

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA SELULOLITIK SEBAGAI BIODEGRADATOR SERAT KASAR DALAM BAHAN PAKAN DARI LIMBAH PERTANIAN

YULI ANDRIANI<sup>1</sup>  
SUKAYA SASTRAWIBAWA<sup>1</sup>  
RATU SAFITRI<sup>2</sup>  
ABUN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad, <sup>2</sup> Fak. MIPA Unpad, <sup>3</sup> Fak. Peternakan Unpad  
email korespondensi: yuliyosep@yahoo.com

### Abstrak

Upaya peningkatan kualitas gizi bahan pakan, terutama yang berkaitan dengan serat kasar yang tinggi dan terdapatnya zat antinutrisi seperti asam sianida (HCN) dalam kulit singkong dapat dilakukan dengan melakukan proses degradasi menggunakan agen biologis (biodegradasi). Agen biologis yang mampu bersifat selulolitik dan sekaligus mampu meningkatkan kualitas nilai gizi bahan pakan, salah satunya adalah mikroorganisme dalam cairan rumen sapi. Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA). Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu: 1) Tahap isolasi dan pemilihan bakteri yang memiliki indeks selulolitik terbaik dan 2) Tahap pengujian kemampuan degradasi pada kulit umbi singkong. Penelitian tahap 1 dilakukan menggunakan metode pengenceran berseri dan cawan tuang, selanjutnya data dianalisis secara deskriptif, sedangkan tahap 2 dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola Faktorial dengan 3 (tiga) perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak tiga kali. Analisis data dilakukan dengan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan bila terjadi pengaruh perlakuan. Parameter yang diamati pada tahap 1 adalah indeks selulolitik terbesar pada isolat bakteri, sementara pada tahap 2 adalah kandungan serat kasar, pada produk biodegradasi menggunakan bakteri. Hasil penelitian tahap 1 diperoleh 13 isolat bakteri selulolitik. Bakteri cairan rumen sapi aerob yang memiliki kemampuan selulolitik tertinggi adalah *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*. Berdasarkan uji iodium didapatkan dua kandidat yang memiliki kemampuan selulolitik terbesar, yaitu CM2 dan CM5, dengan indeks selulolitik masing-masing 3 dan 3,5. Hasil penelitian tahap 2 menunjukkan terjadi penurunan serat kasar setelah proses fermentasi. Perlakuan *B. megaterium* dosis 1% menghasilkan penurunan kandungan serat kasar kulit umbi singkong tertinggi yaitu sebesar 30,14%, dimana nilai kandungan serat kasar pada produknya adalah sebesar 9,11%.

Kata Kunci : Kulit Umbi Singkong, fermentasi, bakteri selulolitik, kualitas gizi, serat kasar

### Abstract

*Cassava tuber skin is a waste that can pollute the environment if it is not handled properly. One of potential utilization of this waste is its use as inexpensive source of alternative fish feed ingredients for the reasons that cassava tuber skin is a cheap waste, easily available and contains starch as a carbohydrate source. Efforts to improve the quality of the nutritional value of feed ingredients, especially those associated with high natural fibre content and the presence of anti-nutritional substances such as cyanide acid (HCN) in cassava skin can be achieved by performing degradation process using biological agents (biodegradation). Biological agents with cellulolytic ability and simultaneously are able to increase the quality of the nutritional value of the feed ingredients one of which are microorganisms of cow rumen fluid. Research has been conducted in the Laboratory of Microbiology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Universitas Padjadjaran. The study trial consisted the Isolation, selection and identification of cellulolytic microbes (bacteria and fungi) of cow rumen fluid origin, The study was carried out with experimental methods in the laboratory. The trial was conducted using serial dilution and pour plate method, and then the data were analyzed descriptively. The study found 13 isolates of aerobic microbes of cow rumen fluid. The highest cellulolytic ability were *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Penicillium nalviogense*, dan *Aspergillus tamarii*, the cellulolytic indexes were 3 and 3,5. The analysis of crude fiber showed *Bacillus megaterium* with dosage 1% was effective to reduce the crude fiber of cassava peel, with percentage of crude fiber decreased is 30,14%.*

Keywords : *cassava tuber skin, fermentation, cellulotic bacteria, nutrition quality content, herbivore fishes, crude fiber.*

### Pendahuluan

Pakan merupakan salah satu komponen yang sangat menentukan keberhasilan dalam budidaya ikan. Kontribusi biaya pakan dapat mencapai hingga 60% dari total biaya produksi pada kegiatan budidaya intensif. Selama ini kecenderungan dari petani ikan adalah menggunakan pakan komersil yang dijual di pasaran karena bersifat lebih praktis dan efisien. Namun seiring dengan perubahan ekonomi global, terjadi beberapa kondisi yang mengakibatkan harga pakan komersil menjadi sangat mahal dan tidak terjangkau oleh petani ikan yang berskala kecil.

Limbah pertanian merupakan salah satu sumber pakan alternatif yang jumlahnya melimpah di Indonesia, sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan menjadi sumber pakan yang ekonomis untuk mendukung kegiatan budidaya ikan, terutama jenis ikan herbivore seperti gurame, tawes, *grass carp*, dan lain-lain. Namun kendala yang dihadapi dalam penggunaan limbah pertanian sebagai pakan ikan

adalah terdapatnya serat kasar yang tinggi dalam limbah pertanian, yang akan menurunkan nilai pencernaan dan pertumbuhan ikan karena keterbatasan ikan memanfaatkan karbohidrat dan mencerna serat kasar yang tinggi. Menurut NRC (1983), ikan hanya mampu mentolerir serat kasar dalam pakannya tidak lebih dari 10%. Keterbatasan kemampuan ikan mencerna serat kasar dalam pakan disebabkan jumlah enzim pencernaan yang diproduksi oleh ikan hanya bersumber dari saluran pencernaan dan dari mikroflora yang terdapat dalam usus yang jumlahnya terbatas. Sumbangan enzim pencernaan protease,  $\alpha$ -amilase, dan lipase mikrobial yang berasal dari mikroflora yang terdapat dalam saluran pencernaan ikan gurame pada fase karnivora, lebih rendah dibandingkan dengan sumbangan enzim pencernaan protease,  $\alpha$ -amilase, dan lipase mikrobial yang berasal dari mikroflora yang terdapat dalam saluran pencernaan ikan bandeng. Pada ikan bandeng, sumbangan enzim pencernaan

protease,  $\alpha$ -amilase, dan lipase mikrobial secara berturut-turut adalah 36,12; 41,33; dan 22,51% (Aslamyah, 2006).

Perbaikan kualitas limbah pertanian sebagai sumber pakan untuk ikan dapat dilakukan dengan beberapa pendekatan. Beberapa teknologi dapat diterapkan untuk tujuan ini, yaitu dengan perlakuan biologis dengan cara memanfaatkan mikroorganisme atau enzim (Suharto, 1992). Pemanfaatan mikroorganisme dalam hal ini sebagai proses *pre-digestion* terhadap serat kasar dalam bentuk selulosa, hemiselulosa dan lignin sehingga pada saat masuk ke dalam tubuh ikan sudah tersedia dalam bentuk yang lebih mudah dicerna, misalnya dalam bentuk poli atau oligosakarida.

Sumber alami tersebut misalnya cairan rumen sapi yang berasal dari limbah Rumah Potong Hewan (RPH). Isi rumen yang merupakan limbah rumah potong hewan yang berpotensi sebagai *feed additive*. Jovanovic dan Cuperlovic (1977) menyatakan mikrobia rumen dapat meningkatkan nilai gizi bahan makanan karena adanya protein mikrobia sehingga akan meningkatkan daya cerna. Selain itu rumen diakui sebagai sumber enzim pendegradasi polisakarida. Polisakarida dihidrolisis di rumen disebabkan pengaruh sinergis dan interaksi dari kompleks mikroorganisme, terutama selulase dan xilanase (Trinci et al., 1994). Di dalam rumen, organisme akan memfermentasi karbohidrat yang spesifik dibutuhkan enzim yang digunakan untuk mendegradasi substrat sebagai sumber energy. Church (1979) menyatakan bahwa cairan rumen mengandung enzim amilase, galaktosidase, hemiselulase, selulase dan xilanase yang aktif pada xilan dan arabinosa.

Sebagai langkah awal pemanfaatan cairan rumen sapi sebagai biodegradator serat kasar dalam limbah pertanian adalah dilakukannya identifikasi terhadap potensi mikroorganisme selulolitik yang terkandung dalam cairan rumen sapi, yang pada tahap penelitian yang selanjutnya dapat dimanfaatkan dalam proses *pre-digestion* limbah pertanian secara *in-vivo*, dengan tujuan menurunkan serat kasar dalam bahan pakan ikan berbasis limbah pertanian.

## Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran Jatinangor-Sumedang, dari bulan April-Agustus 2010.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, ose, pembakar spitus, Bunsen, mikropipet 5-50 l, 20-200 l dan 200-1000 l, pipet volume 1 ml, 5 ml, 10 ml, pipet tetes, spatula, pH meter Mettler Delat 350, penangas air, hot plate, pippetier ball, alat pengaduk, vortex, magnetic stirrer, neraca analitik, neraca ohaus, laminar air flow, spektrofotometer UV-160A SHIMADZU, kuvet, tabung sentrifugasi, oven, shaker, shaker-waterbath, alat sentrifugasi, incubator, autoklaf, mikroskop, lemari pendingin, lemari fermentor, pengukur waktu, kertas timbang, kertas saring, kapas, tissue, kain kassa, para film,

aluminium foil, botol semprot, rak tabung reaksi dan penangas es.

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah cairan rumen sapi yang berasal dari RPH Ciwastra Bandung, akuades, larutan NaCl 0,9%, garam NaCl, NB (nutrient broth), NA (nutrient agar), PDB (potato dextrose broth), PDA (Potatos Dextrose Agar), alcohol 75%, HCL dan NaOH 0,1N, HCl 10N, soluble starch, dari MERCK, es batu, indikator merah fenol, formol-gentiana violet Raebiger ,zat warna karbol gentian violet, pemantek lugol, alcohol 96%, air fuchsin, karbol fuchsin, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, biru metilen, alcohol , minyak imersi, xilol, spirtus.

Metode penelitian yang digunakan pada proses isolasi dan identifikasi mikroorganisme selulolitik asal cairan rumen sapi adalah metode deskriptif. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah isolat mikroorganisme yang berasal dari rumen sapi dan 2 kandidat yang memiliki kemampuan selulolitik terbesar berdasarkan zona bening yang dihasilkan. Metode eksperimental digunakan untuk pengujian kemampuan degradasi bakteri selulolitik terpilih. Rancangan percobaan akan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3 x 3 dengan 3 kali ulangan. Faktor perlakuan ada 2, yaitu:

- Faktor I adalah dosis inokulum (A) dengan taraf:  
a<sub>1</sub>: 1% a<sub>2</sub>: 2,5% a<sub>3</sub>: 5%
- Faktor II adalah jenis inokulum (B) dengan taraf:  
b<sub>1</sub>: B. megaterium b<sub>2</sub>: B. mycoides  
b<sub>3</sub>: B. megaterium dan B. mycoides

Model yang digunakan dalam penelitian ini adalah model linier dengan rumus:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

dimana:

- Y<sub>ijk</sub> = nilai pengamatan pada suatu percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij (taraf ke-I dari faktor I (dosis inokulum), taraf ke-j dari faktor II (jenis inokulum))
- $\mu$  = nilai tengah populasi (rata-rata)
- A<sub>i</sub> = pengaruh aditif taraf ke-I dari faktor I
- B<sub>j</sub> = pengaruh aditif taraf ke-j dari faktor II
- AB<sub>ij</sub> = pengaruh interaksi taraf ke-i faktor I dan taraf ke-j faktor II
- $\epsilon_{ijk}$  = pengaruh galat dari satuan percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan (ij)

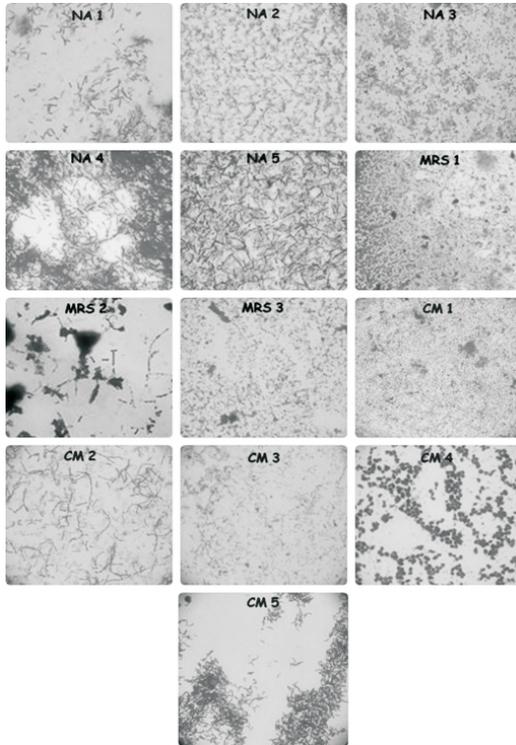
Selanjutnya bila dari uji F tersebut terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan yang diberikan, maka dilakukan uji beda rata-rata dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Parameter yang diukur pada penelitian ini, yaitu kandungan serat kasar pada kulit umbi singkong setelah fermentasi.

## Hasil dan Pembahasan

### A. Hasil Isolasi Bakteri Asal Cairan Rumen Sapi

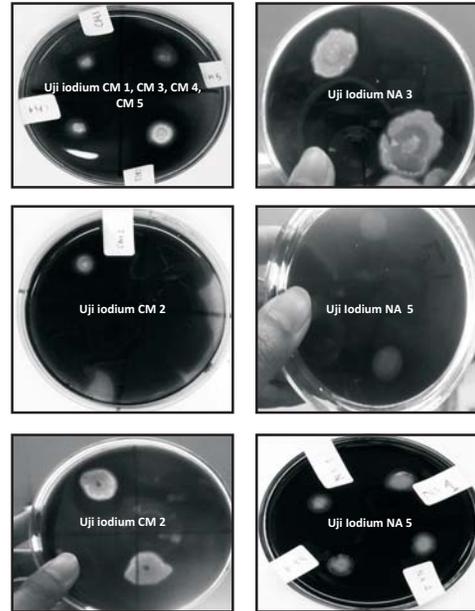
Berdasarkan hasil isolasi yang dilakukan pada bakteri cairan rumen sapi, terdapat bakteri selulolitik yang terisolasi sebanyak 13 isolat. Hasil selengkapnya disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1. Morfologi Isolat Bakteri Selulolitik yang diisolasi dari Cairan Rumen Sapi



Indeks selulolitik tertinggi didapatkan pada bakteri CM 5, di mana cara pengukuran dilakukan dengan membagi diameter zona bening dengan diameter koloni. Indeks ini menunjukkan kemampuan isolat tersebut dalam mendegradasi selulosa. Gambar zona bening dari tiap isolat disajikan dalam Gambar 2.

Gambar 2. Zona bening tiap isolat pada Uji Iodium



B. Hasil Uji Biokimia

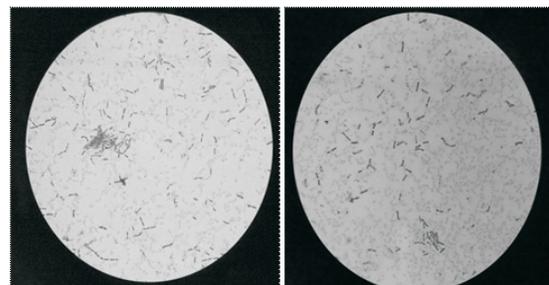
Hasil uji, seperti uji gula-gula, uji IMViC dan uji biokimia. Data hasil uji disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Gula-gula, IMViC, TSIA, Urea dan Semi Solid

No	Isolat Uji	NA	NA	NA	NA	CM	CM	CM	CM	CM	MRS	MRS	MRS	Ket
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	
1	Gula-gula													
	Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+o= orange
	Laktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Mannit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Maltosa	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
2	sukrosa	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
	Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	VP	+	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	
	MR	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	SC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	TSIA	-	+	+g	+	-	+	+	+	-	+	-		
	Urea	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-		

Isolat bakteri yang diisolasi dari cairan rumen sapi adalah sebanyak 13 isolat. Dari isolat tersebut diambil dua isolat terbaik (kandidat) berdasarkan besarnya indeks selulolitik yang dihasilkan. Berdasarkan uji iodium, dua kandidat yang memiliki kemampuan selulolitik terbesar adalah isolat bakteri dengan kode CM 2 dan CM 5. (Gambar 3).

Gambar 3. Isolat CM2 (kiri) dan CM5 (kanan) perbesaran 1000 X



C. Uji Iodium

Hasil uji iodium dari mikroba yang terisolasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Indeks Selulolitik Isolat Mikroba dari Cairan Rumen Sapi

No.	Kode Preparat	Diameter Zona Bening	Diameter Koloni	Indeks Selulolitik
1	CM 1	0,8	0,4	2
2	CM 2	1,2	0,4	3
3	CM 3	1,6	0,6	2,67
4	CM 4	0,9	0,6	1,5
5	CM 5	1,4	0,4	3,5
6	NA 1	1,2	0,7	1,72
7	NA 2	1,7	1,3	1,31
8	NA 3	2,4	2,2	1,09
9	NA 4	1,2	0,8	1,5
10	NA 5	1,3	1,1	1,18
11	MRS 1	0,4	0,4	1
12	MRS 2	0,6	0,6	1
13	MRS 3	0,8	0,3	2,67

Bakteri CM 2 dan CM 5 diduga dari genus Bacillus karena sifatnya, yaitu Gram positif, berspora, berbentuk batang, dll (Tabel 3). Penampakan CM 2 pada preparat yaitu batang panjang berspora, dan CM 5 dengan batang panjang, berantai, dan berspora.

Tabel 3. Karakteristik Isolat Terpilih

No	Jenis Medium Isolasi	Label	Bentuk	Gram	Spora	Indeks Selulolitik	(Diduga) Genus Bakteri
1	Cellulosa Medium	CM 2	Batang	Positif	berspora	3	Bacillus
2	Cellulosa Medium	CM 5	Batang	Positif	berspora	3,5	Bacillus

Keterangan : Hasil seleksi, bakteri selulolitik diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Indeks selulolitik tertinggi didapatkan pada bakteri CM 5 (Gambar 4), di mana cara pengukuran dilakukan dengan membagi diameter zona bening dengan diameter koloni.

Gambar 4. Hasil Uji Iodium Bakteri CM 2 dan CM 5



Secara alami cairan rumen sapi memang kaya akan mikroorganisme, salah satunya bakteri, yang pada gilirannya akan menghasilkan enzim yang akan membantu mencerna makanan. Suhardini (2008) menyatakan bahwa dalam cairan rumen terdapat mikroba aerob dan anaerob yang secara alami terdapat dalam rumen, salah satunya bakteri pencerna selulosa, seperti *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavepaciens*, *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibriosolvens* dan bakteri pencerna hemiselulosa, seperti *Butyrivibrio fibriosolvens*, *Bacteriodes ruminicola* dan *Ruminococcus sp.*

Namun tinjauan lebih jauh ke arah species, belum ditemukan laporan yang menyatakan terisolasinya species *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Aspergillus tamarii* dan *Penicillium nalgiovense* dari cairan rumen sapi. Jenis mikroorganisme tersebut umumnya ditemukan pada substrat tanah, jerami padi, daun jagung dan tanaman (Sutariati, 2006; Madjid, 2009)

Mikroorganisme dalam rumen sapi, jenis dan jumlahnya sangat dipengaruhi oleh pakan yang dimakannya (Ogimoto, 1981; Hungate, 1973). Proses pencarian pakan dan jenis pakan yang diberikan pada sapi memungkinkan masuknya mikroorganisme lain ke dalam saluran pencernaan bersama dengan pakan hijauan yang dimakan. Dugaan ini diperkuat dengan pernyataan Brewer dan Taylor (1969) dalam Ogimoto (1981), bahwa keragaman jenis mikroorganisme rumen sangat dominan dipengaruhi oleh mikroorganisme yang terbawa melalui pakan sapi. Lebih lanjut dinyatakan bahwa mikroorganisme ikutan dari pakan, terutama jenis jamur, mampu bertahan dalam kondisi rumen, dan beberapa jenis ada yang bersifat fungsional dalam pencernaan sapi.

Keberadaan bakteri selulase, secara kuantitas dan kualitas, tercermin dari hasil penelitian ini, dimana jumlah isolate bakteri selulolitik yang terisolasi cukup banyak (13 isolat) dan memiliki kemampuan selulolitik yang tinggi. Kemampuan selulolitik tersebut tercermin dari indeks selulolitik yang nilainya berkisar 1-3,5.

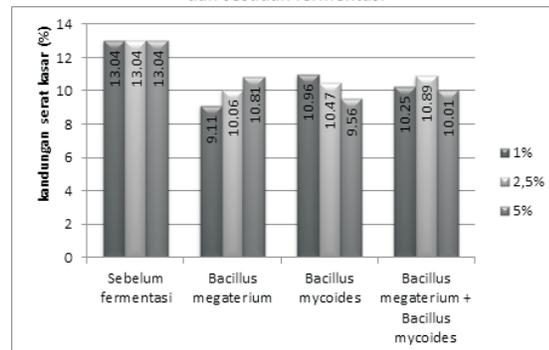
Identifikasi sampai tingkat species dilakukan menggunakan API Test CHB 50. Metode ini digunakan khusus untuk mengidentifikasi bakteri dari *Genus Bacillus*. API Test terdiri dari 5 strip yang masing-masing

terdapat 10 well yang telah berisi berbagai reagen biokimia untuk identifikasi, seperti misal gula-gula. Hasil yang didapatkan setelah 48 jam uji API Test teridentifikasi bahwa CM 2 adalah *Bacillus megaterium* dan CM 5 adalah *Bacillus mycoides*. Dua kandidat isolat bakteri terbaik hasil isolasi dari cairan rumen sapi merupakan isolat yang potensial untuk digunakan lebih lanjut. Salah satunya dapat digunakan sebagai degradator serat kasar dalam bahan pakan yang berserat kasar tinggi, seperti limbah-limbah pertanian. Sekresi enzim dari bakteri tersebut pada gilirannya mampu menguraikan ikatan-ikatan kompleks menjadi lebih sederhana, melalui proses *pre-digestion* seperti proses fermentasi.

Kemampuan degradasi *B. megaterium* dan *B. mycoides* dapat terukur lebih mendalam pada saat diaplikasikan pada fermentasi kulit umbi singkong. Setelah difermentasi selama 7 hari menggunakan isolat bakteri tersebut, terjadi penurunan serat kasar pada kulit umbi singkong dibandingkan sebelum fermentasi (Gambar 5).

Penurunan serat kasar diakibatkan oleh adanya aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh kedua bakteri untuk mendegradasi selulosa menjadi gula sederhana (glukosa). Hasil penurunan kandungan serat kasar dari fermentasi ini berada pada kisaran 9,11% - 10,89%. Nilai serat kasar terendah, yaitu sebesar 9,11% oleh *B. megaterium* dosis 1%, dengan persentase penurunan serat kasar sebesar 30,14% dan nilai serat kasar tertinggi, yaitu sebesar 10,89% oleh *B. mycoides* dosis 2,5% dengan persentase penurunan serat kasar sebesar 15,95% (Tabel 4).

Gambar 5. Kandungan serat kasar kulit umbi singkong sebelum dan sesudah fermentasi



Tabel 4. Persentase Penurunan Kandungan Serat Kasar Kulit Umbi Singkong

Jenis Bakteri	Kandungan Serat Kasar (%)
<i>B. megaterium</i> (1%)	30,14
<i>B. megaterium</i> (2,5%)	22,85
<i>B. megaterium</i> (5%)	17,10
<i>B. mycoides</i> (1%)	15,95
<i>B. mycoides</i> (2,5%)	19,71
<i>B. mycoides</i> (5%)	26,69
<i>B. megaterium</i> + <i>B. mycoides</i> (1%)	21,39
<i>B. megaterium</i> + <i>B. mycoides</i> (2,5%)	16,49
<i>B. megaterium</i> + <i>B. mycoides</i> (5%)	23,24



- Jovanovic, M. Cuperlvic M. 1977. *Nutritive value of rumen content for oogatric*. Anim Feed Sci and Tech 2:351-360.
- Liestianty, D. 2001. *Penapisan dan Isolasi Bacillus Penghasil Amilase Dari Limbah Sagu (Metroxylon sagu Rottb)*. Ekologi Ternate 317-327 (2011)
- Madjid, A. 2009. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Bahan Ajar Online. Fakultas Pertanian Unsri & Program Studi Ilmu Tanaman, Program Magister (S2), Program Pascasarjana, Universitas Sriwijaya. Palembang. Propinsi Sumatera Selatan. Indonesia.
- NRC, 1983. *Nutrient Requirement of Warmwater Fishes*. National Academy Science. Washington D.C. 102 p.
- Ogimoto, K. and S. Imai. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Scientific Societies Press. Tokyo.
- Sintha. 1974. *Kondisi Optimum bagi Produk Amilasa oleh Bacillus mycoides dan Aspergillus oryzae*. Skripsi. Institut Teknologi Bandung.
- Suhardini, P., W. Paramita dan D. Kusumawati. 2008. *Identifikasi Jamur Selulolitik Aerob dari Limbah Cairan Rumen Sapi di Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya*. Jurnal Universitas Airlangga Vol. I. No.1.
- Trinci APJ, Davies, D.R., Gull, K., Lawrence, M.L., Nielsen, B.B., Rickers, A. Theodorou, M.K. 1994. *Anaerobic fungi in herbivorous animals*. Myco Res 98 : 129-152.