

Inokulasi *Aspergillus Niger*, *Trichoderma Viride*, dan *Saccharomyces Cerevisiae* pada Manure Layer dalam Produksi Protein Sel Tunggal untuk Pakan Ternak

Inoculation of *Aspergillus Niger*, *Trichoderma Viride*, and *Saccharomyces Cerevisiae* in the Manure Layer in Single Cell Protein Production for Animal Feed

Muhammad Fajar, Salvia, Ramaiyulis

Program Studi Teknologi Produksi Ternak Jurusan Peternakan dan Kesehatan Hewan

Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh

Alamat Email: ramaiyulis@gmail.com

ABSTRAK

Protein sel tunggal merupakan salah satu bahan sumber protein yang berasal dari mikroba dan dapat digunakan untuk menggantikan bahan pakan protein yang mahal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada manure layer dalam produksi protein sel tunggal untuk pakan ternak. Metode penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan A (*Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae*), B (*Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae*), C (*Trichoderma viride* + *Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae*), D (*Aspergillus niger* + *Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae*). Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kandungan bahan kering, kandungan protein kasar, dan produksi protein sel tunggal. Hasil penelitian ini menunjukkan persentase kandungan bahan kering berkisar 44,43% - 61,77%. Persentase kandungan protein kasar berkisar 17,33 - 21,68%. Produksi protein sel tunggal berkisar 754 (mg/ml) - 1.608 (mg/ml). Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada manure layer berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan bahan kering, kandungan protein kasar, dan produksi protein sel tunggal.

Kata Kunci: Fermentasi, Manure, inokulasi, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Single cell protein is a source of protein originating from microbes and can be used to replace expensive protein feed ingredients. This research aims to determine the inoculation of *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, and *Saccharomyces cerevisiae* in the manure layer in the production of single cell protein for animal feed. This research method uses a Completely Randomized Design (CRD) with 4 treatments and 4 replications. Treatment A (*Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae*), B (*Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae*), C (*Trichoderma viride* + *Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae*), D (*Aspergillus niger* + *Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae*). The parameters observed in this study were dry matter content, crude protein content, and single cell protein production. The results of this research show that the percentage of dry matter content ranges from 44.43% - 61.77%. The percentage of crude protein content ranges from 17.33 - 21.68%. Single cell protein production ranges from 754 (mg/ml) - 1,608 (mg/ml). Based on the research results, it was concluded that inoculation of *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, and *Saccharomyces cerevisiae* in the manure layer had a significant effect ($P < 0.01$) on dry matter content, crude protein content, and single cell protein production.

Keywords: Fermentation, manure, inoculation, *Saccharomyces cerevisiae*

PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan suatu usaha peternakan karena biaya pakan menyumbang 60%-70% dari total biaya produksi ternak (Yahya *et al.*, 2023), dan

terdapat peningkatan ketergantungan pada bungkil kedelai dan tepung ikan untuk pasokan protein dalam pakan (Khatoon *et al.*, 2016). Hingga saat ini, kenaikan harga bahan pakan berprotein sebagian besar dialami oleh sektor peternakan. Akibatnya, isu

sumber pakan protein alternatif menjadi perhatian publik. Protein sel tunggal (PST) merupakan salah satu bahan sumber protein alternatif formulasi pakan karena dapat digunakan sebagai suplemen protein untuk menggantikan bahan protein yang mahal dan PST dapat diproduksi dalam jumlah besar dalam waktu singkat (Chee *et al.*, 2019). Produk ini dianggap sebagai produk yang menjanjikan untuk mengatasi masalah tingginya harga pakan berprotein (Reihani & Khosravi-Darani, 2018). *Manure layer* merupakan limbah padat terbesar yang dihasilkan dari industri unggas. Kopec *et al.* (2018) menyatakan rata-rata setiap hari seekor ayam akan menghasilkan *manure* segar yaitu 150 g/ hari. *Manure* dari *layer closed house* potensial dikembangkan sebagai pakan sumber protein sel tunggal di mana produksi biomassa dan protein meningkat sebesar 92,3% dan 21,6% (Patthawaro dan Saejung, 2019). *Manure layer* mengandung protein 9,65-11,62%, bahan kering 91,75-94,04% dan lemak 3,67-6,16% (Helda dan Sabuna 2012). Penggunaan limbah ini baru digunakan sebatas pupuk organik yang penggunaannya masih terbatas dengan nilai ekonomis yang relatif rendah. Perlu adanya inovasi dan teknologi pengolahan menjadi pakan alternatif untuk ternak salah satu dengan menggunakan teknologi fermentasi. Pamungkas *et al.* (2012) melaporkan fermentasi digestat *manure* ayam petelur dengan kapang *Aspergillus niger* mampu meningkatkan kandungan protein kasar digestat sebesar 55,6% yaitu dari 9,84% menjadi 15,31%. Meryandini *et al.* (2019) menyatakan bahwa pada proses pembuatan fermentasi membutuhkan bahan yang mengandung karbohidrat tinggi sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroba. Fermentasi membutuhkan bioaktivator yang berperan dalam proses fermentasi untuk memperoleh hasil yang baik.

Beberapa bioaktivator pada biokonversi *manure layer* yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* merupakan jenis mikroba yang termasuk golongan kapang (Daniel *et al.*, 2023). Kedua spesies ini menghasilkan enzim-enzim pendegradasi turunan dari karbohidrat seperti α - dan β -galaktosidase, α - dan β -glukosidase, glukonase, xylanase (Beldman *et al.*, 1985). Menurut Juliastuti *et al.* (2008) penambahan kedua kapang tersebut dalam proses hidrolisis akan menjadi semakin efektif daripada hanya menggunakan salah satu dari keduanya, karena *Trichoderma viride* kuat dalam memproduksi enzim selulolitik yaitu endoglukanase dan eksoglukanase yang mana produk utama hidrolisisnya berupa selobiosa bukan glukosa, sedangkan *Aspergillus niger* kuat dalam memproduksi β -glukosidase yang mampu menghidrolisis selobiosa menjadi unit-unit gula sederhana (Anwar *et al.*, 2010). Kemudian dilanjutkan dengan produksi protein sel tunggal menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu mikroba protein sel tunggal (PST) yang termasuk ke dalam yeast dengan kelompok *Ascomycota*. Menurut Nasseri *et al.* (2011) kelompok mikroba yeast cocok untuk produksi protein sel tunggal karena memiliki rata-rata kualitas gizi yang baik yaitu dengan kandungan protein 40-50 %, lemak 2-6%, asam nukleat 6-12%, dan abu 5-10% dalam berat kering. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan organisme eukariotik, karakteristik dari spesies ini yaitu memiliki koloni berbentuk bulat, permukaan berkilau licin dan berwarna kuning hijau (Reis *et al.*, 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada *manure layer* untuk meningkatkan kandungan bahan kering,

kandungan protein kasar dan produksi protein sel tunggal.

METODE

1. Peremajaan Isolat dan Persiapan *Manure Layer*

Peremajaan Isolat *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* untuk bioaktivator biokonversi *manure layer* dilakukan dengan menginokulasi satu ose isolat ke dalam 5 ml media miring *Potato Dextrose Agar* (PDA). Isolat diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30 °C dan isolat yang didapat digunakan sebagai stok isolat kapang. Peremajaan Isolat *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan dengan menginokulasi satu ose isolat ke

dalam 5 ml media *Yeast Extract Peptone Dextrose* (YEPD) dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C yang digunakan sebagai stok isolat khamir.

Manure layer diperoleh dari kandang *closed house* PT. Talenggak Jaya Farm, Sungai Kamuyang, Kec. Luak, Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat, *manure* yang tertampung selama 12 jam pada ban penampung yang berada dibawah *cage*. *Manure layer* dibawa ke laboratorium dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60 °C hingga mencapai kadar air sekitar 13% dan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruang sebelum digunakan. Kandungan nutrisi *manure layer* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan nutrisi *manure layer*

Kandungan Nutrisi	Persentase (%)
Bahan kering	93,34
Bahan organik	64,95
Protein kasar	12,78
Serat kasar	67,43
lemak	0,95

Sumber: Berdasarkan analisis Laboratorium Nutrisi dan Teknik Pakan Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh (2023)

2. Fermentasi *Manure Layer*

Biokonversi *manure layer* dilakukan dengan cara: 10 g *manure layer* diinokulasikan dengan kapang dan khamir sesuai perlakuan sebagai berikut: (A) *Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae*, (B) *Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae*; (C) kombinasi *Trichoderma viride* + *Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae* dan (D) kombinasi *Aspergillus niger* + *Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae* diinkubasi pada suhu 30°C selama 9 hari. Pada perlakuan kombinasi kapang dilakukan secara berurutan dengan menumbuhkan kapang pertama selama 3 hari dilanjutkan dengan kapang kedua selama 3 hari. Kemudian dilanjutkan dengan inokulasi khamir *Saccharomyces*

cerevisiae pada semua perlakuan untuk produksi protein sel tunggal dengan inkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C kemudian dilakukan pemanenan.

3. Perlakuan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada *manure layer* adalah sebagai berikut:

A: *Manure layer* + *T. viride* + *S. cerevisiae*

B: *Manure layer* + *A. niger* + *S. cerevisiae*

C: *Manure layer* + *T. viride* + *A. niger* + *S. cerevisiae*

D: *Manure layer* + *A. niger* + *T. viride* + *S. cerevisiae*

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi kandungan bahan

kering, kandungan protein kasar, dan produksi protein sel tunggal. Data penelitian dianalisis menggunakan sidik ragam, dan jika terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

4. Pengujian Kandungan Bahan Kering

Analisis kandungan bahan kering diperoleh dari 100% dikurangi kadar air sesuai metode AOAC (2000). Cawan porselen dikeringkan dengan oven suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang beratnya (a gram), Kemudian sebanyak 1 g bahan dalam cawan porselen dikeringkan pada oven suhu 105°C selama 8 jam (b gram), kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang beratnya (c gram). Selisih berat awal dari berat bahan setelah dikeringkan menjadi dasar penentuan bahan kering.

$$\text{Kadar air} = \frac{a + b - c \text{ (g)}}{b \text{ (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Bahan Kering} = 100 \% - \text{Kadar air}$$

5. Pengujian Kandungan Protein Kasar

Analisis kandungan protein kasar dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl AOAC, (2000). Sampel ditimbang 1 g dan dimasukkan kedalam labu Kjeldahl 100 ml, lalu ditambahkan selenium $\frac{1}{2}$ sendok mikro dan 10 ml H_2SO_4 pekat. Kemudian didestruksi dalam lemari asam hingga larutan berwarna jernih lalu dinginkan. Hasil destruksi dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dan dibilas dengan aquades, kemudian ditambahkan aquades hingga tanda garis, lalu dikocok hingga homogen. Selajutnya dilakukan destilasi. Sebanyak 10 ml H_3BO_3 + 4 tetes indikator PP (fenolflalein) digunakan sebagai penampung. 10 ml aquades dimasukkan ke dalam labu destilasi, kemudian tambahkan 5 ml NaOH 33% dan 10 ml sampel (pipet gondok). Labu destilasi ditutup dan pemanas Bunsen

dinyalakan. Destilasi dilakukan hingga volume labu destilasi tinggal $\frac{1}{3}$ (habis $\frac{2}{3}$). Selanjutnya dititrasi dengan HCl 0,05 N. Kandungan protein kasar ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar Protein Kasar} = \frac{(v - B) \times N \times 0,014 \times 6,25 \times 10}{\text{Berat sampel}} \times 100$$

6. Pengujian Produksi Protein Sel Tunggal

Analisis produksi protein sel tunggal menggunakan metode (Lawry *et al.*, 1951) Sampel ditimbang sebanyak 5 g, lalu dilarutkan dalam 10 ml aquadest dan divortek selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian larutan dimasukkan dalam tabung dan disentrifuse pada 3.000 rpm selama 5 menit. Filtrat yang didapat diambil untuk analisa biomassa dan protein sel tunggal. Tabung *effendorf* kosong dikeringkan dalam oven suhu 60°C dan di timbang (a), pipet 1,5 ml filtrat (c) masukan ke botol *effendorf* dan disentrifuse pada 10.000 rpm selama 30 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 60°C dan ditimbang (b). Selisih berat *effendorf* kosong dengan berisi endapan merupakan produksi biomassa mikroba selama proses fermentasi. Pengukuran biomassa dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Biomassa: } \frac{b \text{ gr} - a \text{ gr}}{c \text{ gr}} \times 1000$$

Sampel biomassa kering ditambahkan 0,5 ml NaOH 1 N, kemudian dididihkan pada suhu 90°C selama 10 menit. Pada dua tabung reaksi, tabung 1 diisi 0,5 ml sampel dan tabung 2 diisi 0,5 ml aquades (blanko), masing-masing tabung ditambahkan 2,5 ml larutan Lawry B kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 10 menit, lalu ditambahkan 0,25 ml larutan Lowry A dan dihomogenkan kembali kemudian ditunggu selama 30 menit sebelum dibaca dengan spektrofotometer uv pada gelombang 380

nm dengan standar Bovine serum albumin (BSA). Produksi protein sel tunggal di hitung dengan rumus:

$$\text{Kadar protein} = \frac{\text{Absorbansi sampel} / \text{standarkonsentrasi absorbansi}}{1000} \times 10$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Rataan kandungan bahan kering, protein kasar dan produksi protein sel tunggal biokonversi *manure layer*.

Variabel	Perlakuan				SE	Nilai P
	A	B	C	D		
Bahan Kering(%)	61,77 ^a	60,59 ^a	44,43 ^b	46,15 ^b	0,02	<0,01
Protein Kasar (%)	17,33 ^b	21,68 ^a	18,51 ^b	20,47 ^a	0,39	<0,01
Produksi Protein Sel Tunggal (mg/ mL)	769 ^c	1.608 ^a	754	1.137 ^b	83,35	<0,01

Keterangan: Superskrip menunjukan perbedaan nilai yang signifikan antar perlakuan (P<0,01); Perlakuan A = *T. viride* + *S. cerevisiae*; B = *A. niger* + *S. cerevisiae*; C = *T. viride* + *A. niger* + *S. cerevisiae*; D = *A. niger* + *T. viride* + *S. cerevisiae*

1. Kandungan Bahan Kering (%)

Berdasarkan Tabel 2 analisis sidik ragam menunjukkan bahwa inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada *manure layer* berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap kandungan bahan kering biokonversi. Rataan kandungan bahan kering berkisar 44,43-61,77%, dimana perlakuan A dan B lebih tinggi (P<0,05) dibanding perlakuan C dan D.

Tingginya kandungan bahan kering pada perlakuan A dan B disebabkan karena jumlah mikroba yang diinokulasi ada dua jenis yaitu pada perlakuan A jenis *Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae* dan perlakuan B jenis *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Pada hasil ini ternyata kombinasi kedua jenis ini menunjukan pengaruh yang sama terhadap bahan kering biokonversi. Menurut Ramachandran *et al.* (2008) selama proses

Rataan kandungan bahan kering, kandungan protein kasar dan Produksi protein sel tunggal

Rataan kandungan bahan kering, kandungan protein kasar dan produksi protein sel tunggal dari biokonversi *manure layer* ditampilkan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kandungan bahan kering, protein kasar dan produksi protein sel tunggal untuk masing-masing perlakuan berpengaruh sangat nyata (P<0,01).

fermentasi berlangsung mikroorganisme akan menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi dan menghasilkan molekul air dan CO₂. Makanya pada perlakuan C dan D dengan 3 jenis mikroba menghasilkan bahan kering yang lebih rendah karena semakin banyak zat makanan yang dirombak sebagai sumber energi, akibatnya jumlah molekul air yang dihasilkan dari proses metabolisme kapang juga mengalami peningkatan (Merdekawani, 2013).

Selama proses fermentasi berlangsung, zat-zat makanan yang ada dalam substrat akan digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi. Karbohidrat golongan polisakarida berupa selulosa akan dijadikan sebagai sumber energi oleh mikroba dan dipecah menjadi glukosa (Gervais, 2008). Glukosa selanjutnya dipecah sampai terbentuk energi, disamping itu juga dihasilkan air dan karbondioksida,

sehingga kadar air meningkat dan bahan kering produk fermentasi menjadi rendah.

2. Kandungan Protein Kasar (%)

Berdasarkan Tabel 2 analisis sidik ragam menunjukkan bahwa inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada *manure layer* berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kandungan protein kasar biokonversi. Rataan kandungan protein kasar berkisar 17,33 - 20,68%, dimana perlakuan B dan D lebih tinggi ($P<0,05$) dibanding perlakuan C dan A. Artinya fermentasi dengan kombinasi kapang *Trichoderma viride* + *Saccharomyces cerevisiae* dan *Trichoderma viride* + *Aspergillus niger* dengan *Saccharomyces cerevisiae* memberikan hasil yang lebih tinggi pada kombinasi *Aspergillus niger* dengan *Saccharomyces cerevisiae*.

Tingginya persentase protein kasar dari biokonversi pada perlakuan B, dan D disebabkan aktivitas fermentasi menggunakan senyawa amida dan amina yang terkandung dalam *manure layer* menjadi biomassa mikroba, dimana biomassa mikroba berkontribusi sebagai sumber protein sehingga pada perlakuan B dan D ditemukan kandungan protein yang lebih tinggi. Amida dan amina merupakan senyawa sumber nitrogen bagi mikroba untuk pertumbuhannya (Ayodele *et al.*, 2024).

Peningkatan protein kasar terjadi karena adanya penambahan protein yang disumbangkan oleh sel mikroba akibat pertumbuhannya yang menghasilkan produk protein sel tunggal atau biomassa sel mikroba yang mengandung protein 45-85% (Zhang *et al.*, 2024).

3. Protein Sel Produksi Tunggal

Berdasarkan Tabel 2 analisis sidik ragam menunjukkan bahwa inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada *manure layer* berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap produksi protein sel tunggal dalam

biokonversi *manure layer*. Rataan produksi protein sel tunggal berkisar 754-1.608 mg/ml, dimana produksi PST perlakuan B dan D lebih tinggi ($P<0,05$) dibanding perlakuan A dan C.

Produksi PST yang tinggi pada perlakuan B dan D berhubungan erat dengan kadar protein dalam biokonversi, dimana biomassa mikroba menjadi kontribusi protein murni dalam biokonversi. Hasil perombakan amina dan amida dalam *manure* yang fiksasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* lebih baik pada perlakuan B dan D yaitu dari kapang *Aspergillus niger*.

Tingginya produksi protein sel tunggal dari biokonversi *manure layer* dengan bakteri *Aspergillus niger* + *Saccharomyces cerevisiae* pada perlakuan B dan D menunjukkan *Aspergillus niger* merupakan mikroba yang bisa bersimbiosis mutualisme dengan *Saccharomyces cerevisiae*, sejalan dengan penelitian (Khasanah *et al.*, 2022) kombinasi *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* menciptakan kondisi kompatibilitas dalam proses fermentasi. Pada proses fermentasi awal selama 6 hari dengan kapang *Aspergillus niger* menghasilkan gula reduksi yang lebih tinggi dibanding *Trichoderma viride* (Nadia, 2024 *unpublish*), kemudian gula reduksi akan dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* untuk pertumbuhannya bersama sumber nitrogen dari amida dan amina yang terkandung dalam *manure layer*.

Proses fermentasi awal dilakukan selama 6 hari disaat produksi puncak biomassa dan dilanjutkan dengan 3 hari *Saccharomyces cerevisiae* sebagai waktu optimum dari khamir dalam menghasilkan protein sel tunggal. Menurut Zhao *et al.* (2024) waktu pembiakan yang terlalu singkat akan menghasilkan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai protein sel tunggal dalam jumlah rendah karena biokonversi

komponen medium belum optimal. Sedangkan waktu pembiakan yang terlalu lama akan menyebabkan penurunan protein yang terakumulasi dalam PST akibat autobiodegradasi untuk memenuhi kebutuhan energinya sehubungan dengan ketersediaan nutrient dalam medium yang semakin tidak mencukupi.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan, inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada *manure layer* berpengaruh sangat nyata terhadap kandungan bahan kering, protein kasar dan produksi protein sel tunggal. Kombinasi terbaik didapatkan pada perlakuan B yaitu inokulasi kapang *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* yang memberikan produksi protein sel tunggal dan kandungan protein kasar tertinggi dibanding perlakuan lainnya.

Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan penggunaan biokonversi *manure layer* sebagai sumber pakan kaya protein sel tunggal untuk pakan ternak ruminansia. Penelitian taraf penggunaan dalam ransum, pencernaan dalam rumen secara *in vitro* dan pengaruh penggunaannya terhadap pertambahan bobot badan ternak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Simbelmawa DIKTI Kemendikbud yang telah membiayai penelitian ini melalui skim Program Kreativitas Mahasiswa Riset Eksakta (RE) dengan kontrak nomor: 088/SPK/D.D4/PPK.02.ATVP/VI/2023.

DAFTAR PUSTAKA

Anwar, N., Widjaja, A., & Winardi, S. (2010). Peningkatan untuk kerja hidrolisis enzimatis jerami padi menggunakan

campuran selulase kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Makara, Sains*, 14(2), 113-116. <https://scholarhub.ui.ac.id/science/vol14/iss2/3/>

AOAC. (2000). Official Method of Analysis Association of Official Analytical Chemist. Maryland.

Ayodele, T., Alarape, K., Bello, I. A., Tijani, A., Musiliu, L., & Hammed, A. (2024). Microbial protein production using lignocellulosic biomass (switchgrass) and *klebsiella oxytoca* M5A1 – A nitrogen fixer. *Sustainability*, 16(13), 5486. doi:<https://doi.org/10.3390/su16135486>

Beldman., Leeuwen, Rombouts, & Voragen. (1985). The Cellulase of *Trichoderma viride*: Purification, Characterization and Comparison of All Detectable Endoglucanases, Exoglucanases and β -glucosidases. *Eur. J. Biochem.* 146, 301-308. <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1432-1033.1985.tb08653.x>

Chee, J.Y., Lakshmanan, M., Jepeery, I.F., Hairudin, N.H.M., & Sudesh, K. (2019). Potensi penerapan nekator *cupriavidus* sebagai penghasil poli-hidroksialkanoat dan protein sel tunggal: Tinjauan dari sudut pandang ilmiah, budaya dan agama. *Bioteknologi Pangan Terapan*, 6, 19-34.

Daniel, D., Yustendi, & Fawwarahli. (2023). Pengaruh lama fermentasi menggunakan *aspergillus niger* dan urea terhadap kadar nutrisi ampas sagu (*Metroxylon sp*). *Jurnal Peternakan Lokal*, 5(1), 54-59. <https://doi.org/10.46918/peternakan.v5i1.1713>

Gervais, P. (2008). Water relations in solid state fermentation. In: pandey A. C. R. soccol, C. Larroche, editor. Current Developments in Solid-State Fermentation. Asiatech Publisher Inc,

- New Delhi.
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-75213-6_5
- Hang, T. N., Hilmarsdóttir, G. S., Tómasson, T., Arason, S., & Gudjónsdóttir, M. (2022). Changes in protein and non-protein nitrogen compounds during fishmeal Processing – Identification of unoptimized processing steps. *Processes*, 10(4), 621. doi:<https://doi.org/10.3390/pr10040621>
- Helda, C.S. (2012). Fermentasi kotoran kambing dan ayam dengan nira lontar sebagai pakan ayam. *Partner* 19, 112-120.
 DOI: <http://dx.doi.org/10.35726/jp.v19i1.119>
- Juliastuti, Aldino, Fanandy, Nuniek & Sumarno. (2008). Penurunan kadar lignin dari tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dan Pemecahan Material Selulosa untuk Pembentukan Glukosa dengan Proses Fungal Treatment. *Jurnal Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, 16.
- Khasanah, H., Widianingrum, D. C., Purnamasari, L., Wafa, A., & Hwang, S. G. (2022). Evaluation of coffee bean husk fermented by a combination of *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum*, and *Saccharomyces cerevisiae* as animal feed. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan (Indonesian Journal of Animal Science)*, 32(3), 416-426. <https://jiip.ub.ac.id/index.php/jiip/article/view/2578>
- Khatoon, H., Banerjee, S., Guan Yuan, GT, Haris, N., Ikhwanuddin, M., Ambak, MA, & Endut, A. (2016). Bioflok sebagai pakan alami yang potensial untuk postlarva udang. *Biodeteriorasi dan Biodegradasi Internasional*, 113, 304-309. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.006>
- Kopec M, Gondek, K., Mierzwa-Hersztek, M., Antonkiewicz, J. (2018). Factors influencing chemical quality of composted poultry waste. *Saudi J Biol Sci*, 25, 1678-1686. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.09.012.
- Lawry, O. H., Rosebrought, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein Measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 193, 256-275.
- Merdekawani, S., & Kasmiran, A. (2013). Fermentasi limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao* l) dengan *Aspergillus niger* terhadap kandungan bahan kering dan abu. *Jurnal Lentera*, 2(13), 37-42. <https://www.neliti.com/publications/148051/fermentasi-limbah-kulit-buah-kakao-theobroma-cacao-l-dengan-aspergillus-niger-te>
- Meryandini, A., Basri, A., & Sunarti, T. C. (2019). Peningkatan kualitas biji kakao (*Theobroma cacao* L) melalui fermentasi menggunakan *Lactobacillus* sp. dan *Pichia kudriavzevii*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 6(1), 11-19. <https://ejournal.brin.go.id/JBBI/article/view/1760>
- Nasseri, Rasoul-Amini, Morowvat, & Ghasemi. (2011). Single Cell Protein: Productin and Process. *American Journal of Food Technology*, 6(2), 103-116. DOI: 10.3923/ajft.2011.103.116
- Pamungkas, G.S., Sutarno, & Mahajoeno, E. (2012) Fermentasi lumpur digestat kotoran ayam petelur dengan kapang *Aspergillus niger* untuk sumber protein pada ransum ayam. *Bioteknologi*, 9, 26- 34. doi: 10.13057/biotek/c090105.
- Patthawaro, S., & Saejung, C. (2019). Production of single cell protein from manure as animal feed by using photosynthetic bacteria. *Microbiology Open*, 8(12) doi:<https://doi.org/10.1002/mbo3.913>

- Ramachandran, S., Fontanille, P., Pandey, A. & Larroche, C. (2008). Fed-batch production of gluconic acid by terpene-treated *Aspergillus niger* spores. *Applied Biochem. Biotech.* 151, 413-42
<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-008-8209-0>
- Reihani, SFS., & Khosravi- Darani, K. (2018). Produksi mikoprotein dari penggunaan limbah kurma *Fusarium venenatum* dalam budaya yang tenggelam. *Bioteknologi Pangan Terapan*, 5, 243-252.
- Reis, Bassi, Silva, & Ceccato-Antonini. (2013). Characteristics of *saccharomyces cerevisiae* yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), 1121-1131.
<https://www.scielo.br/j/bjm/a/WRb4HpYPCgTQYYvS69j43jR/?lang=en>
- Yahya, R., Irwan, M., Armayani, M. (2023). Pengaruh lama fermentasi tumpi jagung menggunakan yakult sebagai alternatif pengolahan pakan ternak ruminansia. *Jurnal Peternakan Lokal*, 5(2), 95-104.
<https://doi.org/10.46918/peternakan.v5i2.1876>
- Zhang, Z., Chen, X & Gao, L. (2024). New strategy for the biosynthesis of alternative feed protein: Single-cell protein production from straw-based biomass. *GCB Bioenergy*, 16(2), 1-18.
doi:<https://doi.org/10.1111/gcbb.13120>
- Zhao, M., Ma, J., Zhang, L. & Qi, H. (2024). Engineering strategies for enhanced heterologous protein production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*, 23(32), 9-16.
<https://doi.org/10.1186/s12934-024-02299-z>