



# **Pengaruh Lama Waktu Biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan Penambahan Sumber Karbon Gula Lontar Cair terhadap Kandungan Selulosa, Lignin, Asam Pitat, Kadar Nitrit dan Saponin**

**Cinta Kristin Lie<sup>1</sup>✉, Marthen L. Mullik<sup>2</sup>, Twen O. Dami Dato<sup>3</sup>, Gustaf Oematan<sup>4</sup>**

<sup>(1-4)</sup> Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana

**Corresponding author**

[cintalie@gmail.com](mailto:cintalie@gmail.com)

Article info:

Received 9 May 2024 ; Accepted 15 June 2024; Published 20 June 2024

## **Abstract**

The purpose of this study was to determine the effect of the addition of liquid palm sugar as a carbon source in the *Chromolaena odorata* biofermentation process on cellulose, lignin, phytic acid, nitrite and saponin content. This study used a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 4 replicates. The treatments were: LB0 = 0 days of biofermentation, LB7 = 7 days of biofermentation, LB14 = 14 days of biofermentation, and LB21 = 21 days of biofermentation. The variables observed were cellulose, lignin, phytic acid, nitrite and saponin content. The data obtained were analyzed using Analysis of Variance and Duncan's test. The results showed that the length of biofermentation time significantly decreased cellulose content with a range of (23.52-19.26%), lignin (13.75-8.72%), phytic acid (4.03-2.00%), nitrite content (6.60-4.73ppm), and saponin (7.68-5.84%). It was concluded that the length of *Chromolaena odorata* biofermentation time decreased the content of cellulose, lignin, phytic acid, nitrite content and saponins with varying lengths of biofermentation time, namely the length of biofermentation time of 7 days (LB7) getting a total value of cellulose content (20, 40%), lignin (9.23%), the length of biofermentation time of 14 days get the total value of phytic acid content (2.23%), nitrite (4.86ppm) and the length of biofermentation time of 21 days get the total value of saponin content (5.84%).

**Keywords:** *Phytic acid, Chromolaena odorata, Lignin, Nitrite, Saponin*

## **Abstrak**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan gula lontar cair sebagai sumber karbon dalam proses biofermentasi *Chromolaena odorata* terhadap kandungan selulosa, lignin, asam pitat, kadar nitrit dan saponin. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan tersebut adalah: LB0 = lama biofermentasi 0 hari, LB7 = lama biofermentasi 7 hari, LB14 = lama biofermentasi 14 hari, dan LB21 = lama biofermentasi 21 hari. Variabel yang diamati adalah selulosa, lignin, asam pitat, kadar nitrit dan saponin. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis of Variance dan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu biofermentasi sangat nyata menurunkan kandungan selulosa dengan kisaran (23,52-19,26%), lignin (13,75-8,72%), asam pitat (4,03-2,00%), kadar nitrit (6,60-4,73ppm), dan saponin (7,68-5,84%). Disimpulkan bahwa lama waktu biofermentasi *Chromolaena odorata* menurunkan kandungan selulosa, lignin, asam pitat, kadar nitrit dan saponin dengan lama waktu biofermentasi yang bervariasi yakni lama waktu biofermentasi 7 hari (LB7) mendapatkan nilai total kandungan selulosa (20,40%), lignin (9,23%), lama waktu biofermentasi 14 hari mendapatkan nilai total kandungan asam pitat (2,23%), nitrit (4,86ppm) dan lama waktu biofermentasi 21 hari mendapatkan nilai total kandungan saponin (5,84%).

**Kata kunci:** *Asam pitat, Chromolaena odorata, Lignin, Nitrit, Saponin*

## PENDAHULUAN

Hijauan merupakan salah satu sumber pakan utama bagi ternak ruminansia, baik untuk kebutuhan hidup pokok, pertumbuhan, produksi dan reproduksinya. Untuk mencapai produktivitas dalam budidaya ternak yang optimal tentunya harus ditunjang dari penyediaan pakan secara kontinyu. Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) yang didominasi musim kemarau panjang menyebabkan penyediaan pakan sangat terbatas, sehingga perlu ada solusi atau terobosan baru untuk menjawab masalah keterbatasan hijauan pakan tersebut. Oleh karena itu dibutuhkan rekayasa teknologi pakan dalam hal memanfaatkan sumber daya pakan yang tersedia.

*Chromolaena odorata* merupakan jenis semak perdu berkayu tahunan yang dianggap sebagai salah satu jenis gulma yang paling invasif di dunia karena mendominasi padang penggembalaan. Tanaman ini memiliki potensi besar untuk peningkatan produksi tanaman pangan dan ternak. *Chromolaena odorata* mengandung 90,67% bahan kering, 89,28% bahan organik, 26,26% protein kasar, 26,90% serat kasar (Oematan et al., 2023), memiliki komposisi mineral (Ikhimioya et al., 2007) dan asam-asam amino (Fasuyi et al., 2005) yang baik bagi ternak. Namun kelemahannya yakni memiliki karakteristik kimia yang tinggi antara lain: lignin (13,1%) dan selulosa (40,2%) (Abdullah, 2001; Mullik, 2002). Faktor pembatas lainnya adalah hadirnya berbagai senyawa metabolit sekunder yaitu nitrit, alkaloid, glikosida sianogen, flavonoid (vauron, kalkon, flavon dan flavonol), asam pitat, saponins, tanin, dan anti tripsin (McGilvery dan Goldstein, 1983; FAO, 1981; Ngozi et al., 2009; Ridla et al., 2016; Mulik et al., 2016; Bira et al., 2020; Oematan et al., 2020; Oematan dkk., 2024; Oematan, 2023) sehingga ternak sapi kurang menyukainya dalam keadaan segar. Solusi alternatif yang dapat dilakukan dalam rangka meningkatkan nilai nutrisi *Chromolaena odorata* adalah pengolahan secara biologi atau fermentasi.

Biofermentasi merupakan salah satu cara perlakuan biologis yang dapat mereduksi efek negatif dari *Chromolaena odorata* sehingga dapat disukai, tidak residu dan aman bagi ternak, (Mulik, 2016 dan Mullik dkk., 2017). Fermentasi merombak senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana dengan bantuan enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme (Putra et al., 2019). Proses fermentasi seperti pada pembuatan silase perlu ada penambahan aditif mudah larut (Supartini, 2011). Penambahan aditif pada fermentasi menyediakan karbohidrat mudah larut untuk dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi (Anas dan Syahrir, 2017; Handayani dkk., 2018). Selain sebagai sumber energi karbohidrat terlarut juga mempercepat penurunan pH sehingga menghambat pemecahan protein dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Murni dkk., 2008). Gula lontar cair merupakan sumber karbohidrat mudah larut yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi. Dalam gula lontar cair mengandung 61,25% bahan kering, 96,29% bahan organik, 3,93% protein kasar (Oematan dkk., 2023; 2024). Setiawan (2020) mengemukakan bahwa gula cair mengandung D-glukosa, maltosa, dan polimer D-glukosa. Nilai total gula pada gula cair adalah 81,25%, hasil analisa gula sukrosa pada gula cair sebesar 72,87%, hasil analisa gula pereduksi pada produk gula cair 8,39% dan hasil pengamatan untuk kadar fruktosa pada gula cair adalah 1,27%. Tingginya gula yang terkandung dalam bahan ini menjadi sumber makanan untuk memacu pertumbuhan bakteri asam laktat yang mampu memecahkan komponen serat kasar dalam proses fermentasi (Helda dan Sabuna, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian Oematan, (2020) dan Oematan et al., (2020) bahwa proses biofermentasi *Chromolaena odorata* menggunakan beberapa sumber karbon (tepung jerami padi, tepung putak dan gula lontar cair) dengan tingkat kelarutan yang berbeda: tepung jerami padi (kelarutan

lambat), tepung putak (kelarutan sedang) dan gula lontar cair (kelarutan cepat) selama 21 hari yang memperoleh hasil yang terbaik adalah biofermentasi menggunakan sumber karbon jerami padi, sedangkan hipotesis awalnya gula lontar cair yang memberikan hasil terbaik, karena gula lontar cair merupakan sumber karbohidrat yang mudah dicerna tetapi ternyata dari hasil penelitian tersebut ternyata biofermentasi menggunakan jerami padi yang memperoleh kualitas yang baik. Hal ini dikarenakan tidak ada sinkronisasi antara pembentukan karbon yang disediakan oleh sumber karbohidrat gula lontar cair dengan pemanfaatan karbon oleh mikroba, sehingga mempengaruhi kualitas dari hasil biofermentasi. Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini untuk mengetahui berapa waktu optimum yang dibutuhkan untuk proses biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan sumber karbon gula lontar cair terhadap kandungan lignin, selulosa, asam pitat, nitrit dan saponin. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penggunaan gula lontar cair sebagai sumber karbon yang cepat larut dalam proses biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan waktu inkubasi dibawah 21 hari terhadap kandungan selulosa, lignin, asam pitat, nitrit dan saponin silase produk biofermantasi.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Desa Tanah Putih, RT.02/RW.01, Dusun 1, Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang. Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan sejak tanggal 11 Maret sampai dengan 11 Mei 2023, terdiri dari beberapa tahapan penelitian yakni: tahap persiapan bahan, pelaksanaan penelitian, persiapan sampel untuk analisa di laboratorium, pelaksanaan analisa laboratorium, tabulasi dan analisis statistik data variabel.

### Materi Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: timbangan elektrik merk Camry kapasitas 5 kg kepekaan 1 g dan timbangan

merk Jason kapasitas 15 kg kepekaan 50 g, alat potong, terpal, lakban hitam, isolasi bening, galon ukuran 12 Liter sebagai silo, pH meter, thermometer, alat tulis menulis, karung, wadah untuk menampung cairan rumen (ember oker), plastik sampel. Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semak bunga putih (*Chromolaena odorata*), gula lontar cair dan cairan rumen.

### Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan sehingga terdapat 16 unit percobaan. Adapun perlakuan yang digunakan yaitu:

LB21	:	Lama biofermentasi 21 hari (kontrol)
LB14	:	Lama biofermentasi 14 hari
LB7	:	Lama fermentasi 7 hari
LB0	:	Lama fermentasi 0 hari

Untuk semua perlakuan ditambahkan gula lontar cair dengan rasio C/N30 berdasarkan hasil perhitungan dan 5% cairan rumen yang berfungsi sebagai starter inokulum untuk mempercepat biofermentasi. Dalam penelitian ini penggunaan kontrol selama 21 hari merupakan dasar pertimbangan dari hasil penelitian terbaik Oematan (2020) dan Oematan et al. (2020) menggunakan jerami padi sebagai sumber karbon yang kelarutannya lambat.

### Prosedur Penelitian

Beberapa tahapan persiapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Langkah awal yaitu menyiapkan bahan utama berupa *Chromolaena odorata*, gula lontar cair, cairan rumen serta persiapan alat lainnya. *Chromolaena odorata* dicacah ukuran 2-3 cm, kemudian ditimbang 1 kg untuk setiap unit percobaan. Persiapan air sebanyak 16 liter, ditambahkan gula lontar cair sebanyak 752 ml (47 ml/kg substrat), cairan rumen sebanyak 800 ml (5% dari berat susbtrat), diaduk hingga larut. Selanjutnya *Chromolaena odorata* yang sudah tercampur dimasukan

secara bertahap ke dalam galon hingga penuh sambil ditekan untuk menciptakan kondisi anaerob dalam silo. Galon ditutup rapat, selanjutnya tutup galon dibalut menggunakan lakban sehingga tidak ada udara yang masuk. Galon ditempatkan dalam ruangan pada suhu ruang. Proses inkubasi dilakukan sesuai perlakuan lama waktu biofermentasi yakni 0, 7, 14, dan 21 hari. Sesuai dengan lama waktu perlakuan yang ditetapkan, silo dibuka, diamati penampilan fisik substrat secara organoleptik, kemudian substrat dikeluarkan dari dalam silo, ditimbang sebanyak 1.500 g untuk setiap unit percobaan kemudian dijemur hingga kering. Selanjutnya sampel digiling untuk persiapan sampel analisis di laboratorium.

### Penentuan Kandungan Selulosa

Untuk menentukan kadar selulosa maka sampel terlebih dahulu ditentukan kadar NDF dan ADF (Van Soest, 1985).

Penentuan selulosa dengan sintered glass berisi NDF diletakkan di atas petridisk lalu ditambahkan 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72%, sekali-sekali diaduk untuk memastikan bahwa serat terbasahi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72%, dibiarkan selama 2 jam, kemudian dihisap menggunakan pompa vakum sambil dibilas dengan air panas secukupnya. Sampel kemudian dioven selama 8 jam pada suhu 100°C atau dibiarkan bermalam lalu didinginkan ke dalam eksikator, kemudian ditimbang (d g). Setelah itu dimasukkan ke dalam tanur listrik atau dipijarkan hingga 500°C selama 2 jam, dibiarkan agak dingin kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama 30 menit, lalu ditimbang (e g). Kadar selulosa dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ Selulosa} = \% \text{ ADF} - \% \text{ abu yang terlarut} - \% \text{ lignin}$$

### Penentuan Kandungan Lignin

Untuk menentukan kadar lignin maka sampel terlebih dahulu ditentukan kadar NDF dan ADF (Van Soest, 1985). Penentuan lignin dengan sintered glass yang berisi ADF diletakkan di atas petridisk lalu ditambahkan 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72%, sekali-sekali diaduk untuk

memastikan bahwa serat terbasahi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72%, dibiarkan selama 2 jam, dihisap menggunakan pompa vakum sambil dibilas dengan air panas secukupnya. Sampel

$$\text{Asam Pitat (\%)} = \frac{\text{Berat Fe} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

kemudian diovenkan selama 8 jam pada suhu 100°C atau dibiarkan bermalam lalu didinginkan ke dalam eksikator kemudian timbang (d g), kemudian dimasukkan ke dalam tanur listrik atau dipijarkan hingga 500°C selama 2 jam, dibiarkan agak dingin kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama 30 menit lalu ditimbang (e g). Kadar lignin dihitung sebagai berikut:

$$\text{Kadar Lignin} = \frac{d - e}{\text{Berat sampel (a)}} \times 100\%$$

### Penentuan Kandungan Asam Pitat

Pengukuran kadar asam pitat dilakukan untuk mengetahui penurunan kadar pitat sebelum dan setelah penambahan enzim pitase pada pakan atau ransum. Setelah diinkubasi masing-masing pakan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat tersebut diambil sebanyak 0,05 ml untuk analisis asam pitat. Untuk menganalisis asam pitat ditambahkan HNO<sub>3</sub> 0,5M sebanyak 1,35 ml. Kemudian ditambahkan 1 ml larutan FeCl<sub>3</sub>. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan sampai mencapai suhu ruang, ditambahkan 5 ml amyl alkohol dan 0,1 ml larutan amonium thiosianat 10%. Isi tabung dihomogenkan dengan vortex secara perlahan dalam waktu 15 detik. Setelah itu masing-masing tabung didiamkan selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,1 ml larutan amonium thiosianat 10%. Setelah itu, diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 465 nm (Davies dan Reid, 1979). Dengan persamaan regresi linier diperoleh perhitungan kadar pitat sebelum dan setelah penambahan ekstrak kasar enzim fitase pada pakan. Kadar asam pitat dapat diketahui dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

### Penentuan Kandungan Kadar Nitrit

Sebanyak 5 ml sampel dan blanko dimasukkan ke dalam masing-masing beaker glass, kemudian ditambahkan 1 ml larutan asam sulfanilamida dan larutan tersebut dibiarkan bereaksi selama 2-8 menit. Selanjutnya, ditambahkan 1 ml larutan NED dihidroklorida, diaduk dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Menentukan kadar nitrit dilakukan berdasarkan metode spektrofotometer (AOAC 1990) dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Kandungan nitrit } (\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V}{W}$$

### Penentuan Kandungan Saponin

Kandungan saponin juga diukur menggunakan metode spektrofotometri sebagai penguatan terhadap data KLT. Sampel digerus kemudian dimasukkan dalam kuvet. Sampel yang sudah digerus kemudian diekstraksi dengan 1 ml metanol hingga semua senyawa larut. Pembuktian kandungan saponin dilakukan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 260-370 nm. Total kadar saponin diuji menggunakan metode spektrofotometer dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ Saponin} = \frac{X_2 - X_1}{A} \times 100\%$$

### Analisis Data

Data ditabulasi dan dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) berdasarkan Rancangan acak lengkap pola searah untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati pada nilai alfa yang ditetapkan sebesar 5%. Perbedaan antar perlakuan diuji dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Semua analisis data dilakukan dengan menggunakan paket software SPSS statistik versi 25. (IBM, 2017).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

abel 1. Rata-rata Nilai Kandungan Selulosa, Lignin, Asam Pitat, Nitrit dan Saponin Dengan Lama Waktu Biofermentasi Berbeda.

Perlakuan	Variabel				
	Selulosa	Lignin	Asam Pitat	Nitrit	Saponin
	(%)	(%)	(%)	(ppm)	(%)
LB-0	23,52 <sup>b</sup>	13,75 <sup>c</sup>	4,03 <sup>b</sup>	6,60 <sup>c</sup>	7,68 <sup>d</sup>
LB-7	20,40 <sup>a</sup>	9,23 <sup>a</sup>	3,59 <sup>b</sup>	5,90 <sup>b</sup>	6,49 <sup>c</sup>
LB-14	21,16 <sup>a</sup>	12,48 <sup>b</sup>	2,23 <sup>a</sup>	4,86 <sup>a</sup>	6,09 <sup>b</sup>
LB-21	19,26 <sup>a</sup>	8,72 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	4,73 <sup>a</sup>	5,84 <sup>a</sup>
SEM	0,49	0,57	0,23	0,20	0,73
Nilai-P	0,003	0,001	0,001	0,001	0,001

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama sangat nyata (P<0,01).

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Serat Kasar

Data yang tersaji pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan selulosa berada pada kisaran 19,26-23,52%. Nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan LB0 sebesar 23,52%, hal ini dikarenakan pada perlakuan tersebut tidak terjadi proses fermentasi, sedangkan nilai terendah berada pada LB21 sebesar 19,26% yaitu dengan lama fermentasi 21 hari sebagai kontrol. Ini mengindikasikan bahwa semakin lama waktu fermentasi dari 0 hingga 21 hari kandungan selulosa *Chromolaena odorata* produk fermentasi dengan inokulum cairan rumen sapi diimbangi dengan penambahan sumber karbon mudah larut dari gula lontar cair pada rasio C/N30 menurunkan kandungan selulosa dari 23,52% menjadi 19,26%. Pada lama waktu fermentasi 0 hari sampai 21 hari diduga disebabkan karena adanya karbohidrat mudah larut dari gula lontar cair yang juga berfungsi sebagai sumber karbon dimanfaatkan secara baik oleh mikroba untuk pertumbuhan dan aktivitasnya untuk menghasilkan enzim selulase yang selanjutnya berfungsi untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Lebih rinci dijelaskan oleh Volk dan Wheeler (1990) bahwa mikroba dari golongan selulolitik mampu menghasilkan enzim selulase yang mampu mendegradasi selulosa sehingga akan dihasilkan glukosa dimana pengubahan ini dilakukan dengan cara enzimatik secara biologis (Hardjo dkk., 1989).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan lama biofermentasi *Chromolaena odorata* menggunakan sumber karbon gula lontar cair berpengaruh sangat nyata (P=0,003) terhadap kandungan selulosa

*Chromolaena odorata* fermentasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan selulosa pada penelitian ini menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Peningkatan lama waktu fermentasi menyebabkan meningkatnya kesempatan mikroba untuk melakukan pertumbuhan, sehingga semakin lama waktu fermentasi pada waktu tertentu, maka kesempatan mikroba untuk mendegradasi *Chromolaena odorata* semakin tinggi karena lama waktu yang disediakan memberi ruang dan waktu yang cukup bagi mikroba yang berasal dari inokulum cairan rumen dibarengi dengan dukungan asupan nutrisi yang cukup dari substrat *Chromolaena odorata* sendiri dan juga sumber energi dari gula lontar cair untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya sehingga aktivitas mikroba semakin meningkat, juga populasinya. Aktivitas yang cukup tersebut membuat mikroba terus menghasilkan enzim selulase yang kemudian bekerja secara aktif mendegradasi fraksi serat substrat yang berdampak pada penurunan kandungan selulosa.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rendahnya kandungan selulosa pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) (19,26%) tidak nyata ( $P>0,05$ ) dibanding perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) (21,16%) dan perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) (20,40%), sedangkan dibanding dengan perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) (23,52%) nyata rendahnya. Rendahnya kandungan selulosa pada perlakuan LB14 juga tidak nyata ( $P>0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 tetapi nyata ( $P<0,05$ ) rendahnya dibanding perlakuan LB0. Demikian pula rendahnya kandungan selulosa pada perlakuan LB7 nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB0. Dengan demikian berdasarkan hasil uji ini rekomendasi aplikatifnya adalah lama fermentasi 7-21 hari memberikan respon yang relatif sama menurunkan kandungan selulosa *Chromolaena odorata*. Penurunan kandungan selulosa ini diduga dapat menurun

di awal proses biofermentasi dikarenakan disebabkan karena gula lontar cair terus menyediakan karbon dalam mendukung aktivitas mikroba sehingga mikroba mampu menghasilkan enzim selulase yang dapat mendegradasi selulosa sehingga kandungan selulosa turun. Hal ini sesuai dengan pendapat Widya (2005) yang menyatakan bahwa enzim selulase merupakan salah satu enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme golongan selulolitik yang berfungsi untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Selain itu, penurunan selulosa juga diakibatkan oleh lama waktu biofermentasi yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Sehingga seiring penambahan lama waktu fermentasi semakin menurunkan kandungan selulosa pada nilai terendah pada 21 hari sebagai kontrol.

Pengaruh penggunaan gula lontar cair sebagai sumber karbon yang cepat larut dalam proses biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan waktu biofermentasi dibawah 21 hari menyebabkan penurunan kandungan selulosa pada perlakuan LB7 (biofermentasi 7 hari). Penurunan kandungan selulosa pada biofermentasi *Chromolaena odorata* ini menunjukkan bahwa akibat dari peningkatan populasi dan kinerja mikroorganisme yang meningkat (Lakapu, 2022). Selain itu semakin meningkatnya lama waktu biofermentasi juga menurunkan kandungan selulosa pada perlakuan LB14 dan LB21, hal ini kemungkinan disebabkan karena gula lontar cair terus menyediakan karbon dalam mendukung aktivitas mikroba sehingga mikroba mampu menghasilkan enzim selulase yang dapat mendegradasi selulosa sehingga kandungan selulosa turun. Hal ini sesuai dengan pendapat Widya (2005) yang menyatakan bahwa enzim selulase merupakan salah satu enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme golongan selulolitik yang berfungsi untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Selain itu, penurunan selulosa juga diakibatkan oleh lama waktu biofermentasi yang mempengaruhi pertumbuhan

mikroorganisme. Sulaiman (1988) menyatakan bahwa semakin lama waktu biofermentasi yang digunakan maka semakin banyak pula bahan yang dirombak oleh mikroorganisme. Terombaknya selulosa yang merupakan bagian dari serat kasar juga akan menurunkan kadar serat kasar (Anggorodi, 1984). Menurunnya kadar serat kasar yang pada akhirnya akan meningkatkan nilai pencernaan pada pakan (Lakapu, 2022). Selain itu Molo dkk. (2003) juga menambahkan bahwa lama fermentasi merupakan salah satu faktor yang menentukan berubahnya komposisi gizi produk fermentasi.

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Lignin**

Data yang tersaji pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan Lignin berada pada kisaran 8,72-13,75%. Nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan LB0 yakni 13,75%, sedangkan nilai terendah berada pada LB21 sebesar 8,72% dengan lama fermentasi 21 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan lignin pada penelitian ini menurun seiring dengan lamanya waktu biofermentasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Sahid dkk. (2022) yang mengemukakan bahwa kandungan lignin pada silase tebon jagung turun sejalan dengan lama fermentasi disebabkan oleh semakin meningkatnya jumlah asam laktat yang dihasilkan oleh kerja bakteri asam laktat (BAL). Sebaliknya tingginya kandungan lignin pada substrat yang tidak dibiofermentasi (0 hari) diduga disebabkan karena aktivitas bakteri lignolitik belum bekerja sama sekali. Hal ini sesuai dengan pendapat Nisa dkk. (2020) yang menyatakan bahwa semakin lama proses fermentasi akan memberikan kesempatan yang lebih lama kepada substrat (dalam penelitian ini *Chromolaena odorata*) berada dalam kondisi pH yang rendah. Kondisi keasaman ini dapat mempengaruhi ikatan lignoselulosa menjadi renggang sehingga terjadi penurunan kandungan lignin pada saat proses fermentasi berlangsung.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama waktu biofermentasi memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $P=0,001$ ) terhadap kandungan lignin produk silase. Adanya pengaruh lama biofermentasi terhadap kandungan lignin diprediksi disebabkan karena jumlah asam laktat yang meningkat. Hal ini didukung oleh pendapat Sahid dkk. (2022) yang menyatakan bahwa meningkatnya jumlah asam laktat selama proses fermentasi dalam rentang waktu tertentu mengakibatkan peregangannya ikatan  $\beta$ -lignoselulosa dan lignohemiselulosa sehingga lignin terlepas dari selulosa dan hemiselulosanya.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rendahnya kandungan lignin pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) (8,72%) tidak nyata ( $P>0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) (9,23%), tetapi nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) (12,48%) dan perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) (13,75%). Rendahnya kandungan lignin pada perlakuan LB7 juga nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB14 dan perlakuan LB0. Demikian pula rendahnya kandungan lignin pada perlakuan LB14 nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB0. Dengan demikian berdasarkan hasil uji ini rekomendasi aplikatifnya adalah lama biofermentasi 7 dan 21 hari memberikan respon yang relatif sama menurunkan kandungan lignin. Penurunan kandungan lignin seiring lamanya fermentasi akibat selulosa dan lignin renggang atau terlepas dari ikatan lignoselulosanya oleh enzim lignase, yang berimplikasi terjadinya penurunan pada kandungan lignin silase *Chromolaena odorata*.

Pengaruh penggunaan gula lontar cair sebagai sumber karbon yang cepat larut dalam proses biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan waktu biofermentasi dibawah 21 hari menyebabkan penurunan kandungan selulosa pada perlakuan LB7 (biofermentasi 7 hari). Penurunan kandungan selulosa pada biofermentasi *Chromolaena odorata* ini

menunjukkan bahwa pada lama biofermentasi 7 hari sumber karbon dari gula lontar cair masih tersedia sebagai sumber energi bagi mikroba sehingga mikroba masih terus berkembangbiak dan beraktivitas mendegradasi ikatan lignoselulosa substrat mengakibatkan lignin ikut turun. Hal ini sejalan dengan pendapat Bira dkk. (2020) yang menyatakan kemampuan bakteri erat kaitannya dengan penambahan sumber karbohidrat terlarut sebagai makanannya. Selama proses ensilase, bakteri dapat mendegradasi dan merombak lignoselulosa dan lignohemiselulosa pada proses fermentasi (Laksono dan Karyono, 2020; Sobowale et al., 2009). Proses pemisah serta pemecah antara ikatan lignoselulosa dan selulosa yang tinggi akan membuat turunnya kadar lignin (Ati dkk., 2020). Hambatan utama pada perubahan biologis lignoselulosa adalah kemampuan lignin untuk bertahan terhadap degradasi oleh enzim selulase. Hambatan tersebut dapat diatasi salah satunya dengan memanfaatkan potensi kemampuan biologis oleh mikroba tertentu seperti fungi (Yanuartono dkk., 2019). Fungi memiliki kemampuan mengganggu dinding sel tanaman dengan pemecahan sebagian kompleks lignin karbohidrat (Keller et al., 2003) sehingga meningkatkan ketersediaan energi yang dapat difermentasi untuk mikroba ruminal (Akin et al., 1993). Goering dan Van Soest (1970) lebih lanjut menyatakan bahwa batas toleransi lignin untuk ternak ruminansia adalah 7%, sehingga dalam perlakuan LB21 sebesar 8,72% masih berada di atas batas rekomendasi 7%. Jung dan Deetz (1993) menyatakan bahwa kandungan lignin tidak diharapkan karena lignin merupakan senyawa fenolik yang dapat mengikat selulosa sehingga ternak tidak dapat mencerna selulosa. Semakin rendah kandungan lignin semakin tinggi tingkat kecernaan zat makanan dan semakin positif peluang untuk dimanfaatkan sebagai sumber bahan pakan (Devi, 2023).

Beberapa variabel yang diamati secara bersamaan dalam penelitian ini seperti yang

dilaporkan oleh Nidi dkk. (2023) menunjukkan bahwa lama waktu biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan sumber karbon gula lontar cair 14 hari memberikan hasil yang terbaik untuk warna, tekstur dan suhu, 7 hari untuk pH dan aroma, sedangkan untuk keberadaan jamur tidak berpengaruh.

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Asam Pitat**

Data yang tersaji pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan Asam pitat berada pada kisaran 2,00-4,03%. Nilai tertinggi pada perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) sebesar 4,03%, diikuti oleh perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) sebesar 3,59%, perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) sebesar 2,23%, dan terendah pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) sebesar 2,00%. Ini berarti bahwa fermentasi *Chromolaena odorata* dengan inokulum cairan rumen sapi diimbangi dengan penambahan sumber karbon mudah larut dari gula lontar cair pada rasio C/N30 menurunkan kandungan asam pitat.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama biofermentasi dengan inokulum cairan rumen sapi dan penambahan gula lontar cair sebagai sumber karbon cepat larut berpengaruh sangat nyata ( $P=0,001$ ) terhadap kandungan asam pitat produk silase. Adanya pengaruh lama biofermentasi terhadap kandungan asam pitat diprediksi disebabkan karena dari kemampuan enzim pitase menghidrolisis asam pitat menjadi fosfor secara bertahap. Hal ini didukung oleh pendapat Widowati dkk. (2001) yang menyatakan bahwa pada metode hidrolisis asam pitat dengan memanfaatkan enzim pitase, maka asam pitat secara bertahap dapat dihidrolisis menjadi turunannya, akan tetapi ada kemungkinan bahwa aktivitas enzim pitase dihambat oleh kandungan fosfat.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rendahnya kandungan asam pitat pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) (2,00%) tidak nyata ( $P>0,05$ ) dibanding



perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) (2,23%), tetapi nyata ( $P < 0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) (3,59%) dan perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) (4,03%). Rendahnya kandungan asam pitat pada perlakuan LB14 juga nyata ( $P < 0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 dan perlakuan LB0. Sebaliknya, rendahnya kandungan asam pitat pada perlakuan LB7 tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dibanding perlakuan LB0. Dengan demikian berdasarkan hasil uji ini rekomendasi aplikatifnya adalah lama fermentasi 14 dan 21 hari memberikan respon yang relatif sama menurunkan kandungan asam pitat.

Pengaruh penggunaan gula lontar cair sebagai sumber karbon yang cepat larut dalam proses biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan waktu biofermentasi dibawah 21 hari menyebabkan penurunan kandungan selulosa pada perlakuan LB14 (biofermentasi 14 hari). Menurunnya kandungan asam pitat yang di biofermentasi 14 hari dikarenakan sumber karbon dari gula lontar cair untuk kebutuhan mikroba masih cukup tersedia sehingga mikroba terus bekerja aktif dan menghasilkan enzim pitase untuk menghidrolisis asam pitat selama waktu fermentasi sehingga semakin lama waktu biofermentasi maka pertumbuhan mikroba semakin banyak dan enzim pitase yang diproduksi juga semakin meningkat sehingga asam pitat yang terhidrolisis juga semakin banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat Anam dan Handayani (2010) dengan meningkatnya pertumbuhan ragi maka enzim pitase yang dihasilkan mengalami peningkatan sehingga asam pitat yang terhidrolisis semakin banyak. Ditambahkan pula oleh Fitriyanti dan Indira (2011) yang menyatakan bahwa enzim pitase dapat menghidrolisis pitat secara bertahap menjadi senyawa turunannya. Selain itu, pada penelitian Edi (2022) mendapatkan rata-rata kandungan asam pitat dalam biji saga sebesar 1,50-3,50% tidak berpengaruh negatif terhadap penyerapan mineral pada ternak ruminansia, sehingga hasil analisis asam pitat dengan perlakuan lama waktu biofermentasi pada perlakuan

LB21 dan LB14 dianggap aman karena Yanuartono dkk. (2016) menyatakan asam pitat tidak berdampak pada ternak ruminansia karena mikroba rumen mampu menghidrolisis pitat.

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Nitrit**

Data yang tersaji pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan Asam pitat berada pada kisaran 4,73-6,60 ppm. Nilai tertinggi pada perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) sebesar 6,60 ppm, diikuti oleh perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) sebesar 5,90 ppm, perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) sebesar 4,86 ppm, dan terendah pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) sebesar 4,73 ppm. Ini berarti bahwa fermentasi *Chromolaena odorata* dengan inokulum cairan rumen sapi diimbangi dengan penambahan sumber karbon mudah larut dari gula lontar cair pada rasio C/N30 menurunkan kandungan nitrit. Rendahnya nitrit diduga terjadi karena nitrit merupakan senyawa yang tidak stabil sehingga tidak dapat bertahan lama dan merupakan keadaan sementara proses oksidasi antara amoniak dan nitrat. Ginting (2007) menyatakan nitrit tidak tetap dan dapat berubah menjadi amoniak atau dioksidasi menjadi nitrat, sehingga semakin lama waktu penyimpanan, maka semakin rendah nitritnya (Sungkawa dan Sugito, 2019). Pfoet et al. (2001) menyatakan bahwa kadar nitrit dalam air minum ternak ruminansia dapat mencapai 10 ppm, sehingga apabila mengacu pada Pfoet et al. (2001) tersebut, maka kadar nitrit produk biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan perlakuan lama waktu yang diberikan masih jauh berada pada batas maksimal yaitu 10 ppm dan tidak membahayakan bagi kesehatan ternak.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama biofermentasi dengan inokulum cairan rumen sapi dan penambahan gula lontar cair sebagai sumber karbon cepat larut berpengaruh sangat nyata ( $P = 0,001$ ) terhadap kandungan nitrit produk silase.

Adanya pengaruh lama biofermentasi terhadap kandungan nitrit diprediksi disebabkan karena terjadi proses dioksidasi menjadi nitrat, sehingga hal ini dapat mempengaruhi kandungan nutrisi yang berkorelasi dengannya. Hal ini didukung oleh pendapat Putri dkk. (2019) yang menyatakan bahwa nitrit bersifat tidak tetap karena dapat dioksidasi menjadi nitrat dan dapat juga berubah menjadi amonia.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa rendahnya kandungan nitrit pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) (4,73 ppm) tidak nyata ( $P>0,05$ ) dibanding perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) (4,86 ppm), tetapi nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) (5,90 ppm) dan perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) (6,60 ppm). Rendahnya kandungan nitrit pada perlakuan LB14 juga nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 dan perlakuan LB0. Demikian juga, rendahnya kandungan nitrit pada perlakuan LB7 nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB0. Dengan demikian berdasarkan hasil uji ini rekomendasi aplikatifnya adalah lama fermentasi 14 dan 21 hari memberikan respon yang relatif sama menurunkan kandungan nitrit.

Pengaruh penggunaan gula lontar cair sebagai sumber karbon yang cepat larut dalam proses biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan waktu biofermentasi dibawah 21 hari menyebabkan penurunan kandungan nitrit pada perlakuan LB14 (biofermentasi 14 hari). Terjadi karena sumber karbon dari gula lontar cair untuk kebutuhan mikroba masih cukup tersedia sehingga mikroba terus bekerja aktif mengakibatkan terjadinya dominansi bakteri yang mereduksi nitrit, sehingga terjadi penurunan kandungan nitrit. Hal ini sesuai dengan pendapat Shrimali dan Singh (2001) yang menyatakan bahwa proses oksidasi amonia oleh *Nitrosomonas* menjadi nitrit kemudian dengan bantuan bakteri *Nitrobacter*, nitrit dioksidasi kembali menjadi nitrat. Perombakan amonia secara sempurna berlangsung dalam dua tahapan yaitu: amonia

menjadi nitrat (nitrifikasi) dan nitrat menjadi  $N_2$  gas (denitrifikasi). Di dalam sistem biologis, nitrifikasi seringkali tidak efektif, karena sifat pertumbuhan bakteri nitrifikasi sangat lambat dan sensitif terhadap faktor-faktor lingkungan, seperti suhu, pH, konsentrasi oksigen terlarut (DO), konsentrasi amonia, nitrit dan rasio C/N (Imamuddin, 2010).

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Saponin**

Data yang tersaji pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan saponin berada pada kisaran 5,84-7,68%, tertinggi pada perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) sebesar 7,68%, diikuti oleh perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) sebesar 6,49%, perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) sebesar 6,09%, dan terendah pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) sebesar 5,84%. Ini berarti bahwa fermentasi *Chromolaena odorata* dengan inokulum cairan rumen sapi diimbangi dengan penambahan sumber karbon mudah larut dari gula lontar cair pada rasio C/N30 menurunkan kandungan saponin. rendahnya kandungan saponin ini sebagai akibat dari aktivitas mikroba tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Oematan (2020) yang menyatakan bahwa adanya intervensi mikroba yang lebih optimal dalam proses biofermentasi karena adanya sinkronisasi ketersediaan karbon sehingga proses biofermentasi lebih optimal sehingga kandungan saponin menjadi turun. Namun Widodo (2005) menyatakan bahwa bahan pakan yang mengandung saponin  $>3\%$  dinyatakan membahayakan bagi ternak, sehingga pada perlakuan LB21 sebesar 5,84% merupakan perlakuan dengan kandungan saponin terendah namun sangat berbahaya sehingga berpotensi menyebabkan efek biologis seperti keracunan atau toksisitas, karena berada di atas tingkat toleransi ternak.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama biofermentasi dengan inokulum

cairan rumen sapi dan penambahan gula lontar cair sebagai sumber karbon cepat larut berpengaruh sangat nyata ( $P=0,001$ ) terhadap kandungan saponin produk silase. Adanya pengaruh lama biofermentasi terhadap kandungan saponin diprediksi disebabkan karena adanya sinkronisasi karbon yang terus menyediakan sumber energi dalam mengefektifkan kerja mikroba mendegradasi saponin. Hal ini didukung oleh pendapat Kunaepah (2008) yang menyatakan bahwa lama fermentasi juga berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak bakteri yang aktif berkembangbiak sehingga kemampuannya untuk mendegradasi substrat semakin banyak dan asam laktat yang dihasilkan semakin meningkat.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rendahnya kandungan saponin pada perlakuan LB21 (lama biofermentasi 21 hari) (5,84%) nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB14 (lama biofermentasi 14 hari) (6,09%), juga nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 (lama biofermentasi 7 hari) (6,49%) dan perlakuan LB0 (lama biofermentasi 0 hari) (7,68%). Rendahnya kandungan saponin pada perlakuan LB14 juga nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB7 dan perlakuan LB0. Demikian juga, rendahnya kandungan saponin pada perlakuan LB7 nyata ( $P<0,05$ ) dibanding perlakuan LB0.

Penurunan kandungan saponin pada lama biofermentasi 21 hari diprediksi karena energi atau panas yang dihasilkan dari proses respirasi mikroba selama proses biofermentasi cukup tinggi menyebabkan komponen-komponen seperti aglikon dan gula terurai yang mengakibatkan degradasi saponin (Kunaepah 2008). Hal ini juga didukung oleh pendapat Sumarna (2008) yang menyatakan bahwa hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan karbohidrat dapat diubah menjadi sumber energi bagi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat yaitu bakteri yang mengubah laktosa dan gula

lainnya menjadi asam laktat. Laktosa dan gula lainnya masuk dalam golongan karbohidrat sehingga kandungan karbohidrat yang cukup tinggi lebih mengefektifkan kerja mikroba (Sariri dan Yakin, 2019). Widodo (2005) juga menambahkan bahwa saponin merupakan suatu glikosida, apabila dihidrolisis maka menghasilkan gula (glikon) dan sapogenin (aglikon). Aglikon memiliki struktur yang stabil terhadap panas sehingga tidak semuanya terurai (Shi et al., 2009). Larasati (2016) menyatakan bahwa pada pakan yang mengandung saponin dapat dikurangi dengan berulang kali merendam pakan dalam air. Cara ini dapat menghilangkan saponin, dan meningkatkan palatabilitas pakan dengan mengurangi rasa pahit. Dengan demikian, jika mengharapkan manfaat saponin maka metode yang tepat digunakan adalah perendaman dan perkecambahan, sebaliknya jika akan menghilangkan dampak negatif dari saponin digunakan dengan cara pemanasan (Yanuartono dkk., 2019).

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lama waktu biofermentasi menurunkan kandungan selulosa, lignin, asam pitat, kadar nitrit dan saponin dengan lama waktu biofermentasi yang bervariasi yakni lama waktu biofermentasi 7 hari (LB7) mendapatkan nilai total kandungan selulosa (20,40%), lignin (9,23%), lama waktu biofermentasi 14 hari mendapatkan nilai total kandungan asam pitat (2,23%), nitrit (4,86ppm) dan lama waktu biofermentasi 21 hari mendapatkan nilai total kandungan saponin (5,84%).

## **SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian ini kandungan selulosa, lignin, asam pitat, nitrit dan saponin cenderung bervariasi dan terus menurun, maka disarankan untuk penelitian lanjutan yang serupa tetapi dengan menggunakan metode *in vivo* mendapatkan tingkat kandungan terendah yang dapat ditolerir dan pencernaan pakan yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, L. 2001. P-mineralization and immobilization as result of use of follow vegetation biomass in slash and mulch system. Disertation.. Cuviller Verlag, Gottigen.
- Akin, D.E., A. Sethuraman., W.H. Morrison., S.A. Martin, and K. Erickson. 1993. Microbial delignification with white-rot fungi improves forage digestibility. *Applied Environmental Microbiology*. 59: 4274-4282.
- Anam, C., dan S. Handayani. 2010. Kajian kadar asam fitat dan kadar protein selama pembuatan tempe kara bengkok (*Mucuna pruriens* L) dengan variasi pengecilan ukuran dan lama fermentasi. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 3(1): 34-43.
- Anas, M.A., dan Syahrir. 2017. Pengaruh penggunaan jenis aditif sebagai sumber karbohidrat terhadap komposisi kimia silase rumput mulato. *Jurnal Agrisains*. 18(1): 13-22.
- Anggorodi, R. 1984. Ilmu Makanan Ternak Umum. Penerbit PT. Gramedia, Jakarta
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Benjamin Franklin, Washington, D.C.
- Ati, S., M.M. Kleden, dan M. Yunus. 2020. Pengaruh lama waktu fermentasi tepung tongkol jagung menggunakan Effective Mikroorganisme-4 (EM-4) terhadap perubahan komponen NDF, ADF, selulosa, dan lignin. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*. 2(4): 1162-1170.
- Bira, G.F., P.K. Tahuk., K.W. Kia., S.K. Hartun, dan F. Nitsae. 2020. Karakteristik silase semak bunga putih (*Chromolaena odorata*) dengan penambahan jenis karbohidrat terlarut yang berbeda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 15(4): 367-374.
- Devi, F. 2023. Kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin dalam komponen jerami jagung (batang, daun, tongkol dan kelobot). Disertasi. Program Pascasarjana, Universitas Mataram, Mataram.
- Davies.N.T dan Reid, Hilary "An Evaluation of the Phytate, Zinc, Copper, Iron, and Manganese Contents of and Zn Availability from, Soya-Based TexturedVegetable-Protein Meat-Substitutes or Meat-Extenders ". The Nutrition Society. (1979) 579.
- Edi, D.N. 2022. Potensi biji dan daun saga pohon (*Adenantha pavonina* L.) sebagai alternatif bahan pakan ternak unggas dan ruminansia (ulasan). *Briliant: Jurnal Riset dan Konseptual*. 7(2): 489-502.
- FAO. 1981. Amino Acid Content of Food and Biological Data on Proteins. A report of the Food Policy and Food Science Service, Nutrition Division, FAO, Rome-Italy. 3rd printing.
- Fasuyi, A.O., S.O.K. Fajemilehin, and S.O. Aro. 2005. Nutritional potentials of siam weed (*Chromolaena odorata*) leaf meal (SWLM) on laying hens: biochemical and haematological implications. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4(5): 336-341.
- Fitriliyani., dan Indira. 2011. Aktivitas enzim saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan pakan mengandung tepung daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhidrolisis dan tanpa hidrolisis dengan ekstrak enzim cairan rumen domba. *Biocientiae*. 8(2): 16-31.
- Ginting, P. 2007. Sistem Pengelolaan Lingkungan dan Limbah Industri. Penerbit Yrama Widya, Bandung.
- Goering, H.K., and P.J. Van Soest. 1970. Foreage Fiber Analysis: Apparatus, Reagents, Pcedures and some Applications. USDA-ARS Agricultural Handbook 379, Washington DC.
- Handayani, S., F. Saleh, dan A.E. Harahap. 2018. Fraksi serat silase kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca*) menggunakan penambahan level dedak dan lama fermentasi yang berbeda. *Jurnal Peternakan*. 15(1): 1-8.

- Hardjo, S., N.S. Indrasti, dan T. Bantacut. 1989. Biokonversi: Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. Pusat Antar Universitas (PAU), Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Bogor.
- Helda dan C. Sabuna. (2012). Fermentasi Kotoran Kambing Dan Ayam Dengan Nira Lontar Sebagai Pakan Ayam. *Artner*, Tahun 19 Nomor 1, Halaman 112-120. Program Studi Produksi Ternak Politeknik Pertanian Negeri Kupang
- IBM. (2017). SPSS Statistics Version 25. International Business Machines Corporation. Armonk NY, USA.
- Ikhimiya, I., M.A. Bamikole., A.U. Omoregie, and U.J. Ikhatua. 2007. Compositional evaluation of some dry season shrub and tree foliages in a transitionally vegetated zone of Nigeria. *Livestock Research for Rural Development*. 19(3): 1-9. March, 2007.
- Imamuddin, H. 2010. Profil perubahan amonium, nitrit dan nitrat pada percobaan curah dari PDAM Bogor dan Surabaya. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 11(3): 443-449.
- Jung, H.G., and D.A. Deetz. 1993. Cell wall lignification and degradability. in: Jung, H.G., D.R. Buxton., R.G. Hatfield, and J. Ralph (eds). *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Keller, F.A., T.E. Hamillton, and Q.A. Nguyen. 2003. Microbial pretreatment of biomass potential for reducing severity of thermo-chemical biomass pretreatment. *Applied Biochemical Biotechnology*. 105: 27-41.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi glukosa terhadap aktivitas antibakteri, polifenol total dan mutu kimia kefir susu kacang merah. Disertasi. Program Pascasarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Lakapu, I. E. O., Dato, T. O. D., dan Mulik, Y. M. 2022. Pengaruh fermentasi tongkol jagung dengan ragi tape komersial terhadap kandungan serta pencernaan selulosa dan lignin secara in vitro. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*. 4(3): 2278-2285.
- Laksono, J., dan T. Karyono. 2020. Pemberian level starter pada silase jerami jagung dan legum Indigofera zollingeriana terhadap nilai nutrisi pakan ternak ruminansia kecil. *Jurnal Peternakan*. 4(1): 33-38.
- Larasati, D. 2016. Penurunan kandungan saponin pada minyak biji carica dieng (*Carica pubescens*). Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian. Politeknik Negeri Lampung, 08 September 2016. Hal. 168-173.
- McGilvery, R.W., and G.W. Goldstein. 1983. Biochemistry: a functional approach. in: Biochemistry: a functional approach. WB Saunders, Phikadelphia.
- Molo, N.J., G. Oematan., G. Maranatha. 2023. Pengaruh level dan lama waktu fermentasi togkol jagung menggunakan EM4 terhadap kandungan protein kasar lemak kasar kadar abu dan energi. *Animal Agricultura*. 1(Issue 2); 59-68. Oktober 2023.
- Mulik, Y.M. 2016. Pemanfaatan *Chromolaena odorata* sebagai pakan ternak potensial dengan berbagai macam metode pengolahan. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mullik, M.L. 2002. Laporan penelitian: Strategi Pemanfaatan Semak Bunga Putih (*Chromolaena odorata*) untuk Meningkatkan Produksi Ternak dan Pendapatan Peternak di Daerah Lahan Kering. Kerjasama Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana dan Kementrian Riset dan Teknologi Republik Indonesia melalui Riset Pengembangan Kapasitas.
- Mullik ML., Jelantik IG., Mulik MY., Dahlanuddin I G., Wirawan O dan Permana B., (2015). Pemanfaatan Semak Bunga Putih (*Chromolaena Odorata*) Sebagai Pakan Lokal Sumber Protein

- Untuk Ternak Sapi: Konsumsi, Daya Cerna Dan Fermentasi Rumen. pasture. Volume 5 Nomor 1 TahuN 2015.
- Mulik, Y. M., M. Ridla, I. Prihantoro, & M. L. Mullik. 2016. Anaerobic fermentation effectively reduces concentration of total tannins in Siam Weed (*Chromolaena odorata*). Jurnal Ilmu Ternak Veteriner 21:19-21. <https://doi.org/10.14334/jitv.v21i1.1301>
- Mullik, M.L., G. Oematan., T.O. Dami Dato, and B. Permana. 2017. *Chromolaena odorata* weed biofermentation for high protein and low antinutrient ruminant feed production. Research Report. University of Nusa Cendana, Kupang.
- Murni, R., Suparjo., Akmal, dan B.L. Ginting. 2008. Potensi dan faktor pembatas pemanfaatan limbah sebagai pakan ternak. Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah Untuk Pakan. Laboratorium Makanan Ternak. Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi
- Ngozi, I.M., I.C. Jude, and I.C. Catherine. 2009. Chemical profile of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson) leaves. Pakistan Journal of Nutrition. 8(5): 521-524.
- Nidi, Y.H., G. Oematan., M.L. Mullik, dan T.O. Dami Dato. 2023. Pengaruh lama waktu biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan sumber karbon gula lontar cair terhadap kualitas fisik. Animal Agricultura. 1(Issue 2): 97-103. Oktober 2023.
- Nisa, Z., B. Ayuningsih, dan I. Susilawati. 2020. Pengaruh penggunaan dedak fermentasi terhadap kadar lignin dan selulosa silase rumput gajah (*Pennisetum purpureum*). Jurnal Nutrisi Ternak Tropis dan Ilmu Pakan. 2(3): 145-155.
- Putra. A.N., Jaenudin., R. Sofia., Mustahal., M.B. Syamsunarno., D. Hernaman, and M. Herjayanto. 2019. The utilization of vegetable waste silage as feed ingredient in diets for tilapia *oreochromis niloticus*. in: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 383(1): 1-6.
- Putri, Y.P., R. Fitriyanti, dan I. Emilia. 2019. Analisis kandungan logam berat timbal (Pb) di Perairan Sungsang Kabupaten Banyuasin Provinsi Sumatera Selatan. Indonesian Journal of Industrial Research. 2(2): 1-6.
- Oematan, G. 2020. Optimalisasi biofermentasi dalam rumen dan pertumbuhan sapi bali menggunakan semak bunga putih (*Chromolaena odorata*) disuplementasi analog hidroksi metionin dan asam lemak tidak jenuh. Disertasi. Program Pascasarjana, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Oematan, G., E. Hartati., M.L. Mullik, and N. Tara Tiba. 2020. Biofermentation improved the nutritional values of *Chromolaena odorata* utilization as bali cattle feed source. International Journal and Research. 9(Issue 8): 1524-1533.
- Oematan, G. 2023. Efficacy of concentrates containing tropical weed *Chromolaena odorata*, methionine hydroxy analog and palm oils in fattening male Bali cattle: A physiological study. Journal of Applied and natural Science. 15(3): 1102-1108.
- Oematan. G., E. Hartati., M.L. Mullik., N. Tara Tiba., I. Benu, and G.T.S. Oematan. 2023. The Effect of white flower bush (*Chromolaena odorata*) silage flour in concentrated ration on consumption, digestibility, pH, N-Ammonia, VFA, and growth of bali cattle. Proceedings of the 4th International Conference of Animal Science and Technology (ICAST 2021) AIP Conference Proceeding. 2628: 1-11.
- Oematan. G., ML Mullik., I. Benu., IGN Jelantik., TO. Dami Dato., GAY Lestari., GEM Malelak., E. Hartati., Ejl Lazarus., M. Yunus. ( 2024). Cholesterol and Blood Profile of Bali Cattle Fed *Chromolaena odorata* Weed with Rice Straw as Basal Feed. Jurnal Penelitian dan Pendidikan IPA (JPPIPA) 10(4) (2024). DOI : <https://doi.org/10.29303/jppipa.v10i4.5263>.
- Oematan, N.N.Y., I. Benu., G. Oematan., T.O. Dami Dato, 2024. Pengaruh Lama Waktu

- Biofermentasi *Chromolaena odorata* dengan Sumber Karbon Tepung Putak Terhadap Konsentrasi VFA Persial dan Produksi Gas Metan. *Jurnal Animal Agricultura* Volume 1, Issue 3, February 2024 Page 133-142. <https://doi.org/10.59891/animacultura.v1i3.40>.
- Pfost, D.L., C.D. Fulhage, and S.W. Casteel. 2001. Water Quality for Livestock Drinking. *Agricultural Engineering Extension, Missouri*.
- Ridla, M, Mulik, YM., Prihantoro, I. & Mullik. ML. (2016). Total decrease in silage tannins of white-flowered shrubs (*Chromolaena odorata*) with additivesPutak flour (*Corypha elata robx*) and rumen content of cows. *Livestock Bulletin*, 40 (3): 165-169. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v40i3.12838>.
- Sahid, S.A., B. Ayuningsih, dan I. Hernawan. 2022. Pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan lignin dan selulosa silase tebon jagung (*Zea mays*) dengan aditif dedak fermentasi. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis dan Ilmu Pakan*. 4(1): 1-9. Maret 2022.
- Sariri, A.K., dan E.A. Yakin. 2019. Fermentasi dengan menggunakan berbagai jenis mikrobial untuk menurunkan kandungan saponin buah trembesi (*Samanea saman*). *AGRISAINTEFIKA: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 3(2): 126-132.
- Setiawan, Y. (2020). Analisis Fisikokimia Gula Aren Cair. *Agroscience (Agsci)*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.35194/agsci.v10i1.971>
- Shi, J., Xue, S. J., Ma, Y., Li, D., Kakuda, Y., & Lan, Y. (2009). Kinetic study of saponins B stability in navy beans under different processing conditions. *Journal of food engineering*. 93(1): 59-65.
- Shrimali, M., and K.P. Singh. 2001. New methods of nitrate removal from water. *Environmental pollution*. 112(3): 351-359.
- Sobowale, A.A., A.C. Odebode., K.F. Cardwell, and R. Bandyopadhyay. 2009. Suppression of growth of *Fusarium verticillioides* niren using strains of *Trichoderma harzianum* from maize (*Zea mays*) plant parts and its rhizosphere. *Journal of Plant Protection Research*. 49(4): 452-459.
- Sulaiman. 1988. Studi peningkatan kualitas kulit singkong dengan fermentasi oleh *Aspergillus niger*. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sumarna. 2008. Perubahan raffinosa dan stachyosa pada fermentasi susu kedelai oleh bakteri asam laktat dari makanan fermentad lokal indonesia. *Jurnal Microbiologi Malaysia*. 4(2) : 26-34.
- Supartini, N. 2011. Penggunaan onggok sebagai aditif terhadap kandungan nutrisi silase campuran daun ubikayu dan gamal. *Buana Sains*. 11(1): 91-96.
- Van Soest, P.J. 1985. Definition of Fibre in Animal Feeds. in: Cole, D.J.A., and W. Hersign (Ed.). *Recent Advances in Animal Nutrition*. Butterworths. London. Cornell University. Ithaca, New York.
- Volk, W., dan M.F. Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 2. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Widya. 2005. Enzim Selulase. <http://kb.atmajaya.ac.id/default.aspx?tabID=61&src=a&id=84059>. Diakses 13 Desember 2023.
- Widodo, I.W. 2005. *Tanaman Beracun Dalam Kehidupan Ternak*. Edisi I, Cetakan Pertama. Penerbit Universitas Muhammadiyah, Malang.
- Widowati, S., D. Andriani., E.I. Riyanti., P. Raharto, dan L. Sukarno. 2001. Karakterisasi fitase dari *Bacillus coagulans*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor. Hal. 245-256.
- Yanuartono., A. Nururrozi, dan S. Indarjulianto. 2016. Fitat dan fitase: dampak pada hewan ternak. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 26(3): 59-78.

Yanuartono., H. Purnamaningsih., S. Indarjulianto., A. Nururrozi., S. Raharjo, dan N. Haribowo. 2019. Perlakuan biologis dengan memanfaatkan fungi untuk meningkatkan kualitas pakan ternak asal hasil samping pertanian. Jurnal Peternakan Sriwijaya. 8(2): 18-34.