

**FERMENTASI LIMBAH PADAT PENGOLAHAN BIOETANOL SINGKONG**

**(*Manihot esculenta*) OLEH *Aspergillus niger* TERHADAP PERUBAHAN KANDUNGAN KUALITAS NUTRISI**

**Amalia Khoir, Yani Suryani, Sumiyati Sa'adah**

**ABSTRAK**

Pakan merupakan biaya produksi terbesar, seoptimal mungkin harus ada energi alternative yang dapat menggantikan pakan, salah satunya yaitu dengan memanfaatkan limbah singkong yang diproduksi menjadi bioetanol dengan proses fermentasi sehingga pakan bernilai gizi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas nutrisi limbah bioetanol singkong melalui fermentasi dengan menggunakan jamur *Aspergillus niger* yang mempunyai kemampuan untuk fermentasi. Limbah bioetanol masih mengandung racun asam sianida yang merugikan ternak dan berdasarkan hasil analisis limbah bioetanol bahwa terdapat kandungan asam sianida (HCN) 15,92 mg/kg, protein 2,74%, serat kasar 2,65%, sehingga kualitas zat makanannya masih rendah, maka sebelum diberikan pada ternak perlu dilakukan proses pengolahan melalui fermentasi dengan menggunakan jamur *Aspergillus niger*. Metode yang dilakukan adalah metode eksperimen limbah bioetanol singkong selama 0, 4, dan 9 hari dengan 4 konsentrasi mikroorganisme yaitu 2, 3, dan 4%. Penelitian sebelumnya Parameter yang diamati adalah jumlah mikroba, jumlah kandungan protein kasar dan kandungan serat kasar limbah bioetanol produk fermentasi melalui analisis proksimat. penelitian menunjukkan bahwa protein tertinggi sebesar 4,507%, penurunan kadar serat terendah mencapai 1,293%, dan penurunan HCN sebesar 0,000 mg/kg.

Kata kunci : Fermentasi, Jamur *Aspergillus niger*, Limbah bioetanol, Pakan Ternak.

**PENDAHULUAN**

Di Indonesia, singkong memiliki arti ekonomi terpenting dibandingkan dengan jenis umbi-umbian yang lain. Selain itu kandungan pati dalam singkong yang tinggi sekitar 25-30% sangat cocok untuk pembuatan energi alternatif. Dengan demikian, singkong adalah

jenis umbi-umbian daerah tropis yang merupakan sumber energi paling murah sedunia. Potensi singkong di Indonesia cukup besar maka dipilihlah singkong sebagai bahan baku utama (Rikana dan Adam, 2005).

Produksi bioetanol singkong menyisakan limbah padat dan limbah cair, limbah padat

bioetanol diduga masih mengandung racun asam sianida yang merugikan ternak, berdasarkan hasil analisis limbah bioetanol yang diteliti di Laboratorium Teknologi Pangan Unpas (2012) bahwa terdapat kandungan asam sianida (HCN) 15,92 mg/kg, dan berdasarkan hasil analisis yang telah diteliti di Laboratorium Peternakan Universitas Padjajaran (2012), kandungan protein sebesar 2,47%, serat kasar 2,65%, karbohidrat 83,94%, dan kadar air sebesar 65,16% sehingga kualitas zat makanannya masih rendah, maka sebelum diberikan pada ternak perlu dilakukan proses pengolahan melalui fermentasi. Keberhasilan suatu proses fermentasi agar memperoleh produk yang lebih baik dan berkualitas dibandingkan dengan bahan asalnya, berkaitan erat dengan cara melakukan pengolahan. Dalam biokonversi melalui proses fermentasi, baik jenis kapang, suhu fermentor maupun lama waktu proses fermentasi sangat berpengaruh terhadap produk akhir (Hardjo, 1989).

Salah satu mikroba yang dapat melakukan fermentasi adalah *Aspergillus niger*.

*Aspergillus niger* merupakan mikroba jenis kapang yang dapat tumbuh cepat dan tidak membahayakan karena tidak menghasilkan mikotoksin. Selain itu penggunaannya mudah karena banyak digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan beberapa enzim seperti amilase, pektinase, amilo-glukosidase dan selulase. *Aspergillus niger* memiliki daya amilolitik dan proteolitik yang cukup baik, serta dapat menghasilkan enzim fitase ekstraselluler, hasil fermentasinya dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (PST) dan media biakannya sebagai sumber energi potensial. (Conneely, 1992).

## **METODE PENELITIAN**

### **Metode Skrining (Uji Aktivitas Selulase dan Amilase)**

#### **1. Penyiapan medium**

*Potato Dextro Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 9,75 gr dan CMC sebanyak 1 % yaitu 2,5 gr dengan timbangan statis, masukan PDA dan CMC tersebut pada erlenmeyer dan

beri akuades 250 ml, selanjutnya panaskan dengan stirer, selanjutnya dinginkan hingga suhu medium mencapai 55°C dan pH 5,5, setelah itu tuangkan pada cawan petri sebanyak 20 ml tunggu hingga medium memadat (Cappucino and Shjerman, 1987).

## 2. Metode titik

*Aspergillus niger* ambil secukupnya dengan menggunakan jarum ose kemudian simpan dengan cara menitikkan mikroba pada cawan petri yang telah berisi medium, kemudian hitung sebagai hari ke nol penanaman mikroba. Hari berikutnya lakukan identifikasi ukuran koloni dan ciri ciri morfologi mikroba. Setelah mikroba mencapai 1 cm berikan pewarna congo red dan Iodine yaitu dengan tahap pembuatannya timbang NaCl 5,75 gr masukan pada beker glass tambahkan 100 ml akuades kemudian aduk rata. Selanjutnya timbang congo red 0,1 gr masukan ke beker glass tambahkan 100 ml alkohol 95% aduk campurkan, kemudian larutan congo red tersebut teteskan pada kultur tadi hingga merata dan inkubasi selama 30

menit, setelah itu bilas dengan NaCl menggunakan pipet tetes, kemudian inkubasi dan amati pertambahan koloni dan zona bening pada hari berikutnya sampai mikroba tidak mengalami pertambahan ukuran lagi (statis), amati pula aktivitas selulase nya (Cappucino and Shjerman, 1987).

## Prosedur Fermentasi Limbah Padat Pengolahan Bioetanol

### 1. Pembuatan Inokulum Kapang *Aspergillus niger*

Limbah singkong sebanyak 2,1 kg diperas dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 3 hari, kemudian digiling dengan blender dan dimesh untuk diuji awal HCN. Beras sebanyak 900 g + 100 g limbah bioetanol diaduk dengan air sebanyak 1 liter, kemudian disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Substrat yang telah disterilkan kemudian didinginkan (suhu 30-35°C), dan dimasukkan ke dalam kantong plastik. Setiap 100 gr substrat diinokulasikan dengan 1 ml suspensi. media dalam kantong

plastik digoyang goyangkan supaya biakan tercampur merata, dan dilubangi dengan menggunakan jarum kemudian simpan pada suhu 30-350C (Gandjar, 1999; Frazier, dan Westhoft, 1981) selama 72 jam dalam inkubator (Shang Shyng, 1987).

Setelah substrat dipenuhi oleh kapang, kemudian substrat dikeringkan dengan menggunakan oven lampu pada suhu 45-50 0C dan selanjutnya digiling sampai halus, dan digunakan sebagai inokulum. Kemudian dilakukan uji aktivitas dari inokulum dengan menghitung *colony forming unit* (CFU) Per gram inokulum dengan menggunakan *total plate count* (TPC).

## **2. Fermentasi Limbah Bioetanol dengan *Aspergillus niger***

- a. Sebanyak 400 gram limbah bioetanol dimasukkan ke dalam kantung plastik tahan panas dan ditambahkan air 400 ml, kemudian disterilisasi dengan cara dikukus selama 1 jam.
- b. Setelah limbah bioetanol dingin diinokulasikan dengan inokulum cair

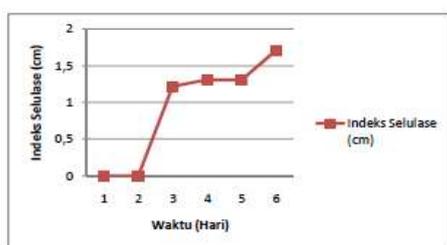
yang telah dibuat sebelumnya sebanyak 2%, 3%, dan 4% bahan kering limbah bioetanol.

- c. Selanjutnya bahan diaduk sampai homogen, setelah itu kantung plastik diberi lubang lubang kecil untuk mendapatkan kondisi aerob.
- d. Masing masing kantung plastik diinkubasi pada suhu 30o C, selama 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6,7 dan 8 hari, kemudian dihitung jumlah mikroba.
- e. Jika waktu fermentasi telah selesai, dilakukan analisis proksimat hari ke 0,4, dan 8 yang meliputi perhitungan kadar protein kasar, serat kasar, dan kadar HCN.
- f. Masing masing perlakuan fermentasi limbah bioetanol singkong di analisis di laboratorium untuk mengetahui komposisi nutrisinya dengan analisis proksimat (AOAC, 1990). Lakukan uji HCN, dan uji proksimat yaitu menganalisis kadar protein, dan kadar serat kasar.

## ANALISIS DATA

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental pola faktorial (3 x 3). Faktor yang diamati adalah dosis d1= 2%, d2=3%, dan d3=4% dan lamanya fermentasi yaitu 0, 4, dan 8 hari. Parameter yang diamati adalah jumlah mikroba, kandungan protein kasar,

### A. Aktivitas Enzim Selulase



Grafik 4.1 Jumlah Indeks Selulase oleh *Aspergillus niger*

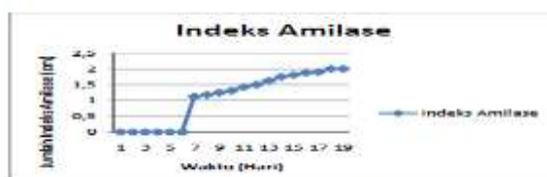
Pada grafik 4.1 di atas dapat dilihat bahwa indeks selulase masih rendah sampai hari kedua, hal ini karena penambahan diameter koloni pada hari pertama sebesar 0,4 cm tidak diikuti dengan penambahan zona bening. Pada masa ini dinamakan sebagai fase adaptasi. Kemudian pada hari ketiga indeks

kandungan serat kasar, kadar proksimat dengan analisis hari ke-0, ke-4, dan hari ke-8. Data yang di peroleh dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan (Ronald, 1995).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

selulase meningkat yang terkait dengan terbentuknya zona bening sebanyak 2,8 cm dan masuk kedalam fase log. Pada hari keempat dan kelima nilai indeks selulase relatif tidak bertambah atau statis, karena diameter koloni dan zona bening juga relatif tidak bertambah, yaitu diameter koloni 2,3 cm dan diameter zona bening sebesar 3 cm. Lalu pada hari keenam, indeks selulase meningkat lagi akibat diameter koloni meningkat sebesar 2,85 cm dan diameter zona bening bertambah hampir 1,5 kali yang mencapai 4,87 cm.

### B. Aktivitas Enzim Amilase

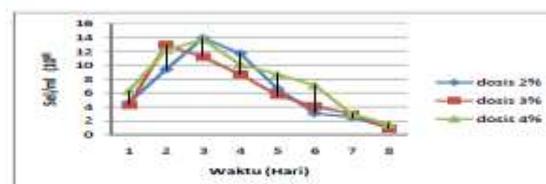


Grafik 4.2. Grafik Indeks Amilase oleh *Aspergillus niger*

Pada grafik 4.2 didapatkan hasil bahwa nilai indeks amilase pada hari ke-1 sampai hari ke-6 belum mengalami pertumbuhan, meskipun koloni *Aspergillus niger* sudah mulai tumbuh pada hari pertama dan terus bertambah sampai hari ke-6. Diduga pada hari hari tersebut *Aspergillus niger* mengalami masa adaptasi terhadap lingkungan, sehingga belum menghasilkan enzim amilase sehingga belum menghasilkan zona bening (fase adaptasi). Fase adaptasi mungkin berjalan lambat karena beberapa sebab, misalnya, kultur dipindahkan dari medium yang kaya nutrien ke medium yang kandungan nutriennya terbatas, mutan yang baru dipindahkan dari fase statis ke

medium baru dengan komposisi sama seperti sebelumnya. Pada hari berikutnya yaitu hari ke-7 sudah menghasilkan zona bening 1,8 cm yang berdampak pada peningkatan nilai indeks amilase dan kondisi ini terus meningkat memasuki fase log sampai sampai hari ke-17. Pada kondisi ini diameter koloni relatif tetap 1,6 cm, akan tetapi *Aspergillus niger* banyak menghasilkan enzim amilase dengan zona bening 3,05 cm, kemudian pada hari ke-18 dan hari ke-19 tidak mengalami peningkatan (statis), tetapi zona bening terus bertambah mencapai 3,2 cm pada hari ke 19 sehingga indeks amilase mencapai 2 cm.

C. Jumlah Mikroba



Grafik 4.3. Pengaruh Dosis dan Lamanya Fermentasi terhadap Jumlah Mikroba pada Limbah Padat Bioetanol Singkong Hasil Fermentasi

Dapat terlihat pada tabel 4.3 dan grafik 4.3, dosis 2%, 3% dan 4% jumlah populasi mikroba *Aspergillus niger* pada hari pertama berjumlah  $4,6 \times 10^8$ ,  $4,3 \times 10^8$ , dan  $6,3 \times 10^8$  sel/ml belum berkembang karena

masih dalam masa adaptasi. Kondisi ini dapat terjadi karena terdapat perubahan media serta lingkungannya dari asal (limbah padat bioetanol) ke media PDA. Jika mikroba dipindahkan ke dalam suatu medium mula-

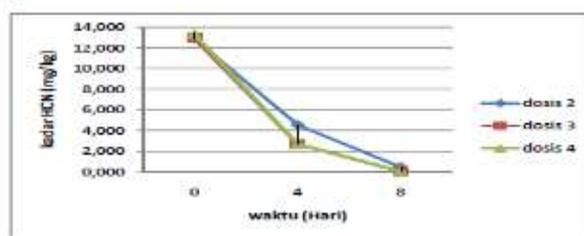
mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan dan disekitarnya (Fardiaz, 1988). Lamanya fase adaptasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu medium dan lingkungan pertumbuhan, jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim. Kedua jenis inokulum jika jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi (Fardiaz, 1988). Setelah masa adaptasi mikroba tumbuh dan masuk ke fase pertumbuhan (fase log) pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti kandungan nutrisi dan kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara (Fardiaz, 1988). Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih banyak dari pada

fase lainnya. Pada fase ini kultur paling sensitive terhadap keadaan lingkungan. Akhir fase log, kecepatan pertumbuhan populasi menurun dikarenakan nutrisi di dalam medium sudah berkurang, adanya hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pada hari kedua mengalami peningkatan sebesar  $9,4 \times 10^8$ ,  $12,9 \times 10^8$ ,  $12,2 \times 10^8$  sel/ml untuk masing-masing dosis 2,3, dan 4%. Namun pada dosis 3%, hari kedua merupakan hari optimum pertumbuhan, sedangkan pada dosis 2, dan 4% pertumbuhan optimum populasi dicapai pada hari ketiga. Perbedaan waktu optimum antara dosis 2,3, dan 4% hal ini dapat disebabkan adanya persaingan mikroba untuk memperoleh nutrisi pada substrat sehingga berpengaruh terhadap kemampuan mikroba untuk mendegradasi substrat. Puncak pertumbuhan populasi disebut fase optimum, Kemudian pada hari ke 4 dan ke-5 untuk semua dosis mengalami penurunan dan pada hari ke-6 dan ke 7 pada dosis 2 dan 3% mengalami fase stationari karena pertumbuhan populasi mikroba tidak

terlalu jauh cenderung statis dan hanya berkisar dalam waktu yang singkat, pada fase ini jumlah populasi masih tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati *Aspergillus niger* dapat menghasilkan lipase dengan ditunjukkan adanya fase stationer dimana pada fase ini lipase sebagai metabolit sekunder dihasilkan.

Kemudian pada hari ke 8 untuk dosis 2,3, dan 4% yaitu sebesar  $1,0 \times 10^8$ ,  $0,9 \times 10^8$ , dan  $1,5 \times 10^8$  sel/ml, disebut fase kematian, pada fase ini sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu, nutrisi di dalam medium sudah habis dan energi cadangan di dalam sel habis. Kecepatan kematian bergantung pada kondisi nutrisi, lingkungan, dan jenis mikroba.

D. Kadar HCN



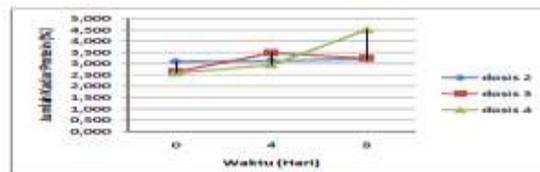
Dapat dilihat dalam grafik 4.4 terlihat bahwa kadar HCN sebelum dan setelah fermentasi oleh *Aspergillus niger*. Sebelum fermentasi kadar HCN sebesar 15,92 mg/kg, setelah fermentasi dengan tiga kali pengulangan mengalami penurunan yang cukup signifikan dari 13,298 - 0,000 mg/kg.

Lamanya waktu fermentasi (hari) berpengaruh signifikan terhadap penurunan kandungan HCN, dapat terlihat bahwa hari ke 0, 4, dan 8 fermentasi mengalami penurunan, kemudian pada hari ke-8 penurunan mencapai

sebesar 0,148 mg/kg disebabkan semakin lamanya waktu fermentasi maka semakin rendah pula kandungan HCN dan semakin tinggi nilai gizi, Untuk pengaruh dosis dan hari terdapat interaksi dan menghasilkan pengaruh penurunan HCN. Hal ini dapat dikatakan bahwa penurunan HCN dipengaruhi oleh lamanya hari, semakin lama fermentasi kandungan HCN semakin menurun. Coursey (1974) menyatakan bahwa HCN mempunyai ikatan yang tidak begitu kuat, mudah menguap dan hilang atau

berkurang dengan jalan pengolahan, seperti pencucian, perendaman, perebusan, pengukusan, dan pemanasan.

### E. Kadar Protein



Grafiik. 4.5 Kadar Protein (%) Limbah Bioetanol Singkong Hasil Fermentasi Berdasarkan Dosis dan Lamanya Fermentasi

Setelah dilakukan fermentasi yang ditunjukkan oleh tabel 4.5 dan grafik yang disajikan pada gambar 4.5., diketahui bahwa kadar protein limbah bioetanol mengalami peningkatan dibandingkan dengan kadar protein limbah bioetanol sebelum difermentasi. Peningkatan kadar protein bervariasi dari 2,47% sebelum fermentasi menjadi sebesar 2,580% - 4,507%. Pada uji jarak berganda duncan, pengaruh fermentasi terhadap kandungan protein cenderung meningkat, berbeda dengan sebelum fermentasi kandungan protein sebesar 2,47% setelah fermentasi mengalami peningkatan kadar protein 4,507%. Pengaruh dosis terhadap peningkatan kadar protein dimana nilai  $P > 0,05$  tidak ada perbedaan yang nyata terhadap peningkatan protein setelah

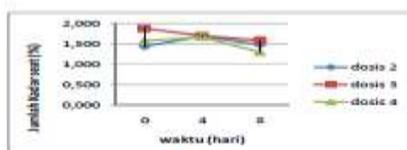
Rata-rata kadar protein hasil fermentasi melalui analisis proksimat disajikan pada grafik kadar protein disajikan pada gambar 4.5, didapatkan hasil sebagai berikut :

difermentasi, walaupun cenderung meningkat hal ini dapat disebabkan oleh keterbatasan kemampuan mikroba dalam mendegradasi protein ataupun kemampuan enzimatik dari mikroba, tetapi untuk lamanya waktu fermentasi nilai  $P < 0,05$  ada perbedaan nyata, hal ini disebabkan semakin lama waktu fermentasi semakin meningkat pula kadar protein, lamanya waktu fermentasi yang terbaik untuk peningkatan protein yaitu pada hari ke-4. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa peningkatan jumlah massa mikroba akan menyebabkan meningkatkan kandungan produk fermentasi, dimana kandungan protein merupakan refleksi dari jumlah massa sel dan dalam proses fermentasi mikroba akan menghasilkan enzim yang akan mendegradasi

senyawa–senyawa kompleks menjadi lebih sederhana, dan mikroba juga akan mensintesis protein yang merupakan proses *protein*

*enrichment* yaitu pengkayaan protein bahan. (Nurhayani, 2000).

F. Kadar Serat



Grafik 4.6 Kadar Serat (%) Limbah Padat Pengolahan Bioetanol Singkong Hasil Fermentasi Berdasarkan Dosis dan Lamanya Fermentasi

Pada grafik 4.6 dapat terlihat bahwa serat kasar mengalami penurunan baik dari dosis dan lamanya waktu fermentasi, sebelum fermentasi serat kasar mencapai 2,65%, setelah fermentasi mengalami penurunan dari 1,877- 1,293% terlihat dosis terbaik dengan penurunan terbaik yaitu dosis 4% dengan penurunan mencapai 1,293% pada hari ke-8. Berdasarkan hasil uji statistik tersebut, terdapat interaksi antara lamanya fermentasi dan dosis terhadap kadar serat kasar, karena nilai  $P < 0,05$  sehingga ada perbedaan nyata baik dosis maupun lamanya fermentasi, terlihat pada uji duncan dosis 2% merupakan dosis yang terbaik yang berpengaruh terhadap penurunan kadar serat kasar hal ini dapat disebabkan pada dosis 2% enzim selulase yang dihasilkan pada miselium kapang terjadi peningkatan yang relatif tinggi, karena

kemampuan mikroba untuk mendegradasi enzim selulase yang cukup tinggi, sedangkan lamanya fermentasi yang terbaik yaitu hari ke-8 sehingga ada pengaruh terhadap penurunan kadar serat kasar hal ini sesuai dengan literatur yaitu tingkat dosis berkaitan dengan besaran populasi mikroba yang menentukan cepat tidaknya perkembangan mikroba dalam menghasilkan enzim untuk merombak substrat menjadi komponen yang lebih sederhana. Maka, semakin banyak populasi mikroba dapat menurunkan serat kasar yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan pendapat Laskin dan Hubert (1973) yang menyatakan bahwa jumlah populasi mikroba sangat menentukan kualitas produk akhir, dimana semakin tinggi populasi *Aspergillus niger* akan menghasilkan besaran enzim selulase yang semakin tinggi pula sehingga

kuantitas serat kasar yang dirombak oleh enzim selulase semakin tinggi. Pada grafik terlihat antara dosis 2 dan 4% pada hari ke-4 mengalami peningkatan kadar serat hal ini disebabkan hifa yang terdapat dalam kapang tersebut masih mempunyai serat yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Wizna *et al.*,

(2005), yang menyatakan yaitu pengolahan secara fermentasi dengan menggunakan kapang terhadap bahan pakan yang mengandung pati dan serat tinggi mempunyai suatu kelemahan dimana hifa dari kapang tersebut merupakan serat kasar sehingga kandungan serat kasar substrat cukup tinggi.

## KESIMPULAN

1. Jumlah indeks selulase oleh *Aspergillus niger* cenderung lebih cepat yaitu sebesar 1,708 cm sedangkan jumlah indeks amilase pada *Aspergillus niger* sebesar 2 cm. *Aspergillus niger* dapat mendegradasi enzim amilase dan selulase dalam jumlah yang cukup besar.
2. Jumlah mikroba dengan perhitungan TPC (*Total Plate Count*) limbah bioetanol singkong yang telah difermentasi kapang *Aspergillus niger* pada dosis 2 % mempunyai fase optimum pada hari ke 3 sebesar  $13,9 \times 10^8$  sel/ml, dosis 3 % mempunyai fase optimum pada hari ke-2 sebesar  $12,9 \times$

$10^8$  sel/ml dan dosis 4 % mempunyai fase optimum pada hari ke-3 sebesar  $13,7 \times 10^8$  sel/ml.

3. Komposisi nutrisi limbah bioetanol singkong yang telah difermentasi oleh *Aspergillus niger* mengalami perubahan dibandingkan sebelum fermentasi. Dari hasil penelitian uji proksimat selama 8 hari mengalami peningkatan kadar protein dari 2,47 % menjadi 4,507 %, terdapat perbedaan nyata lamanya waktu fermentasi terhadap kadar protein, dan kadar serat kasar dari 2,65 % mengalami penurunan terendah mencapai 1,293%.
4. Jumlah kadar HCN limbah bioetanol singkong yang telah difermentasi oleh

*Aspergillus niger* mengalami perubahan dibandingkan sebelum fermentasi. Sebelum fermentasi kadar HCN sebesar 15,92 mg/kg sedangkan setelah fermentasi kadar HCN menurun mencapai 0,000 mg/kg.

#### DAFTAR PUSTAKA

- AOAC.1990. *Official Methods of Analysis Agricultural Chemical; Contaminan; Drugs*. Washington DC: Assosiation of Official Analyticals Chemist, inc.
- Amri, K. 1998. *Bioteknologi Penangkal Bau*. <http://www.indonesia.com/intisari/1998/desember/halhi.htm>. Diakses tanggal 31 Juni 2012.
- Anonimus. 2005. Bahan Alternatif Pakan Dari Hasil Samping Industri Pangan.<http://www.chem-is-try.org/?sect=folus & ext=15>. Conneely, O.M. 1992. *From DNA to Feed Conversion: Using Biotechnology to Invrove Enzyme Yields and Livestock Performance, in Biotechnology in*
- the Feed Industry*. Proceedings of Alltechs Eight Annual Symposium. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, USA.
- Costello, R. and H. Chum. 1998. *Biomass, bioenergy and carbon management*. p. 11–17. In D. Wichert (Ed.). *Bioenergy '98: Expanding Bioenergy Partnerships*. Omni Press, Madison.
- Curran, J. 1989. *Industrial Microbiology*. London, U.K.: Rand Mc Nally and Co.
- Crampton, E.W. and L.E. Harris. 1969. *Applied Animal Nutrition*. Second Edition. H.W. Freeman and Co., San Francisco.
- Conneely, O.M. 1992. *From DNA to Feed Conversion: Using Biotechnology to Invrove Enzyme Yields and Livestock Performance, in Biotechnology in the Feed Industry*. Proceedings of Alltechs Eight Annual Symposium. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, USA.

- Enari TM. 1983. *Microbial Cellulase*. Dalam *Microbial Enzyme and Biotechnology*. Edited W.M. Fogarty. New York : Applied Science Publ.
- Fauzan, A., R. Feryanto. 2009. *Kinetika Degradasi Lignin dalam Pulp Bagasse Melalui Degradasi Hemiselulosa oleh Enzim Xilanase dalam*. Tugas Akhir Teknik Kimia ITS. Surabaya: 22-47
- Fessenden. 1986. *Organic Chemistry*.
- Hardjo, S., N.S. Indrasi, dan T. Bantacut, 1989, *Biokonversi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Laskin, D.L. and A.L Hubert. 1973. *Handbook of Food Technology*. The AVI Publishing Co. Inc., Westport
- Nurhayani H.Muhiddin, Nuryati Juli dan I Nyoman P Aryantha,(2000) "*Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi* "JMS vol 6 no. 1 hal 1 -12 april. Wizna,
- Abbas, H., Rizal, Y., Kompiang, I.P., & Dharma, A. 2005. *Potensi bakteri Bacillus amyloliquefaciens serasah hutan sebagai inokulum fermentasi pakan berserat tinggi*. J. Ilmiah ilmu-ilmu Peternakan, VII(3): 212-220.