

ABSTRAK

Potensi Bakteri *Bacillus sp* Selulolitik Serasah Hutan Dalam Peningkatan Kualitas Onggok sebagai Pakan Dan Aplikasinya Terhadap Peningkatan Produktivitas Ternak Unggas

Bacillus sp selulolitik sebagai inokulum dapat meningkatkan kualitas onggok sebagai pakan ternak. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Penyidik Penyakit Veteriner (BPPV) Wilayah II Bukittinggi Sumatera Barat dan Laboratorium Nutrisi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Penelitian terdiri dari 2 tahap, yaitu tahap penentuan pengembangan inokulum dan tahap kedua menentukan kondisi fermentasi onggok optimal.

Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa empelur sagu merupakan medium pengembangan inokulum yang terbaik dibandingkan dengan tepung jagung, tepung onggok dan tepung dedak padi dengan rataan jumlah koloni (cfu) $3,46 \times 10^9$ cfu /gram pH 4.91. Kondisi fermentasi optimal onggok dengan *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* didapat pada dosis inokulum 6%, lama fermentasi 6 hari, suhu 40°C, kadar air 65% dan ukuran partikel 1 mash dimana meningkatkan kandungan protein kasar 360% dan menurunkan serat kasar 32%. Retensi nitrogen onggok fermentasi dengan *Bacillus sp1* didapatkan 65.37% dan energi metabolisme 2217 kkal/kg, dengan *Bacillus sp2* didapatkan 66.65% dan energi metabolisme 2190 kkal/kg. Kandungan asam amino onggok fermentasi dengan *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* meningkat dibandingkan dengan sebelum fermentasi dan pada fermentasi dengan *Bacillus sp1* dihasilkan asam amino arginin serta pada fermentasi dengan *Bacillus sp2* dihasilkan asam amino arginin dan prolin.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* dapat meningkatkan kualitas onggok sebagai pakan unggas.

Kata kunci : *Bacillus sp*, Inokulum, Fermentasi, Onggok

PENDAHULUAN

Berbagai pengolahan terhadap bahan pakan berserat tinggi yang dilakukan untuk meningkatkan efisiensi penggunaan pakan, seperti pengolahan secara fisik, kimia dan biologi atau kombinasinya (fermentasi). Schuler dan Kargi (1992), fermentasi merupakan suatu proses yang terjadi melalui kerja mikro organisme atau enzim untuk mengubah bahan-bahan organik kompleks seperti protein, karbohidrat, dan lemak menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dan mudah dicerna. Fermentasi juga dapat mengubah rasa dan aroma yang tidak disukai menjadi disukai, mempercepat pemasakan

dan dalam hal tertentu menambah daya tahan. Pengolahan secara fermentasi dengan menggunakan kapang mempunyai suatu kelemahan dimana hifa dari kapang tersebut merupakan serat kasar sehingga kandungan serat kasar substrat tetap tinggi.

Bacillus sp ditemukan diserasah hutan gambut dan diketahui sebagai penghasil enzim selulase dimana diperoleh aktifitas enzim C_x yaitu 0,873 Unit/ml dan C₁ yaitu 0,259 Unit/ml (Wizna, 2003). Enzim ini diharapkan mampu merombak dan mengubah molekul yang masih kompleks menjadi komponen molekul yang lebih sederhana terutama molekul lignoselulosa yang merupakan faktor pembatas dalam pakan ternak unggas. Bakteri sebagai inokulum memerlukan waktu lebih sedikit dibandingkan kapang dalam proses fermentasi karena waktu generatifnya lebih cepat yaitu berkisar antara 1-2 jam, sedangkan kapang 3 sampai 6 hari (Fardiaz, 1989).

Untuk memperoleh hasil fermentasi yang baik diperlukan pengembangan inokulum dengan kondisi fermentasi yang optimum. Artinya harus ada jaminan perkembangan mikroba yang aktif yang berasal dari inokulum pada kondisi yang sesuai untuk menjalankan fermentasi. Kondisi lingkungan yang ideal untuk aktivitas bakteri pengurai selulosa serasah adalah pH berkisar 4-6, kelembaban 50-90% dan suhu 25-33°C (Sutedjo *dkk*, 1991). Pritchett (1979), kisaran suhu antara 25 – 30°C sangat baik untuk pertumbuhan bakteri tanah. Bakteri *Bacillus spp* tumbuh di bawah kondisi aerobik sampai anaerobik fakultatif, berukuran lebar 0,3-2,2 mikron panjang 1,2-7 mikron (Wilson, 1966; Bonang dan Koeswardono, 1982). Karakteristik yang unik adalah menghasilkan spora tahan panas. Kondisi yang kurang cocok untuk perkembangan mikroba akan menghambat proses fermentasi, bahkan bisa merangsang tumbuhnya mikroba lain yang tidak dikehendaki. Untuk itu diperlukan kondisi tertentu seperti dosis inokulum, suhu fermentasi, pH substrat, kepekatan substrat dan kepekatan sumber makanan untuk tumbuhnya mikroba (Standbury dan Whitaker, 1984).

METODE PENELITIAN

Penentuan Pengembangan Inokulum *Bacillus sp*

Pada percobaan tahap ini untuk pembuatan inokulum mengacu kepada metode pembuatan probiotik dari ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*) dan jumlah bakteri dihitung dengan metode "plate count" menurut Alexander (1961). Metode untuk

fermentasi onggok mengacu kepada metode pembuatan produk-produk fermentasi pangan seperti pembuatan tempeh, oncom dan sebagainya (Fardiaz, 1989).

Isolat *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* diperoleh dari perbanyakan biakan murni kedua *Bacillus sp*. Kedalam satu petri yang berisi biakan tersebut dimasukkan 10 cc air suling steril, dikocok dengan memakai vortex sehingga diperoleh suspensi inokulum *Bacillus sp*, lalu dimasukkan kedalam erlemeyer, kemudian tambahkan 50 ml air suling, didapatkan suspensi untuk pembuatan inokulum media padat.

Jagung giling, empelur sagu, dedak dan onggok masing-masing sebanyak 100 gram sebagai pengembang inokulum media padat dimasukkan kedalam erlemeyer (250 cc), lalu disterilkan di dalam autoklav selama 15 menit pada suhu 120°C. Kemudian suhu diturunkan sampai sekitar 27°C, ditambahkan suspensi inokulum *Bacillus sp* dan aquades sebanyak 0,5 kali volume media pengembang dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Inokulum dikeringkan dalam oven pada suhu 40-45°C sehingga diperoleh bentuk bubuk yang akan digunakan untuk fermentasi onggok.

Pemilihan media inokulum yang terbaik berdasarkan jumlah koloni yang terbanyak dari masing-masing media. Konsentrasi inokulum *Bacillus sp* dihitung dengan menggunakan metode pembiakan pengenceran (Lay, 1994). Ambil 1 gram sampel kemudian dilakukan pengenceran 10^{-10} . Pipet 1 ml hasil pengenceran dan tuangkan ke dalam cawan petri yang berisi medium NA dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Semua perlakuan diulang 4 kali.

Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dihitung dengan menggunakan alat penghitung koloni. Total *Bacillus sp/gr* diperoleh dengan mengalikan banyaknya rata-rata koloni yang ditemukan dengan faktor pengenceran. Jumlah sel bakteri *Bacillus sp* dinyatakan dalam satuan pembentukan koloni (SPK) atau colony forming unit (CFU). Dari hasil perhitungan jumlah sel *Bacillus sp* (CFU) diperoleh media inokulum yang terbaik. Kemudian dilakukan perbanyakannya pembuatan media inokulum yang digunakan untuk fermentasi.

Penentuan Kondisi Fermentasi Optimal

Percobaan tahap ini dilakukan fermentasi terhadap onggok menggunakan bakteri *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* sebagai inokulum untuk melihat kondisi fermentasi

optimal. Substrat yang digunakan sebagai medium fermentasi adalah onggok dengan kandungan serat kasarnya 14% dan protein kasar 2,5%.

Pemilihan dosis inokulum, lama, suhu, ukuran partikel substrat dan kadar air fermentasi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimal fermentasi kedua *Bacillus sp* agar dihasilkan enzim selulase maksimal sehingga diperoleh penurunan serat kasar substrat pada tingkat maksimal. Dilakukan dua tingkat percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial $3 \times 3 \times 3$ dengan 2 ulangan untuk percobaan I dan 3×3 dengan 2 ulangan untuk II. Percobaan I menggunakan dosis inokulum (D) faktor I, lama fermentasi (L) faktor II, dan suhu fermentasi (S) faktor III.

Dosis inokulum (D1) yaitu D1 = 2%, D2 = 6% dan D3 = 10%.

Lama fermentasi (L) yaitu L1 = 3 hari, L2 = 6 hari dan L3 = 9 hari.

Suhu fermentasi (S) yaitu S1 = 30°C , S2 = 40°C dan S3 = 50°C

Percobaan tingkat II, kadar air (A) faktor I dan ukuran partikel (B) faktor II.

Ukuran Partikel (T) yaitu T1 = 1 mash T2 = 1,5 mash dan T3 = 2 mash

Kadar air (A) yaitu A1 = 55%, A2 = 60% dan A3 = 65 %.

Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (Steel dan Torrie, 1980).

Perbedaan antar perlakuan diuji dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

Penetuan Kualitas Produk Onggok Fermentasi

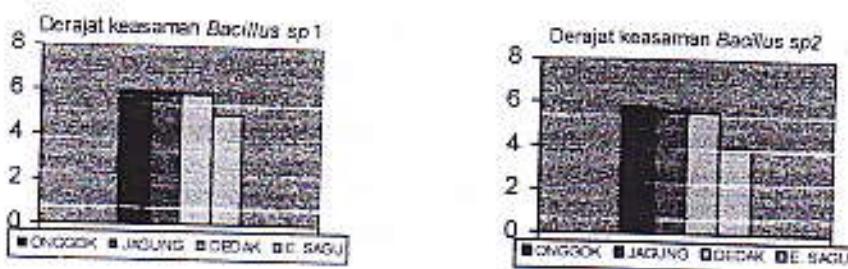
Pada percobaan tahap ini dilakukan fermentasi onggok dengan menggunakan bakteri kedua *Bacillus sp* sebagai inokulum. Kondisi fermentasi (dosis inokulum, lama, suhu, ukuran partikel substrat dan kadar air fermentasi) berdasar hasil terbaik dari percobaan sebelumnya. Produk fermentasi dianalisis perubahan kandungan nutrisinya yaitu kadar air, protein kasar, serat kasar, kandungan asam amino, energi metabolisme dan kualitas protein (mengukur retensi nitrogen).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengembangan Inokulum

Derajat keasaman terendah diperoleh pada medium pengembangan empelur sagu *Bacillus sp1* yaitu sebesar 4,91 diikuti oleh dedak padi 5,85, onggok 5,91 dan jagung

5,94 dan untuk *Bacillus* sp2 sebesar 4,01 diikuti oleh dedak padi 5,55, onggok 5,79 dan jagung 5,62.



Gambar 4. Derajat Kasaman *Bacillus* sp1 dan sp2 Beberapa Jenis Pengembang

Berdasarkan uji lanjut pH medium empelur sagu berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan pH medium dedak, onggok dan jagung, sedangkan pH medium dedak, onggok dan jagung satu sama lainnya berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) untuk kedua spesies *Bacillus*. Rendahnya derajat keasaman (pH) empelur sagu, diduga terbentuknya senyawa asam yang lebih tinggi dibandingkan medium lain, hal ini diketahui dengan adanya bau asam yang menyengat pada media tersebut. Senyawa asam yang terbentuk berhubungan erat dengan tingginya jumlah koloni yang tumbuh pada medium tersebut yaitu sebesar $3,46 \times 10^6$ cfu/gram, sehingga zat makanan yang terdapat dalam media lebih cepat dan sempurna dirombak menjadi senyawa asam salah satunya , akibarnya pH media pengembang menjadi turun. Bequin *et al.* (1994) bahwa kondisi optimum reaksi enzim selulase dengan substrat CMC diperoleh pada pH 4,8 dan suhu 44 °C

Rataan jumlah koloni bakteri *Bacillus* sp1 yang ditumbuhkan pada medium pengembang umur 18 jam dapat dilihat pada Gambar. 4 dibawah ini :



Gambar 5. Jumlah Koloni *Bacillus* sp1 dan *Bacillus* sp2 (10^6 cfu/gram)

Empelur sagu merupakan medium pengembang yang paling baik untuk menghasilkan jumlah koloni bakteri terbanyak pada kedua spesies *Bacillus*. Jumlah koloni bakteri *Bacillus sp1* yaitu sebesar $3,46 \times 10^9$ cfu/gram diikuti oleh dedak padi ($2,77 \times 10^9$ cfu/gram), onggok ($2,39 \times 10^9$ cfu/gram) dan jagung ($2,15 \times 10^9$ cfu/gram) dan *Bacillus sp2* yaitu sebesar $2,79 \times 10^9$ cfu/gram diikuti oleh jagung ($2,21 \times 10^9$ cfu/gram) dedak padi ($2,02 \times 10^9$ cfu/gram) dan onggok ($1,72 \times 10^9$ cfu/gram). Hasil analisis ragam memperlihatkan bahwa pemberian jenis medium pengembang berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap jumlah koloni bakteri *Bacillus sp*. Hal ini diduga karena kandungan zat nutrisi masing-masing medium pengembang berbeda satu sama lainnya. Walaupun seluruh medium pengembang relatif dapat menyediakan nutrisi yang berguna bagi pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan uji lanjut jumlah koloni bakteri empelur sagu berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan jumlah koloni bakteri dedak, onggok dan jagung, dan dedak berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap onggok dan jagung. Tetapi perlakuan jagung dengan onggok tidak berbeda nyata ($P>0,05$) pada *Bacillus sp1*. Hal ini disebabkan mikroba lebih banyak merombak dan memamfaatkan pati dan selulosa yang lebih kaya pada medium empelur sagu dan dedak dibandingkan medium onggok dan jagung sebagai sumber energi bagi pertumbuhan mikroba. Sebaliknya jumlah koloni bakteri dedak pada *Bacillus sp2* berbeda sangat nyata ($P<0,01$) dengan jumlah koloni bakteri empelur sagu, onggok dan jagung. Hal ini disebabkan medium dedak lebih sedikit mengandung pati dan selulosa sebagai sumber energi bagi pertumbuhan mikroba dibandingkan medium empelur sagu, onggok dan jagung. Suhartono (1989) menyatakan bahwa mikroba memerlukan energi untuk pertumbuhannya, dan sumber energi pada fermentasi medium padat biasanya menggunakan ampas tapioka, jerami padi, dedak, tongkol jagung dan lain-lain (limbah pertanian). Tingginya jumlah koloni tersebut juga disebabkan oleh area permukaan medium empelur sagu lebih besar, akibatnya pemamfaatan oksigen dan penyerapan air lebih sempurna sehingga medium sesuai dengan kondisi pertumbuhan mikroba. Buckle dkk, (1987) mengatakan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan mikroba antara lain adalah kandungan air bahan, suhu, lama penyimpanan, pH, dan ketersediaan oksigen.

Penentuan Kondisi Fermentasi Optimal *Bacillus Sp*

Pengaruh Dosis Inokulum, suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Bahan Kering Onggok Fermentasi

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi interaksi ($P>0.05$) antara suhu dan dosis inokulum terhadap kandungan bahan kering onggok fermentasi. Hasil uji DMRT menunjukkan perlakuan dengan pembarian dosis inokulum 6% dan lama fermentasi 6 hari dan suhu 40°C (A2B2C2) memberikan kandungan bahan kering terendah untuk kedua spesies *Bacillus* yaitu 45.140% untuk *Bacillus sp1* dan 39.14% untuk *Bacillus sp2*.

Tabel 1. Rataan Bahan Kering Onggok Fermentasi dengan *Bacillus sp1* pada Interaksi Dosis Inokulum, suhu dan Lama Fermentasi (%)

Dosis (A) (%) ^a	Lama (B) (hari)	Suhu(C)		
		30°C	40°C	50°C
(A1)2	(B1)3	49.110 ^{bB}	48.145 ^{aC}	49.700 ^{aA}
	(B2)6	47.860 ^{bB}	45.500 ^{cC}	49.655 ^{aA}
	(B3)9	46.725 ^{abB}	45.640 ^{cC}	48.070 ^{aA}
(A2)6	(B1)3	47.575 ^{bB}	47.545 ^{bbB}	49.270 ^{aA}
	(B2)6	47.075 ^{cB}	45.140 ^{aaC}	48.965 ^{bA}
	(B3)9	46.315 ^{abB}	45.490 ^{cC}	47.315 ^{aA}
(A3)10	(B1)3	47.070 ^{ab}	47.530 ^{bbB}	48.840 ^{aA}
	(B2)6	46.255 ^{ab}	44.695 ^{dc}	48.480 ^{deA}
	(B3)9	45.700 ^{ab}	44.625 ^{dc}	47.680 ^{ca}

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Penurunan kandungan bahan kering ini disebabkan karena pada kondisi ini proses fermentasi berlangsung dengan baik sehingga metabolisme terjadi dengan baik untuk pertumbuhan mikroba, dan akan semakin banyak pula air yang dihasilkan sebagai hasil sampingan dari metabolisme, sehingga meningkatkan kadar air produk fermentasi dan akan menurunkan bahan kering onggok. Hal ini sesuai dengan pendapat Fardiaz (1987) yang menyatakan bahwa mikroorganisme menggunakan karbohidrat sebagai

sumber energi setelah dipecah menjadi glukosa, pemecahan glukosa dilanjutkan sampai akhirnya terbentuknya energi dan juga molekul air dan karbondioksida.

Tabel 2. Rataan Bahan Kering Onggok Fermentasi dengan *Bacillus* sp 2 pada Interaksi Dosis Inokulum, suhu dan Lama Fermentasi (%)

Dosis (A) (%)	Lama (B) (hari)	Suhu(C)		
		30°C	40°C	50°C
(A1)2	(B1)3	43.11 ^{ab}	42.14 ^{ac}	44.70 ^{bc}
	(B2)6	41.57 ^{bcd}	41.54 ^{bb}	43.27 ^{aA}
	(B3)9	41.07 ^{ab}	41.53 ^{bc}	42.84 ^{cA}
(A2)6	(B1)3	41.86 ^{ab}	39.50 ^{ab}	43.65 ^{abA}
	(B2)6	41.07 ^{ab}	39.14 ^{cdC}	42.96 ^{bca}
	(B3)9	40.25 ^{ab}	38.69 ^{cd}	42.48 ^{bA}
(A3)10	(B1)3	40.72 ^{ab}	39.64 ^{cd}	42.07 ^{cA}
	(B2)6	40.31 ^{ab}	39.49 ^{cd}	41.31 ^{deA}
	(B3)9	39.70 ^{hi}	38.62 ^{cd}	41.68 ^{ba}

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Sebagian air akan keluar dari produk dan sisanya akan tertinggal dalam produk, air yang tertinggal inilah yang menyebabkan kadar air produk fermentasi menjadi meningkat sehingga kandungan bahan kering onggok menjadi berkurang. Selanjutnya penurunan kandungan bahan kering ini diduga pada kondisi ini proses metabolisme mikroorganisme mencapai titik optimum, sebab pada kondisi lain terlihat penurunan aktivitas mikroorganisme yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan kandungan bahan kering. Namun secara umum dengan meningkatnya dosis inokulum dan lama fermentasi dapat menurunkan kandungan bahan kering onggok fermentasi.

Pengaruh Dosis Inokulum, suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Protein Kasar Onggok Fermentasi

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi ($P>0.05$) antara dosis inokulum, suhu dan lama fermentasi terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi untuk *Bacillus* sp 1 dan sebaliknya terjadi interaksi ($P>0.05$) antara dosis

inokulum, suhu dan lama fermentasi terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi untuk *Bacillus sp2*.

Fermentasi dengan *Bacillus sp1* untuk masing-masing kombinasi faktor dosis inokulum dan lama fermentasi, faktor dosis inokulum dan suhu serta lama fermentasi dan suhu memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$) terhadap kandungan protein kasar onggok.

Tabel 3. Rataan Protein Kasar Onggok Fermentasi dengan *Bacillus sp 1* pada Interaksi Dosis Inokulum dan Lama Fermentasi (%)

Lama (B) (hari)	Dosis (A) (%)		
	(A1)2	(A2)6	(A3)10
(B1)3	4.16 ^b	5.17 ^e	6.12 ^c
(B2)6	5.80 ^f	6.35 ^e	7.62 ^c
(B3)9	6.93 ^c	8.30 ^b	8.74 ^a

Keterangan: Superskrip menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Kandungan protein kasar substrat sebelum fermentasi adalah 1.87% dan kandungan protein kasar tertinggi setelah fermentasi diperoleh pada kombinasi perlakuan pada dosis 10% dan lama fermentasi 9 hari yaitu 8.74%, hal ini disebabkan terutama oleh pertumbuhan mikroba yang maksimal pada saat itu karena kondisi yang dikehendaki cocok untuk perkembangan mikroba terutama kepekatan substrat dan kepekatan sumber makanan untuk tumbuhnya mikroba (Standbury dan Whitaker, 1984). Populasi mikroba yang tinggi menghasilkan protein kasar yang tinggi pula karena tubuh mikroba sebagian besar terdiri dari protein. (Crueger, et al. 1984), kadar protein berbagai jenis mikroorganisme berbeda, bakteria mengandung protein 70-78%. Selanjutnya, proses fermentasi dapat dikatakan sebagai proses protein enrichment yang mengandung pengertian proses pengkayaan protein bahan dengan menggunakan mikroorganisme tertentu. Selanjutnya dijelaskan pula bahwa proses protein enrichment identik dengan pembuatan Single Cell Protein atau Protein Sel Tunggal (PST), hanya saja pada protein enrichment tidak dilakukan pemisahan sel mikroba dari substrat yang tumbuh dengan sisa substratnya.

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan A3 dan B3 (latma 9 hari dan dosis 10%) kandungan protein kasarnya lebih tinggi dibandingkan kombinasi perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan pada kombinasi perlakuan A3B3 merupakan kombinasi perlakuan yang optimal bagi pertumbuhan mikroba dimana pada hari ke 8-9 merupakan fase pertumbuhan eksponensial kedua mikroba dan diikuti oleh jumlah inokulum paling tinggi (10%).

Tabel 4. Rataan Protein Kasar Onggok Fermentasi dengan *Bacillus* sp 1 pada Interaksi Dosis Inokulum dan Suhu Fermentasi (%)

Suhu (C) (C°)	Dosis (A) (%)		
	(A1)2	(A2)6	(A3)10
(C1)30	5.44 ^e	6.84 ^e	7.98 ^a
(C2)40	6.50 ^d	7.41 ^b	8.28 ^a
(C3)50	4.95 ^f	5.58 ^c	6.22 ^d

Keterangan: Superskrip menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Pada kombinasi perlakuan lainnya mikroba berada dalam fase pertumbuhan lambat dan mikroba sudah ada yang mati tetapi jumlah yang hidup tetap lebih banyak dari yang mati sehingga kandungan protein kasar substrat meningkat karena berasal dari sumbangan protein tubuh mikroba. Hal ini sesuai dengan pendapat Fardiaz (1988) bahwa selama proses fermentasi mikroba akan menghasilkan enzim, dimana enzim tersebut merupakan protein (Pelezar dan Chan, 1996).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi interaksi ($P>0.05$) antara suhu dan dosis inokulum terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi, hasil uji DMRT pada masing-masing kombinasi perlakuan memberikan hasil yang berbeda sangat nyata ($P<0.01$). Pada penelitian ini antara dosis inokulum 2%, 6%, dan 10% terlihat peningkatan kandungan protein kasar. Peningkatan kandungan protein kasar ini disebabkan karena semakin tinggi dosis inokulum yang diberikan maka semakin cepat proses fermentasi berlangsung, maka semakin banyak substrat yang dirombak oleh mikroba sehingga protein kasar onggok fermentasi menjadi meningkat. Dengan meningkatnya dosis inokulum bakteri *Bacillus* sp banyak yang tumbuh yang menghasilkan enzim protease yang berfungsi memecah protein menjadi asam amino.

Asam amino ini nantinya dimanfaatkan untuk membentuk protein dari tubuh bakteri itu sendiri yang akhirnya akan menyumbang protein kesubstrat, sehingga protein kasar produk fermentasi meningkat. Menurut Hardjo (1989), bahwa bakteri menyumbangkan 50 - 80 % protein yang berasal dari tubuh bakteri itu sendiri. Menurut Fardiaz (1988), bahwa selama proses fermentasi mikroba akan mengeluarkan enzim, yang mana enzim tersebut adalah protein dan mikroba itu sendiri merupakan protein sel tunggal.

Pada faktor suhu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi dari rataan kandungan protein kasar onggok fermentasi menunjukkan dengan perlakuan suhu fermentasi 30°C (B1), 40°C (B2), 50°C (B3) akan terlihat perubahan kandungan protein kasar onggok fermentasi.

Pada suhu fermentasi 30°C (B1) dan 40°C (B2), terlihat peningkatan kandungan protein kasar yang cukup tinggi dibandingkan dengan suhu 50°C (B3). Hal ini karena pada suhu fermentasi 30°C dan 40°C merupakan suhu optimum aktivitas mikroba sehingga banyak substrat yang dirombak. Hal ini juga diduga karena enzim protease yang dihasilkan bakteri meningkat seiring dengan meningkatnya suhu fermentasi. Dengan meningkatnya enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri dapat meningkatkan kandungan protein kasar pada substrat. Hal ini sesuai dengan Fardiaz (1988), bahwa dalam proses fermentasi mikroba menghasilkan enzim, enzim tersebut adalah protein dan mikroba itu sendiri merupakan sumber protein. Buckle dkk (1985) menyatakan bahwa apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Menurut Minarno (1982) semakin tinggi suhu semakin naik laju reaksi yang dikatalis oleh enzim, hampir semua enzim mempunyai aktifitas optimal pada suhu $30^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$, sedangkan pada suhu yang melebihi suhu optimal pertumbuhan mikroba dapat terjadi kerusakan struktur protein yang memegang peranan kunci dalam metabolisme dan pertumbuhan sel. Pada suhu yang terlalu rendah, aktivitas matabolisme sel menurun dengan cepat, sehingga produk metabolisme yang dihasilkan juga menurun.

Tabel 5. Rataan Protein Kasar Onggok Fermentasi dengan *Bacillus* sp I pada Interaksi Suhu dan Lama Fermentasi (%)

Lama (B) (hari)	Suhu (C) (C°)		
	(C1)30	(C2)40	(C3)50
(B1)3	5.36 ^c	5.57 ^a	4.53 ^e
(B2)6	6.83 ^d	7.36 ^c	5.57 ^e
(B3)9	8.06 ^b	9.26 ^a	6.65 ^d

Keterangan: Superskrip menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi interaksi ($P>0.05$) antara suhu dan lama fermentasi terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi. Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan C2B3 kandungan protein kasarnya lebih tinggi dibandingkan kombinasi perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan pada kombinasi perlakuan C2B3 kesempatan mikroba untuk tumbuh lebih lama dan menghasilkan enzim dalam jumlah yang banyak, disamping itu tubuh mikroba merupakan protein sel tunggal (Hardjo *et al.*, 1989) sehingga protein kasar substrat onggok fermentasi meningkat Sesuai dengan pendapat Fardiaz (1988) bahwa selama proses fermentasi mikroba akan menghasilkan enzim, sehingga protein kasar meningkat. Pada suhu fermentasi 40°C terjadi peningkatan kandungan protein kasar yang cukup tinggi dibandingkan dengan suhu fermentasi 30°C dan 50°C, hal ini disebabkan pada suhu tersebut merupakan suhu optimal aktifitas mikroba sehingga banyak dihasilkan enzim, dimana enzim tersebut merupakan protein (Pelezar and Chan, 1989). Pada perlakuan kombinasi lainnya waktu yang dibutuhkan mikroba untuk tumbuh lebih pendek dibandingkan perlakuan C2B3, sehingga mikroba yang tumbuh sedikit, enzim yang dihasilkan sedikit dan sumbangan protein tubuh mikroba juga sedikit. Kandungan protein tertinggi diperoleh pada lama 9 hari dan suhu 40°C yaitu 9,26%.

Hasil uji lanjut memperlihatkan terjadi kenaikan kandungan protein kasar yang berbeda sangat nyata dari sebelum fermentasi dibandingkan dengan setelah fermentasi ($P<.01$) sedangkan peningkatan protein kasar selama fermentasi berbeda nyata ($P<.05$).

Tabel 6. Rataan Protein Kasar Fermentasi dengan *Bacillus* sp 2 pada Interaksi Dosis Inokulum, suhu dan Lama Fermentasi (%)

Dosis (A) (%) ^y	Lama (B) (hari)	Suhu(C)		
		30°C	40°C	50°C
(A1)2	(B1)3	4.11 ^{ab}	4.44 ^{ac}	4.10 ^{aA}
	(B2)6	5.57 ^{bcd}	5.54 ^{bb}	5.27 ^{aA}
	(B3)9	5.07 ^{cde}	6.53 ^{bc}	5.84 ^{cA}
(A2)6	(B1)3	5.86 ^{ab}	5.50 ^{bB}	5.65 ^{abA}
	(B2)6	6.07 ^{cde}	7.14 ^{cdC}	5.96 ^{bca}
	(B3)9	7.25 ^{eH}	7.69 ^{dc}	6.48 ^{dA}
(A3)10	(B1)3	6.72 ^{de}	7.64 ^{cB}	7.07 ^{ch}
	(B2)6	8.31 ^{eb}	8.49 ^{ec}	7.31 ^{deA}
	(B3)9	8.70 ^{eb}	9.62 ^{dc}	7.68 ^{de}

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Pengaruh Dosis Inokulum, suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Serat Kasar Onggok Fermentasi

Hasil analisis statistik terlihat adanya interaksi antara dosis inokulum, suhu dan lama fermentasi terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P<0.05$).

Hasil uji lanjut terhadap kombinasi dosis inokulum, lama dan suhu fermentasi terlihat perbedaan yang sangat nyata terhadap kandungan serat kasar ($P<.01$). Perlakuan dengan pemberian dosis inokulum 6% dan lama fermentasi 6 hari dan suhu 40°C^d (A2B2C2) memberikan kandungan serat kasar terendah untuk *Bacillus* sp1 yaitu 10.34% dan 10.13% untuk *Bacillus* sp2. Kandungan serat kasar substrat sebelum fermentasi adalah 14.81%. Pada dosis inokulum 6% dan lama fermentasi 6 hari dan suhu 40°C^d (A2B2C2). Terjadinya penurunan kandungan serat kasar ini menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba yang tinggi pada perlakuan tersebut sehingga menghasilkan enzim setulase maksimal, kemudian pada kombinasi perlakuan lain

terjadi penurunan populasi mikroba dengan berkurangnya nutrien dalam substrat fermentasi dan diiringi penurunan aktivitas enzim selulase.

Tabel 7. Rataan Serat Kasar Onggok Fermentasi dengan *Bacillus sp1* pada Interaksi Dosis Inokulum, Suhu dan Lama Fermentasi (%)

Dosis (A) (%) [/]	Lama (B) (hari)	Suhu(C°)		
		C1(30)	C2(40)	C3(50)
(A1)2	(B1)3	13.87 ^{aA}	13.71 ^{aA}	13.96 ^{aA}
	(B2)6	13.58 ^{aA}	11.40 ^{bB}	13.61 ^{bcA}
	(B3)9	13.52 ^{aA}	11.25 ^{bB}	13.70 ^{abcA}
(A2)6	(B1)3	13.75 ^{ab}	13.49 ^{aC}	14.02 ^{aA}
	(B2)6	11.44 ^{bB}	10.34 ^{cC}	12.47 ^{ca}
	(B3)9	11.33 ^{bB}	10.15 ^{cC}	11.76 ^{ca}
(A3)10	(B1)3	13.66 ^{aA}	13.23 ^{abB}	13.41 ^{cAB}
	(B2)6	11.24 ^{bB}	10.10 ^{cC}	12.16 ^{da}
	(B3)9	11.20 ^{aA}	10.01 ^{cB}	11.57 ^{ca}

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Selanjutnya diduga substrat fermentasi mengandung lebih banyak selulosa berbentuk amorphous dibanding dengan kristalin sehingga menyebabkan terjadinya perbedaan waktu dalam menghasilkan enzim selulase Cx dan C₁ (Chahal, *et al.* 1992), profil produksi enzim selulase ditentukan oleh komponen yang menyusun selulosa substrat (amorphous dan kristalin), bagian amorphous dikonsumsi oleh mikroba pada fase eksponensial pertama sedangkan pada fase eksponensial ke dua harnilah bagian kristalin mulai dikonsumsi oleh mikroba. Selanjutnya (Wizna, 2003), terdapat dua fase eksponensial produksi enzim selulase *Bacillus sp1*, dimana fase eksponensial pertama lebih awal terjadi (hari ke-3), dengan aktivitas spesifik enzim Cx tertinggi yaitu 15,79 U/mg dan fase eksponensial ke dua (hari ke-8), dengan aktivitas spesifik enzim C₁ tertinggi yaitu 20,58 U/mg. Damude *et al.* (1996), mikroba yang mendegradasi selulosa umumnya mensekresikan beberapa enzim selulase yang berbeda yang bereaksi secara sinergis dalam men hidrolisa substrat.

Tabel 8. Rataan Serat Kasar Onggok Fermentasi dengan *Bacillus sp2* pada Interaksi Dosis Inokulum, Suhu dan Lama Fermentasi (%)

Dosis (A) (%) ^a	Lama (B) (hari)	Suhu(C°)		
		C1(30)	C2(40)	C3(50)
(A1)2	(B1)3	13.57 ^{ab}	13.41 ^{ab}	13.66 ^{ab}
	(B2)6	13.08 ^{ab}	12.40 ^{bB}	13.61 ^{abA}
	(B3)9	13.52 ^{ab}	11.25 ^{bB}	13.70 ^{abAB}
(A2)6	(B1)3	13.75 ^{ab}	13.49 ^{abC}	13.82 ^{abA}
	(B2)6	11.44 ^{bB}	11.74 ^{bcC}	12.47 ^{abA}
	(B3)9	11.33 ^{bB}	10.15 ^{ccC}	11.76 ^{abA}
(A3)10	(B1)3	12.66 ^{ab}	12.23 ^{abH}	13.41 ^{abD}
	(B2)6	11.24 ^{bB}	12.10 ^{ccC}	12.16 ^{abA}
	(B3)9	11.20 ^{ba}	10.07 ^{cbB}	11.50 ^{abA}

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Pengaruh Kadar Air dan Ukuran Partikel Substrat Terhadap Bahan Kering, Protein Kasar dan Serat Kasar Onggok Fermentasi

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi interaksi ($P<0.05$) antara kadar air dan ukuran partikel substrat terhadap kandungan bahan kering dan kandungan serat kasar onggok fermentasi dan tidak terjadi interaksi ($P>0.05$) antara kadar air dan ukuran partikel terhadap kandungan protein kasar untuk inokulum *Bacillus sp1* dan *sp2*.

Uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa untuk faktor kadar air memberikan pengaruh berbeda nyata ($P<0.05$) terhadap kandungan protein kasar onggok fermentasi dan ukuran partikel memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$). Berbeda nyatanya ($P<0.05$) pengaruh ukuran partikel terhadap kandungan protein kasar disebabkan semakin kecil ukuran partikel yang digunakan maka semakin mudah dimasuki oleh enzim dan semakin cepat proses fermentasi berlangsung sehingga semakin banyak substrat yang dirombak. Dengan adanya proses fermentasi berarti terjadi perkembangbiakan mikroba sehingga meningkatkan protein kasar onggok fermentasi.

Tabel 9. Rataan Bahan Kering, Protein Kasar dan Serat Kasar Onggok Fermentasi *Bacillus sp1* pada Interaksi Kadar Air dan Ukuran Partikel (%)

Peubah	Kadar Air (%)	Ukuran Partikel (mash)			Rataan
		B1=1	B2=1.5	B3=2	
Rataan		43.64	44.43	45.35	
Bahan Kering (%)	A1=55	47.65 ^{aC}	48.26 ^{ab}	49.54 ^{1A}	48.48
	A2=60	44.49 ^{bC}	46.56 ^{ab}	46.24 ^{5A}	45.09
	A3=65	41.78 ^{cC}	43.48 ^{ab}	47.27 ^{ca}	44.84
Rataan		44.64	45.43	49.35	
Protein Kasar (%)	A1=55	6.78	5.46	4.88	5.71 ^b
	A2=60	7.19	7.17	6.74	7.03 ^b
	A3=65	9.88	9.63	8.28	9.26 ^c
Rataan		6.35 ^B	7.95 ^B	7.42 ^B	6.63 ^A
Serat Kasar (%)	A1=55	11.13 ^{1A}	12.83 ^{3B}	13.75 ^{4C}	12.57
	A2=60	10.61 ^{2A}	12.08 ^{2B}	13.44 ^{2C}	12.04
	A3=65	07.82 ^{3A}	11.18 ^{3B}	12.70 ^{3C}	10.57
Rataan		09.85	09.85	12.03	13.29

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Hal ini sesuai dengan pendapat Fardiaz (1988) bahwa selama proses fermentasi mikroba bertumbuh dan menghasilkan enzim, mikroba dan enzim tersebut merupakan protein (Pelezar dan Chan, 1996). Pada penelitian ini ukuran partikel 1.0 dengan 1.5 mash tidak terlihat perbedaan kandungan protein kasarnya, sedangkan persentase inokulum 2% dengan 6% dan 10% tidak begitu berbeda, hal ini disebabkan interval pemberian dosis inokulum (2%, 6% dan 10%) masih relatif kecil sehingga pertumbuhan mikroba antar perlakuan hampir sama. Diduga jika pemberian dosis ditingkatkan akan terlihat interaksinya.

Hasil uji lanjut terhadap kombinasi kadar air, ukuran partikel terlihat perbedaan yang sangat nyata terhadap kandungan serat kasar ($P<.01$) untuk inokulum *Bacillus sp2*. Perlakuan dengan kadar air 65% dan ukuran partikel 1 mash (A2B1) memberikan kandungan serat kasar terendah yaitu 8.82%. Kandungan serat kasar substrat sebelum fermentasi adalah 14.81%. Terjadinya penurunan kandungan serat kasar ini menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba yang tinggi pada perlakuan tersebut sehingga menghasilkan enzim selulase maksimal yang mudah memasuki permukaan substrat pada

ukuran partikel yang kecil atau ukuran permukaan yang lebih luas, akibatnya pemakaian oksigen lebih tinggi, penyerapan air lebih sempurna.

Tabel 10. Rataan Bahan Kering, Protein Kasar dan Serat Kasar Onggok Fermentasi *Bacillus sp2* pada Interaksi Kadar Air dan Ukuran Partikel (%)

Peubah	Kadar Air (%)	Ukuran Partikel (mash)			Rataan
		B1=1	B2=1.5	B3=2	
Rataan		43.64	44.43	45.35	
Bahan Kering (%)	A1=55	45.65 ^{aC}	46.26 ^{aB}	47.54 ^{aA}	45.48
	A2=60	44.49 ^{bC}	45.56 ^{bB}	46.24 ^{bA}	45.09
	A3=65	41.78 ^{cC}	42.48 ^{cB}	43.27 ^{cA}	42.84
Rataan		6.35 ^B	6.42 ^B	5.63 ^A	
Protein Kasar (%)	A1=55	5.78	5.46	4.88	5.41 ^b
	A2=60	6.19	6.17	5.74	5.53 ^b
	A3=65	7.08	7.63	7.28	7.26 ^a
Rataan		6.35 ^B	6.42 ^B	5.63 ^A	
Serat Kasar (%)	A1=55	11.13 ^{aA}	11.83 ^{aB}	12.75 ^{aC}	11.57
	A2=60	09.61 ^{bA}	10.08 ^{bB}	11.44 ^{bC}	10.34
	A3=65	08.82 ^{cA}	11.18 ^{cB}	10.70 ^{cC}	10.19
Rataan		09.85	12.03	13.29	

Keterangan: Superskrip huruf besar pada baris dan huruf kecil pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$)

Sesuai dengan Buckle dkk, (1987) bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan mikroba dipengaruhi oleh kandungan air bahan, suhu, lama penyimpanan, pH, dan ketersediaan oksigen.

Kandungan Asam Amino, Energi Metabolis dan Retensi Nitrogen Onggok Fermentasi

Kandungan asam amino onggok fermentasi dengan *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* meningkat dibandingkan dengan sebelum fermentasi dan pada fermentasi dengan *Bacillus sp2* dihasilkan asam amino arginin sebanyak 0.80% dan prolin 0.11%.

Retensi nitrogen onggok fermentasi dengan *Bacillus sp1* didapatkan 65.37% dan energi metabolisme 2217 kkal/kg, dengan *Bacillus sp2* didapatkan 66.65% dan energi metabolisme 2190 kkal/kg.

KESIMPULAN

- Medium pengembang terbaik *Bacillus sp* sebagai inokulum adalah empelur sagu dengan jumlah koloni 3.46×10^9 cfu /gram pada pH 4.91.

2. Kondisi fermentasi optimal onggok dengan *Bacillus sp1* dan *Bacillus sp2* didapat pada dosis inokulum 6%, lama fermentasi 6 hari, suhu 40°C⁰, kadar air 65% dan ukuran partikel 1 mash dimana meningkatkan kandungan protein kasar 360% dan menurunkan serat kasar 32%.
3. Retensi nitrogen onggok fermentasi dengan *Bacillus sp1* didapatkan 65,37% dan energi metabolisme 2217 kkal/kg, dengan *Bacillus sp2* didapatkan 66,65% dan energi metabolisme 2190 kkal/kg serta *Bacillus sp2* menghasilkan asam amino arginin dan prolin.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander,M. 1997. Introduction To Soil Microbiology. Second Edition Jhon Willey and Sons. New York, Chicester, Brisbone Toronto.
- Fardiaz,S. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Penerbit IPB. Bogor.
- Lay,B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Nur, M.A., H. Adjuwana, dan E. Kosasih. 1992. Teknik Laboratorium. PAU Ilmu Hayat IPB Bogor.
- Pritchett,W.L.1979. Property and Management of Forest Soil. Jhon Willey an Sons. New York.
- Schuler, M.I. and F. Kargi.1992. Bioprocess Engineering Basic Concepts. New Jersey: Prentice Hall.
- Standbury, P.F. and A. Whitaker.1984. Principles of Fermentation Technology. New York: Pergamon Pr..
- Steel, R.G.D and J.H Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika suatu Pendekatan Biometrik. Ed.ke-2. Gramedium Pustaka Utama. Jakarta
- Sutedjo,M.M., A.G. Kartasapoetro dan R.D.S. Sastroatmojo. 1991. Mikrobiologi Tanah. Rineka Cipta. Jakarta.
- Wizna. 2003. Isolasi, seleksi dan identifikasi bakteri *Bacillus spp* selulolitik serasah hutan gambut Pesisir Selatan dan hutan Lembah Anai. Laporan Penelitian Proyek Semi Que V. Fakultas Peternakan Unand. Padang.