat serat didalamnya. Tanaman nanas memiliki buah yang berbentuk bulat panjang dan dagingnya berwarna kuning muda (Wee dan Thongtham, 1997).

Menurut Soedarya (2009), tanaman nanas mempunyai nama botani *Ananas Comosus* L. Merr. Berikut adalah klasifikasi dari tanaman nanas:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyte
Kelas : Angiospermae
Sub Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Farinosae
Family : Bromeliaceae
Genus : Ananas
Spesies : *Ananas Comosus* (L.) Merr.

Tanaman nanas termasuk golongan tanaman tahunan. Tanaman nanas memiliki struktur morfologi terdiri dari akar, batang, daun, bunga dan buah. Akar tanaman nanas melekat pada pangkal batang atau bagian bawah batang yang memiliki tipe akar serabut, perakaran tanaman nanas pada media tanah yang baik yaitu antara 30-50 cm. Berikut ini adalah tanaman nanas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman nanas (PT. Great Giant Food)

Batang tanaman nanas memiliki ukuran panjang 20-25 cm, tebal dengan diameter 2,0-3,5 cm, dan beruas-ruas pendek (Suprianto, 2016). Nanas adalah salah satu tanaman herba yang dapat dimanfaatkan dan hidup dalam berbagai musim.

Tanaman nanas digolongkan dalam kelas monokotil yaitu berakar serabut yang bersifat tahunan. Tanaman nanas memiliki bunga yang terdapat di ujung batang atau disebut juga dengan mahkota nanas. Pertumbuhan nanas yaitu berkembang menjadi cabang-cabang vegetatif. Cabang tersebut yang akan menghasilkan buah (Sari, 2002).

Tanaman nanas memiliki bunga yang bersifat majemuk terdiri dari 50-200 kuntum bunga tunggal atau lebih. Bunga nanas terletak pada tangkai buah dan berkembang menjadi buah majemuk. Bunga nanas bersifat hermaprodit, mempunyai tiga mahkota, tiga kelopak, enam benang sari, dan putik memiliki kepala putik bercabang tiga. Penyerbukan terjadi bersifat *self incompatible* atau *cross pollinated* melalui adanya perantara yaitu burung dan lebah. Bunga nanas berjumlah sekitar 5-10 kuntum dimulai dari bagian dasar menuju bagian atas. Pertumbuhan bunga nanas akan terjadi selama 10-20 hari dan waktu dari tanam sampai berbentuk bunga sekitar 6-16 bulan (Atikaduri, 2003).

B. Daun Nanas

Daun nanas pada tanaman nanas memiliki ukuran panjang 130-150 cm dan lebar antara 3-5 cm. Daun nanas memiliki duri yang tajam, namun daun nanas juga ada yang tidak berduri dan tidak memiliki tulang daun. Jumlah daun pada tanaman nanas bervariasi antara 70-80 helai. Bunga nanas bersifat hemaprodit, nanas juga memiliki rangkaian bunga majemuk pada ujung batang (Cahyo, 2016).

Daun nanas berbentuk pedang dan memanjang, ujung daun nanas berbentuk lancip dan tajam serta tepi daun memiliki duri (Dalimartha, 2001).

Lapisan luar daun nanas terdiri dari lapisan atas dan lapisan bawah. Lapisan daun nanas mempunyai banyak ikatan atau helai-helai serat yang saling terikat oleh sejenis zat perekat yang terdapat dalam daun nanas. Daun nanas tidak memiliki tulang daun, namun untuk menunjang pertumbuhan daun nanas memiliki serat-serat yang akan memperkuat daun nanas dalam pertumbuhan. Limbah buah nanas terdapat dua bagian yaitu limbah nanas yang terdiri dari tangkai, batang, dan limbah buah nanas dari hasil pengalengan nanas terdiri dari kulit, mahkota, pucuk, inti buah, dan ampas nanas (Murni *et al.*, 2008). Buah nanas banyak diolah di berbagai industri, melimpahnya buah nanas akan menghasilkan mahkota nanas dan daun nanas sebagai limbah yang belum dimanfaatkan secara maksimal (Susana, 2011). Daun nanas memiliki kandungan protein kasar 9,1%, serat kasar 23,6%, abu 4,9%, lemak kasar 1,6%, dan BETN 60,8%, daun nanas dapat dimanfaatkan sebagai pengganti rumput segar (Andi *et al.*, 2015).

C. Fermentasi

Fementasi adalah suatu pengolahan atau teknologi yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas pakan asal limbah dengan memanfaatkan mikroorganisme dalam mendegradasi serat kasar, mengurangi kadar lignin, dan mengurangi senyawa antinutrisi sehingga hasil fermentasi pakan akan meningkatkan nilai pencernaan pakan yang berasal dari limbah (Wina, 2005).

Proses fermentasi disebabkan oleh terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik yang dilakukan oleh aktivitas enzim yang berasal dari mikroorganisme. Karbohidrat adalah nutrisi yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi. Karbohidrat dapat dijadikan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba. Nutrisi lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah lebih sedikit dibandingkan dengan karbohidrat (Azizah *et al.*, 2012).

Fermentasi merupakan proses pemecahan karbohidrat menjadi alkohol, asam laktat, asam karbonat, dan asam butirat serta pelepasan panas. Protein dirombak menjadi amonia, asam amino, amida, asam asetat, asam butirat, dan air (Sariri dan Yakin, 2019). Suliantari dan Rahayu (1990) yang menyatakan bahwa dengan fermentasi terjadi penghilangan zat anti nutrisi yang bersifat racun antara lain glukosida. Selanjutnya fermentasi daun ubi kayu dengan *Aspergillus niger* mampu meningkatkan protein, nilai pencernaan, dan penurunan serat kasar (Balitnak, 1994).

Fermentasi dapat dikatakan berhasil jika prosesnya berjalan lancar, fermentasi pada media padat sangat tergantung pada kondisi optimum yang diberikan. Kondisi umum dalam hal ini yang perlu diperhatikan adalah dosis inokulum yang diberikan, komposisi substrat, dan lama inkubasi yang dilakukan (Nuraini *et al.*, 2012). Pakan yang difermentasi bertujuan untuk mengawetkan hijauan pakan segar dengan kandungan air 60-70%. Selain hijauan pakan segar, limbah industri pertanian juga dapat difermentasi dalam kondisi anaerob dengan pembentukan atau penambahan asam. Keberhasilan proses fermentasi ditentukan oleh nilai pH dan konsentrasi asam laktat (Mushawwir, 2017).

Mikroorganisme banyak dimanfaatkan produk bioproses dalam fermentasi. Mikroorganisme yang digunakan antara lain khamir, kapang, dan bakteri. Seiring kemajuan bidang teknologi fermentasi memungkinkan untuk dapat memproduksi berbagai produk yang tidak dapat atau sulit diproduksi melalui proses kimia. Teknologi fermentasi adalah suatu upaya memanfaatkan bahan-bahan yang

berharga relatif murah atau bahan yang kurang berharga menjadi produk yang bernilai ekonomi tinggi dan dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan di kehidupan manusia. Selain itu, teknologi fermentasi juga dapat digunakan sebagai bioproses pembuatan pakan ternak (Sulistyaningrum, 2008).

Fermentasi memiliki berbagai manfaat antara lain dapat mengubah bahan organik kompleks seperti karbohidrat, protein, dan lemak menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dan mudah dicerna serta diserap oleh pencernaan ternak, mengubah rasa dan aroma, meningkatkan palatabilitas, dan mensintesis protein. Proses fermentasi dapat meningkatkan ketersediaan zat-zat makanan seperti protein dan energi metabolis serta mampu memecah komponen kompleks menjadi komponen sederhana (Kompiani *et al.*, 1994).

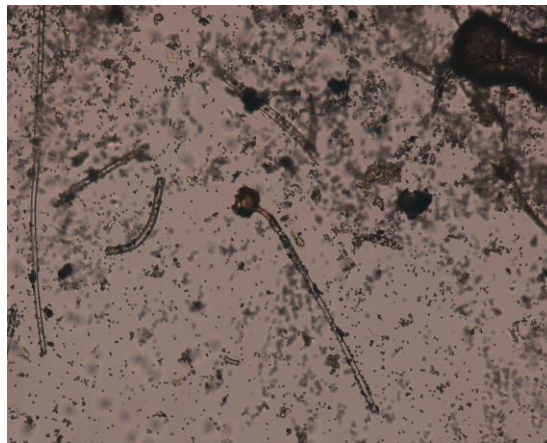
Hasil fermentasi sangat bergantung pada bahan pakan yang digunakan, macam-macam mikroba atau inokulum, kondisi lingkungan yang sangat mempengaruhi pertumbuhan, dan metabolisme mikroba dalam proses fermentasi. Proses fermentasi membutuhkan substrat sebagai media tumbuh mikroba dan sebagai sumber makanan yang mengandung zat-zat nutrisi yang dibutuhkan selama proses fermentasi berlangsung. Substrat yang digunakan dapat berupa substrat sumber karbon dan substrat sumber nitrogen (Rusdi, 1992).

D. Aspergillus niger

Klasifikasi ilmiah *Aspergillus niger* menurut Ingrid dan Suharto (2012), sebagai berikut:

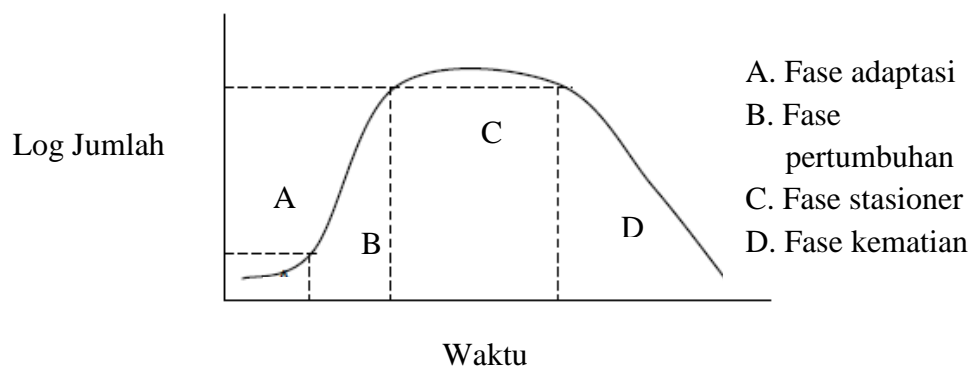
Domain : Eurotiomycetes
Ordo : *Eurotiales*
Famili : *Trichocomaceae*
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan kapang yang pertumbuhannya cepat, menghasilkan protein yang tinggi, dan memproduksi enzim selulase yang cukup efisien sehingga mampu memanfaatkan selulosa untuk pertumbuhannya serta dapat menghidrolisis selulosa kristal. Kapang ini juga menghasilkan enzim mannase sehingga dapat menguraikan senyawa manan menjadi galaktomanan (Purwadaria *et al.*, 1995). Berikut ini adalah *Aspergillus niger* yang diamati melalui mikroskop dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Aspergillus niger* (Data primer, 2022)

Aspergillus niger dapat digunakan dalam pengolahan pakan, hal ini karena kemampuannya dalam mendegradasi selulosa. *Aspergillus niger* tidak hanya menghasilkan enzim selulolitik, tetapi juga enzim amilolitik seperti amylase dan glucoamilase (Ratanaphadit *et al.*, 2010). *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim β -glukosidase yang kuat. Enzim β -glukosidase berperan untuk mempercepat konversi selobiosa menjadi glukosa (Juhasz *et al.*, 2003). Berikut adalah fase pertumbuhan *Aspergillus niger* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Fase pertumbuhan kapang

Kapang mempunyai masa pertumbuhan yang bervariasi dalam aktivitas metabolisme yang memiliki beberapa fase pertumbuhan yaitu fase lag atau fase adaptasi kemudian memasuki fase eksponensial yaitu fase puncak pertumbuhan, selanjutnya aktivitas metabolisme akan menurun memasuki fase stasioner dan berakhir pada fase kematian (Pasaribu, 2013). Kapang *Aspergillus niger* menghasilkan bermacam-macam enzim meliputi enzim mannase, selulase, dan enzim-enzim pemecah karbohidrat lainnya sehingga dalam proses fermentasi kapang ini mampu menguraikan serat lebih optimal (Wina, 2005).

Pertumbuhan kapang *Aspergillus niger* dipengaruhi oleh nutrisi yang ada di dalam substrat maupun yang diberikan ke substrat. Pertumbuhan kapang *Aspergillus niger* membutuhkan sumber nutrisi yang terdiri dari unsur C, N, dan mineral dengan perbandingan tertentu sesuai dengan kebutuhan. Sumber nutrisi karbon dapat dimanfaatkan oleh *Aspergillus niger* setelah enzim selulase disekresikan, sehingga enzim selulase memiliki kemampuan untuk menguraikan senyawa kompleks yaitu selulosa dari substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana berupa glukosa (Gandjar, 2006).

Fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* dapat menaikkan kadar protein kasar dan lemak kasar tepung kulit ubi kayu serta terjadi penurunan bahan kering dan serat kasar. Fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* yang terbaik untuk menaikkan kadar protein kasar dan menurunkan serat kasar pada lama fermentasi 4 hari karena lama fermentasi 6 hari kecenderungan meningkatnya kadar protein kasar tidak signifikan dan kadar serat kasar mulai naik (Mirwandhono *et al.*, 2006). *Aspergillus niger* memiliki kemampuan dalam mendegradasi komponen serat, menghasilkan enzim-enzim amilolitik, proteolitik, dan lipolitik. *Aspergillus niger* menghasilkan enzim selulase dan xylanase yang berfungsi menurunkan kandungan serat. Berdasarkan penelitian Kusuma (2019), fermentasi limbah buah nanas menggunakan *Aspergillus niger* sebanyak 2% dengan lama waktu inkubasi selama 4 hari dapat mengubah kualitas fisik dan meningkatkan kandungan nutrisi protein kasar dari 4,41% menjadi 9,55%.

E. Kecernaan

Kecernaan merupakan proses atau rangkaian yang terjadi dalam alat pencernaan ternak sampai terjadinya penyerapan. Uji kecernaan digunakan untuk menentukan potensi pakan yang dapat dimanfaatkan oleh ternak. Menurut Tillman *et al.* (1998), kecernaan pakan sangat penting diketahui karena dengan mengetahui kecernaan pakan dapat digunakan untuk menentukan mutu pakan tersebut. Pengukuran tingkat kecernaan suatu bahan pakan yaitu jika kecernaannya semakin tinggi maka dapat meningkatkan efisiensi penggunaan pakan. Kecernaan pakan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain komposisi kimia bahan pakan, komposisi ransum, tingkat pemberian pakan, bentuk fisik ransum, dan faktor internal ternak (McDonald *et al.*, 2010). Bahan pakan yang memiliki kecernaan tinggi apabila bahan pakan tersebut mengandung zat-zat nutrisi mudah dicerna.

Faktor yang mempengaruhi kecernaan bahan pakan adalah spesies ternak, umur ternak, perlakuan pakan, pengaruh asosiasi pakan, kadar serat kasar, lignin, defisiensi nutrisi, komposisi pakan, bentuk fisik pakan, umur tanaman, dan lama tinggal dalam rumen (Van Soest, 1994). Perhitungan kecernaan pakan dapat dilakukan dengan cara menghitung bagian zat makanan yang tidak dikeluarkan melalui bentuk feses dengan asumsi bahwa zat makanan yang tidak dikeluarkan tersebut telah diserap oleh ternak, kecernaan pakan biasanya dinyatakan dalam persen berdasarkan bahan kering. Kecernaan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain komposisi bahan pakan, perlakuan pakan, perbandingan komposisi antara bahan pakan satu dengan bahan pakan lainnya, suplementasi enzim dalam pakan, taraf pemberian pakan, dan ternak (McDonald *et al.*, 2002).

F. Teknik *in vitro*

Kecernaan merupakan indikasi yang perlu untuk diketahui sehingga dapat digunakan sebagai petunjuk pemanfaatan pakan oleh ternak dan untuk menentukan jumlah nutrisi dari bahan pakan yang diserap oleh saluran

pencernaan ternak (Anggorodi, 1994). Daya cerna erat hubungannya dengan komposisi kimiawi bahan pakan terutama kandungan serat kasar dari bahan pakan tersebut. Semakin tinggi kandungan serat kasar yang dimiliki suatu bahan pakan maka akan semakin rendah daya cerna bahan pakan tersebut. Sebaliknya semakin rendah kandungan serat kasar bahan pakan pada umumnya akan lebih mudah dicerna, karena ikatan polisakarida yang lebih mudah ditembus oleh mikroba rumen (Muna *et al.*, 2019).

Metode *in vitro* digunakan untuk mengetahui kecernaan pada ternak, pakan, dan hasil proses pencernaan dalam saluran pencernaan ternak. Pengukuran nilai kecernaan secara *in vitro* menggunakan cairan rumen, saliva buatan, dan bahan pakan yang dicampur ke dalam tabung pencernaan. Keunggulan metode *in vitro* adalah jumlah sampel yang digunakan relatif sedikit, waktu yang dibutuhkan lebih singkat, ekonomis, dan pelaksanaannya lebih mudah dibandingkan dengan metode *in vivo*. Kelemahannya yaitu menggunakan waktu standar, lamanya bahan makanan berada dalam rumen bervariasi menurut jenis, dan bentuk makanan (Setiyaningsih *et al.*, 2012).

G. Volatile Fatty Acids (VFA)

Volatile Fatty Acids (VFA) merupakan produk akhir dari fermentasi karbohidrat dan merupakan sumber energi utama di dalam rumen. Fermentasi karbohidrat dalam rumen menghasilkan CO₂ dan CH₄ (McDonald *et al.*, 2002). Pakan ternak berupa konsentrat maupun hijauan (rumput dan leguminosa) akan mengalami proses fermentasi oleh mikroba di dalam rumen. Hasil utama dari pencernaan karbohidrat di dalam rumen yaitu VFA yang meliputi asetat (C2), propionat (C3), butirrat (C4), laktat, dan format (Parakkasi, 1999).

Pencernaan karbohidrat di dalam rumen mengalami dua tahap melalui enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroba di dalam rumen. Tahap pertama, mikroba di dalam rumen akan mengalami hidrolisis menjadi monosakarida seperti glukosa, fruktosa, dan pentosa. Hasil dari pencernaan tahap pertama akan masuk ke jalur glikolisis *Embden-Meyerhoff*. Kemudian mengalami pencernaan pada tahap

kedua yang menghasilkan piruvat. Piruvat selanjutnya dirubah menjadi VFA yang terdiri dari asetat, butirat, dan propionat (Arora, 1995). Piruvat akan dimetabolis sehingga menghasilkan produk akhir yaitu asam lemak berantai pendek yang disebut VFA yaitu asam asetat, propionat, butirat, sejumlah kecil asam valerat, dan asam lemak berantai cabang.

Produksi VFA digunakan sebagai tolak ukur fermentabilitas pakan. Produksi VFA menggambarkan fermentasi bahan organik. VFA berperan sebagai kerangka karbon bagi pembentukan protein mikroba. Peningkatan produksi VFA hal ini menandakan mudah atau tidaknya pakan difermentasi oleh mikroba rumen. VFA diperoleh dari proses hidrolisis lemak oleh bakteri lipolitik menjadi asam lemak dan gliserol, kemudian gliserol tersebut difermentasikan menjadi asetat, propionat, dan butirat (Jena *et al.*, 2020).

Volatile Fatty Acids (VFA) yang dihasilkan di dalam rumen sangat bervariasi yaitu berkisar antara 200-1.500 mg/100 ml cairan rumen. Banyaknya VFA bergantung dengan jenis ransum yang dikonsumsi oleh ternak (McDonald *et al.*, 2002). Peningkatan konsentrasi VFA mencerminkan peningkatan kandungan protein dan karbohidrat pakan yang mudah larut. Faktor yang mempengaruhi banyaknya konsentrasi VFA antara lain jenis mikroba, penyerapan, dan fermentabilitas dari pakan sumber karbohidrat (Hindratiningrum *et al.*, 2011). Tinggi dan rendahnya produksi VFA dipengaruhi oleh tingkat fermentabilitas pakan, pencernaan bahan pakan, pH rumen, dan jumlah karbohidrat yang mudah larut (Arora, 1995)

H. Ammonia (NH₃)

Ammonia (NH₃) pada cairan rumen adalah hasil dari proses degradasi protein dan nitrogen bukan protein (NPN) yang masuk di dalam rumen. NH₃ berkaitan erat dengan sintesis protein mikroba rumen. Mikroba rumen memanfaatkan NH₃ sebagai sumber nitrogen (N) utama untuk sintesis protein mikroba rumen. NH₃ di dalam rumen merupakan salah satu indikator untuk mengetahui fermentabilitas

pakan yang berhubungan dengan pencernaan protein pakan, aktivitas mikroba, dan populasi mikroba di dalam rumen. Konsentrasi NH_3 di dalam rumen merupakan salah satu hal yang sangat penting untuk dikendalikan, konsentrasi NH_3 sangat menentukan optimasi pertumbuhan mikroba di dalam rumen. Sekitar 80% mikroba rumen dapat menggunakan NH_3 sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya (Arora, 1995).

Ammonia (NH_3) merupakan sumber nitrogen yang paling banyak dibutuhkan mikroorganisme rumen dengan kerangka karbon dari sumber energi akan disintesa menjadi protein mikroba. Kandungan protein yang tinggi pada ransum dan protein tersebut mudah didegradasi akan menghasilkan konsentrasi NH_3 yang tinggi di dalam rumen (McDonald *et al.*, 2002). Tingkat hidrolisis protein pakan bergantung terhadap daya larutnya yang dapat mempengaruhi kadar NH_3 .

Pengukuran NH_3 secara *in vitro* digunakan untuk mengestimasi degradasi protein dan penggunaannya oleh mikroba. Produksi NH_3 yang dihasilkan dipengaruhi oleh waktu setelah pemberian makan dan umumnya produksi maksimum NH_3 dicapai pada saat 2-4 jam setelah pemberian pakan dan dipengaruhi oleh sumber protein yang digunakan dan mudah tidaknya protein tersebut didegradasi.

Defisien protein lolos degradasi, maka konsentrasi NH_3 rumen akan menjadi rendah dan pertumbuhan organisme rumen akan menjadi lambat. Sebaliknya, jika degradasi protein lebih cepat daripada sintesis protein mikroba maka NH_3 akan terakumulasi dan melebihi konsentrasi optimumnya. Kisaran optimum NH_3 di dalam rumen berkisar 85-300 mg/l atau 6-21 mM (McDonald *et al.*, 2002).

Ammonia (NH_3) merupakan sumber nitrogen utama dan sangat penting untuk proses sintesis protein mikroba di dalam rumen (Sakinah, 2005). Hasil fermentasi tidak semuanya disintesis menjadi protein mikroba, namun sebagian akan diserap ke dalam darah. NH_3 yang tidak terpakai di dalam rumen akan dibawa menuju hati diubah menjadi urea, lalu sebagian diekskresikan melalui urine dan yang lainnya dibawa di kelenjar saliva. Sumbangan NH_3 pada ternak ruminansia sangat penting karena NH_3 berperan sebagai prekursor protein mikroba yaitu NH_3 dan senyawa karbon. Semakin tinggi kadar NH_3 di dalam rumen maka kemungkinan

makin banyak protein mikroba yang terbentuk sebagai sumber protein tubuh. Konsentrasi NH_3 yang diperoleh sudah cukup menyediakan kebutuhan NH_3 untuk pembentukan protein mikroba. Konsentrasi NH_3 dalam rumen merupakan indikator adanya perombakan protein yang masuk dalam rumen dan proses sintesis protein oleh mikroba rumen (Wahyuni *et al.*, 2014).

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada Januari sampai dengan Maret 2022. Sampel daun nanas diperoleh dari PT. Great Griant Foods. Persiapan perbanyakan *Aspergillus niger* dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Analisis *in vitro* dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan untuk perbanyakan *Aspergillus niger* yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA), isolat *Aspergillus niger*, beras, dan air. Bahan yang digunakan untuk fermentasi yaitu daun nanas strain *Smooth cayenne* yang diperoleh dari PT. Great Griant Foods dan kapang *Aspergillus niger*. Selanjutnya bahan yang digunakan untuk mengukur konsentrasi VFA dan NH_3 yaitu cairan rumen, larutan saliva, larutan merkuri chlorida (HgCl_2) untuk menghentikan fermentasi oleh mikroba, larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,5 N, indikator phenolptalein, HCl 0,5 N yang digunakan untuk titrasi VFA, 1 ml larutan asam borat 2%, indikator red blue, larutan natrium karbonat (Na_2CO_3), dan H_2SO_4 pekat.

2. Alat penelitian

Alat yang digunakan untuk perbanyak *Aspergillus niger* yaitu cawan petri, bunsen, jarum ose, timbangan analitik, erlenmeyer, kompor listrik, dan oven. Alat yang digunakan untuk fermentasi yaitu baskom, plastik, nampan, tali rafia, pisau, terpal, timbangan analitik, dan dandang untuk mengukus daun nanas. Alat yang digunakan untuk mengukur konsentrasi VFA dan NH_3 yaitu timbangan analitik, pengaduk, gelas ukur, tabung fermentor untuk memfermentasikan cairan rumen selama di *water bath shaker* yang digunakan sebagai pengganti perut rumen, tang penjepit, alat sentrifuse untuk memisahkan antara supernatan dan endapan, erlenmeyer, alat pipet tetes, buret untuk titrasi, dan cawan *Conway* untuk mengukur konsentrasi NH_3 .

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 3x3 perlakuan dan 3 ulangan sehingga terdapat 27 unit satuan percobaan. Faktor pertama adalah level penggunaan *Aspergillus niger* dan faktor kedua adalah lama fermentasi daun nanas.

Level *Aspergillus niger* yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

D0 : *Aspergillus niger* 0%

D1 : *Aspergillus niger* 2%

D2 : *Aspergillus niger* 4%

Lama fermentasi daun nanas yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

L0 : Fermentasi selama 0 hari

L1 : Fermentasi selama 6 hari

L2 : Fermentasi selama 12 hari

Berikut ini adalah tata letak percobaan dapat dilihat pada Gambar 4.

D1L2 U3	D1L2 U1	D2L1 U3	D2L1 U2	D1L1 U2	D0L0 U3	D2L0 U2	D1L0 U1	D0L1 U1
D2L2 U3	D0L1 U2	D2L1 U1	D1L2 U2	D0L1 U3	D1L0 U3	D2L0 U3	D0L2 U1	D0L0 U2
D2L0 U1	D1L0 U2	D0L2 U2	D0L0 U1	D1L1 U3	D2L2 U1	D1L1 U1	D0L2 U3	D2L2 U2

Gambar 4. Tata letak percobaan

Keterangan:

- D0L0 : Level *Aspergillus niger* 0% dengan lama fermentasi 0 hari
- D0L1 : Level *Aspergillus niger* 0% dengan lama fermentasi 6 hari
- D0L2 : Level *Aspergillus niger* 0% dengan lama fermentasi 12 hari
- D1L0 : Level *Aspergillus niger* 2% dengan lama fermentasi 0 hari
- D1L1 : Level *Aspergillus niger* 2% dengan lama fermentasi 6 hari
- D1L2 : Level *Aspergillus niger* 2% dengan lama fermentasi 12 hari
- D2L0 : Level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 0 hari
- D2L1 : Level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 6 hari
- D2L2 : Level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 12 hari

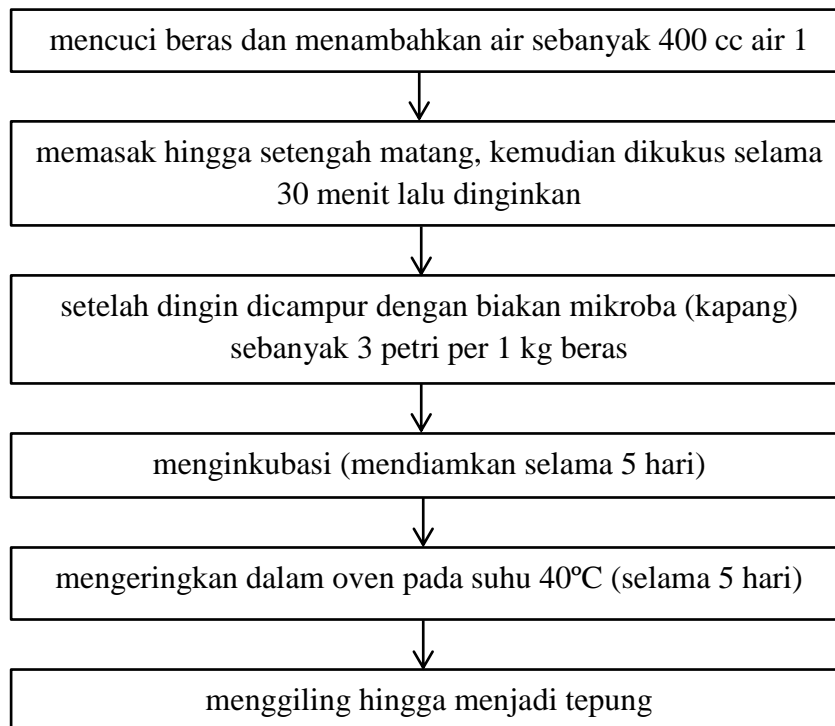
D. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah konsentrasi VFA dan konsentrasi NH_3 dari hasil pencernaan secara *in vitro* daun nanas fermentasi.

E. Pelaksanaan Penelitian

1. Perbanyak kapang *Aspergillus niger*

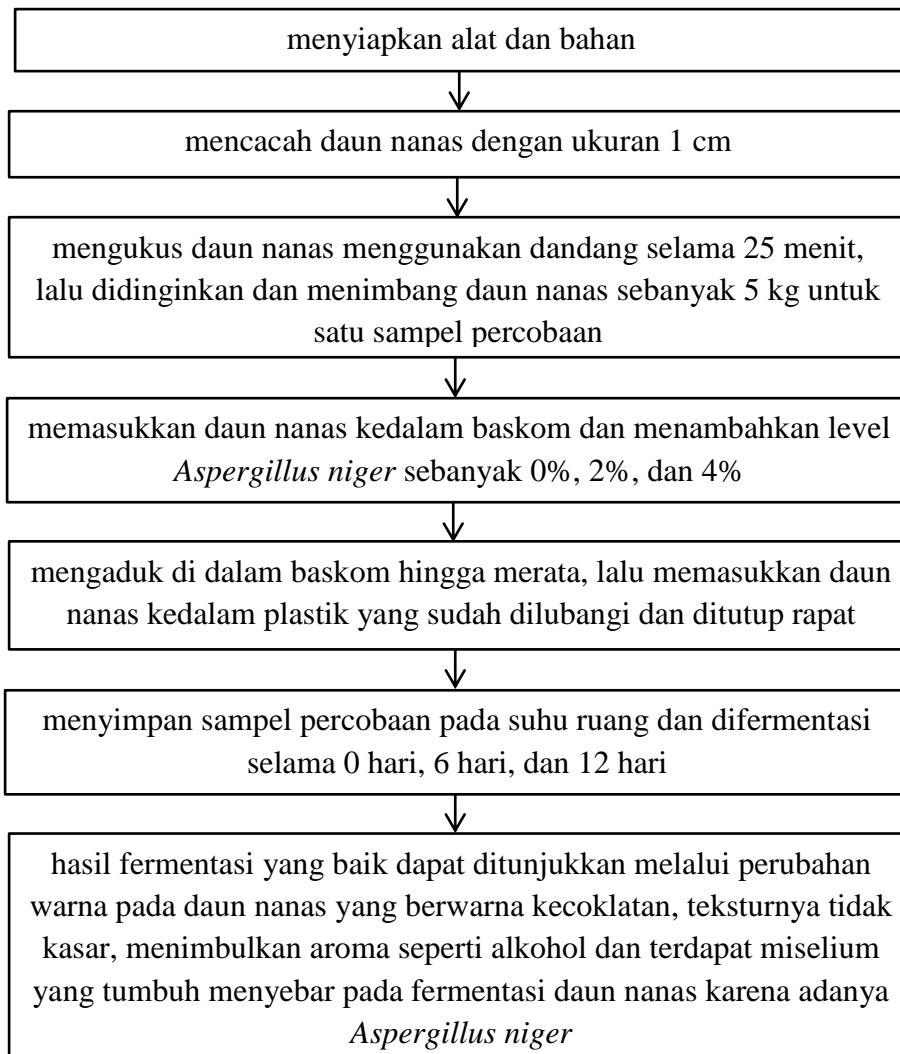
Perbanyak kapang *Aspergillus niger* melalui prosedur Palinggi *et al.* (2014) sebagai berikut:



Gambar 5. Skema perbanyak kapang *Aspergillus niger*

2. Fermentasi daun nanas

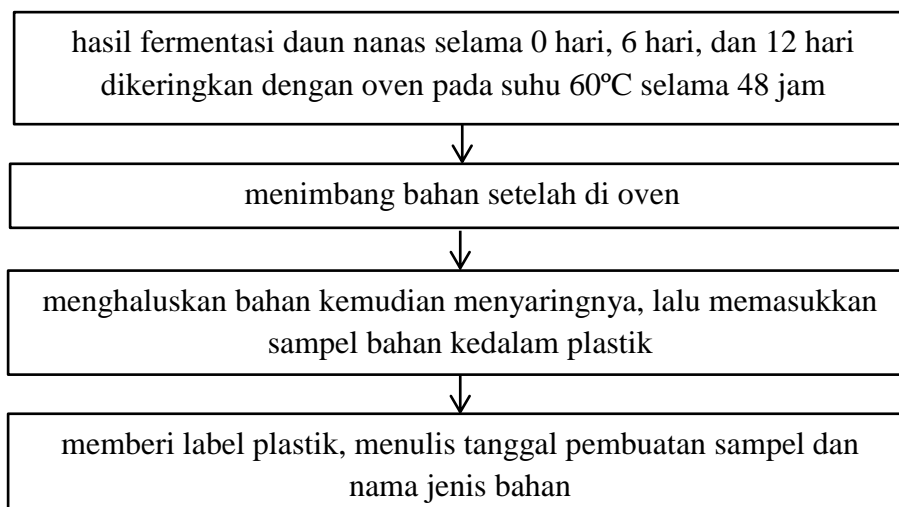
Pelaksanaan pembuatan fermentasi daun nanas sebagai berikut:



Gambar 6. Skema pembuatan fermentasi daun nanas

3. Tahapan persiapan sampel analisis

Tahapan persiapan sampel analisis adalah sebagai berikut:

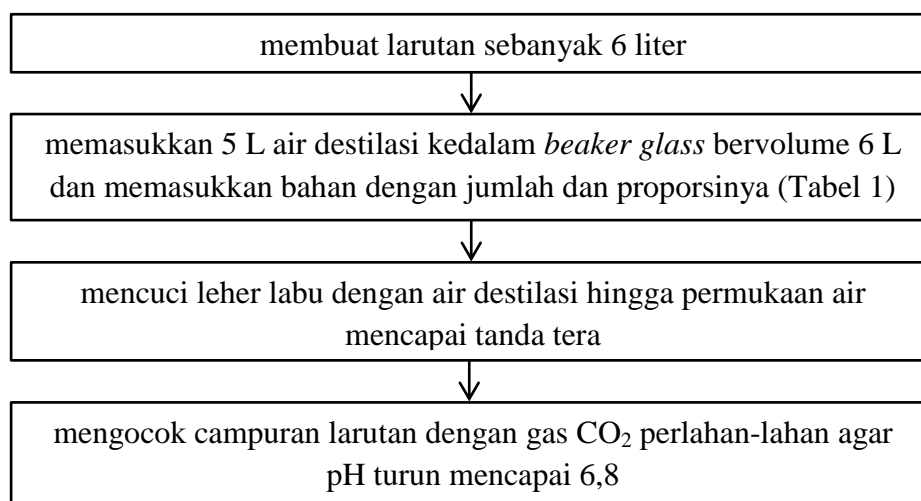


Gambar 7. Skema persiapan sampel analisis

4. Tahapan Analisis Kecernaan *in vitro*

a. Pembuatan larutan *Mc Dougall* (saliva buatan)

Langkah-langkah pembuatan larutan *Mc Dougall* (saliva buatan) yaitu:



Gambar 8. Skema pembuatan larutan *Mc Dougall* (saliva buatan)

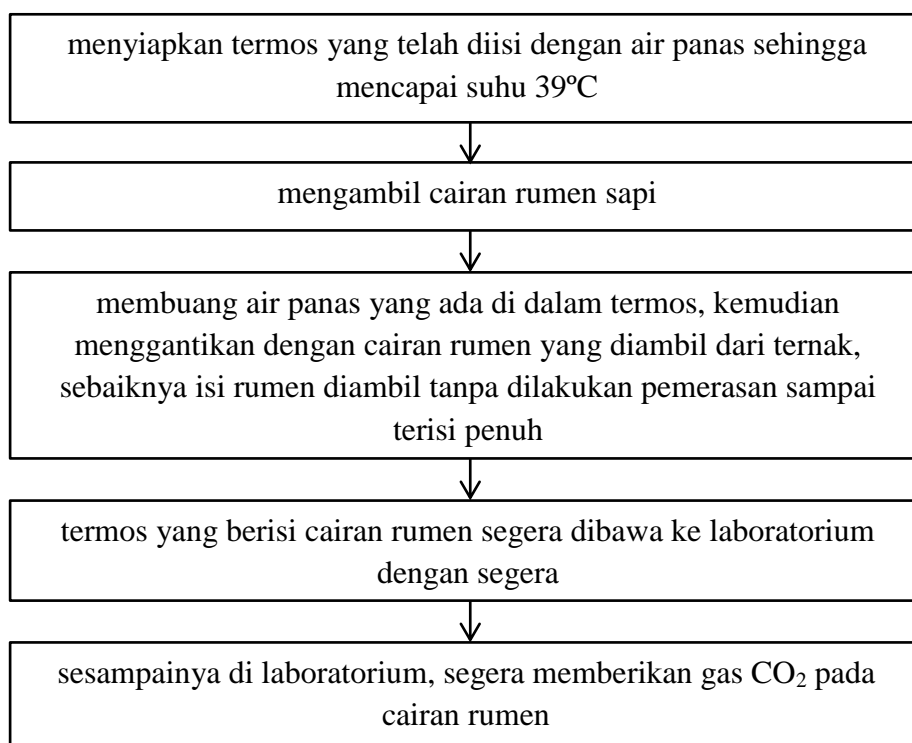
Tabel 1. Bahan penyusun larutan *Mc Dougall* (saliva buatan)

No	Bahan	Jumlah (gram)
1	Na HCO ₃	58,8
2	Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	42,0
3	KCL	3,42
4	NaCl	2,82
5	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,72
6	CaCl ₂	0,24

Keterangan: Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah, Institut Pertanian Bogor (2021)

b. Pengambilan cairan rumen

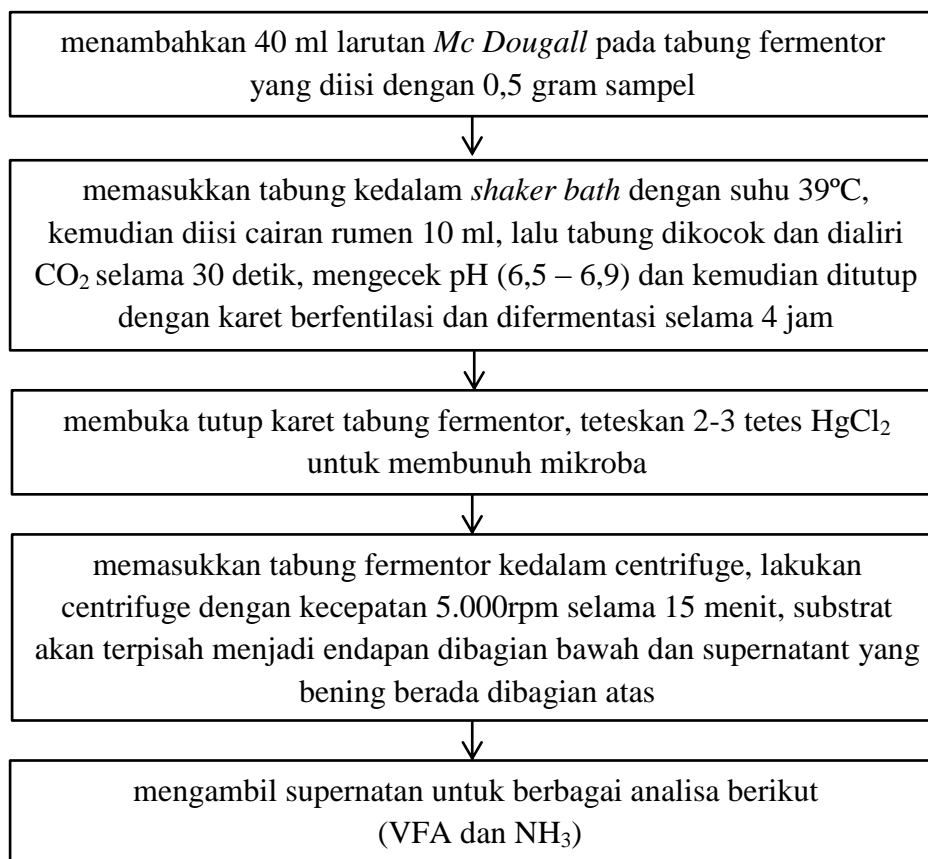
Langkah-langkah pengambilan cairan rumen sebagai berikut:



Gambar 9. Skema pengambilan cairan rumen

c. Analisis *in vitro*

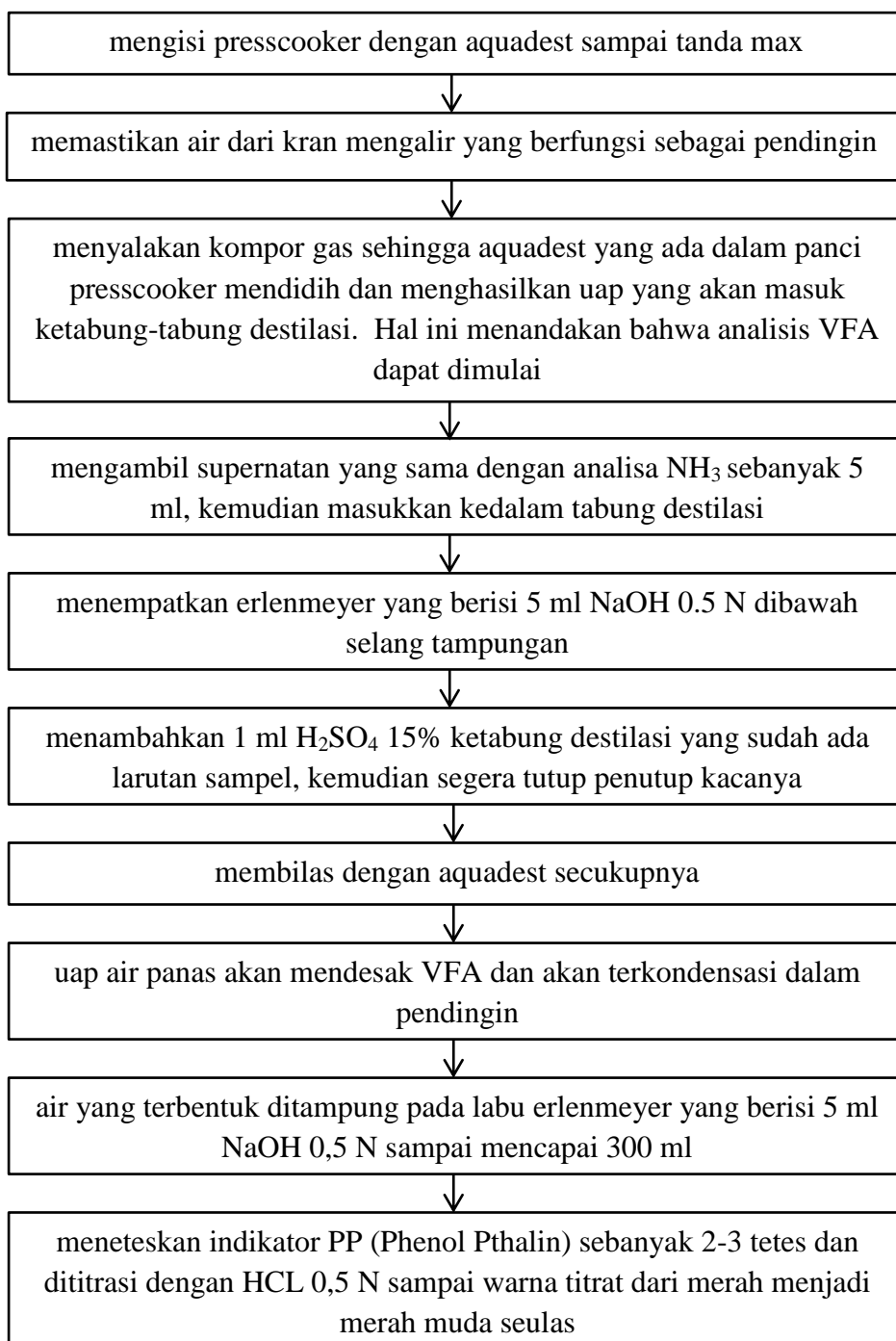
Percobaan analisis *in vitro* ini dilakukan berdasarkan metode Tilley dan Terry (1963). Tahapan percobaan sebagai berikut:



Gambar 10. Skema analisis *in vitro*

d. Analisis VFA

Konsentrasi VFA ditentukan dengan metode “Steam Destilation” (General Laboratory Procedure, 1996) sebagai berikut:



Gambar 11. Skema analisis VFA

Kadar VFA dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total VFA} = (A-B) \text{ ml} \times N \text{ HCL} \times 1000/5 \text{ mM}$$

Keterangan:

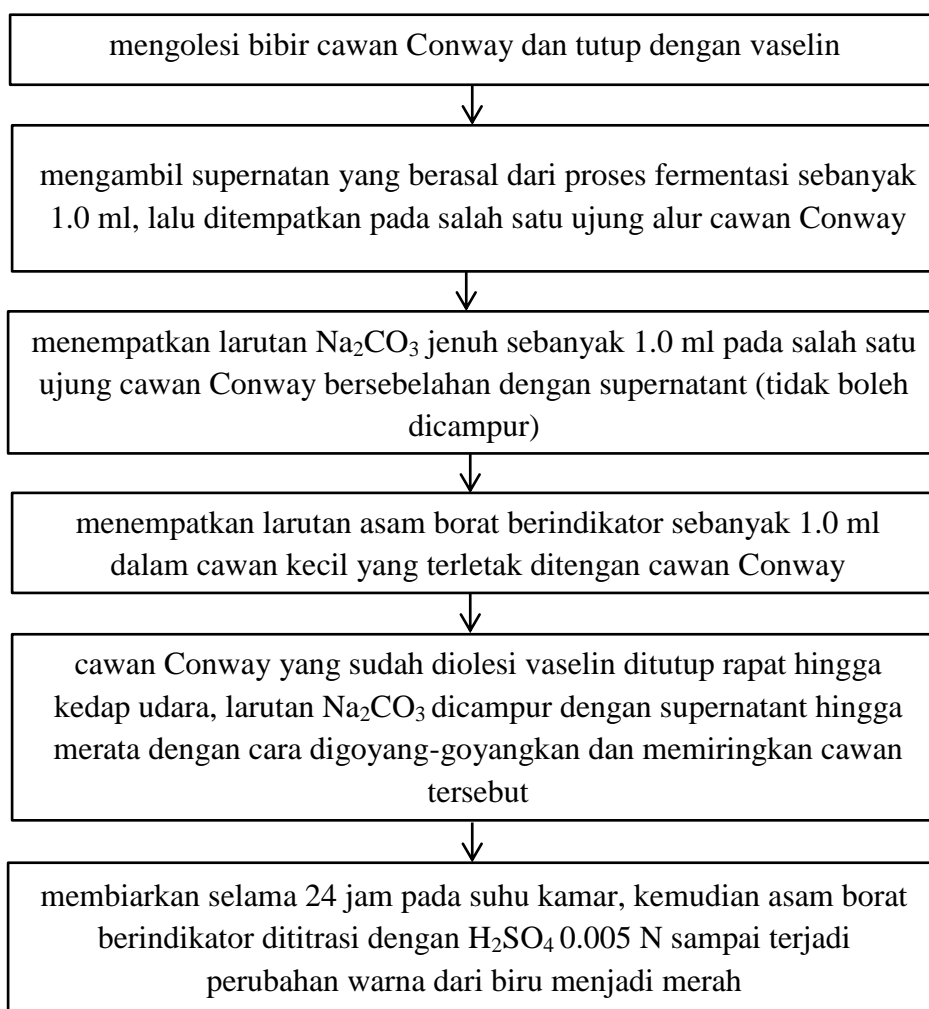
A : Volume titran blanko (ml)

B : Volume titran contoh (ml)

N : Normalitas larutan HCL

e. Analisis NH_3

Analisis NH_3 dilakukan dengan metode Mikrodifusi Conway sebagai berikut:



Gambar 12. Skema analisis NH_3

Kadar NH_3 dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N \text{ NH}_3 \text{ (mM)} = (\text{ml titran} \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1000 \text{ mM})$$

Keterangan:

N_{NH_3} : Produksi N_{NH_3} yang diperoleh

$N_{H_2SO_4}$: Normalitas larutan H_2SO_4

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam dengan taraf nyata 5% dan atau 1%. Apabila dari hasil analisis ragam menunjukkan hasil yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- a. terdapat interaksi antara lama fermentasi dan level pemberian *Aspergillus niger* yang berbeda terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 .
- b. kombinasi perlakuan terbaik pada level *Aspergillus niger* 4% dengan lama fermentasi 0 hari terhadap konsentrasi VFA sebesar 121,73 mM dan kombinasi level *Aspergillus niger* 0%, 2%, 4% dengan lama fermentasi 0 hari pada konsentrasi NH_3 sebesar 10.55; 10.65; dan 10.80 mM.

B. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut mengenai fermentasi daun nanas menggunakan kapang selain *Aspergillus niger* agar degradasi serat kasar lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorodi, R. 1994. Ilmu Makanan Ternak Umum. PT Gramedia. Jakarta.
- Arora, S. P. 1995. Pencernaan Mikroba pada Ruminansia. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Atikaduri, T. 2003. Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Buah serta Perubahannya Selama Penyimpanan dari Empat Populasi Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Azizah, N., A. N. Al-Barrii, dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3): 72-78.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Outlook Nanas 2016. <http://repository.lppm.unila.ac.id/25005/1/4337-11049-1-PB.pdf>. Diakses pada 15 November 2021.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung. 2017. Provinsi Lampung dalam Angka 2017. <http://repository.lppm.unila.ac.id/25005/1/4337-11049-1-PB.pdf>. Diakses pada 15 November 2021.
- Cahyo, S. R. S. 2016. Grow your own fruits-panduan praktis menanam 28 tanaman buah populer di perkarangan. Lily Publisher. Yogyakarta.
- Dalimartha, S. 2001. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- Faradilla, F., L. K. Nuswantara, M. Christiyanto, dan E. Pangestu. 2019. Kecernaan bahan kering, bahan organik, lemak kasar, dan total digestible nutrients berbagai hijauan secara *in vitro*. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 17(2): 185-193.
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fransistika, R., I. Nora, dan D. Lia. 2012. Pengaruh waktu fermentasi campuran *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* terhadap kandungan protein dan serat kasar ampas sagu. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 1(1): 45-48.

- Gandjar, I. 2006. Mikrobiologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- General Laboratory Procedures. 1966. Determination of Total Volatile Vatty Acids in Rumen Fluid by Steam Destilation. Departemen of Dairy Science Univercity of Wisconsin. New York.
- Gumilar, D. A. K. W. 2017. Konsentrasi *Volatil Fatty Acids* (VFA), Amonia (NH₃), dan Produksi Protein Mikroba Cairan Rumen pada Domba dengan Pemberian Pakan Siang dan Malam. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hernaman, I., A. Budiman, S. Nurachma, dan K. Hidajat. 2015. Kajian *in vitro* substitusi konsentrat dengan penggunaan limbah perkebunan singkong yang disuplementasi kobalt (Co) dan seng (Zn) dalam ransum domba. *Buletin Peternakan*, 39(2): 71-77.
- Hindratiningrum, N., M. Bata, dan M. Santosa. 2011. Produk fermentasi rumen dan produksi protein mikroba sapi lokal yang diberi pakan jerami amoniasi dan beberapa bahan pakan sumber energi. *Jurnal Agripet*, 11(2): 29-34.
- Inggrid, M. dan I. Suharto. 2012. Fermentasi Glukosa oleh *Aspergillus niger* Menjadi Asam Glukonat. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Universitas Katolik Parahayangan. Bandung.
- Iskandar. 2009. Metodologi Penelitian Kualitatif. Gaung Persada (GP Press). Jakarta.
- Jena. K., M. Markus, Kleden, dan I. Benu. 2020. Kecernaan nutrien dan parameter rumen pakan konsentrat yang mengandung tepung daun kersen sebagai pengganti jagung secara *in vitro*. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2): 118-129.
- Juhasz, T., K. Kozma, S. Zsolt, dan K. Reczey. 2003. Production of β -glukosidase in Mixed Culture of *Aspergillus niger* BKMF 1305 and *T.reesei* RUT C30. *Food Technol Biotechnol*, 41(1): 49-53.
- Kompiang, I. P., T. Haryati, dan J. Darma. 1994. Nilai gizi dari singkong yang diperkaya protein: Cassapro. *Jurnal Ilmu dan Peternakan*, 7(2): 22-25.
- Kusuma, A. P., C. Siti, dan Mashudi. 2019. Pengaruh lama waktu fermentasi limbah buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) terhadap kualitas fisik dan kandungan nutrien menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*, 2(1): 1-9.
- Mirwandono., E. Bachari, dan D. Situmorang. 2006. Uji nilai nutrisi kulit ubi kayu yang difermentasi dengan *Aspergillus niger*. *Jurnal Agribisnis Peternakan*, 2(3): 91-95.

- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalg, and C. A. Morgan. 2002. *Animal Nutrition*. Longman Scientific and Technical Co. Published in The United States with John Willey and Sons Inc. New York.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair, and R. G. Wilkinson. 2010. *Animal Nutrition*. Longman. New York.
- Muna, L. M., Muhtarudin, R. Sutrisna, dan F. Fathul. 2019. Pengaruh perlakuan secara kimiawi (amoniasi) dan biologi (kapang) pada kulit kopi terhadap pencernaan bahan kering dan pencernaan bahan organik (*in vitro*). *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*, 3(2): 34-38.
- Murni, R., Suparjo, Ginting, dan Akmal. 2008. *Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah untuk Pakan*. Universitas Jambi. Jambi.
- Mushawwir, A., U. H. Tanuwiria, K. A. Kamil, R. Adriani, and Wiradimadja. 2017. Effects of Volatile Oil of Garlic on Feed Utilization, Blood Biochemistry and Performance of Heat-stressed Japanese Quail. *Asian Journal of Poultry Science*, 11(2): 83-89.
- Nuraini., M. E. Mahata, dan Nirwansyah. 2012. Potensi Ligninolitik dan Selulolitik *Phanerochaete chrysosporium* dan Karatenoid Monakolin dari *Monascus purpureus* dalam Meningkatkan Kualitas Limbah Buah Kakao sebagai Pakan Ternak. Laporan Penelitian. Universitas Andalas. Padang.
- Palinggi, N. N., K. Kamaruddin, dan A. Laining. 2014. Perbaikan mutu kulit kopi melalui fermentasi untuk bahan pakan ikan. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakulture*, 633-654.
- Parakkasi, A. 1999. *Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminansia*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pasaribu, F. L., E. Yenie, dan S. R. Muria. 2013. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Waktu Fermentasi pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas (*Ananas Comosus L.Merr*) untuk Produksi Enzim Selulase. Artikel. Fakultas Teknik Universitas Riau. Riau.
- Prihardono, R. 2001. Pengaruh Suplementasi Probiotik Bioplus, Lisinat Zn dan Minyak Man Lemuru terhadap Tingkat Penggunaan Pakan dan Produk Fermentasi Rumen Domba. Skripsi. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Purwadaria, T., T. Haryati, A. P. Sinurat, J. Darma, and T. Pasaribu. 1995. In vitro nutrient value of coconut meal fermented with *Aspergillus niger* NRRL 337 at different enzymatic incubation temperatures. 2nd Conference on Agricultural Biotechnology. Jakarta.

- Ramos, M. L. Tejido, M. E. Martinez, M. J. Ranilla, dan 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. *Jurnal of Animal Sciences*, 87(9): 2924-2934.
- Ratanaphadit, K., K. Kaewjan, dan S. J. Plakan. 2010. Potential of Glycoamylase and Cellulase Production Using Mixed Culture of *Aspergillus niger* TISTR 3254 and *Trikoderma reesei* TISTR 3081, KKU. *Jurnal Reserch*, 15(9): 833-842.
- Rusdi, U. D. 1992. Fermentasi Konsentrat Campuran Bungkil Biji Kapok dan Onggok serta Implikasi Efeknya terhadap Pertumbuhan Ayam Broiler. Disertasi. Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Sari, R. N. 2002. Analisis Keragaman Morfologi dan Kualitas Buah Populasi Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) Quenn di Empat Desa Kabupaten Bogor. Skripsi. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sakinah, D. 2005. Kajian Suplementasi Probiotik Bermineral terhadap Produksi VFA, NH₃, dan Kecernaan Zat Makanan pada Domba. Skripsi. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sariri, A. K dan E. A. Yakin. 2019. Fermentasi dengan menggunakan berbagai jenis mikrobia untuk menurunkan kandungan saponin daun trembesi (*Samanea saman*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 3(2): 122-128.
- Setiyaningsih, K. D., M. Christiyanto, dan Sutarno. 2012. Kecernaan bahan kering dan bahan organik secara *in vitro* hijauan *Desmodium cinereum* pada berbagai dosis pupuk organik cair dan jarak tanam. *Jurnal Animal Agriculture*, 1(2): 51– 63.
- Soedarya. 2009. Agribisnis Nanas. CV. Pustaka grafika. Bandung.
- Steel R. G. D dan J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Suliantari dan W. P. Rahayu. 1990. Teknologi Fermentasi Biji-bijian dan Umbi-umbian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sulistyaningrum, L. S. 2008. Optimasi Fermentasi. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Susana. 2011. Ekstraksi selulosa limbah mahkota nanas. *Jurnal Vokasi*, 7(1): 87-94.
- Sutardi, T. 1980. Landasan Ilmu Nutrisi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for in the *in vitro* digestion of forage crops. *Jurnal Grass and Forage Science*, 18(2): 104-111.
- Tillman, A. D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo, dan S. Lebdoesoekojo. 1991. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tillman, A. D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo, dan S. Lebdoesoekojo. 1998. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wahyuni I. M. D., A. Muktiani, dan M. Christianto. 2014. Penentuan dosis tanin dan saponin untuk defaunasi dan peningkatan fermentabilitas pakan. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 3(3): 133-140.
- Wee, Y. C. dan M. L. C. Thongtham. 1997. *Ananas comosus (L) Merr.* dalam E.W. M. Verheij dan R. E. Coronell (Eds.). Proses sumber daya nabati Asia Tenggara buah-buahan yang dapat dimakan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Widyobroto B. P., S. P. S. Budhi, dan A. Agus. 2007. Pengaruh aras *undegraded protein* dan energi terhadap kinetik fermentasi rumen dan sintesis protein mikroba pada sapi. *Jurnal of the Indonesia Tropical Animal Agriculture*, 32(3): 194-200.
- Wina, E. 2005. Teknologi pemanfaatan mikroorganisme dalam pakan untuk meningkatkan produktivitas ternak ruminansia di Indonesia. *Wartazoa*, 15(4) : 173-186.