

**EKSTRAKSI MANNAN OLIGOSAKARIDA (MOS)
HASIL FERMENTASI CAMPURAN BUNGKIL INTI SAWIT
DAN ONGGOK SEBAGAI PREBIOTIK DALAM PAKAN
TERHADAP PENAMPILAN PRODUKSI AYAM PEDAGING**

DISERTASI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Doktor



Oleh :
Nurhayati
NIM: 127050100111004

Program Doktor Ilmu Ternak
Minat Nutrisi dan Makanan Ternak

PASCASARJANA
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018

DISERTASI

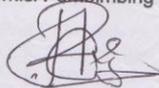
Judul : Ekstraksi Mannan Oligosakarida (MOS) Hasil Fermentasi Campuran Bungkil Inti Sawit dan Onggok sebagai Prebiotik dalam Pakan Terhadap Penampilan Produksi Ayam Pedaging

Nama : Nurhayati

NIM : 127050100111004

Disetujui:

Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Ir. Hartutik, MP.
Ketua



Dr. Ir. Osfar Sjojfan, M.Sc.
Anggota



Dr. Ir. Eko Widodo, M.Agr.Sc., M.Sc.
Anggota

Diketahui:

Ketua Program Doktor Ilmu Ternak
Pascasarjana Fakultas Peternakan

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Ir. M. Nur Ihsan, M.S.
NIP 195306121981031002



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, M.S.
NIP. 196204031987011001

Tanggal Ujian Akhir: 25 Juli 2018

IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL DISERTASI:

**EKSTRAKSI MANNAN OLIGOSAKARIDA (MOS) HASIL FERMENTASI
CAMPURAN BUNGKIL INTI SAWIT DAN ONGGOK SEBAGAI PREBIOTIK
DALAM PAKAN TERHADAP PENAMPILAN PRODUKSI AYAM PEDAGING**

Nama Mahasiswa : Nurhayati
NIM : 127050100111004
Program Studi : Ilmu Ternak
Minat : Nutrisi dan Makanan Ternak

KOMISI PEMBIMBING:

Promotor : Prof.Dr.Ir. Hartutik, M.P.
Ko-Promotor 1 : Dr.Ir. Osfar Sjojfan, M.Sc.
Ko-Promotor 2 : Dr.Ir. Eko Widodo, M.Agr.Sc., M.Sc.

DOSEN PENGUJI:

Dosen Penguji 1 : Dr. M. Halim Natsir, S.Pt., M.P.
Dosen Penguji 2 : Dr.Ir. Edhy Sudjarwo, M.S.
Dosen Penguji 3 : Dr.Ir. Elok Zubaidah, M.S.
Dosen Penguji 4 : Prof.Dr.drh. Aulani'am, DES.

Tanggal Ujian : 25 Juli 2018

PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah DISERTASI ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia DISERTASI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 25 Juli 2018

Mahasiswa,



Nama : Nurhayati.....
NIM : 127050100111004
PS : Ilmu Ternak.....
PPS FAPET-UB

*Karya ilmiah ini ditujukan kepada
Ayahanda dan Ibunda tercinta,
Suamiku Akhmad Dakhlan dan ketiga anakku tersayang
Muhammad Nur'faiq Hibatullah, Muhammad Nurrizqy Habibullah dan Aisyah
Nabiilah Nurjannah*

RIWAYAT HIDUP PENULIS

Nurhayati, lahir di Blitar, 11 September 1970, merupakan putri kedua dari tiga bersaudara, dengan ibu Hj. Sudarsih dan ayah H. Murtedjo. Pendidikan Sekolah Dasar Negeri Kepanjen Kidul 4 Blitar diselesaikan pada tahun 1983, Sekolah Menengah Pertama Negeri 3 Blitar diselesaikan pada tahun 1986, dan Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Blitar diselesaikan pada tahun 1989. Gelar Sarjana Peternakan (S.Pt.) diperoleh pada tahun 1994 dari Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang dan gelar Magister Pertanian (M.P.) diperoleh pada tahun 2005 dari Program Pascasarjana Program Studi Ilmu Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Pada tahun 2012 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Doktor Ilmu Ternak Minat Nutrisi dan Makanan Ternak Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.

Sejak tahun 1995 sampai dengan saat ini penulis menjadi dosen Jurusan Peternakan Politeknik Negeri Lampung. Pada tahun 1997 penulis menikah dengan Ir. Akhmad Dakhlan, M.P., Ph.D. dan sampai saat ini penulis telah dikaruniai 3 (tiga) orang anak yaitu Muhammad Nurfa'iq Hibatullah, Muhammad Nurrisqy Habibullah dan Aisyah Nabiilah Nurjannah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah S.W.T. atas karunia rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Disertasi yang berjudul “Ekstraksi Mannan Oligosakarida (MOS) Hasil Fermentasi Campuran Bungkil Inti Sawit dan Onggok sebagai Prebiotik dalam Pakan Terhadap Penampilan Produksi Ayam Pedaging” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Doktor Ilmu Ternak, Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.

Disertasi ini tidak dapat terwujud tanpa bimbingan, bantuan, motivasi dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu dengan segala kerendahan serta ketulusan hati ijinlah penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Hartutik, M.P., selaku Promotor Utama, yang dengan sabar membimbing sejak penulisan proposal, penelitian dan penulisan disertasi ini, serta selalu memberikan semangat, dukungan dan kemudahan untuk segera menyelesaikan disertasi ini.
2. Bapak Dr. Ir. Osfar Sjojjan, M.Sc., selaku Ko-Promotor, yang telah meluangkan waktu untuk berdiskusi dan selalu memberikan dukungan untuk menyelesaikan disertasi ini.
3. Bapak Dr. Ir. Eko Widodo, M.Agr.Sc., M.Sc., selaku Ko-Promotor, yang telah memberikan dukungan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis dengan penuh perhatian dan ketelitian semenjak penulisan proposal hingga selesainya disertasi ini.
4. Bapak Dr. Halim Natsir, S.Pt., M.P., Bapak Dr. Ir. Edhy Sudjarwo, M.S. dan Dr. Ir. Elok Zubaidah, M.S. selaku Penguji yang telah banyak memberikan saran dan masukan untuk perbaikan disertasi ini.
5. Bapak Rektor Universitas Brawijaya, Bapak Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Bapak Ketua Program Doktor Ilmu Ternak dan staf tenaga kependidikan Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis menjadi mahasiswa Program Doktor Ilmu Ternak dan memberikan sarana serta fasilitas untuk kelancaran studi.
6. Bapak Direktur Politeknik Pertanian Negeri Lampung dan Ketua Jurusan Peternakan beserta rekan-rekan yang telah memberikan izin kepada penulis untuk dapat mengikuti pendidikan Program Doktor Ilmu Ternak pada Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
7. Bapak Direktur PTPN VII Lampung yang telah memberikan akses untuk mendapatkan bahan penelitian bungkil inti sawit.
8. Rekan-rekan mahasiswa Program Doktor Ilmu Ternak Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Angkatan 2012/2013 yang telah memberikan dukungan serta kerjasama yang baik yang dilandasi rasa kekeluargaan yang cukup tinggi selama menjalani studi.
9. Saudara Abi, Dian, Delvani, Ihsan, dan Pak Yudi, yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dari tahap persiapan sampai selesainya pelaksanaan penelitian.

Bakti dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan kepada ayahanda almarhum H. Murtedjo dan Ibunda Hj. Sudarsih yang sejak kecil telah

mendidik, membimbing, menjaga dan selalu mendoakan untuk keberhasilan penulis. Ucapan terima kasih secara khusus penulis sampaikan kepada suami tercinta Akhmad Dakhlan dan ananda tersayang Faiq, Rizqy dan Ais yang senantiasa selalu memberikan spirit dan doa dalam suka dan duka dalam kehidupan ini.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan balasan yang berlipat atas amalan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan disertasi ini.

Malang, Juli 2018

Penulis,

RINGKASAN

NURHAYATI, Program Doktor Ilmu Ternak, Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Juli 2018. Ekstraksi Mannan Oligosakarida (MOS) Hasil Fermentasi Campuran Bungkil Inti Sawit dan Onggok sebagai Prebiotik dalam Pakan Terhadap Penampilan Produksi Ayam Pedaging. Promotor: Prof. Dr. Ir. Hartutik, M.P., Ko-Promotor I: Dr. Ir. Osfar Sjojfan, M.Sc., Ko-Promotor II: Dr. Ir. Eko Widodo, M.Agr.Sc., M.Sc.

Mannan Oligosakarida (MOS) telah digunakan sebagai *feed additive* alami (prebiotik) dalam pakan unggas menggantikan antibiotik yang sudah dilarang penggunaannya di Indonesia sejak 1 Januari 2018. Pelarangan penggunaan antibiotik tersebut berkaitan dengan efek negatif antibiotik yaitu terjadinya resistensi bakteri patogen yang membahayakan ternak dan manusia. Mannan oligosakarida yang tersedia di pasar saat ini berasal dari dinding sel luar *Saccharomyces cerevisiae* yang ketersediaannya masih impor di Indonesia. Oleh karena itu diperlukan usaha untuk mencari alternatif bahan sumber MOS yang tersedia di Indonesia, seperti bungkil inti sawit (BIS). Bungkil inti sawit berpotensi sebagai sumber MOS karena kandungan utama dari serat kasarnya adalah hemiselulosa yang mengandung mannan sekitar 58%. Namun untuk mengekstrak MOS dari BIS yang mempunyai struktur kimia serat kasar kompleks diperlukan kerja enzim dengan melibatkan peran mikrobiologi melalui proses fermentasi dengan *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* dapat memproduksi berbagai macam enzim pendegradasi serat kasar BIS seperti selulase, hemiselulase, mannanase, galaktosidase dan glukosidase. Produksi enzim yang maksimal dipengaruhi oleh pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal. Pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal dapat dipacu dengan menambahkan sumber pati (onggok) dalam proses fermentasi BIS sehingga menghasilkan enzim yang maksimal untuk mendegradasi serat kasar BIS dan menghasilkan MOS yang maksimal.

MOS mampu mengaglutinasi bakteri patogen. Aglutinasi terjadi karena bakteri patogen mempunyai fimbriae tipe-1 yang sensitif melekat pada MOS. Terjadinya aglutinasi dapat menghambat kolonisasi bakteri patogen yang berdampak pada peningkatan rasio bakteri non patogen terhadap bakteri patogen, sehingga terjadi keseimbangan mikroflora yang menyehatkan saluran pencernaan ayam pedaging. Kondisi ini dapat meningkatkan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi pakan dan pada akhirnya meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging.

Tujuan penelitian ini adalah 1) untuk mendapatkan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi yang optimal dalam menghasilkan MOS yang maksimal, 2) untuk mendapatkan dosis penggunaan MOS yang optimal dalam menurunkan bakteri patogen (*Salmonella* sp. and *Echerichia coli*) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) pada pengujian secara *in vitro*, dan 3) untuk mengevaluasi pengaruh penggunaan MOS dalam pakan sebagai *feed additive* (prebiotik) terhadap penampilan produksi ayam pedaging.

Penelitian ini terdiri dari 3 tahap yaitu 1) uji rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi dalam menghasilkan MOS yang maksimal, 2) uji dosis penggunaan

MOS hasil ekastraksi produk fermentasi yang optimal untuk menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen secara *in vitro*, dan 3) uji pengaruh penggunaan MOS hasil ekstraksi sebagai *feed additive* (prebiotik) dalam pakan terhadap penampilan produksi ayam pedaging. Penelitian pertama dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial dengan 4 x 5 kombinasi perlakuan. Faktor pertama: rasio BIS-onggok ($R_0 = \text{BIS } 100\% : \text{onggok } 0\%$; $R_1 = \text{BIS } 87,5\% : \text{onggok } 12,5\%$; $R_2 = \text{BIS } 75\% : \text{onggok } 25\%$; $R_3 = \text{BIS } 62,5\% : \text{onggok } 37,5\%$) dan faktor kedua: waktu inkubasi ($W_0 = 0 \text{ jam}$; $W_1 = 24 \text{ jam}$; $W_2 = 48 \text{ jam}$; $W_3 = 72 \text{ jam}$; $W_4 = 96 \text{ jam}$) dengan 3 ulangan per kombinasi perlakuan. Variabel yang diamati adalah kandungan NDF, ADF, lignin, selulosa, hemiselulosa, gula reduksi dan mannososa. Kriteria kombinasi perlakuan terbaik dalam menghasilkan MOS yang maksimal adalah berdasarkan kandungan gula reduksi dan mannososa yang tertinggi. Penelitian kedua adalah pengujian dosis penggunaan MOS hasil ekstraksi terbaik dari penelitian pertama dalam menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen secara *in vitro* (uji aglutinasi, uji resistensi dan uji hambat pada media cair). Perlakuan dosis penggunaan MOS terdiri dari $D_0 = 0 \text{ ppm}$, $D_1 = 1000 \text{ ppm}$, $D_2 = 2000 \text{ ppm}$, $D_3 = 3000$ dan $D_4 = 4000 \text{ ppm}$. Kriteria dosis terbaik ditetapkan berdasarkan hasil uji aglutinasi yang positif, uji resistensi yang positif dan uji hambat pada media cair dengan penurunan bakteri patogen dan peningkatan bakteri non patogen yang tertinggi. MOS ekstraksi dengan dosis terbaik kemudian dibandingkan dengan MOS komersial (D_5). Penelitian ketiga dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola tersarang yang terdiri dari 3 perlakuan penggunaan jenis MOS ($M_0 = \text{tanpa MOS}$, $M_1 = \text{MOS ekstraksi}$ dan $M_2 = \text{MOS komersial}$) dan 3 perlakuan periode saat pemberian MOS ($P_1 = \text{MOS diberikan saat periode starter}$, $P_2 = \text{MOS diberikan dari periode starter sampai finisher}$, dan $P_3 = \text{MOS diberikan saat periode finisher saja}$) yang tersarang pada perlakuan penggunaan MOS. Variabel yang diamati adalah konsumsi pakan, PBB, konversi pakan, IOFCC, persentase karkas, persentase lemak abdominal, mortalitas, jumlah bakteri patogen dan non patogen, pH, viskositas, luas vili dan luas permukaan mukosa usus ayam pedaging. Data hasil penelitian pertama dianalisis variansi menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial, sedangkan data hasil penelitian ketiga dianalisis variansi menggunakan RAL pola tersarang. Apabila terdapat pengaruh perlakuan maka dilanjutkan dengan uji perbandingan jarak berganda duncan. Data hasil penelitian pertama dan ketiga dianalisis menggunakan paket Agricolae dari program R. Data hasil penelitian kedua dianalisis secara diskriptif.

Hasil penelitian pertama menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan NDF, ADF, lignin, selulosa, hemiselulosa, gula reduksi dan mannososa. Kandungan NDF, selulosa dan hemiselulosa menurun dengan bertambahnya waktu inkubasi dan dengan meningkatnya proporsi onggok dalam substrat BIS-onggok, tetapi kandungan gula reduksi dan mannososa meningkat. Sedangkan kandungan lignin dan ADF meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi, tetapi menurun dengan meningkatnya proporsi onggok dalam substrat. Berdasarkan produksi MOS yang ditunjukkan oleh kandungan gula reduksi dan mannososa, kombinasi perlakuan terbaik dalam penelitian ini adalah R_2 (BIS 75% : onggok 25%) dan W_3 (72 jam). Perlakuan kombinasi ini menghasilkan kandungan gula reduksi (10,05%) dan mannososa (753,64 mg) tertinggi.

Hasil penelitian kedua menunjukkan bahwa uji aglutinasi dari perlakuan dosis penggunaan MOS ekstraksi (1000-4000 ppm) adalah positif terhadap bakteri patogen yang ditandai dengan terjadinya aglutinasi (*clumping*) dan negatif terhadap bakteri non patogen serta dosis 0 ppm. Intensitas aglutinasi yang tertinggi ditunjukkan pada dosis 4000 ppm yang setara dengan MOS komersial. Uji resistensi dari semua perlakuan dosis penggunaan MOS menunjukkan hasil yang positif terhadap semua bakteri yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening. Sedangkan uji hambat pada media cair menunjukkan hasil bahwa perlakuan dosis penggunaan MOS ekstraksi 1000-4000 ppm ataupun MOS komersial dapat menurunkan jumlah bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen. Jumlah bakteri patogen terendah dan jumlah bakteri non patogen tertinggi dicapai pada dosis penggunaan MOS 4000 ppm.

Hasil penelitian ketiga menunjukkan bahwa penggunaan MOS ekstraksi dalam pakan lebih baik dibandingkan dengan kontrol dalam meningkatkan penambahan bobot badan dan persentase karkas serta dalam menurunkan konsumsi pakan, nilai konversi pakan dan persentase lemak abdominal, yang tidak berbeda dengan penggunaan MOS komersial. Namun, penggunaan MOS ekstraksi lebih menguntungkan dibandingkan dengan MOS komersial dan kontrol. Penggunaan MOS dapat menekan mortalitas dibandingkan dengan kontrol. Periode saat pemberian MOS pada masing-masing penggunaan jenis MOS hanya mempengaruhi jumlah *Lactobacillus* sp. jumlah *Escherichia coli* dan viskositas digesta usus serta luas permukaan mukosa usus. Selanjutnya pengaruh penggunaan MOS ekstraksi dan MOS komersial tidak berbeda terhadap jumlah *Escherichia coli*, pH, viskositas, luas vili maupun luas permukaan mukosa usus ayam pedaging, dan keduanya lebih baik dari kontrol. Jumlah *Lactobacillus* sp. digesta usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dengan jumlah *Escherichia coli* lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Pemberian MOS sejak *starter* sampai *finisher* lebih baik bila dibandingkan dengan pemberian MOS pada saat *starter* atau *finisher* saja terhadap variabel penelitian.

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah produk fermentasi campuran BIS 75% : onggok 25% dengan waktu inkubasi 72 jam adalah kombinasi terbaik dalam menghasilkan MOS yang maksimal. Penggunaan MOS hasil ekstraksi 4000 ppm merupakan dosis terbaik dalam menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen. Pemberian MOS ekstraksi dosis 4000 ppm dalam pakan ayam pedaging dapat memperbaiki penampilan produksi ayam pedaging. Saran dari hasil penelitian ini adalah penggunaan MOS ekstraksi 4000 ppm dapat diaplikasikan sebagai prebiotik pada pemeliharaan ayam pedaging.

SUMMARY

NURHAYATI, Postgraduate Program, Faculty of Animal Science, University of Brawijaya, July 2018. Extraction of Mannan Oligosaccharide (MOS) from Fermentation of Palm Kernel Cake (PKC) and Cassava By-product Mixture as Prebiotic in Ration on Broiler Performance. Promoter: Prof. Dr. Ir. Hartutik, M.P., Co-Promoter I: Dr. Ir. Osfar Sjojfan, M.Sc., Co-Promoter II: Dr. Ir. Eko Widodo, M.Agr.Sc., M.Sc.

Mannan Oligosaccharide (MOS) has been used as natural feed additive (prebiotic) in poultry ration replacing the use of antibiotic which was banned in Indonesia since 1st Januari 2018. The prohibition of antibiotic was due to its negative effect because of resistency development of pathogenic bacteria which are harmful to animal and human. Mannan oligosaccharide which is available in market currently is obtained from outer cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* as an imported product in Indonesia. So it is necessary to find local source of MOS which is available in Indonesia. Palm kernel cake is potential to be a source of MOS because the main content of its crude fibre is hemicellulose which contains mannan of around 58% and its availability is abundance in Indonesia. However, to extract MOS from PKC which has complex chemical structure of its crude fibre needs an enzyme work involving microbiology function by fermentation process using *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* could produce many varieties of enzyme which can degrade fibre of PKC such as cellulase, hemicellulase, mannanase, galactosidase and glucosidase. Maximum enzymes production are influenced by optimum growth and development of *Aspergillus niger*. The optimum growth and development of *Aspergillus niger* can be boosted by addition of starch source (from cassava by-product = CB) in fermentation process in order to produce maximum enzyme to degrade PKC fibre and produce maximum MOS.

MOS could agglutinate pathogenic bacteria. Agglutination is happened because pathogenic bacteria has fimbriae type-1 which is sensitive to adhere to MOS. Agglutinated MOS can hamper colonisation of pathogenic bacteria which impact on the increase of ratio of non pathogenic bacteria to pathogenic one, so that micro-flora balance is happened and make broiler gut healthy. This condition could increase digestion process and feed absorption and finally increase production performance of broiler.

The aims of this research were 1) to find the best treatment combination between ratio of PKC-CB substrate fermented using *Aspergillus niger* and length of incubation in producing maximum MOS, 2) to find optimum dosage of extracted MOS in reducing pathogenic bacteria (*Salmonella* sp. and *Echerichia coli*) and in increasing non pathogenic bacteria (*Lactobacillus* sp.) by using *in vitro* test, and 3) to evaluate the application of the optimum dosage of extracted MOS as feed additive in broiler ration in improving broiler production performance.

This research consisted of 3 stages namely 1) investigation of ratio of PKC-CB and length of incubation in producing maximum MOS, 2) investigation of optimum extracted MOS dosage in reducing pathogenic bacteria and in

increasing non pathogenic bacteria using *in vitro* test, and 3) investigation of the effect of extracted MOS use as feed additive (prebiotic) in ration on broiler production performance. The first research was designed by using Completely Randomised Factorial Design with 4 x 5 treatment combination which the first factor was ratio of PKC-CB ($R_0 = 100\% \text{ PKC} : 0\% \text{ CB}$; $R_1 = 87.5\% \text{ PKC} : 12.5\% \text{ CB}$; $R_2 = 75\% \text{ PKC} : 25\% \text{ CB}$; $R_3 = 62.5\% \text{ PKC} : 37.5\% \text{ CB}$) and the second factor was length of incubation ($L_0 = 0 \text{ hour}$; $L_1 = 24 \text{ hours}$; $L_2 = 48 \text{ hours}$; $L_3 = 72 \text{ hours}$; $L_4 = 96 \text{ hours}$) with three replications for each treatment combination. Variables observed were the content of NDF, ADF, lignin, cellulose, hemicellulose, reduction sugar and mannose. The criteria of the best treatment combination in producing maximum MOS was based on the highest content of reducing sugar and mannose. The second research was optimum dosage investigation of the extracted MOS from the best result of the first research, consisted of $D_0 = 0 \text{ ppm}$, $D_1 = 1000 \text{ ppm}$, $D_2 = 2000 \text{ ppm}$, $D_3 = 3000$ and $D_4 = 4000 \text{ ppm}$, in reducing pathogenic bacteria and in increasing non pathogenic bacteria using *in vitro* test (agglutination test, resistance test and inhibition test in liquid medium). The criteria of the best dosage using *in vitro* test were positive result on agglutination test, positive result on resistance test, the lowest number of pathogenic bacteria and the highest number of non pathogenic bacteria of inhibition test in liquid medium. The best dosage in reducing pathogenic bacteria and in increasing non pathogenic bacteria was then compared to commercial MOS (D_5). The third research was designed using Completely Randomised Nested Design consisted of 3 MOS use treatments ($M_0 = \text{without MOS}$, $M_1 = \text{extracted MOS}$ and $M_2 = \text{commercial MOS}$) and 3 treatments of MOS feeding period ($P_1 = \text{MOS feeding at starter period only}$, $P_2 = \text{MOS feeding from starter to finisher period}$, and $P_3 = \text{MOS feeding at finisher period only}$) which nested to MOS use treatment. Variables observed were feed intake, body weight gain, feed conversion ratio, IOFCC, carcass percentage, abdominal fat percentage, mortality rate, number of pathogenic and non pathogenic bacteria, pH and viscosity of gut fluid of broiler, villi surface area, and mucosa surface area of broiler intestine. Data of the first research was analysed of variances using Completely Randomised Factorial Design, while data of the third research was analysed variance using Nested Completely Randomised Design. Means of within each main factor and inter simple factor were then compared by using Duncan's multiple range test (DMRT) when variance analysis was significant ($P < 0.05$) using Agricolae package of R program. Data of the second research was analysed using descriptive method.

Results of the first research showed that there was interaction between ratio of PKC-CB and incubation time on the content of NDF, ADF, lignin, cellulose, hemicellulose, reduction sugar and mannose. The content of NDF, cellulose and hemicellulose decreased with the length of incubation and the with the increase of CB proportion in the substrate, but the content of reduction sugar and mannose increased. While lignin and ADF content increased with the length of incubation, but decreased with the increase of CB proportion in the substrate. Based on MOS production which is indicated by the content of reduction sugar and mannose, the best treatment combination in this research was R_2 (75% PKC : 25% CB) and W_3 (72 hours). This combination treatment produced the highest reducing sugar (10,05%) and mannose (753,64 mg) content.

Results of the second research showed that agglutination test of extracted MOS use dosage treatment (1000-4000 ppm) was positive on pathogenic

bacteria which was indicated by agglutination or clumping and negative on non pathogenic bacteria. The highest agglutination intensity was shown with 4000 ppm which was equivalent to commercial MOS use. Resistance test using all treatment of MOS dosage was positive on all bacteria which is indicated by not forming of clear zone. While inhibition test in liquid medium showed that both extracted (1000-4000 ppm) and commercial MOS use could decrease the number of pathogenic bacteria and increase non pathogenic bacteria. The lowest number of pathogenic bacteria and the highest number of non pathogenic bacteria were achieved by the use of MOS 4000 ppm.

Results of the third research showed that the use of extracted MOS in ration was better than control in increasing body weight gain and carcass percentage and in decreasing feed intake, feed conversion ratio and abdominal fat percentage of broiler, which was not difference from commercial MOS use. However, extracted MOS use in broiler ration was more beneficial compared to commercial MOS use and control. The use of MOS could reduce mortality rate compared to control. Feeding time period of MOS in each MOS use only influenced *Lactobacillus* sp. number, *Escherichia coli* number and viscosity of intestinal fluid as well as intestine mucosa surface area. Furthermore, the effect of extracted and commercial MOS was not different on *Escherichia coli* number, pH, viscosity, vili surface area and mucosa surface area of broiler intestine, and both of them were better than control. The number *Lactobacillus* sp. in gut of broiler fed with ration containing MOS was higher with lower number of *Escherichia coli* compared to those fed with control ration. MOS use from starter to finisher period was better compared to MOS use at starter or finisher only on variable observed.

The conclusion of this research is that fermentation product of 75% PKC and 25% CB mixture with incubation time of 72 hours was the best combination to produce maximum MOS. The use of extracted MOS 4000 ppm was the best dosage in decreasing pathogenic bacteria and in increasing non pathogenic bacteria. Application of extracted MOS 4000 ppm in ration could improve production performance of broiler. Based on the result of this research it is suggested that the use of extracted MOS 4000 ppm could be applied as prebiotic in broiler rearing.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga disertasi yang berjudul “Ekstraksi Mannan Oligosakarida (MOS) Hasil Fermentasi Campuran Bungkil Inti Sawit Dan Onggok Sebagai Prebiotik Dalam Pakan Terhadap Penampilan Produksi Ayam Pedaging” dapat diselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan yang baik ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. M. Nur Ihsan, M.S., selaku Ketua Program Doktor Ilmu Ternak Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang atas bantuan dan motivasi yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan disertasi ini. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis juga sampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Hartutik, M.P., Dr. Ir. Osfar Sjojjan, M.Sc., dan Dr. Ir. Eko Widodo, M.Agr.Sc. M.Sc. atas bimbingan dan motivasi serta saran yang diberikan dalam penyusunan disertasi ini.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis sangat mengharapkan kritik dan saran-saran perbaikan untuk penyempurnaan disertasi ini. Semoga disertasi ini bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang Peternakan.

Malang, Juli 2018

Penulis,

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| RINGKASAN | i |
| SUMMARY | iv |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| DAFTAR SINGKATAN | xvi |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Perumusan Masalah..... | 4 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4. Keluaran Penelitian | 4 |
| 1.5. Manfaat Penelitian | 5 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1. Kelapa Sawit | 6 |
| 2.1.1. Potensi Produksi Bungkil Inti Sawit | 9 |
| 2.1.2. Potensi Nutrisi Bungkil Inti Sawit | 10 |
| 2.2. Ketela Pohon | 15 |
| 2.2.1. Potensi Produksi Onggok | 17 |
| 2.2.2. Potensi Nutrisi Onggok | 18 |
| 2.3. Teknologi Fermentasi | 19 |
| 2.4. <i>Aspergillus niger</i> | 24 |
| 2.5. Prebiotik | 26 |
| 2.5.1. Mannan Oligosakarida..... | 28 |
| 2.6. Penampilan Produksi Ayam Pedaging | 34 |
| 2.6.1. Konsumsi Pakan | 34 |
| 2.6.2. Pertambahan Bobot Badan (PBB) | 35 |
| 2.6.3. Konversi Pakan | 36 |
| 2.6.4. Karkas | 37 |
| 2.6.5. Persentase Lemak Abdominal | 38 |
| 2.6.6. Mortalitas | 39 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.6.7. Kondisi Saluran Pencernaan Ayam Pedaging | 41 |
| 2.6.8. <i>Income Over Feed and Chick Cost</i> | 44 |
| III. KERANGKA KONSEP PENELITIAN | 45 |
| 3.1. Kerangka Pikir Penelitian | 45 |
| 3.2. Hipotesis | 54 |
| 3.3. Kerangka Operasional Penelitian | 54 |
| IV. MATERI DAN METODE PENELITIAN | 57 |
| 4.1. Penelitian Tahap I : Optimasi fermentasi campuran BIS-onggok serta lama fermentasi dalam menghasilkan MOS dan pengaruhnya untuk menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen | 57 |
| 4.1.1. Percobaan 1: Uji rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi untuk menghasilkan MOS yang maksimal | 58 |
| 4.1.2. Percobaan 2: Uji dosis penggunaan MOS hasil ekstraksi produk fermentasi yang optimal untuk menurunkan bakteri patogen (<i>Salmonella</i> sp. dan <i>Echerichia coli</i>) dan meningkatkan bakteri non patogen (<i>Lactobacillus</i> sp.) secara <i>in vitro</i> | 62 |
| 4.2. Penelitian Tahap II: Uji penggunaan MOS hasil ekstraksi sebagai <i>feed additive</i> (prebiotik) dalam pakan terhadap penampilan produksi ayam pedaging | 65 |
| V. HASIL DAN PEMBAHASAN | 71 |
| 5.1. Penelitian Tahap I : Optimasi Fermentasi Campuran BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi dalam Menghasilkan MOS dan Pengaruhnya untuk Menurunkan Bakteri Patogen dan Meningkatkan Bakteri Non Patogen | 71 |
| 5.1.1. Percobaan I: Uji Rasio BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi dalam Menghasilkan MOS yang Maksimal | 71 |
| 5.1.2. Percobaan II: Uji Dosis Penggunaan MOS Hasil Ekstraksi Produk Fermentasi yang Optimal untuk Menurunkan Bakteri Patogen dan Meningkatkan Bakteri non patogen secara <i>In Vitro</i> | 102 |
| 5.2. Penelitian Tahap II : Uji penggunaan MOS Hasil Ekstraksi sebagai <i>Feed Additive</i> (prebiotik) dalam Pakan terhadap Penampilan Produksi Ayam Pedaging | 106 |
| 5.2.1. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Konsumsi Pakan, PBB, FCR, dan IOFCC Ayam Pedaging..... | 106 |
| 5.2.2. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Persentase Karkas, Persentase Lemak Abdominal dan Mortalitas Ayam Pedaging | 114 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 5.2.3. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Perlakuan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Jumlah <i>Lactobacillus</i> sp, Jumlah <i>Escherichia coli</i> , pH, dan Viskositas Digesta Usus Ayam Pedaging | 118 |
| 5.2.4. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Perlakuan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Luas Vili dan Permukaan Mukosa Usus Ayam Pedaging | 126 |
| 5.3. Pembahasan Umum | 131 |
| VI. KESIMPULAN DAN SARAN | 138 |
| 6.1. Kesimpulan | 138 |
| 6.2. Saran | 138 |
| DAFTAR PUSTAKA | 139 |
| LAMPIRAN | 156-203 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel: | |
| 1. Kandungan nutrien bungkil inti sawit | 11 |
| 2. Kandungan protein kasar, karbohidrat, dan serat kasar onggok yang difermentasi dengan berbagai kapang | 20 |
| 3. Kandungan nutrien onggok sebelum dan setelah difermentasi dengan <i>Aspergillus niger</i> | 21 |
| 4. Perubahan kandungan protein dan <i>Neutral Detergent Fiber</i> (NDF) bungkil inti sawit setelah difermentasi dengan jenis kapang yang berbeda (%BK) | 21 |
| 5. Pengaruh MOS terhadap penampilan produksi ayam pedaging | 29 |
| 6. Pengaruh pemberian MOS dalam pakan terhadap kinerja produksi ayam pedaging umur 42 hari | 30 |
| 7. Pengaruh pemberian MOS dalam pakan terhadap morfologi saluran pencernaan <i>broiler</i> umur 42 hari (μm) | 33 |
| 8. Perkembangan penelitian tentang MOS | 53 |
| 9. Susunan pakan percobaan ayam pedaging periode <i>starter</i> dan <i>finisher</i> | 66 |
| 10. Kandungan nutrien pakan percobaan | 67 |
| 11. Rataan pengaruh perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin) | 71 |
| 12. Rataan pengaruh interaksi antara perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin) | 84 |
| 13. Rataan pengaruh perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan gula reduksi dan mannosa | 92 |
| 14. Rataan pengaruh interaksi antara perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap gula reduksi dan mannosa | 99 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 15. Hasil uji aglutinasi MOS terhadap <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp. dan <i>Lactobacillus</i> sp. | 102 |
| 16. Hasil uji resistensi MOS terhadap <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp. dan <i>Lactobacillus</i> sp. | 103 |
| 17. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap konsumsi pakan, PBB, FCR, dan IOFCC ayam pedaging | 107 |
| 18. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap persentase karkas, persentase lemak abdominal, dan mortalitas ayam pedaging | 114 |
| 19. Mortalitas (%) ayam pedaging yang diberi perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS | 118 |
| 20. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap jumlah <i>Lactobacillus</i> sp, Jumlah <i>Escherichia coli</i> , pH, dan viskositas digesta usus ayam pedaging | 119 |
| 21. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap luas vili dan permukaan mukosa usus ayam pedaging | 126 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar: | |
| 1. Alur produksi bungkil inti sawit (Aritonang, 1986). | 9 |
| 2. Kelompok hemiselulosa: (a) Mannan (b) Galaktomannan (c) Glukomannan (d) Galaktoglukomannan (Dhawan dan Kaur, 2007). | 12 |
| 3. Pemotongan heteromanan oleh kompleks enzim manannase (Kurakake dan Komaki, 2001) | 13 |
| 4. Alur produksi tepung tapioka yang menghasilkan limbah ongkok (Nurhayati, 2005) | 17 |
| 5. Kurva pola mortalitas ayam pedaging (Tabler <i>et al.</i> , 2004) | 40 |
| 6. Mikroflora saluran pencernaan unggas (Spring, 1996) | 42 |
| 7. Alur kerangka pikir penelitian | 52 |
| 8. Alur kerangka operasional penelitian | 55-56 |
| 9. Hasil uji hambat pada media cair penggunaan MOS hasil ekstraksi (D ₀ -D ₄) dan MOS komersial (D ₅) terhadap <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp. dan <i>Lactobacillus</i> sp. | 104 |
| 10. Vili usus: A (lebar basal vili), B (lebar apikal vili), dan C (tinggi vili); Luas vili usus (mm ² /vili) = [(A+B)/B] x C (Iji <i>et al.</i> , 2001); Luas permukaan mukosa usus = kerapatan vili (vili/mm ²) x luas vili usus (mm ² /mm ²) | 163 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran: | |
| 1. Pengukuran kandungan gula reduksi | 156 |
| 2. Prosedur dan pengukuran NDF serta ADF | 158 |
| 3. <i>Time line</i> perlakuan periode saat pemberian MOS | 159 |
| 4. Denah percobaan penelitian | 160 |
| 5. Penghitungan jumlah bakteri patogen (<i>Salmonella</i> sp. dan <i>Echerichia coli</i>) serta non patogen (<i>Lactobacillus</i> sp.) (Sari <i>et al.</i> , 2013) | 161 |
| 6. Prosedur dan pengukuran pH digesta usus (Mirzaie <i>et al.</i> , 2012) | 162 |
| 7. Pengukuran viskositas digesta usus | 163 |
| 8. Perhitungan luas vili usus dan luas permukaan mukosa usus (Iji <i>et al.</i> , 2001 dan Drozdowski <i>et al.</i> , 2005) | 164 |
| 9. Hasil analisis statistik Neutral Detergent Fibre (NDF) | 166 |
| 10. Hasil analisis statistik Acid Detergent Fibre (ADF) | 169 |
| 11. Hasil analisis statistik selulosa | 172 |
| 12. Hasil analisis statistik hemiselulosa | 175 |
| 13. Hasil analisis statistik lignin | 178 |
| 14. Hasil analisis statistik gula reduksi | 181 |
| 15. Hasil analisis statistik mannanosa | 184 |
| 16. Hasil analisis statistik konsumsi pakan..... | 187 |
| 17. Hasil analisis statistik penambahan bobot badan (PBB) | 188 |
| 18. Hasil analisis statistik <i>feed conversion ratio</i> (FCR) | 189 |
| 19. Hasil analisis statistik <i>income over feed and chick cost</i> (IOFCC)..... | 190 |

| | Halaman |
|---|---------|
| 20. Hasil analisis statistik persentase karkas | 191 |
| 21. Hasil analisis statistik persentase lemak abdominal | 192 |
| 22. Hasil analisis statistik mortalitas | 193 |
| 23. Hasil analisis statistik jumlah <i>Lactobacillus</i> sp. | 194 |
| 24. Hasil analisis statistik jumlah <i>Escherichia coli</i> (Ecoli) | 196 |
| 25. Hasil analisis statistik pH usus | 198 |
| 26. Hasil analisis statistik viskositas | 199 |
| 27. Hasil analisis statistik luas vili usus | 201 |
| 28. Hasil analisis statistik luas permukaan mukosa usus | 202 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|--------------|---|
| ADF | : <i>Acid Detergent Fiber</i> |
| ADG | : <i>Average Daily Gain</i> |
| AVROS | : <i>Algemene Vereniging Rubber Planters Oostkust Sumatra</i> |
| BAL | : Bakteri Asam Laktat |
| BB | : Bobot Badan |
| BETN | : Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen |
| BIS | : Bungkil Inti Sawit |
| BK | : Bahan Kering |
| CFU | : <i>Colony Forming Units</i> |
| CPO | : <i>Crude Palm Oil</i> |
| CRC | : <i>Cooperative Research Center</i> |
| DMRT | : <i>Duncan's Multiple Range Test</i> |
| DOC | : <i>Day Old Chick</i> |
| <i>et al</i> | : <i>et alia</i> |
| FAO | : <i>Food and Agriculture Organization</i> |
| FCR | : <i>Feed Conversion Ratio</i> |
| FOS | : Fruktoligosakarida |
| GE | : <i>Gross Energy</i> |
| HCN | : Hidrogen sianida |
| HPLC | : <i>High Performance Liquid Chromatography</i> |
| IOFC | : <i>Income Over Feed Cost</i> |
| IOFCC | : <i>Income Over Feed and Chick Cost</i> |
| KCl | : Kalium Chloride |
| LK | : Lemak Kasar |
| MOS | : Mannan oligosakarida |
| NaCl | : Natrium Chloride |
| NDF | : <i>Neutral Detergent Fiber</i> |
| NPK | : Nitrogen Phosphat Kalium |
| NRRL | : <i>Northern Regional Research Laboratory</i> |
| O | : Onggok |
| PBB | : Pertambahan Bobot Badan |
| PBS | : <i>Phosphate Buffer Saline</i> |
| PDA | : <i>Potato Dextrose Agar</i> |
| pH | : Potential hydrogen |
| PIR-BUN | : Perusahaan Inti Rakyat Perkebunan |
| PK | : Protein Kasar |
| PKC | : <i>Palm Kernel Cake</i> |
| PKM | : <i>Palm Kernel Meal</i> |
| PKO | : <i>Palm Kernel Oil</i> |

| | |
|------|---|
| ppm | : <i>part per million</i> |
| PT | : Perseroan Terbatas |
| PTPN | : Perseroan Terbatas Perkebunan Nusantara |
| SCFA | : <i>Short Chain Fatty Acid</i> |
| SK | : Serat Kasar |
| TBS | : Tandan Buah Segar |
| TFA | : <i>Trifluoro Acetic Acid</i> |
| VFA | : <i>Volatil Fatty Acid</i> |
| ZA | : <i>Zwavelzure Ammoniak</i> |

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Populasi penduduk Indonesia yang berkembang pesat mengakibatkan peningkatan kebutuhan pangan Nasional. Kondisi ini menuntut peningkatan produksi secara maksimal dari seluruh industri pertanian. Peternakan sebagai salah satu sub sektor pertanian ikut bertanggung jawab dan berperan dalam memenuhi kebutuhan pangan, khususnya penyediaan protein hewani bangsa Indonesia. Pemenuhan kebutuhan protein hewani dapat disediakan dari produk produk peternakan seperti susu, telur dan daging. Industri peternakan unggas mempunyai andil dalam menyediakan sebagian besar permintaan daging pada masyarakat. Oleh karena itu, usaha peternakan unggas perlu dikelola dengan sebaik-baiknya agar diperoleh produk yang meningkat baik kualitas ataupun kuantitasnya.

Produktifitas ternak unggas dapat ditingkatkan dengan menambahkan antibiotik dalam pakan. Penggunaan antibiotik berfungsi untuk membunuh bakteri patogen dalam saluran pencernaan, sehingga meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan pertumbuhan ternak. Namun demikian penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat dan dalam jangka waktu lama dapat berakibat timbulnya resistensi bakteri patogen, yang berbahaya baik pada ternak ataupun pada manusia. Selain itu, penggunaan antibiotik dapat memicu adanya residu antibiotik pada produk peternakan. Dengan demikian diperlukan usaha untuk mencari alternatif pengganti antibiotik dengan bahan yang bersifat alami dan tidak membahayakan ternak dan manusia, misalnya dengan prebiotik. Prebiotik, seperti mannan oligosakarida (MOS) telah terbukti meningkatkan

kesehatan saluran pencernaan dan penampilan produksi ternak unggas (Abudabos and Yehia, 2013).

Mannan oligosakarida yang tersedia di pasar secara komersial saat ini diperoleh dari dinding sel luar *Saccharomyces cerevisiae* yang ketersediaannya masih impor di Indonesia, sehingga perlu dicari sumber MOS alternatif, seperti bungkil inti sawit (BIS) (Rezaei *et al.*, 2015; Jahromi *et al.*, 2016). Bungkil Inti Sawit berpotensi sebagai bahan sumber MOS, karena sebagian besar serat kasar BIS terdiri dari hemiselulosa yang mengandung mannan sekitar 58% (Jaafar and Jarvis, 1992). MOS yang berasal dari BIS sangat memungkinkan dikembangkan karena ketersediaan BIS sangat berlimpah di negara tropis termasuk di Indonesia. Indonesia merupakan salah satu negara sentra industri minyak sawit dengan luas perkebunan kelapa sawit telah mencapai 9 juta hektar dengan produksi 23,5 juta ton per tahun (Departemen Pertanian, 2013).

Polisakarida mannan dapat didegradasi secara enzimatik dengan melibatkan peran mikrobiologi melalui proses fermentasi. Enzim-enzim pendegradasi polisakarida mannan dan serat kasar BIS dapat dihasilkan oleh bakteri dan kapang. Salah satu kapang yang mampu menghasilkan enzim pendegradasi polisakarida mannan dan serat kasar BIS adalah *Aspergillus niger* (Noraini *et al.*, 2001; Norita *et al.*, 2010; Ab Rasyid *et al.*, 2009; Ibrahim *et al.*, 2014).

Aspergillus niger dapat mendegradasi polisakarida mannan dan serat kasar BIS menjadi MOS melalui proses fermentasi. Produksi enzim dan proses degradasi mannan yang maksimal dapat dihasilkan jika pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* optimal. Produksi enzim dipengaruhi oleh fase pertumbuhan *Aspergillus niger* dan ketersediaan nutrisi dalam substrat yang difermentasi. Perlakuan penambahan ongkok pada proses fermentasi BIS adalah salah satu cara untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan

Aspergillus niger. Onggok digunakan sebagai bahan substrat sumber energi yang ditambahkan pada proses fermentasi BIS karena onggok merupakan limbah industri tepung tapioka yang mengandung pati berturut-turut sekitar 59,40%, 60,60% dan 70,5% (Sutikno dkk., 2016, Nurhayati dkk., 2006, Aviana dan Pohan, 2012). Onggok juga merupakan limbah yang harganya murah dan ketersediaannya cukup berlimpah di Indonesia. Produksi onggok di Indonesia adalah 2,9 juta ton/tahun (Departemen Pertanian, 2013) .

MOS berpengaruh positif terhadap kesehatan saluran pencernaan dan penampilan produksi ternak. MOS efektif dalam mengikat bakteri patogen yang biasa melakukan kolonisasi pada dinding saluran pencernaan dan selanjutnya terekskresi bersama feses. Dampak hal tersebut adalah menurunkan bakteri patogen dalam saluran pencernaan, sehingga memperbaiki keseimbangan mikroflora yang menyehatkan dalam saluran pencernaan dan meningkatkan penampilan produksi ternak. Pengujian penggunaan MOS pada beberapa komoditi ternak telah dilakukan seperti pada ayam (Hooge, 2004a), kalkun (Hooge, 2004b), babi (Miguel *et al.*, 2004), dan Kelinci (Bovera *et al.*, 2012).

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini diarahkan untuk mengetahui rasio BIS-onggok serta waktu inkubasi yang optimal pada fermentasi campuran BIS-onggok dengan *Aspergillus niger* dalam menghasilkan MOS yang maksimal. Selanjutnya MOS hasil ekstraksi dari produk fermentasi campuran BIS-onggok yang optimal akan diaplikasikan sebagai *feed additive* dalam pakan ayam pedaging dengan harapan dapat menurunkan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Echerichia coli*), meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) dan meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging.

1.2. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana rasio BIS-onggok serta waktu inkubasi dapat menghasilkan MOS yang maksimal.
2. Berapa dosis optimal penggunaan MOS dapat menurunkan *Salmonella* sp., *Echerichia coli* dan meningkatkan *Lactobacillus* sp. pada pengujian secara *in vitro*.
3. Bagaimana pengaruh penggunaan MOS terhadap penampilan produksi ayam pedaging (konsumsi pakan, PBB, konversi pakan, *Income Over Feed and Chick Cost* (IOFCC), persentase karkas, persentase lemak abdominal, mortalitas, jumlah bakteri patogen dan non patogen, pH dan viskositas digesta usus, luas vili serta permukaan mukosa usus).

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi optimal dalam menghasilkan MOS yang maksimal.
2. Mendapatkan dosis penggunaan MOS yang optimal dalam menurunkan *Salmonella* sp., *Echerichia coli* dan meningkatkan *Lactobacillus* sp. pada pengujian secara *in vitro*.
3. Mengevaluasi pengaruh penggunaan MOS sebagai *feed additive* (prebiotik) dalam pakan terhadap penampilan produksi ayam pedaging.

1.4. Keluaran Penelitian

Keluaran atau output penelitian ini adalah:

Menghasilkan prebiotik MOS hasil ekstraksi produk fermentasi campuran BIS-onggok yang dapat digunakan sebagai *feed additive* alternatif dalam pakan ayam pedaging.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Bagi ilmu pengetahuan dan teknologi

Memberikan informasi tentang MOS hasil ekstraksi produk fermentasi campuran BIS-onggok dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen ataupun non patogen serta penampilan produksi ayam pedaging.

2. Bagi masyarakat (peternak dan industri pakan ternak)

- Memberikan informasi tentang penggunaan MOS sebagai *feed additive* alternatif yang bersifat aman dan murah sebagai pengganti antibiotik dalam pakan ayam pedaging.
- Memberikan informasi tentang potensi MOS hasil ekstraksi produk fermentasi campuran BIS-onggok untuk dikembangkan dan diproduksi secara komersial dalam skala industri sebagai *feed additive*.

3. Bagi pemerintah

Mendukung kebijakan pemerintah (peraturan menteri pertanian no. 64/OT.140/5/2013) tentang sistem pertanian organik yaitu dihasilkan MOS sebagai pengganti antibiotik untuk mendapatkan produk peternakan unggas yang bersifat ASUH (aman, sehat, utuh dan halal).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kelapa Sawit

Kelapa sawit termasuk kedalam genus *Elaeis*, yaitu tanaman industri untuk menghasilkan minyak nabati dan bahan bakar (biodiesel). Klasifikasi kelapa sawit adalah sebagai berikut (Departemen Perindustrian, 2007).

Kingdom : Tumbuhan
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Arecales
Famili : Arecaceae
Genus : *Elaeis*
Spesies : *Elaeis guineensis*

Kelapa sawit adalah tanaman monokotil dengan morfologi sebagai berikut:

- 1) Akar tanaman kelapa sawit merupakan akar serabut yang mengarah ke bawah dan samping.
- 2) Batang kelapa sawit berbentuk silinder dengan diameter 20-75 cm dan tinggi tanaman dapat mencapai 24 m. Batang tanaman diselimuti bekas pelepah sampai umur 12 tahun. Pelepah mengering dan akan terlepas sehingga mengakibatkan keadaan batang menyerupai batang kelapa.
- 3) Daun berwarna hijau tua dengan pelepah daun berwarna hijau muda. Panjang pelepah daun sekitar 7,5-9 m. Produksi pelepah daun selama satu tahun mencapai 20-30 pelepah.
- 4) Bunga jantan dan betina tanaman kelapa sawit terpisah tetapi berada pada satu pohon. Bunga tersebut mempunyai waktu pematangan berbeda sehingga sangat jarang terjadi proses penyerbukan sendiri. Bunga jantan

mempunyai bentuk lancip dan panjang, sedangkan bunga betina mekar serta besar. Tanaman kelapa sawit pada umumnya melakukan penyerbukan silang.

- 5) Buah kelapa sawit terkumpul dalam satu tandan yang muncul dari tiap pelepah. Satu tandan terdapat sekitar 1600 buah. Warna buah sawit bermacam-macam yaitu hitam, ungu hingga merah tergantung dari bibit yang digunakan. Buah terdiri dari tiga lapisan, yaitu *eksoskarp* (kulit buah dengan warna kemerahan mengkilap), *mesoskarp* (serabut buah) dan *endoskarp* (cangkang pelindung inti). Inti sawit merupakan endosperm yang mengandung minyak inti berkualitas tinggi. Tanaman kelapa sawit dapat menghasilkan 20-22 tandan per tahun. Jumlah tandan buah pada tanaman tua sekitar 12-14 tandan per tahun. Berat setiap tandan sekitar 25-35 kg. (Rahayu dkk., 2008).

Tempurung inti kelapa sawit berdasarkan ketebalannya dibagi menjadi 3 tipe yaitu *tenera*, *dura*, dan *pisifera*. *Pisifera* memiliki buah yang tidak memiliki tempurung, sehingga tidak memiliki inti (*kernel*). *Pisifera* mempunyai bunga betina yang steril dan jarang berbuah meskipun buahnya menghasilkan minyak. *Dura* adalah sawit yang mempunyai buah dengan tempurung tebal, tandan buahnya berukuran besar dengan kandungan minyak berkisar 18% per tandan. Persilangan antara jantan *Pisifera* dan induk *Dura* disebut *Tenera*. *Tenera* merupakan bibit unggul dengan tempurung buah yang tipis, dan bunga betina yang fertil. Jenis *tenera* mempunyai daging buah mencapai 90% dan mengandung minyak sebanyak 28% setiap tandan (Departemen Perindustrian, 2007).

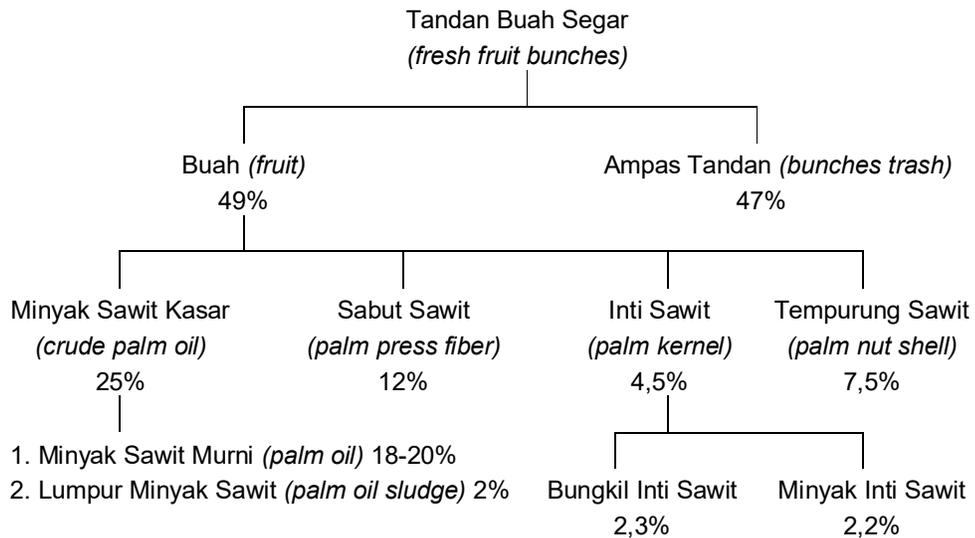
Wilayah dan lingkungan menentukan keberhasilan usaha perkebunan kelapa sawit. Ketinggian wilayah antara 400-1000 m dpl sangat cocok dijadikan lahan perkebunan sawit. Tanah dengan tekstur lempung berpasir, tanah gambut

dengan ketebalan lebih dari 75 cm dan berstruktur kuat serta tanah liat berat merupakan tempat yang sesuai bagi tumbuhnya tanaman kelapa sawit yang baik. Pertumbuhan kelapa sawit memerlukan ketersediaan unsur hara yang tinggi dan kisaran pH tanah sekitar 4-6, iklim dengan curah hujan 2000-2500 mm/tahun dengan musim kering yang kontinyu selama beberapa bulan, dan penyinaran matahari tidak kurang dari 6 jam/hari. Temperatur lingkungan 22-23°C sangat sesuai bagi pertumbuhan kelapa sawit (Hasriyanti dkk., 2016).

Pada akhir abad ke-19 setelah revolusi industri, permintaan minyak nabati untuk bahan pangan dan industri sabun mengalami peningkatan. Hal ini mengakibatkan kelapa sawit menjadi populer. Kelapa sawit diintroduksi pertama kali di Indonesia pada tahun 1884 dari Mauritius (Afrika) oleh Kebun Raya Bogor saat kepemimpinan Johannes Elyas Teysmann sebagai Direktur Kebun Raya. Hasil inroduksi ini berkembang dan menjadi induk perkebunan kelapa sawit di Asia Tenggara. Kemudian pada tahun 1912 kelapa sawit baru diusahakan sebagai tanaman komersial di Indonesia. Pada tahun 1911 dimulai pembangunan perkebunan kelapa sawit di Tanahitam, Hulu Sumatera Utara oleh Schadt dari kebangsaan Jerman. Perusahaan asing berskala besar saat itu sebagai pelaku usaha kelapa sawit dan diintegrasikan dengan budaya, pengolahan Pabrik Kelapa Sawit dan pemasaran hasil. Periode ini terjadi sampai awal Republik dan pada tahun 1980 dikembangkan PIR (Perkebunan Inti Rakyat). Berbagai versi PIR terdapat pada saat itu yang disesuaikan dengan sasaran dan sumber pendanaannya, misalnya PIR-BUN atau *Nucleus Estate and Smallholder*, PIR-KKPA dan PIR-TRANS (Kementrian Perdagangan Republik Indonesia, 2011).

2.1.1. Potensi Produksi Bungkil Inti Sawit

Indonesia merupakan produsen minyak sawit terbesar di dunia. Perkebunan kelapa sawit di Indonesia telah mencapai luas sekitar 9,07 juta hektar pada tahun 2012 dengan produksi 23,52 juta ton (Departemen Pertanian, 2013). Areal tanaman kelapa sawit di Lampung pada tahun 2003 seluas 28 ribu hektar. Pengelolaan perkebunan kelapa sawit di Provinsi Lampung sebagian besar dilakukan oleh PT. Perkebunan Nusantara VII. Perkebunan kelapa sawit tersebut telah menghasilkan total produksi Tandan Buah Segar (TBS) 709 ribu ton, yang diolah menjadi minyak sawit / *Crude Palm Oil* (CPO) sebanyak 148,86 ribu ton dan inti sawit / *Palm Kernel* (PK) sebanyak 34,817 ribu ton. Inti sawit tersebut diolah menjadi *Palm Kernel Oil* (PKO) yaitu minyak inti sawit sebanyak 11,54 ribu ton dan Bungkil Inti Sawit / *Palm Kernel Meal* (PKM) atau *Palm Kernel Cake* (PKC) sebanyak 15,97 ribu ton (PTPN VII, 2004). Alur produksi bungkil inti sawit dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur produksi bungkil inti sawit (Aritonang, 1986)

2.1.2. Potensi Nutrisi Bungkil Inti Sawit

Bungkil inti sawit (BIS) adalah salah satu limbah yang memenuhi syarat untuk dijadikan pakan ternak berdasarkan kandungan nutrisinya. Limbah tersebut tidak mengandung zat racun ataupun antinutrisi yang berbahaya bagi ternak. Namun khusus pada unggas, serat kasar yang tinggi (NDF berkadar tinggi galaktomannan β -(1,4)-D mannan) dan tempurung (kulit inti sawit) yang tajam merupakan faktor toksik dari BIS (FAO, 2005). Kandungan nutrisi bungkil inti sawit disajikan pada Tabel 1.

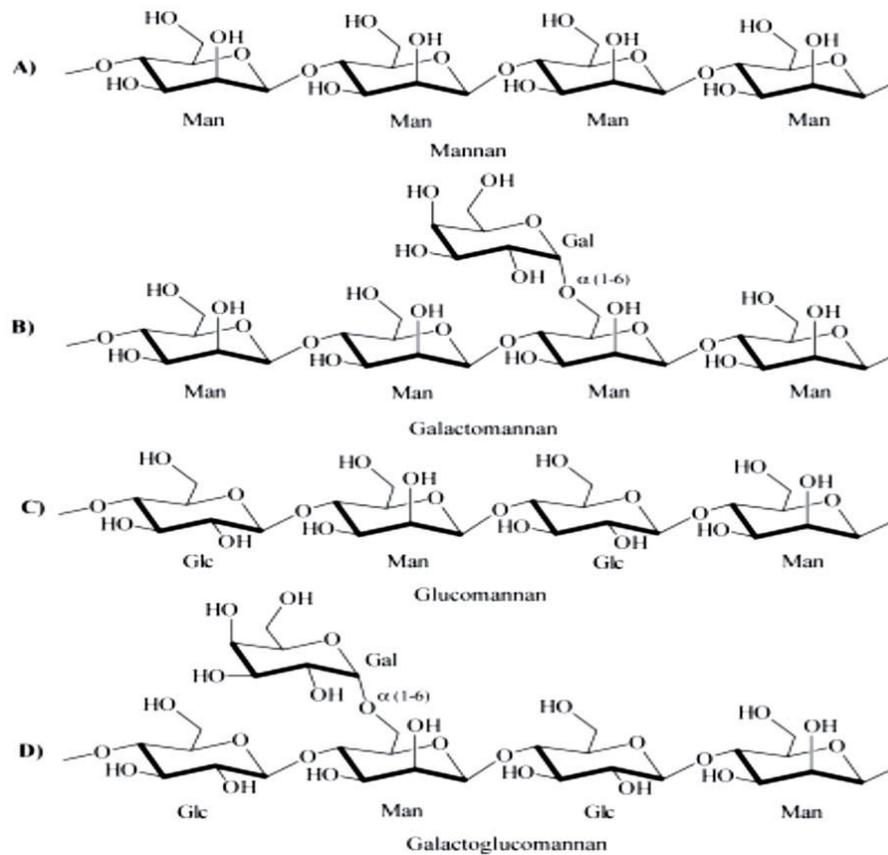
Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa BIS mengandung cukup protein kasar (14,4-19,6%), namun mengandung cukup tinggi serat (13-20%) dan miskin profil asam amino (defisiensi lisin, methionin, sistin dan triptofan). Oleh karena itu, BIS dikategorikan dengan kualitas sedang sebagai pakan ruminansia tetapi tidak cocok sebagai pakan ternak monogastrik (Alimon, 2004). Serat kasar BIS mengandung hemiselulosa dalam jumlah tinggi yang terdiri dari 58% mannan, selulosa dalam jumlah sedang, dan polisakarida lain dalam jumlah yang rendah (Jaafar and Jarvis, 1992).

Mannan yang merupakan komponen utama hemiselulosa dapat diklasifikasikan menjadi 4 macam tipe yaitu linier mannan, galaktomannan, glukomannan, dan galaktoglukomannan (Zahura *et al.*, 2012; Srivastava and Kapoor, 2017). Linier mannan terdiri atas susunan gula sederhana mannosa, galaktomannan terdiri atas mannosa dan galaktosa, glukomannan terdiri atas mannosa dan glukosa, sedangkan galaktoglukomannan tersusun dari mannosa, galaktosa dan glukosa (Dhawan and Kaur, 2007). Variasi struktur senyawa kompleks polisakarida mannan dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Kandungan nutrisi bungkil inti sawit

| Nutrien | Kandungan |
|------------------------------------|------------------|
| a. Analisis proksimat | |
| Bahan kering (%) | 88,0 - 94,5 |
| Protein kasar (%) | 14,5 - 19,6 |
| Serat kasar (%) | 13,0 - 20,0 |
| Lemak kasar (%) | 5,0 - 8,0 |
| Abu (%) | 3,0 - 12,0 |
| Energi metabolis (Kkal/kg) | |
| -Ruminan | 2507,4-2746,2 |
| -Unggas | 1552,2-1791,0 |
| -Babi | 2388,0-2507,4 |
| b. Van Soest | |
| <i>Nitrogen free extract</i> (%) | 46,7 - 58,8 |
| <i>Neutral detergent fibre</i> (%) | 66,8 - 78,9 |
| c. Mineral | |
| Kalsium (%) | 0,21 - 0,34 |
| Posfor (%) | 0,48 - 0,71 |
| Magnesium (%) | 0,16 - 0,33 |
| Potassium (%) | 0,76 - 0,93 |
| Sulfur (%) | 0,19 - 0,23 |
| Tembaga (ppm) | 20,50 - 28,90 |
| Seng (ppm) | 40,50 - 50,00 |
| Besi (ppm) | 835,00 - 6130,00 |
| Mangan (ppm) | 132,00 - 340,00 |
| Molibdenum (ppm) | 0,70 - 0,79 |
| Selenium (ppm) | 0,23 - 0,30 |
| c. Asam Amino (g/16 g N) | |
| Alanin | 3,83 |
| Arginin | 11,56 |
| Asam aspartik | 3,63 |
| Sistin | 1,13 |
| Glisin | 4,17 |
| Asam glutamat | 16,80 |
| Histidin | 1,91 |
| Isoleusin | 3,22 |
| Leusin | 6,07 |
| Lisin | 2,68 |
| Methionin | 1,75 |
| Penilalanin | 3,96 |
| Prolin | 3,31 |
| Serin | 4,11 |
| Treonin | 2,75 |
| Tirosin | 2,60 |
| Valin | 5,05 |

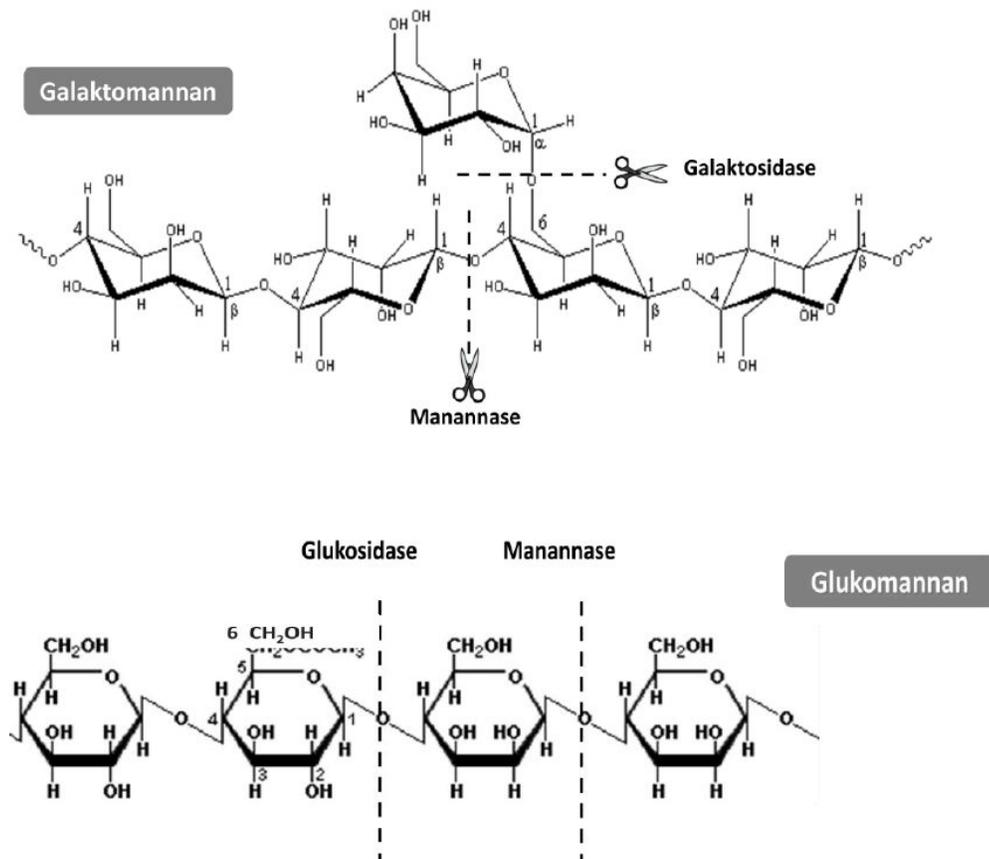
Sumber: Alimon (2004)



Gambar 2. Kelompok hemiselulosa: (a) Mannan (b) Galaktomannan (c) Glukomannan (d) Galaktoglukomannan (Dhawan and Kaur, 2007)

Enzim manannase merupakan enzim pengurai heteromannan menjadi manna, glukosa, dan galaktosa. Enzim Manannase adalah enzim yang berfungsi untuk mengkatalisis proses hidrolisis mannan yang merupakan senyawa polisakarida. Degradasi mannan oleh bakteri, fungi, cendawan dan tanaman memerlukan variasi enzim seperti β -Manannase (EC 3.2.1.78) yang dapat menghidrolisis β -1,4-D mannopiranosil pada kerangka utama polimer mannan seperti pada galaktomannan dan glukomannan untuk menghasilkan rantai pendek manooligosakarida. Selanjutnya senyawa tersebut dihidrolisis oleh kerja enzim β -mannosidase (EC 3.2.1.25) dan α -galaktosidase (EC 3.2.1.22) menghasilkan manna dan galaktosa (Duffaud *et al.*, 1997). Proses

hidrolisis dari senyawa heteromannan galaktomannan memerlukan kompleks enzim manannase, yaitu enzim galaktosidase untuk memotong rantai ikatan galaktosa dengan mannosa, dan enzim manannase untuk memotong rantai ikatan mannosa dengan mannosa. Pada senyawa glukomannan diperlukan kompleks enzim manannase glukosidase dengan mananase untuk menghasilkan gula sederhana. Enzim glukosidase berfungsi untuk memotong ikatan rantai glukosa dengan mannosa sehingga hasil akhir hidrolisis berupa glukosa dan mannosa (Gambar 3).



Gambar 3. Pemotongan heteromannan oleh kompleks enzim manannase (Kurakake and Komaki, 2001)

Struktur kimia serat kasar BIS yang kompleks memerlukan kombinasi enzim untuk mendegradasi serat kasar BIS. Kombinasi enzim yang dapat digunakan untuk mendegradasi serat kasar BIS adalah mannosidase, galaktosidase, glukosidase, dan xylanase. Degradasi serat kasar BIS oleh enzim mampu melepaskan potensi gula yang dapat difermentasi supaya dapat digunakan sebagai sumber prebiotik (mannan oligosakarida / MOS) bagi ternak monogastrik (Fouche, 2009).

Penggunaan BIS dalam pakan ternak monogastrik seperti unggas, babi, dan ikan terbatas, karena kurangnya enzim yang cocok dalam ternak monogastrik untuk menghidolisis serat. Metode yang paling banyak digunakan untuk mengatasi keterbatasan ini adalah (a) penggunaan kapang (khususnya *Aspergillus niger*) dalam fermentasi padat untuk memecah dan mengurangi hemiselulosa, selulosa, dan lignin dalam BIS (Noraini *et al.*, 2001), dan (b) suplementasi enzim dalam pakan unggas yang mengandung BIS (Chong *et al.*, 2008).

Enzim yang banyak digunakan untuk meningkatkan nilai nutrisi BIS adalah manannase, α -galaktosidase, dan selulase (Sundu and Dingle, 2003). Suplementasi enzim secara langsung kedalam pakan ayam pedaging dapat meningkatkan energi metabolis (Chong *et al.*, 2008). Sekoni *et al.* (2008) mencatat peningkatan retensi nutrisi (protein, lemak dan Bahan Ekstrak Tiada Nitrogen/BETN) dan energi metabolis pada ayam pedaging. Peneliti lainnya (Choct, 2006) melaporkan bahwa enzim tidak efektif dalam memecah *non starch polysaccharides* menjadi gula sederhana dalam saluran pencernaan unggas, dan menyarankan bahwa pra perlakuan BIS dengan enzim sebelum diberikan pada unggas menjadi pilihan yang lebih baik dalam memperbaiki nilai nutrisi BIS.

2.2. Ketela Pohon

Ketela pohon dikenal juga dengan istilah ubi kayu atau singkong merupakan salah satu sumber karbohidrat yang berasal dari umbi. Ketela pohon adalah bahan pangan sumber serat dengan kandungan energi cukup tinggi. Ketela pohon adalah tanaman daerah tropis, yang tumbuh dengan baik pada daerah yang memiliki ketinggian 150-2500 m dari permukaan laut. Iklim yang panas dan lembab dengan suhu antara 25-27°C, kelembaban udara sekitar 60-65% dan curah hujan rata-rata 1000-2500 mm per tahun sangat cocok untuk pertumbuhan tanaman ketela pohon. Ketela pohon membutuhkan sinar matahari sekitar 10 jam per hari. Ketela pohon sangat cocok tumbuh pada tanah yang berstruktur remah, gembur, tidak terlalu liat dan tidak terlalu poros serta kaya bahan organik. Jenis tanah yang sesuai untuk tanaman ketela pohon adalah jenis aluvial latosol, podsolik merah kuning, mediteran, grumasol dan andosol. Derajat keasaman (pH) yang sesuai untuk budidaya ketela pohon berkisar antar 4,5-8,0 (Departemen Pertanian, 2014). Tanaman ketela pohon tersebar hampir di seluruh propinsi di Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Papua, Nusa Tenggara dan Bali (Badan Pusat Statistik, 2013).

Ketela pohon memiliki nama botani *Manihot esculenta* Crantz. Nama lain dari spesies ketela pohon yang lebih dikenal yaitu *Manihot utilissima*. Adapun klasifikasi tanaman ketela pohon (Zulaidah, 2011) dapat diuraikan dibawah ini.

| | |
|------------|--|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Sub divisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Famili | : Euphorbiaceae |
| Genus | : Manihot |
| Spesies | : <i>Manihot esculenta</i> Crantz <i>Manihot utilissima</i> |

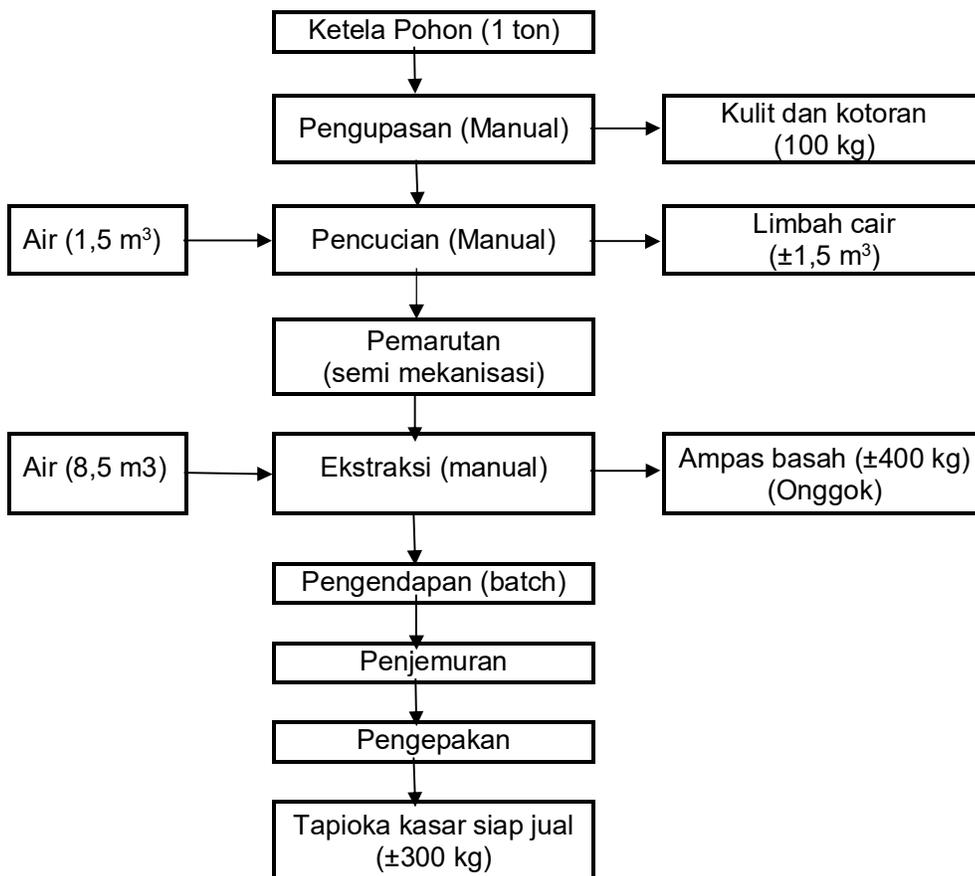
Ketela pohon terdiri dari bermacam-macam varietas, diantaranya yaitu: ketela pohon malaysia, ketela pohon roti, ketela pohon lampung, ketela pohon adira-1, ketela pohon kalimatan dan ketela pohon pulut. Masing-masing varietas mempunyai karakteristik dan produksi umbi yang berbeda-beda. Ketela pohon kalimatan menghasilkan umbi paling tinggi dibandingkan dengan varietas yang lain. Karakteristik ketela pohon kalimatan berdasarkan ciri daun, batang dan umbi adalah sebagai berikut:

- a) Daunnya mempunyai lobus sebanyak 9 dengan warna petiole ungu/merah.
- b) Tinggi tanaman umur 6 bulan adalah 409 cm, panjang ruas batang 2 cm, warna batang atas hijau dan batang bawah abu-abu, warna kulit luar ubi kayu coklat tua dan kulit dalam rose.
- c) Diameter ubi kayu umur 6 bulan adalah 6,5 cm dan panjang ubi kayu 19,7 cm, jumlah ubi kayu umur 6 bulan 13 dengan rata-rata bobot ubi kayu 686,92 gram dan produksi ubi kayu sebanyak 8,9 kg/tanaman (Fauzi dkk., 2015).

Umbi dan limbah ketela pohon dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Umbi digunakan sebagai bahan pangan sumber karbohidrat (54,2%), industri tepung tapioka (19,70%), industri pakan ternak (1,80%), industri non pangan lainnya (8,50%) dan sekitar 15,80% untuk komoditi ekspor (Andrizal, 2003). Limbah digunakan sebagai bahan campuran pakan ternak baik untuk unggas ataupun untuk ruminansia. Bahan pakan asal limbah pasca panen tanaman ketela pohon antara lain: pucuk ketela pohon (daun dan tangkai/ranting muda), batang ketela pohon, kulit umbi, gaplek afkir, umbi kayu afkir dan onggok. Onggok sebagai salah satu limbah pasca panen ketela pohon yang merupakan limbah padat dari proses produksi tepung tapioka mengandung asam sianida. Perlakuan pengeringan dan fermentasi sangat dianjurkan sebelum diberikan kepada ternak untuk mengurangi atau menghilangkan racun asam sianida (Antari dan Umiyasih, 2009).

2.2.1. Potensi Produksi Onggok

Indonesia merupakan salah satu penghasil ketela pohon terbesar di dunia. Berdasarkan data dari Departemen Pertanian (2013) produksi ketela pohon pada akhir 2011 mencapai 20,9 juta ton. Tahun 2013 produksi ketela pohon di Indonesia mencapai 25,5 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2013). Pengolahan ketela pohon menjadi tepung tapioka menghasilkan limbah yang salah satunya adalah onggok. Alur produksi tepung tapioka yang menghasilkan limbah onggok dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Alur produksi tepung tapioka yang menghasilkan limbah onggok (Nurhayati, 2005)

Onggok merupakan limbah padat industri tepung tapioka. Ketela pohon segar sebanyak 1000 kg pada pembuatan tepung tapioka, dapat dihasilkan onggok sebanyak 114 kg atau 11,4% (Departemen Pertanian, 2014). Apabila setengah dari produksi ketela pohon di Indonesia pada tahun 2013 yaitu 25,5 juta ton diolah menjadi tepung tapioka, berarti onggok yang dihasilkan dapat mencapai 2,9 juta ton per tahun. Lampung merupakan salah satu propinsi produsen ketela pohon yang produksinya sangat tinggi yaitu 9.6 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2013) Sebagian besar ketela pohon diolah menjadi tepung tapioka oleh banyak industri yang ada di Lampung, sehingga onggok yang dihasilkan juga sangat berlimpah. Onggok dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan sebagai bahan untuk memproduksi protein sel tunggal (Antari dan Umiyasih, 2009).

2.2.2. Potensi Nutrisi Onggok

Onggok berpotensi sebagai pakan ternak untuk ternak ruminasia ataupun non ruminansia. Onggok merupakan bahan pakan ternak sumber energi dan mempunyai kadar protein kasar rendah. Sjoftan dkk. (2001) melaporkan bahwa onggok mengandung kadar air 15,16%, PK 3,92%, LK 0,49%, SK 3,63%, dan abu 3,96%. Menurut Nurhayati dkk. (2006) kandungan energi onggok adalah 3.160 kkal/kg dan protein kasarnya 2,04%. Kandungan BETN onggok adalah 61,35% (Suherman dkk., 2013).

Kandungan energi onggok cukup tinggi dan mampu mensuplai energi pada pakan ternak. Kandungan energi onggok yang cukup tinggi tetapi tidak diimbangi dengan kandungan protein kasar yang tinggi menjadikan kualitas onggok lebih rendah dibandingkan dengan jagung atau sorgum. Selain itu 40-60% dari kandungan protein kasar onggok adalah non-protein nitrogen (Balagopalan *et al.*, 2006). Kandungan serat kasar onggok adalah 14,54%. Penggunaan Onggok

sebagai bahan pakan unggas terkendala oleh rendahnya kandungan protein kasar dan tingginya serat kasar. Teknologi fermentasi merupakan alternatif untuk meningkatkan nilai nutrisi onggok, sehingga berpotensi sebagai bahan pakan unggas (Nurhayati dkk., 2006).

2.3. Teknologi Fermentasi

Teknologi fermentasi adalah upaya manusia untuk mencapai kondisi optimal agar proses fermentasi dapat memperoleh hasil yang maksimal serta sesuai dengan target yang direncanakan secara kualitatif ataupun kuantitatif. Fermentasi merupakan proses pengubahan bahan organik menjadi bentuk lain yang lebih berguna dengan bantuan mikroorganisme secara terkontrol. Teknologi fermentasi banyak digunakan untuk meningkatkan nilai nutrisi suatu limbah . Penelitian-penelitian sebelumnya memberikan informasi tentang teknologi fermentasi yang bermanfaat dapat menurunkan kandungan serat kasar dan meningkatkan kandungan protein pada substrat seperti: bungkil kelapa (Haryati dkk., 2006), ampas sagu (Tampoebolon, 2009), BIS (Supriyati dkk., 1998; Nurhayati, 2005 dan 2007; Nurhayati dkk., 2006; Sinurat, 2012) dan onggok (Suherman dkk., 2013).

Peranan mikroorganisme sangat penting dalam proses fermentasi. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi antara lain bakteri kapang, dan jamur. Mikroorganisme dapat berkembang dalam kondisi tertentu dan mengubah komposisi kimia suatu limbah menjadi lebih baik. Proses fermentasi dengan menggunakan bermacam-macam jenis mikroba sering dilakukan dalam bidang peternakan, seperti fermentasi untuk meningkatkan nilai nutrisi berbagai limbah agroindustri sebagai pakan ternak (Suprihatin, 2010). Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan pada fermentasi limbah agroindustri adalah *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* lebih mudah tumbuh

pada berbagai limbah agroindustri, seperti BIS dan onggok. *Aspergillus niger* mampu memproduksi enzim amilolitik, proteolitik, dan lipolitik yang dapat meningkatkan nilai nutrisi limbah sawit dan onggok. Selain itu dihasilkan juga enzim xylanase, dan selulase yang bisa menurunkan kandungan serat kasar BIS dan onggok. Serat yang dipecah akan menjadi karbohidrat sederhana sehingga meningkatkan energi yang bisa dimetabolisme oleh ternak (Nurhayati, 2005).

Tabrani dkk. (2004) meneliti pengaruh fermentasi dengan *Aspergillus niger* terhadap kandungan PK, HCN, dan GE telah dilakukan pada onggok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi onggok dengan *Aspergillus niger* secara statistik sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan PK onggok, menurunkan ($P < 0,01$) kandungan HCN onggok dan cenderung meningkatkan kandungan GE onggok. Hasil penelitian Obadina *et al.* (2006) tentang pengkayaan protein dan penurunan serat kasar onggok menggunakan berbagai kapang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan protein kasar, karbohidrat, dan serat kasar onggok yang difermentasi dengan berbagai kapang

| Jenis kapang | Onggok fermentasi (%) | | |
|------------------------------|-----------------------|-------------------|-------------|
| | Protein kasar | Karbohidrat total | Serat kasar |
| <i>Aspergillus niger</i> | 12,6 | 33,4 | 30,6 |
| <i>Aspergillus flavus</i> | 14,0 | 31,0 | 28,5 |
| <i>Aspergillus fumigates</i> | 18,9 | 30,4 | 25,8 |
| <i>Trichoderma sp.</i> | 25,5 | 28,6 | 23,2 |
| Kontrol | 1,45 | 43,5 | 50,6 |

Sumber: Obadina *et al.* (2006)

Penelitian Phong *et al.* (2013) tentang pengkayaan protein pada onggok (*enriched cassava bran*) dan penurunan serat kasar menggunakan *Aspergillus niger* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan nutrisi onggok sebelum dan setelah difermentasi dengan *Aspergillus niger*

| Kandungan Nutrien | Onggok | |
|-------------------|--------------------|--------------------|
| | Sebelum fermentasi | Sesudah fermentasi |
| Protein kasar (%) | 2,40 | 9,80 |
| Protein mumi (%) | 1,10 | 6,40 |
| Serat kasar (%) | 7,20 | 6,80 |
| Lemak kasar (%) | 3,00 | 4,40 |
| Abu (%) | 2,50 | 2,40 |
| HCN, mg/kg BK | 14,00 | 7,00 |

Sumber: Phong *et al.* (2013)

Hasil penelitian Supriyati dkk. (1998) menunjukkan bahwa BIS yang difermentasi dengan *Aspergillus niger* mempunyai kandungan nutrisi lebih baik dari BIS yang tidak difermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi BIS dengan *Aspergillus niger* meningkatkan protein kasar dan protein sejati serta menurunkan kandungan serat BIS. Data hasil penelitian tersebut disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Perubahan kandungan protein dan *Neutral Detergent Fiber* (NDF) bungkil inti sawit setelah dilakukan fermentasi dengan jenis kapang yang berbeda (%BK)

| Nutrien | Proses | <i>Aspergillus niger</i> | |
|----------------|------------------|--------------------------|--------------------|
| | | Liar | NRRL 337 |
| Protein kasar | Tanpa fermentasi | 14,19 ^a | |
| | Fermentasi | 35,61 ^b | 36,43 ^b |
| Protein sejati | Tanpa fermentasi | 13,59 ^a | |
| | Fermentasi | 24,35 ^b | 25,06 ^b |
| NDF | Tanpa fermentasi | 63,96 ^a | |
| | Fermentasi | 53,12 ^b | 51,94 ^b |

Sumber: Supriyati dkk. (1998)

Muangkeow and Chinajariyawong (2009) melaporkan bahwa fermentasi BIS dengan *Aspergillus wentii* dapat menurunkan kandungan ADF dari 47,14% menjadi 45,47%, NDF dari 77,56% menjadi 73,32% dan hemiselulosa dari 30,42% menjadi 25,46%. Penggunaan *Aspergillus niger* pada proses fermentasi di media padat, mampu memecah dan menurunkan kandungan hemiselulosa, selulosa dan lignin BIS (Noraini *et al.*, 2001).

Sjofjan dkk. (2001) menyatakan bahwa fermentasi campuran onggok dan kotoran ayam oleh *Aspergillus niger*, *Rhizopus oligosporus*, atau

Saccharomyces cerevisiae dapat memperbaiki kandungan nutrisi dari campuran onggok dan kotoran ayam tersebut. Penelitian tersebut memberikan hasil bahwa campuran 20% onggok dan 80% kotoran ayam merupakan kombinasi terbaik dalam meningkatkan kandungan protein kasar substrat campuran onggok dan kotoran ayam. Djunaidi dkk. (2000) menyimpulkan bahwa penambahan campuran onggok dan kotoran ayam terfermentasi dalam pakan ayam pedaging dapat diberikan sampai tingkat 20%, meskipun memperlihatkan penampilan yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, akan tetapi secara ekonomis masih menguntungkan. Sjojfan dkk. (2002) melakukan penelitian tentang penggunaan fermentasi campuran onggok dan kotoran ayam sebagai pakan ternak unggas. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa fermentasi campuran onggok dan kotoran ayam dapat mengganti sebagian bekatul dalam pakan ayam pedaging dan seluruh bekatul dalam pakan ayam petelur maupun itik petelur.

Penelitian Nurhayati (2005) memberikan informasi bahwa kandungan nutrisi campuran BIS dan onggok dapat diperbaiki melalui proses fermentasi dengan *Aspergillus niger*. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya kandungan protein kasar sebesar 119,89% (dari 12,92% menjadi 28,41%) serta menurunnya kandungan serat kasar dan lemak kasar masing-masing sebesar 13,71% (dari 17,5% menjadi 15,11%) dan 80,23% (dari 11,53% menjadi 2,28%). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa rasio 75% BIS dan 25% onggok memberikan hasil kandungan nutrisi yang lebih baik dibandingkan dengan rasio BIS dan onggok lainnya (100% BIS, 50% BIS : 50% onggok, 25% BIS : 75% onggok, dan 100% onggok). Penggunaan produk fermentasi campuran BIS 75% dan onggok 25% di atas telah diaplikasikan sebagai bahan pakan ayam pedaging oleh Nurhayati (2007). Hasil penelitian tersebut memberikan informasi bahwa konsumsi pakan, PBB, dan *Income Over Feed Cost* dipengaruhi oleh tingkat penggunaan produk fermentasi dalam pakan ($P < 0,06$), tetapi tidak ($P > 0,06$)

untuk konversi pakan. Penggunaan produk fermentasi campuran BIS dan onggok dalam pakan sampai 30 persen lebih menguntungkan dibandingkan dengan kontrol.

Pertumbuhan kapang akan optimal apabila tersedia sumber nutrisi yang cukup selama proses fermentasi. Kebutuhan nutrisi selain sumber C dan N, ketersediaan mineral seperti sulfur juga harus diperhatikan untuk meningkatkan pertumbuhan kapang. Kandungan protein kasar dan bahan organik biomassa hasil fermentasi dapat ditingkatkan dengan penambahan mineral sulfur ((NH₄)₂SO₄) pada fermentasi onggok dengan lama fermentasi 3 hari (Suprayogi, 2010).

Nurhayati dkk. (2006) melaporkan bahwa fermentasi campuran 75% BIS dan 25% onggok menggunakan kapang *Aspergillus niger* dengan penambahan mineral (5 g KCl, 25 ZA, 15 g urea, dan 5 g NPK) dan lama fermentasi 60 jam mampu memperbaiki kandungan nutrisi substrat hasil fermentasi sebagai berikut : PK 28%, energi 3113 kkal, LK 2,28%, SK 15,1%, dan abu 6,73%. Penelitian Nurhayati (2007) selanjutnya melakukan proses fermentasi campuran BIS 80% dan onggok 20% dengan penambahan mineral setengah dari penelitian sebelumnya (2,5 g KCl, 12,5 ZA, 7,5 g urea, dan 2,5 g NPK) dengan lama fermentasi 72 jam menghasilkan produk fermentasi dengan kandungan nutrisi, yaitu PK 20%, energi 2780 kkal, LK 6,47%, SK 8,5%, dan abu 6,23%. Selanjutnya Nurhayati (2007) melaporkan bahwa bobot karkas dan bagian-bagian karkas ayam pedaging dengan penggunaan campuran BIS dan onggok fermentasi sampai 30% lebih tinggi daripada kontrol. Penelitian Nurhayati dkk. (2009) menunjukkan bahwa penambahan produk fermentasi campuran BIS dan onggok 10% dan kunyit 2,5% dalam pakan dapat menghasilkan penampilan produksi ayam pedaging dan nilai ekonomis (IOFC) yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Penambahan mineral dalam proses fermentasi campuran BIS dan onggok dapat memacu pertumbuhan kapang, tetapi apabila berlebihan dapat menghambat pertumbuhan kapang. Disamping itu residu mineral dalam jumlah banyak pada substrat hasil fermentasi di duga dapat menjadi racun bila digunakan sebagai pakan pada unggas. Lama fermentasi mempengaruhi kualitas nutrisi hasil fermentasi. Proses fermentasi yang terlalu singkat mengakibatkan nilai nutrisi hasil fermentasi masih rendah karena pertumbuhan kapang belum optimal. Demikian juga jika proses fermentasi terlalu lama dapat mengakibatkan penurunan kualitas hasil fermentasi karena pertumbuhan kapang sudah memasuki fase produksi spora (Nurhayati dkk., 2011).

2.4. *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan kapang dari filum *ascomycetes* dan keberadaannya sangat berlimpah di alam. *Aspergillus niger* dapat diklasifikasikan seperti berikut ini:

Domain : Eukaryota
Kerajaan : Fungi
Filum : Ascomycota
Kelas : Eurotiomycetes
Ordo : Eurotiales
Famili : Trichocomaceae
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Aspergillus niger*

Media seperti tanah, sisa tumbuhan, dan udara di dalam ruangan merupakan sumber media yang dapat digunakan untuk mengisolasi *Apergillus niger*. Pada saat terbentuknya konidia di media Agar dekrosa kentang dengan suhu 25°C warna koloni *Aspergillus niger* yang putih dapat berubah menjadi hitam. Karakteristik *Aspergillus niger* yaitu kepala konidia berwarna hitam, bulat dan seiring dengan bertambahnya umur cenderung memisah menjadi

bagian-bagian yang lebih longgar (Baker, 2006). Kapang ini dapat tumbuh pada suhu optimum 35-37°C ataupun suhu minimum 6-8°C serta suhu maksimum 45-47°C. *Aspergillus niger* tergolong kapang yang bersifat fakultatif anaerob, tumbuh cepat tidak menghasilkan toksin dan tidak membahayakan. Kapang ini bermanfaat untuk memproduksi berapa enzim seperti amilase, fitase, pektinase, amiloglukosidase, selulase, manannase serta untuk menghasilkan asam sitrat dan asam glukonat (Sari dan Purwadaria, 2004). *Aspergillus niger* termasuk jenis kapang yang berpotensi untuk menghasilkan enzim manannase dan dapat digunakan untuk mendegradasi polisakarida mannan dari BIS. Kondisi optimum medium fermentasi BIS untuk *Aspergillus niger* dalam memproduksi enzim manannase menurut Ab Rasyid *et al.* (2009) yaitu kelembaban 80%, dosis kapang 1×10^7 spora/ml, suhu 30°C, ukuran partikel BIS 0,5 mm, penambahan 2% molases dan 4% ammonium nitrate. Kondisi ini mampu meningkatkan produksi enzim manannase sebanyak 53,68%.

Kapang ini dalam proses pertumbuhannya berkaitan langsung dengan nutrisi yang ada dalam substrat, dengan langsung menyerap molekul sederhana yang terdapat disekeliling hifa. *Aspergillus niger* tidak mampu menyerap molekul yang kompleks dan akan dipecah terlebih dahulu menjadi molekul yang lebih sederhana sehingga dapat diserap ke dalam sel. Proses pemecahan ini memacu dihasilkannya beberapa enzim ekstra seluler misalnya mannanase, α -galaktosidase, protease dan amilase (Baker, 2006).

Fase pertumbuhan kapang pada umumnya adalah sebagai berikut:

1. Fase lag atau fase adaptasi, yaitu sel-sel kapang melakukan penyesuaian dengan lingkungannya dengan memproduksi enzim-enzim untuk mengurai substrat. Media atau lingkungan pertumbuhan dan juga jumlah inokulum merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi fase adaptasi.

2. Fase akselerasi awal atau fase pertumbuhan awal, yaitu fase dimulainya sel-sel membelah dengan kecepatan yang rendah.
3. Fase pertumbuhan logaritmik yaitu fase peningkatan jumlah sel yang massif dengan aktivitas sel yang sangat meningkat. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH, kandungan nutrisi, kelembaban udara dan suhu. Kapang membutuhkan energi lebih banyak pada fase ini dibandingkan dengan fase lainnya.
4. Fase deselerasi atau fase pertumbuhan lambat, yaitu saat diawalnya sel-sel kurang aktif membelah. Pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena beberapa sebab, yaitu nutrisi yang terkandung pada medium sudah sangat berkurang dan adanya hasil-hasil metabolisme yang dapat menyebabkan racun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Namun demikian pada fase ini populasi masih meningkat.
5. Fase statis, yaitu fase pada saat banyaknya sel yang mati seimbang dengan sel yang tumbuh. Aktifitas pembelahan sel pada fase ini masih berlangsung tetapi ukuran selnya lebih kecil, seiring dengan kurangnya nutrisi pada medium.
6. Fase kematian, yaitu fase pada saat banyaknya sel-sel yang masih tumbuh lebih sedikit dibandingkan dengan sel-sel yang mati. Mikroba mengalami kematian karena nutrisi dalam medium sudah habis dan cadangan energi di dalam sel sudah habis (Suprihatin, 2010).

2.5. Prebiotik

Prebiotik adalah bahan atau komponen pakan tidak tercerna yang mempunyai pengaruh positif terhadap pertumbuhan ternak dengan meningkatkan aktivitas sejumlah bakteri tertentu dalam saluran pencernaan yang

bermanfaat untuk kesehatan saluran pencernaan ternak (Gibson and Roberfroid, 1995). Prebiotik merupakan bahan pakan yang berbentuk serat dan ternak berperut tunggal (*monogastrik* seperti ayam dan babi) tidak dapat mencernanya. Serat tersebut dapat difermentasi oleh bakteri menguntungkan dan dapat memacu pertumbuhan serta aktifitas bakteri menguntungkan dalam saluran pencernaan ternak seperti bifidobakteria dan laktobacili. Prebiotik bermanfaat untuk membatasi keberadaan bakteri patogen dalam saluran pencernaan (Daud dkk., 2007). Syarat bahan atau komponen pakan yang dapat dikelompokkan sebagai prebiotik antara lain: 1) bahan tidak dapat dihidrolisis dan tidak diserap di bagian atas saluran pencernaan, 2) bahan mampu memacu meningkatkan pertumbuhan dan aktifitas bakteri menguntungkan, 3) bahan mampu merubah mikroflora usus menjadi komposisi yang menguntungkan kesehatan (Azhar, 2009).

Beberapa perubahan positif pada enzim pencernaan dan morfologi saluran pencernaan terjadi pada unggas yang diberi pakan dengan suplementasi prebiotik (Xu *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2003). Faktor yang perlu diperhatikan dalam suplementasi prebiotik pada pakan, adalah tipe pakan (seperti mengandung oligosakarida tidak tercerna), tipe suplemen dan tingkat suplementasi, karakteristik ternak (spesies, umur, dan fase produksi) dan higienitas kandang (Verdonk *et al.*, 2005). Tipe suplemen dan tingkat suplementasi adalah faktor penting yang harus diperhatikan, karena dosis prebiotik yang tinggi dapat menyebabkan pengaruh negatif terhadap saluran pencernaan dan dapat memperlambat pertumbuhan unggas seperti yang diamati oleh Biggs *et al.* (2007).

Penelitian tentang pengaruh prebiotik terhadap aktivitas mikroflora pada saluran pencernaan dan penampilan ayam pedaging sudah banyak dilakukan dan pengaruhnya sangat bervariasi, tergantung dari jenis prebiotik yang

digunakan. Beberapa contoh prebiotik yang telah tersedia secara komersial umumnya adalah produk frukto oligosakarida/FOS, iso malto oligosakarida, galakto oligosakarida, trans galakto oligosakarida, inulin, stachiosa, malto oligosakarida, dan oligochitosan. Selain itu, oligosakarida yang terkandung dalam BIS dan ragi seperti MOS juga termasuk prebiotik (Haryati dan Supriyati, 2010).

2.5.1. Mannan oligosakarida

Mannan oligosakarida (MOS) merupakan salah satu dari kelompok alternatif antibiotik yang paling banyak diteliti. MOS dapat diperoleh dari dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* dan BIS. MOS dari dinding sel ragi (*Saccharomyces cerevisiae*), adalah komponen dinding sel bagian luar, yang terdiri dari komponen protein, glukans dan radikal posfat, serta mannososa (Klis *et al.*, 2002). Komponen dasar dinding tersebut adalah mannan (30%), glukans (30%) dan protein (12,5%). MOS mengandung protein yang mempunyai proporsi serine, threonine, aspartik dan asam glutamat, serta kekurangan methionin (Jianyi and Weifen 2001). BIS berpotensi menghasilkan MOS karena sebagian besar serat kasarnya terdiri dari hemiselulosa. Polisakarida mannan yang merupakan bahan baku MOS terkandung dalam hemiselulosa sebanyak 58%.

MOS dapat berdampak positif untuk menurunkan mikroflora patogen dalam saluran pencernaan. Pengaruh MOS untuk menjaga keseimbangan mikroba saluran pencernaan terbukti dapat meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging (Hooge, 2004a), dan kalkun (Hooge, 2004b). Kocher *et al.* (2004) meneliti pengaruh penggunaan antibiotik dan Bio-Mos terhadap bobot badan dan konversi pakan ayam pedaging yang ditantang dengan *Clostridium perfringens*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bobot badan ayam pedaging dari kedua perlakuan tidak berbeda nyata dengan konversi pakan yang hampir sama.

Hooge (2004a) melakukan percobaan pakan yang diberi MOS komersial (Bio-MOS, Alltech Inc.) terhadap penampilan produksi ayam pedaging. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat peningkatan penampilan produksi ayam pedaging yang diberi pakan mengandung MOS dibandingkan dengan kontrol dan menggunakan antibiotik. Data hasil penelitian tersebut disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh MOS terhadap penampilan produksi ayam pedaging

| Parameter | Kontrol | MOS | Perubahan relatif (%) |
|-----------------------|-------------------------|-------|--------------------------|
| Bobot badan (kg/ekor) | 2,231 | 2,267 | +1,61 |
| FCR (g/g) | 1,808 | 1,772 | -1,99 |
| Mortalitas (%) | 4,494 | 3,534 | -21,40 |
| Parameter | Kontrol (antibiotik) | MOS | Perubahan relatif (%) |
| Bobot badan (kg/ekor) | 2,246 | 2,238 | -0,36 |
| FCR (g/g) | 1,822 | 1,820 | -0,11 |
| Mortalitas (%) | 5,404 | 4,426 | -18,10 |

Sumber : Hooge (2004a).

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat penurunan mortalitas yang signifikan pada perlakuan MOS dibandingkan dengan perlakuan antibiotik. Hal ini dapat memberikan pengaruh yang sangat menguntungkan pada usaha peternakan unggas.

Sinovec *et al.* (2005) melakukan penelitian dengan membandingkan pengaruh Bio-MOS dan antibiotik terhadap penampilan produksi ayam pedaging. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian MOS dalam pakan dapat meningkatkan bobot badan dan penambahan bobot badan serta nilai FCR (konversi pakan) yang lebih baik daripada kontrol maupun antibiotik. Pengaruh pemberian MOS terhadap bobot badan, PBB dan FCR disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh pemberian MOS dalam pakan terhadap penampilan produksi/performan ayam pedaging pada umur 42 hari

| Parameter | Perlakuan | | |
|------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Kontrol | Antibiotik | MOS |
| Bobot badan (kg) | 1815,67 ^a | 1869,40 ^a | 1915,23 ^b |
| PBB (g/hari) | 41,96 ^a | 43,50 ^a | 44,58 ^b |
| FCR | 2,17 ^a | 1,98 ^a | 1,84 ^b |

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Sumber: Sinovec *et al.* (2005)

Rekomendasi penggunaan MOS untuk ayam pedaging adalah 0,2% untuk ayam umur 0 sampai 7 hari, 0,1% untuk ayam umur 7 sampai 21 hari dan 0,05% untuk ayam umur 21-42 hari (Hooge, 2004a). Dosis penggunaan MOS yang optimal untuk produksi ayam pedaging menurut hasil penelitian Yang *et al.* (2007a) adalah 2 g/kg, tergantung tahapan pertumbuhan ayam. Peningkatan penampilan produksi ayam dengan pemberian MOS diduga karena adanya aktivitas MOS seperti mengontrol bakteri patogen yang mempunyai fimbria tipe-1 (mannosa, sensitif lektin), (Ferket, 2004). Mannan oligosakarida tidak hanya mencegah penempelan bakteri patogen yang mempunyai fimbria tipe-1, seperti *Salmonella* sp. dan *Echerichia coli* pada dinding saluran pencernaan, tetapi juga memindahkan bakteri patogen tersebut dari dinding saluran pencernaan (Yang *et al.*, 2009). Pemindahan bakteri patogen dari saluran pencernaan dan terekskresi bersama feses dapat mengurangi kasus infeksi bakteri patogen pada ayam pedaging.

Pengaruh positif MOS terhadap keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan telah banyak dilaporkan oleh beberapa peneliti. Jamroz *et al.* (2004) melakukan penelitian dengan membandingkan pengaruh penggunaan antibiotik Avilamycin dan MOS dalam pakan ayam pedaging terhadap mikroflora dalam jejunum dan sekum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan MOS nyata menurunkan *Echerichia coli* dan *Coliforms* serta sangat nyata menurunkan *Clostridium perfringens* baik di jejunum maupun di sekum.

Penggunaan MOS maupun Avilamycin tidak berpengaruh pada fungi. Penggunaan Avilamycin mampu menaikkan jumlah *Lactobacillus* sp. di sekum tetapi tidak berpengaruh di jejunum.

Fernandez *et al.* (2002) melakukan percobaan untuk membandingkan pengaruh penggunaan MOS + isi *caeca* dan palm kernel meal (PKM) + isi *caeca* dengan kontrol (tanpa MOS, PKM dan isi *caeca*) terhadap kandungan *Laktobacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Coliforms* dan *Salmonella enteritidis* pada saluran pencernaan ayam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan MOS + isi *caeca* maupun PKM + isi *caeca* nyata menurunkan *Coliforms* dan sangat nyata menurunkan *Salmonella enteritidis* dibandingkan dengan kontrol. Jumlah *Lactobacillus* sp. tidak berbeda pada semua perlakuan. Jumlah *Enterococcus* sp. baik pada perlakuan penggunaan MOS + isi *caeca* dan kontrol tidak berbeda nyata, tetapi pada perlakuan penggunaan PKM + isi *caeca* sedikit mengalami penurunan dibandingkan dengan kedua perlakuan tersebut.

Hasil penelitian Spring *et al.* (2000) membuktikan bahwa penggunaan MOS nyata mampu menurunkan *Salmonella* sp. dan tidak berbeda dalam mempengaruhi jumlah *Lactobacilli*, *Enterococci* dan *Coliforms* pada sekum ayam. Penggunaan MOS juga mempengaruhi jumlah bakteri dalam digesta jejunum, ileum dan sekum ayam dengan umur yang berbeda (Yang *et al.*, 2008b). Penggunaan MOS mampu menurunkan jumlah *Clostridium perfringens* dalam digesta sekum dibandingkan dengan kontrol pada ayam umur 7 dan 21 hari. Nilai penurunan ini relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan penggunaan FOS ataupun antibiotik. Keempat perlakuan (kontrol, penggunaan MOS, FOS ataupun antibiotik) tidak mempengaruhi jumlah *Clotridium perfringens* pada digesta jejunum dan ileum ayam umur 7 ataupun 21 hari. Jumlah *Lactobacillus* sp. dalam digesta jejunum, ileum dan sekum ayam umur 7 hari ataupun digesta jejunum dan ileum ayam umur 21 hari tidak berbeda nyata pada semua

perlakuan. Penggunaan MOS dapat meningkatkan jumlah *Lactobacillus* sp. dalam digesta sekum ayam umur 21 hari dibandingkan dengan kontrol. Jumlah *Laktobacillus* sp. cenderung lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan penggunaan FOS ataupun antibiotik.

MOS dapat mempengaruhi ukuran usus, panjang vili usus dan mengubah arsitektur mukosa usus pada ayam. Yang *et al.* (2007b) meneliti pengaruh level penggunaan MOS dan antibiotik terhadap perkembangan usus ayam pedaging dengan umur yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang usus (duodenum, jejunum dan ileum) pada ayam umur 7 hari tidak berbeda pada semua perlakuan (MOS, antibiotik ataupun kontrol/tanpa pemberian MOS ataupun antibiotik). Panjang usus ayam (jejunum dan ileum) umur 21 hari pada perlakuan pemberian MOS tidak berbeda dengan pemberian antibiotik ataupun kontrol, tetapi panjang duodenum baik pada perlakuan pemberian MOS ataupun kontrol nyata lebih pendek dibandingkan dengan penggunaan antibiotik. Panjang usus ayam (jejunum dan ileum) umur 42 hari pada perlakuan level pemberian MOS 2 g/kg nyata lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan pemberian MOS 0,5 g/kg, 1 g/kg, penggunaa antibiotik ataupun kontrol.

Penelitian Yang *et al.* (2007b) tentang pengaruh level penggunaan MOS dan antibiotik juga berpengaruh pada tinggi vili usus. Vili usus bagian jejunum ayam umur 7 dan 21 pada perlakuan penggunaan MOS 1g/kg dan 2g/kg nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan penggunaan antibiotik ataupun kontrol. Vili usus bagian ileum ayam umur 42 hari pada perlakuan penggunaan MOS 1g/kg nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan level penggunaan MOS 0,5g/kg dan 2g/kg, penggunaan antibiotik dan kontrol. *Crypt depth* jejunum dan ileum usus pada semua umur ayam menunjukkan hasil yang tidak berbeda pada semua perlakuan.

Penelitian yang membandingkan pengaruh penggunaan MOS dengan antibiotik terhadap morfologi usus ayam pedaging juga dilakukan oleh Baurhoo *et al.* (2009). Hasil penelitian membuktikan bahwa penggunaan MOS dengan level 0,2% ataupun 0,5% mampu meningkatkan tinggi vili usus baik bagian duodenum, jejunum dan ileum pada ayam umur 14 hari, 24 hari dan 34 hari dibandingkan dengan perlakuan kontrol ataupun penggunaan antibiotik virginiamycin ataupun bacitracin. Penggunaan MOS juga berpengaruh dalam meningkatkan jumlah sel goblet setiap vili pada jejunum dan ileum ayam baik pada umur 14 hari, 24 hari dan 34 hari dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Penelitian Sinovec *et al.* (2005) juga menunjukkan pengaruh yang positif dari pemberian MOS terhadap morfologi saluran pencernaan ayam pedaging. Pengaruh pemberian MOS terhadap morfologi pencernaan ayam pedaging dibandingkan dengan pemberian antibiotik dan kontrol disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Pengaruh pemberian MOS dalam pakan terhadap morfologi saluran pencernaan *broiler* umur 42 hari (μm)

| Parameter | Perlakuan | | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Kontrol | Antibiotik | MOS |
| Duodenum | | | |
| Tinggi vili | 901,28 \pm 70,02 ^a | 981,07 \pm 77,01 ^a | 1013,03 \pm 81,98 ^b |
| Lebar vili | 93,72 \pm 15,11 ^a | 98,58 \pm 8,10 ^a | 107,70 \pm 13,91 ^b |
| Dalam <i>Crypt</i> | 140,35 \pm 27,20 ^a | 137,52 \pm 18,23 ^a | 123,72 \pm 32,10 ^b |
| Ilium | | | |
| Tinggi vili | 452,77 \pm 181,13 ^a | 478,32 \pm 124,35 ^a | 640,53 \pm 115,95 ^b |
| Lebar vili | 87,15 \pm 10,92 ^a | 90,28 \pm 18,83 ^a | 95,12 \pm 12,30 ^b |
| Dalam <i>Crypt</i> | 111,93 \pm 14,06 ^a | 103,98 \pm 34,03 ^a | 86,52 \pm 10,90 ^b |
| Sekum | | | |
| Tinggi vili | 160,22 \pm 29,77 ^a | 163,08 \pm 48,67 ^a | 171,25 \pm 44,06 ^b |
| Lebar vili | 59,08 \pm 6,55 ^a | 66,77 \pm 12,34 ^a | 65,10 \pm 16,29 ^b |
| Dalam <i>Crypt</i> | 42,23 \pm 11,77 ^a | 40,83 \pm 8,67 ^a | 31,75 \pm 7,82 ^b |

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Sumber: Sinovec *et al.* (2005).

2.6. Penampilan Produksi Ayam Pedaging

Ayam pedaging (*Broiler*) merupakan ayam tipe pedaging yang telah diseleksi dan disilangkan secara terarah dengan tujuan untuk pertumbuhan yang cepat sehingga bisa dipasarkan pada umur yang sangat muda. Pada umur sekitar 6-8 minggu ayam pedaging ini sudah dapat dijual dengan bobot rata-rata 1,4 kg. Ada beberapa strain ayam pedaging yang dipelihara di Indonesia, diantaranya adalah: CP 707, Starbro, Hybro, Super 77, MB 202 Platinum, Lohman 202, Hyline, Bromo, dan Missouri (Metia, 2016). Ayam pedaging mempunyai laju pertumbuhan yang sangat cepat. Keunggulan secara genetik ayam pedaging ini harus didukung oleh lingkungan yang mendukung termasuk pakan, suhu lingkungan dan manajemen pemeliharaan (Umam dkk., 2014). Parameter konsumsi pakan, PBB, konversi pakan, dan persentase karkas merupakan indikator baik tidaknya pertumbuhan ayam pedaging.

2.6.1. Konsumsi Pakan

Konsumsi pakan dapat didefinisikan sebagai jumlah pakan yang dikonsumsi selama hidup ayam untuk hidup pokok, pertumbuhan, dan reproduksi. Pakan yang dikonsumsi ayam harus mengandung nutrisi yang seimbang. Pakan yang mengandung nutrisi yang seimbang adalah pakan yang mengandung nutrisi dalam jumlah dan proporsi yang mencukupi semua kebutuhan ayam (Amrullah, 2003). Nilai konsumsi pakan dapat diperoleh dengan menghitung jumlah pakan yang diberikan dikurangi jumlah pakan yang tersisa. Konsumsi pakan dapat diukur setiap hari, setiap minggu atau berupa konsumsi kumulatif. Konsumsi kumulatif artinya konsumsi pakan yang dihabiskan pada minggu lalu ditambah dengan konsumsi pakan yang dihabiskan pada minggu saat ini. Konsumsi pakan pada umumnya diukur dalam kurun waktu satu minggu.

Konsumsi pakan merupakan aspek yang berpengaruh pada pertumbuhan ayam pedaging. Konsumsi pakan sangat berpengaruh pada produksi yang dicapai karena apabila nafsu makan ayam rendah akan menyebabkan laju pertumbuhan ayam terhambat. Faktor-faktor yang mempengaruhi konsumsi pakan diantaranya adalah suhu, sistem pemberian pakan, kesehatan ayam, kualitas pakan dan sifat genetik ayam pedaging. Ferket and Gernat (2006) menyatakan bahwa konsumsi pakan dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu aspek bahan pakan (seperti komposisi nutrisi, formulasi, level penggunaan bahan pakan, dan kualitas pellet) dan aspek manajemen (seperti ketersediaan pakan dan minum, manajemen lingkungan, kepadatan kandang, dan kontrol penyakit). Konsumsi pakan merupakan aspek penting yang harus diperhatikan karena merupakan biaya terbesar sekitar 70% dalam produksi ayam pedaging, selain itu konsumsi pakan merupakan faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan, PBB maupun konversi pakan.

2.6.2. Pertambahan Bobot Badan (PBB)

Pertambahan bobot badan (PBB) merupakan salah satu indikator penting untuk mengukur penampilan ayam pedaging. Pertambahan bobot badan merupakan bertambahnya bobot badan pada saat periode tertentu yang diukur dengan cara mengurangi bobot badan akhir dengan bobot badan awal. Bobot badan diukur dengan cara melakukan penimbangan dalam kurun waktu satu minggu. Hal ini dilakukan untuk menghindari cekaman atau stres pada ayam akibat perlakuan penimbangan. Nilai bobot badan akhir dipengaruhi oleh kecepatan pertumbuhan. Tahap-tahap pertumbuhan ayam membentuk gambaran sigmoidal pada grafik pertumbuhan. Pertumbuhan adalah bertambahnya ukuran dan bobot badan, berkembangnya jaringan-jaringan tubuh misalnya otak, jantung, tulang, bobott daging dan jaringan lainnya. Pertambahan bobot badan

dipengaruhi oleh banyak faktor seperti pakan, manajemen, dan temperatur lingkungan (Jaelani, 2011).

Ketersediaan nutrisi pakan yang sesuai dengan kebutuhan ayam dan didukung dengan kemampuan pencernaan serta penyerapan nutrisi pakan oleh usus sangat mempengaruhi nilai pertambahan bobot badan. Panjang dan lebar usus halus berkorelasi positif terhadap bobot hidup (Ibrahim, 2008). Kemampuan pencernaan dan penyerapan nutrisi pakan dipengaruhi oleh luas permukaan epitel usus (Pelicano *et al*, 2005). Tinggi dan luas vili usus bagian duodenum, jejunum dan ileum juga mempengaruhi proses penyerapan nutrisi pakan (Sugito dkk., 2007).

2.6.3. Konversi Pakan

Konversi pakan merupakan suatu ukuran yang mencerminkan perubahan pakan yang dikonsumsi oleh ternak menjadi bobot hidup (Skinner-Noble and Teeter, 2004). Konversi pakan yang nilainya kecil berarti bahwa perubahan pakan menjadi bobot hidup adalah efisien. Perubahan nilai konversi pakan yang semakin kecil berakibat pada peningkatan keuntungan (Anonim, 2011). Nilai konversi pakan dapat diperoleh dari hasil pembagian antara konsumsi pakan dengan pertambahan bobot badan yang dihasilkan dalam waktu yang bersamaan. Pengukuran konversi pakan dapat dilakukan per minggu atau dalam satu kali proses produksi.

Nilai konversi pakan dipengaruhi oleh temperatur lingkungan kandang. Temperatur lingkungan ayam pedaging merupakan faktor yang sangat penting diperhatikan karena ayam merupakan ternak homeoterm atau hewan berdarah panas yang menjaga temperatur tubuhnya relatif konstan. Ayam mengonsumsi pakan lebih banyak pada saat lingkungan dingin, dan sebagian energi yang diperoleh dari pakan tersebut digunakan untuk menjaga suhu badan supaya

tetap normal. Energi yang digunakan untuk menghangatkan badan tidak dikonversi menjadi daging atau bobot hidup. Ayam juga mengonsumsi pakan lebih sedikit pada saat lingkungan panas, sehingga pakan tidak efisien dirubah menjadi daging. Pertumbuhan ayam maksimal jika variasi temperatur pada lingkungan kandang sangat minimal selama 24 jam (May and Lott, 2000).

2.6.4. Karkas

Bobot karkas merupakan indikator penting dalam pemasaran hasil akhir. Karkas adalah hasil utama pemotongan ayam yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Bobot karkas adalah bobot ayam setelah dikurangi komponen non karkas seperti kepala, leher, kaki, darah, bulu, seluruh isi rongga dada dan rongga perut dan tidak termasuk organ-organ dalam seperti ginjal, jantung dan paru-paru. Persentase karkas adalah hasil dari bobot karkas dibagi dengan bobot hidup dikalikan 100% (Sandi dkk., 2012). Kisaran persentase karkas ayam pedaging adalah 64,5-70,1% (Rosa *et al.*, 2007).

Bobot karkas dipengaruhi oleh bobot hidup, sehingga bobot hidup yang besar akan diikuti pula dengan bobot karkas yang besar (Subekti dkk., 2012). Kualitas pakan sangat mempengaruhi bobot karkas karena pakan yang baik akan dikonversi menjadi daging dan bukan lemak atau terbuang melalui feses. Persentase karkas berkorelasi positif dengan bobot badan. Persentase karkas ayam pedaging dipengaruhi oleh bobot badan, strain ayam dan jenis pakan yang diberikan (Sandi dkk., 2012). Pemanenan ayam pedaging pada umur yang berbeda juga berpengaruh pada bobot karkas. Persentase karkas tertinggi yaitu 75,45% diperoleh dari pemanenan ayam pedaging umur 33 hari dengan bobot badan akhir 1,800 kg (Setiawan dan Sujana, 2014).

Mohamed *et al.* (2008) melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan MOS dan antibiotik dalam pakan terhadap performan dan karakteristik karkas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan MOS dan antibiotik ataupun kombinasi keduanya dapat memperbaiki PBB ayam pedaging dari 1844 (kontrol) menjadi 1883 g (kontrol + MOS), 1882 g (kontrol + antibiotik), dan 1883 g (kontrol + MOS + antibiotik) dengan persentase karkas yang tidak berbeda, masing-masing 71, 71, 71 dan 72%. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa MOS dapat menjadi alternatif pengganti antibiotik.

2.6.5. Persentase Lemak Abdominal

Definisi lemak abdominal yaitu jaringan lemak yang terdapat diantara proventrikulus, *gizzard*, duodenum dan sekitar kloaka. Persentase lemak abdominal diperoleh berdasarkan hasil pembagian berat lemak abdominal dengan bobot hidup dikalikan dengan 100 persen (Setiawan dan Sujana, 2014). Lemak abdominal merupakan lemak yang terletak pada rongga perut seperti lemak yang ada di lapisan yang menempel antara otot abdominal dan usus halus serta yang ada di sekitar *gizzard*. Pada umumnya sekitar 60% dari lemak abdominal berbentuk padatan lemak (Amrullah, 2003). Pemberian probiotik dan prebiotik dalam pakan menghasilkan lemak abdominal ayam pedaging berkisar antara 2.22-2.56% (Daud dkk., 2007).

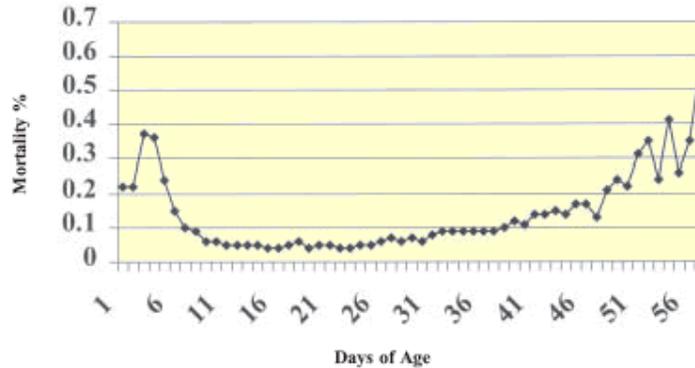
Persentase lemak abdominal dipengaruhi oleh umur pemanenan ayam pedaging. Persentase lemak terendah yaitu 2,24% diperoleh dari pemanenan ayam pedaging umur 21 hari. Lemak abdominal relatif rendah terbentuk pada umur tersebut, karena nutrien pakan yang diserap tubuh masih digunakan untuk pertumbuhan. Deposisi lemak abdominal mulai meningkat pada ayam pedaging umur 36 hari. Deposisi lemak abdominal selain dipengaruhi oleh umur

pemanenan ayam dipengaruhi juga oleh komposisi pakan. Kandungan energi berlebih dalam pakan yang berasal dari karbohidrat dan lemak pakan yang dikonsumsi ayam sebagian akan disimpan dalam bentuk lemak tubuh, hal ini dipacu juga oleh tingginya kecernaan lemak yaitu 90% (Setiawan dan Sujana, 2014). Kelebihan energi asal lemak disimpan dalam tubuh terutama pada bawah kulit dan lemak abdominal disekitar saluran pencernaan. Usaha untuk mengurangi lemak abdominal adalah dengan mengatur imbalan energi dan protein yang tepat dalam pakan ayam pedaging atau melakukan program manajemen pembatasan pakan yang tepat (Amrullah, 2003). Selain itu, penggunaan MOS dalam pakan juga dilaporkan dapat menurunkan lemak abdominal. Hasil penelitian Mohamed *et al.* (2008) menunjukkan bahwa lemak abdominal ayam yang diberi MOS lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberi antibiotik ataupun ayam yang diberi pakan kontrol. Persentase lemak abdominal yang dihasilkan dari pengaruh penambahan MOS dalam pakan ayam pedaging adalah 1,78%, sedangkan kontrol dan antibiotik ataupun kombinasi MOS dan antibiotik berturut-turut adalah 2,21%; 1,96% dan 1,80%.

2.6.6. Mortalitas

Mortalitas merupakan angka kematian ayam yang dinyatakan dalam persen terhitung sejak awal pemeliharaan sampai panen ayam. Mortalitas merupakan indikator keberhasilan tatalaksana pemeliharaan ayam. Angka kematian yang tinggi sebesar 10 persen atau lebih biasanya disebabkan oleh terjangkitnya penyakit akibat kesalahan manajemen pemeliharaan (FAO, 2014). Mortalitas sangat penting untuk diperhatikan karena dapat mengakibatkan kerugian yang sangat fatal. Mortalitas ayam pedaging biasanya mencapai puncak pada umur 3-4 hari, kemudian menurun pada hari 9-10 dan stabil sampai umur 30 hari. Pada umur di atas 30 hari mortalitas meningkat perlahan-lahan sampai

umur 40-45 hari atau meningkat sampai umur panen (Tabler *et al.*, 2004). Menurut Vale *et al.* (2010) mortalitas meningkat secara signifikan setelah umur 29 hari akibat stress karena lingkungan yang panas. Kurva mortalitas ayam pedaging dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva pola mortalitas ayam pedaging (Tabler *et al.*, 2004)

Pada umumnya genetik, lingkungan kandang (seperti temperatur, kelembaban, dan ventilasi), nutrisi (pakan dan air minum), dan status penyakit merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan ayam pedaging. Temperatur lingkungan yang tidak normal, ventilasi yang tidak baik, pakan yang tidak memenuhi kebutuhan dapat meningkatkan kasus ayam terjangkit penyakit dan meningkatkan mortalitas. Antisipasi terhadap faktor-faktor tersebut merupakan kunci keberhasilan dalam menekan mortalitas ayam pedaging (Vale *et al.*, 2010). Oleh karena itu manajemen pemeliharaan ayam pedaging harus diperhatikan sebelum proses pemeliharaan ayam dimulai.

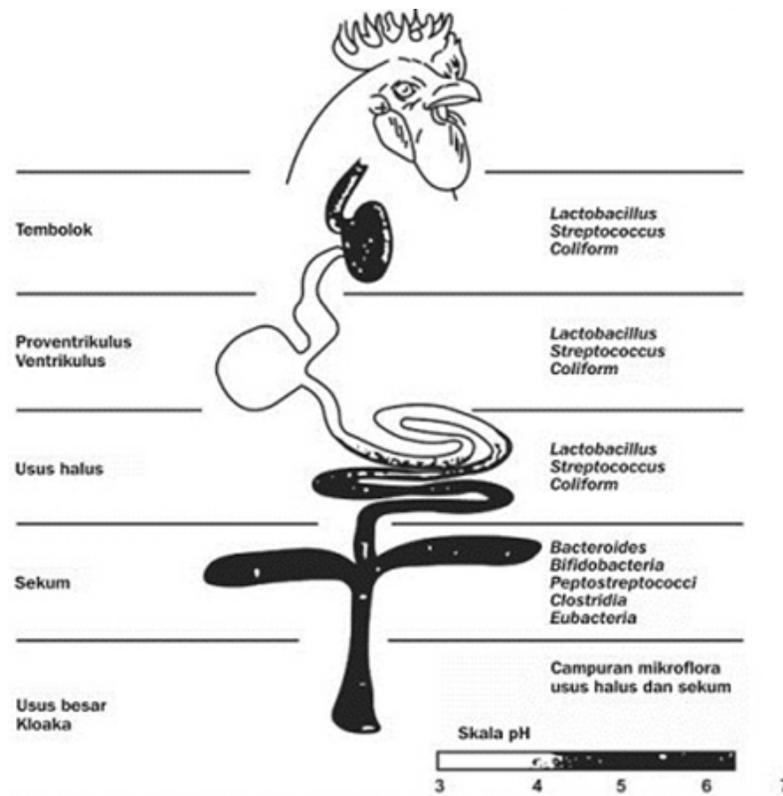
Penurunan tingkat mortalitas ternak dapat dilakukan dengan menambahkan MOS dalam pakan. Penambahan MOS dalam pakan bermanfaat dalam meningkatkan luas vili usus, yang berdampak pada peningkatan efisiensi penyerapan nutrisi pakan dan kesehatan ternak. Pengaruh penambahan MOS

terhadap mortalitas ayam pedaging sudah diteliti oleh Hooge *et al.* (2013). Hasil penelitian ini melaporkan bahwa penggunaan MOS dalam pakan dapat menurunkan mortalitas sampai 21,78%.

2.6.7. Kondisi Saluran Pencernaan Ayam Pedaging

Saluran pencernaan ayam pedaging terdiri dari paruh, *oesophagus*, tembolok (*crop*), lambung (*proventriculus*), *ventriculus*, usus halus (*duodenum*, *jejunum*, *ileum*), usus buntu (*caecum*), usus besar (*colon*), dan *cloaca*. Fungsi saluran pencernaan adalah mencerna dan mengabsorpsi makanan serta mengeluarkan sisa makanan yang tidak tercerna. Proses pencernaan makanan dibagi menjadi tiga macam, yaitu (a) proses pencernaan secara mekanis, (b) proses pencernaan secara hidrolisis dan (c) proses pencernaan secara fermentatif. Proses pencernaan mekanis berlangsung di paruh dan *ventriculus*, pencernaan hidrolisis berlangsung di *oesophagus*, *proventriculus* dan usus halus serta pencernaan fermentatif berlangsung di usus buntu, usus besar (Yasin, 2010).

Saluran pencernaan merupakan tempat hidup mikroorganisme yang segera terbentuk setelah ayam menetas. Mikroorganisme yang terdapat dalam saluran pencernaan ayam pedaging terdiri dari bakteri, protozoa maupun jamur (Abun, 2008). Saluran pencernaan ayam, terutama bagian usus mengandung sejumlah besar bakteri. Penyebaran bakteri pada saluran pencernaan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mikroflora saluran pencernaan unggas (Spring, 1996)

Bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan bersifat non patogen dan patogen. Bakteri non patogen atau dikenal dengan probiotik menyokong kesehatan karena membantu proses pencernaan makanan bagi ternak. Bakteri patogen adalah bakteri yang menghambat proses pencernaan dan penyerapan makanan serta menimbulkan gangguan kesehatan pada ternak. Kelompok bakteri non patogen yang banyak terdapat pada saluran pencernaan ayam yaitu: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Bacteroides*. Bakteri patogen yang sering menginfeksi saluran pencernaan adalah *Salmonella*, *Clampylobacte*, *Clostridium* dan *Echerichia coli*. Rasio jumlah mikroorganisme pada kelompok bakteri tersebut sangat penting untuk kesehatan ternak (Abun, 2008). Keseimbangan

mikroba dalam sistem pencernaan berperan penting bagi kesehatan, kecernaan pakan dan efisiensi produksi (Kompiang, 2009).

Kelompok bakteri non patogen yang banyak terdapat pada saluran pencernaan khususnya bagian usus adalah dari genus *Lactobacillus* (Manin, 2010). Kelompok bakteri dari genus *Lactobacillus* mempunyai kemampuan untuk memproduksi asam laktat, sehingga bakteri ini digolongkan ke dalam kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL). Asam laktat merupakan senyawa metabolit dari proses fermentasi oleh bakteri asam laktat yang dapat menurunkan pH pada sekitar saluran usus menjadi 4-5, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Escherichia coli*) yang membutuhkan pH optimum 6-7. Produk fermentasi yang lain seperti asam volatil oleh kelompok BAL juga memberikan efek antimikroba. Asam volatil (asam asetat dan asam propionat) akan berinteraksi dengan sel membran dan mengakibatkan asidifikasi intraseluler dan denaturasi protein (Surono, 2004).

Asam volatil hasil fermentasi mikrobial dari oligosakarida membantu penyembuhan radang, meningkatkan aktifitas anti tumor dan meningkatkan aktifitas motorik usus (Haryati dan Supriyati, 2010). Asam butirrat merupakan salah satu jenis dari asam volatil berpengaruh positif terhadap proses proliferasi sel dari dinding mukosa usus, sehingga membantu pemulihan kerusakan vili usus. Kerusakan vili dapat mengurangi luas permukaan pada mukosa usus halus dan menurunkan kemampuan penyerapan nutrisi pakan (Iji *et al.*, 2001). Organ usus halus pada ternak merupakan organ penting dalam pencernaan yang berfungsi untuk mengabsorpsi nutrisi pakan. Nutrisi pakan diserap melalui permukaan sel epitel vili usus halus (Rofiq, 2003).

Studi tentang penambahan MOS dalam pakan terhadap kesehatan saluran telah banyak dilakukan. Yang *et al.* (2008a) melaporkan bahwa penambahan MOS dalam pakan cenderung menurunkan bakteri patogen dalam saluran

pencernaan sehingga meningkatkan pemanfaatan nutrisi pakan. Penambahan MOS dalam pakan juga meningkatkan tinggi dan luas permukaan villi usus yang dapat meningkatkan pencernaan pakan dan meningkatkan bobot badan ayam pedaging (Yang *et al.*, 2007b; Brummer *et al.*, 2010). Penambahan MOS dalam pakan dapat menurunkan pH usus dari $6,51 \pm 0,04$ (kontrol) dan $6,36 \pm 0,03$ (antibiotik) menjadi $6,23 \pm 0,07$ (MOS) dan viskositas cairan usus halus pada puyuh dari $3,66 \pm 0,19$ (kontrol) dan $2,66 \pm 0,17$ (antibiotik) menjadi $2,04 \pm 0,03$ (MOS) (Sarica *et al.*, 2009).

2.6.8. Income Over Feed and Chick Cost

Income Over Feed and Chick Cost (IOFCC) adalah pendapatan yang diperoleh dari hasil penjualan ayam dikurangi dengan pengeluaran biaya untuk pakan dan DOC (*Day Old Chick*). Sedangkan *Income Over Feed Cost* (IOFC) adalah salah satu indikator yang secara ekonomis dapat menggambarkan keuntungan dari usaha pemeliharaan ayam pedaging. Pendapatan kotor yang diperoleh dengan menghitung selisih pendapatan usaha peternakan dikurangi dengan biaya pakan selama pemeliharaan disebut IOFC. Pendapatan diperoleh dari hasil perkalian antara pertambahan bobot badan dengan harga jual per kg ayam hidup. Biaya pakan adalah perkalian antara pakan yang dihabiskan selama pemeliharaan dengan harga per kg pakan (Rombe, 2012).

Nilai IOFC berhubungan dengan bobot badan dan konsumsi pakan ayam pedaging. Tingginya bobot badan yang disertai dengan rendahnya konsumsi pakan akan berdampak pada meningkatnya nilai IOFC. Nilai IOFC yang tinggi disebabkan karena pakan yang dikonsumsi oleh ayam efisien dimanfaatkan untuk menghasilkan bobot badan. Faktor-faktor yang mempengaruhi IOFC adalah konsumsi ransum, bobot badan akhir, harga ransum per kg, harga jual bobot hidup ayam pedaging (Risnajati, 2011).

III. KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1. Kerangka Pikir Penelitian

Antibiotik sebagai *feed additive* dalam pakan dimaksudkan untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan dengan cara membunuh bakteri patogen sehingga meningkatkan pertumbuhan ternak. Penggunaan dosis antibiotik yang tidak tepat dan dalam jangka waktu panjang menyebabkan bakteri patogen resisten dan tetap hidup dalam saluran pencernaan, sehingga membahayakan ternak dan manusia. Selain itu, residu antibiotik dalam produk peternakan dapat membahayakan kesehatan manusia. Indonesia akhirnya melarang penggunaan antibiotik dalam usaha peternakan sejak 1 Januari 2018. Oleh karena itu, penelitian terkini diarahkan pada pencarian alternatif pengganti antibiotik dengan *feed additive* alami yang berpengaruh positif terhadap kesehatan saluran pencernaan, seperti penggunaan enzim, produk herbal, asam organik, probiotik dan prebiotik (Midilli *et al.*, 2008). Diantara *feed additive* alternatif ini, prebiotik telah banyak diteliti dan berdampak positif terhadap peningkatan kesehatan saluran pencernaan dan penampilan produksi ternak khususnya ayam pedaging.

Prebiotik didefinisikan sebagai bahan atau komponen pakan tidak tercerna yang bermanfaat untuk meningkatkan pertumbuhan ternak dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas satu atau beberapa bakteri menguntungkan yang ada dalam saluran pencernaan (Gibson and Roberfroid, 1995). Mannan oligosakarida (MOS) adalah bahan atau komponen pakan yang tidak tercerna dan berfungsi sebagai prebiotik. MOS yang tersedia di pasar saat ini diperoleh dari dinding sel luar *Saccharomyces cerevisiae* yang pengadaannya masih impor. Oleh karena itu, usaha pencarian sumber MOS berbahan lokal seperti bungkil inti sawit (BIS)

sangat diperlukan sebagai sumber MOS alternatif. MOS dari BIS sangat berpeluang untuk dikembangkan karena ketersediaan BIS di Indonesia sangat berlimpah. Indonesia merupakan salah satu negara produsen minyak sawit, memiliki luas perkebunan sawit sekitar 9 juta hektar dan produksi sebanyak 23,52 juta ton per tahun (Departemen Pertanian, 2013).

Bungkil inti sawit mengandung serat kasar dengan struktur kimia yang kompleks. Serat kasar tersebut tersusun dari polisakarida yang sebagian besar terdiri dari hemiselulosa, selulosa dalam jumlah sedang dan sejumlah kecil polisakarida lainnya seperti lignin. Hemiselulosa mengandung polisakarida mannan sebanyak 58% (Jaafar and Jarvis, 1992). Polisakarida mannan merupakan komponen utama hemiselulosa dapat dikelompokkan menjadi empat macam tipe, yaitu linier mannan, galaktomannan, glukomannan dan galaktoglukomannan. Mannan terdiri dari gula sederhana mannososa. Galaktomannan terdiri dari mannososa dan galaktosa. Glukomannan terdiri dari mannososa dan glukosa. Galaktoglukomannan terdiri dari mannososa, galaktosa dan glukosa. Polisakarida mannan berpotensi untuk didegradasi menjadi karbohidrat yang lebih sederhana yaitu MOS.

Polisakarida mannan dapat didegradasi secara fisik, kimia dan enzimatis untuk menghasikan MOS. Degradasi polisakarida mannan secara enzimatis dapat dilakukan dengan menambahkan enzim pendegradasi polisakarida mannan pada serat kasar BIS serta menginkubasinya atau melibatkan peran mikrobiologi melalui proses fermentasi. Tafsir (2007) melaporkan bahwa hasil ekstraksi MOS pada perlakuan fisik dengan penambahan pecahan kaca dan pelarut aquades saat *grinding*, yang dilanjutkan dengan pemanasan menghasilkan MOS (mannososa) tertinggi yaitu 73,54% dari total gula yang terekstrak. Hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi MOS dari proses degradasi polisakarida mannan oleh enzim mannanase yang

dilakukan oleh Yokomizo (2005) yaitu sebanyak 84,59%. Beberapa enzim yang potensial untuk mendegradasi Polisakarida mannan dan serat kasar BIS diantaranya adalah mannanase, glukosidase, galaktosidase, selulase, hemiselulase, dan xylanase (Yokomizo, 2005; Yopi dkk., 2006; Saenphoom *et al.*, 2011). Kombinasi enzim-enzim tersebut diperlukan untuk mendegradasi struktur kimia serat kasar BIS yang kompleks dan melepaskan potensi gula yang dapat terfermentasi, sehingga dapat digunakan sebagai sumber prebiotik (MOS) bagi ayam pedaging.

Beberapa bakteri dan kapang dapat menghasilkan enzim-enzim pendegradasi polisakarida mannan dan serat kasar BIS. *Aspergillus niger* adalah salah satu kapang yang mampu menghasilkan enzim pendegradasi mannan dan serat kasar BIS (Norita *et al.*, 2010; Norani *et al.*, 2001; Ab Rasyid *et al.*, 2009; Ibrahim *et al.*, 2014). Kondisi optimum media fermentasi BIS untuk memproduksi enzim manannase menurut Ab Rasyid *et al.* (2009) adalah kelembaban 80%, dosis kapang 1×10^7 spora/ml, suhu 30°C, ukuran partikel BIS 0,5 mm, penambahan molases 2% dan ammonium nitrat 4%. Kondisi ini dapat menghasilkan peningkatan enzim manannase sebanyak 53,68%.

Ketersediaan nutrisi dan fase pertumbuhan *Aspergillus niger* mempengaruhi produksi enzim pendegradasi polisakarida mannan. Enzim pendegradasi polisakarida mannan dapat diproduksi secara maksimal jika didukung oleh pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal. Ketersediaan energi yang cukup dalam substrat fermentasi BIS dapat memacu pertumbuhan *Aspergillus niger*. Oleh karena itu, perlakuan penambahan substrat yang mengandung pati seperti onggok pada proses fermentasi BIS diperlukan untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger*. Onggok dapat digunakan untuk menambah ketersediaan energi dalam fermentasi BIS karena onggok mengandung pati sebesar 59,40-70,50% (Sutikno dkk., 2016,

Nurhayati dkk., 2006, Aviana dan Pohan, 2012). Selain itu, onggok merupakan limbah industri tepung tapioka yang harganya murah dan ketersediannya cukup berlimpah di Indonesia. Indonesia mampu memproduksi onggok sebanyak 2,9 juta ton/tahun (Departemen Pertanian, 2013).

Fermentasi campuran BIS 75% dan onggok 25% dengan *Aspergillus niger* mampu meningkatkan protein kasar substrat dari sebelum fermentasi yaitu 12,92% menjadi 28,41%. Proses fermentasi juga mampu menurunkan serat kasar substrat tersebut. Tingkat penurunan serat kasar yang tertinggi yaitu 13,7% terjadi pada rasio BIS 75% dan onggok 25%. Tingkat penurunan tersebut 2 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan fermentasi BIS tanpa penambahan onggok yaitu 6,5%. Penelitian ini belum mengungkap tentang kandungan MOS dalam produk fermentasi, namun dengan menurunnya serat kasar diduga disertai juga adanya proses degradasi polisakarida mannan menjadi MOS oleh enzim-enzim yang diproduksi dari *Aspergillus niger* (Nurhayati dkk., 2006).

Muangkeow and Chinajariyawong (2009) melaporkan bahwa proses fermentasi BIS oleh *Aspergillus wentii* dapat menurunkan kandungan hemiselulosa dari 30,42% menjadi 25,46%. Jaelani dkk. (2008) menyatakan bahwa fermentasi BIS dengan menggunakan kapang *Trichoderma reesei* menghasilkan penurunan kandungan polisakarida mannan sebanyak 45,83%. Kandungan polisakarida mannan BIS sebelum difermentasi yaitu 1.532,16 ppm dan kandungan polisakarida mannan BIS setelah difermentasi yaitu 829,92 ppm. Penurunan kandungan polisakarida mannan tersebut disebabkan oleh adanya proses degradasi polisakarida mannan oleh kapang *Trichoderma reesei* menjadi komponen oligosakarida yang lebih sederhana.

Penelitian tentang penggunaan MOS komersial dalam pakan ternak pada umumnya berdampak positif pada kesehatan saluran pencernaan dan

penampilan produksi ternak. MOS dapat mengikat bakteri patogen, dan akan terikat pada fimbria tipe-1 yang dimiliki oleh bakteri patogen (Spring *et al.*, 2000). Fimbria tipe-1 mengandung lektin yang bersifat sensitif terhadap MOS. MOS yang terikat pada lektin fimbriae tipe-1 dapat menghalangi proses melekatnya bakteri patogen pada dinding saluran pencernaan dan mencegah terjadinya kolonisasi bakteri patogen pada dinding saluran pencernaan. Bakteri patogen yang berikatan dengan MOS selanjutnya akan diekskresikan bersama feses. Hal ini dapat meningkatkan dominasi bakteri menguntungkan atau bakteri non patogen dalam saluran pencernaan.

Mannan oligosakarida bermanfaat bagi bakteri menguntungkan dalam saluran pencernaan unggas. MOS didegradasi oleh bakteri non patogen seperti bakteri asam laktat melalui proses fermentasi. Proses fermentasi MOS menghasilkan berbagai produk seperti L-laktat, karbon dioksida, hidrogen dan asam lemak rantai pendek atau *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) dalam bentuk asetat, propionat, dan butirir. Kandungan asam laktat dan asam asetat yang meningkat sebagai hasil dari fermentasi MOS oleh bakteri probiotik mengakibatkan penurunan pH pada saluran pencernaan. Penurunan pH pada saluran pencernaan dapat menekan bakteri patogen yang bersifat tidak tahan suasana pH asam (Rahmawati dkk., 2006; Samal and Behura, 2015). Suasana pH asam menjadi faktor penghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen. Peningkatan dominasi bakteri non patogen dan terhambatnya pertumbuhan serta perkembangan bakteri patogen berdampak positif pada peningkatan kesehatan saluran pencernaan. Penelitian tentang pengaruh MOS terhadap peningkatan keseimbangan mikroba khususnya bakteri non patogen dan bakteri patogen dalam saluran pencernaan ayam pedaging dilaporkan oleh beberapa peneliti diantaranya Spring *et al.* (2000), Fernandes *et al.* (2002), Jamroz *et al.* (2004) dan Yang *et al.* (2008a).

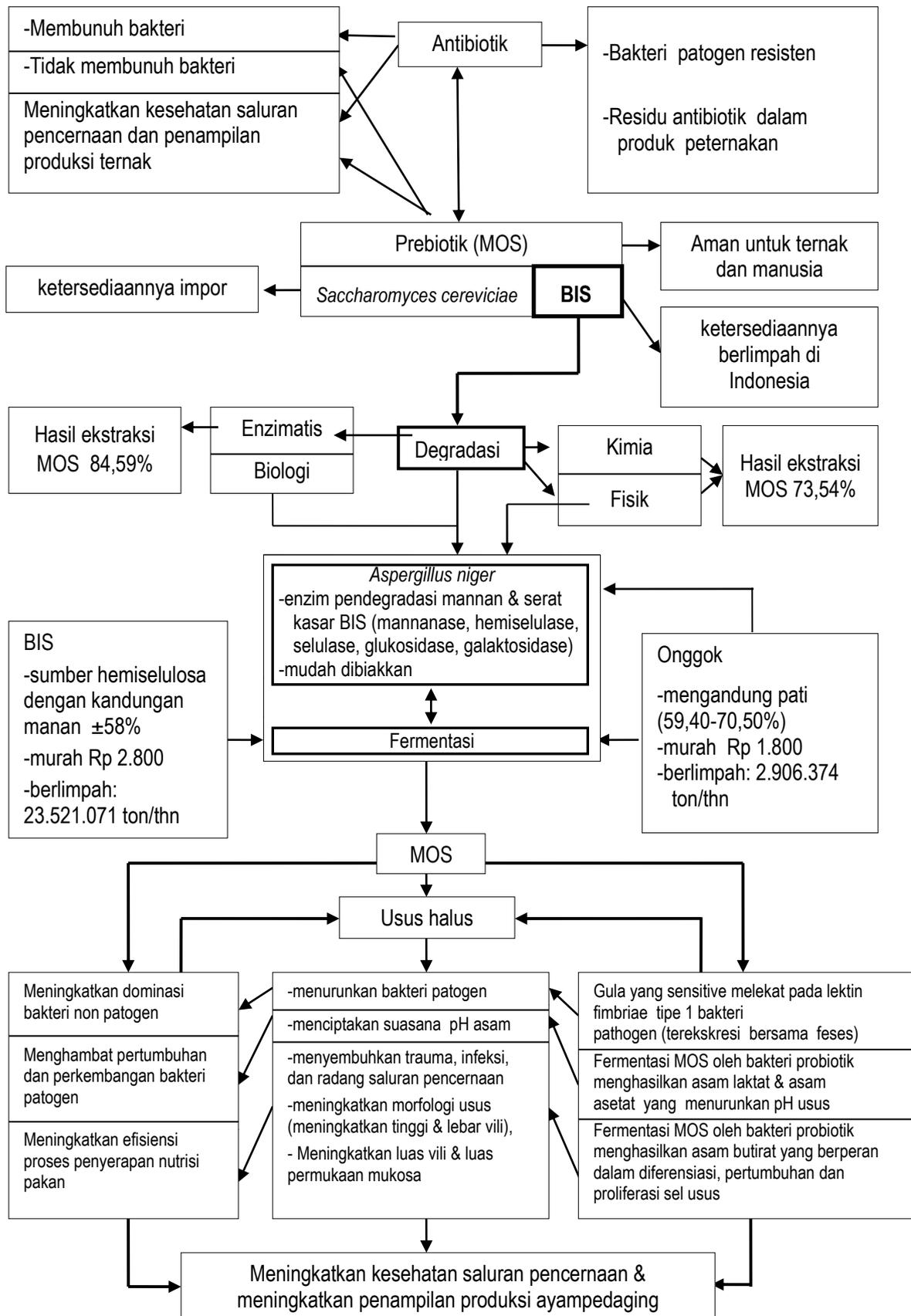
Asam butirat memegang peranan penting dalam perkembangan epitel usus. Asam butirat mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel serta meningkatkan indeks proliferasi sel di usus besar ataupun usus halus. Proses ini memberikan keuntungan pada penyembuhan trauma, infeksi, dan radang pada saluran pencernaan serta memperbaiki morfologi usus seperti meningkatkan tinggi dan lebar vili usus. Peningkatan tinggi dan lebar vili usus berpengaruh pada meningkatnya luas vili dan permukaan mukosa usus. Kondisi ini berdampak positif pada peningkatan efisiensi proses penyerapan nutrisi pakan dan peningkatan penampilan produksi ternak. Pengaruh penggunaan MOS terhadap morfologi usus dan peningkatan penampilan produksi ayam pedaging dilaporkan oleh beberapa peneliti yaitu Kocher *et al.* (2004), Hooge (2004a), Yang *et al.* (2007a), Baurhoo *et al.* (2009), dan Sinovec *et al.* (2005).

Syahrudin dkk. (2008) meneliti dosis penggunaan MOS (0, 3000 dan 6000 ppm) untuk mengendalikan *Escherichia coli* secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis penggunaan MOS 3000 ppm memberikan hasil yang paling optimal untuk mengendalikan *Escherichia coli*. Tafsir (2007) melaporkan bahwa penggunaan MOS tidak menunjukkan aktivitas bakterisidal dan menunjukkan hasil positif pada uji aglutinasi terhadap *Salmonella thypimorium*. Penggunaan MOS dengan dosis 2000-4000 ppm dapat menurunkan insiden infeksi *Salmonella thypimorium* pada ayam dan mempunyai kecepatan pengeluaran patogen yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Kolonisasi *Salmonella thypimorium* pada saluran pencernaan ayam juga menurun seiring dengan meningkatnya penggunaan MOS dalam pakan.

Produksi MOS dari produk fermentasi campuran BIS-onggok penting diekstraksi untuk produksi prebiotik secara murah sebagaimana industrialisasi seperti BIO-MOS yang diekstrak dari dinding sel luar *Saccharomyces cereviciae*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan diteliti rasio BIS-onggok serta waktu

inkubasi dalam menghasilkan MOS yang maksimal. Selanjutnya MOS yang dihasilkan dari produk fermentasi campuran BIS dan onggok yang optimal dilakukan proses ekstraksi. MOS hasil ekstraksi diuji secara *in vitro* untuk menurunkan jumlah bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) dengan menggunakan dosis MOS yang berbeda-beda. Dosis penggunaan MOS yang optimal dalam menurunkan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli* serta meningkatkan *Lactobacillus* sp. berdasarkan uji *in vitro* diaplikasikan sebagai *feed additive* (prebiotik) dalam pakan pada pemeliharaan ayam pedaging. Kerangka pikir secara menyeluruh dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 7.

Perkembangan penelitian penggunaan MOS terhadap peningkatan morfologi usus dan penampilan produksi ayam pedaging disajikan pada Tabel 8.



Gambar 7. Alur kerangka pikir penelitian

Tabel 8. Perkembangan penelitian tentang MOS

| No | Peneliti | Tahun | Judul | Keterangan |
|----|-------------------------|-------|---|---|
| 1 | Spring <i>et al.</i> | 2000 | The effects of dietary manno oligosaccharides on cacal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of <i>Salmonella</i> challenged broiler chicks | MOS (4000 ppm) terbukti menurunkan <i>S. typhimurium</i> 29E, <i>S. dublin</i> , dan <i>Coliforms</i> . MOS tidak nyata meningkatkan konsentrasi bakteri non patogen dalam sekum |
| 2 | Iji <i>et al.</i> | 2001 | Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide | MOS memperpanjang vili usus |
| 3 | Fernandez <i>et al.</i> | 2002 | Dietary mannan oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to <i>Salmonella enteritidis</i> colonization | MOS efektif dalam mengurangi infeksi <i>Salmonella enteritidis</i> pada saluran pencernaan ayam. |
| 4 | Hooge | 2004 | Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003 | MOS terbukti dapat meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging |
| 5 | Baurhoo <i>et al.</i> | 2007 | Effects of Purified Lignin and Mannan Oligosaccharides on Intestinal Integrity and Microbial Population in the Ceca and Litter of Broiler Chickens | MOS lebih memberikan keuntungan dibandingkan antibiotik dengan meningkatkan bakteri menguntungkan, panjang vili dan menurunkan <i>E.coli</i> |
| 6 | Tafsin <i>et al.</i> | 2007 | Polisakarida Mengandung Mannan dari Bungkil Inti Sawit Sebagai Antimikroba <i>Salmonella typhimurium</i> pada Ayam | Suplementasi BIS mengandung mannan 4000 ppm dapat menurunkan <i>Salmonella typhimurium</i> |
| 7 | Yang <i>et al.</i> | 2007 | Effects of different dietary levels of mannan oligosaccharide on growth performance and gut development of broiler chickens | MOS memperpanjang vili usus |
| 8 | Yang <i>et al.</i> | 2008 | The response of broiler chickens to mannan oligosaccharide, or fructo oligosaccharide supplemented diet against pathogenic <i>Escherichia coli</i> challenge | MOS terbukti menghambat bakteri patogen |
| 9 | Baurhoo <i>et al.</i> | 2009 | Effects of diets containing different concentrations of mannan oligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial populations, and carcass parameters of broilers | MOS, antibiotik dan kontrol memberikan pengaruh yang tidak berbeda terhadap BB, FCR, dan karkas. MOS nyata meningkatkan panjang vili usus, bakteri menguntungkan dan menurunkan <i>salmonella</i> sp. |
| 10 | Jahromi <i>et al.</i> | 2016 | Extraction and Characterization of Oligosaccharides from Palm Kernel Cake as Prebiotic | MOS menurunkan populasi bakteri patogen dalam sekum |

3.2. Hipotesis

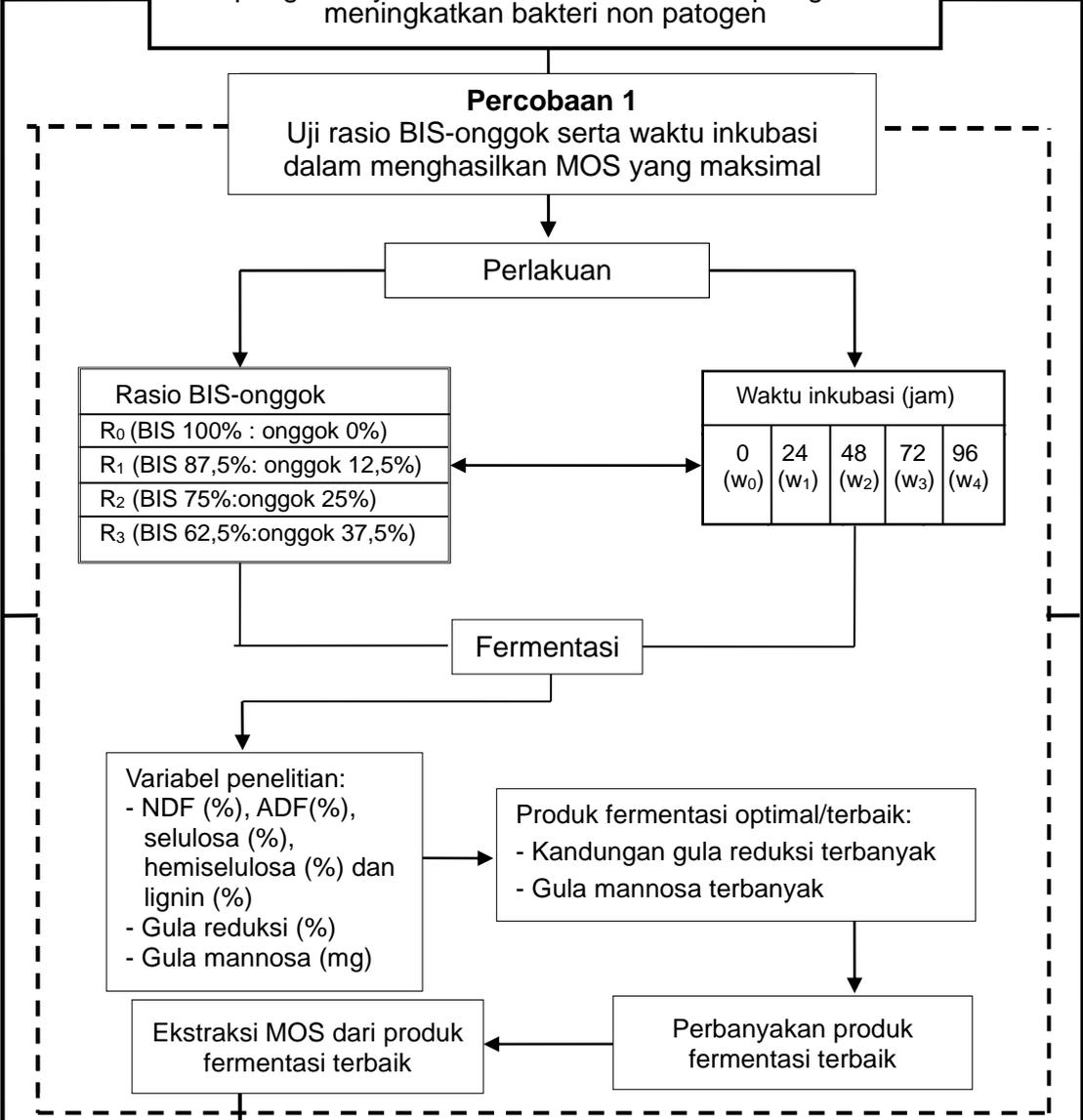
Berdasarkan kerangka konsep penelitian maka hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah:

1. Rasio campuran BIS-onggok serta waktu inkubasi memberikan hasil yang berbeda terhadap hasil ekstraksi MOS.
2. Dosis MOS memberikan hasil yang berbeda terhadap penurunan jumlah bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) dan peningkatan jumlah bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) berdasarkan uji *in vitro*.
3. Penggunaan MOS sebagai *feed additive* dalam pakan dapat meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging.

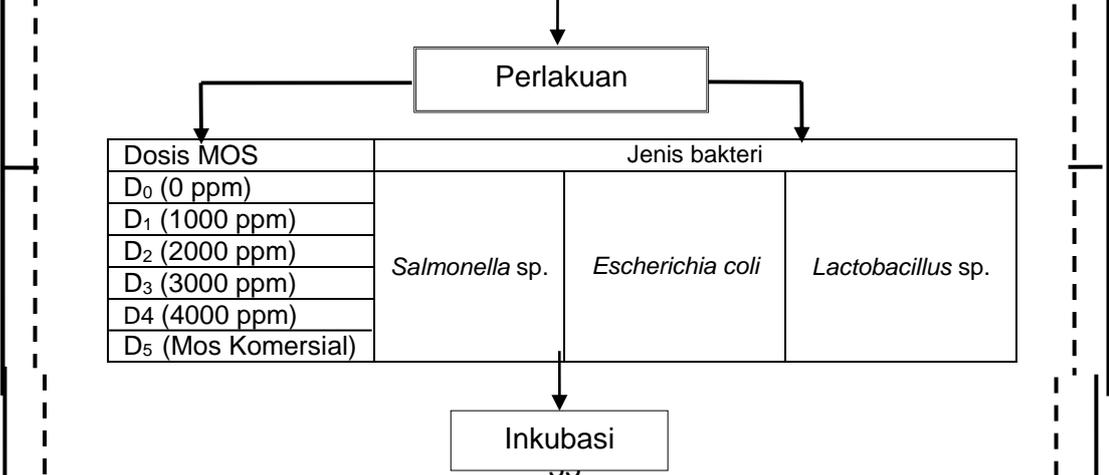
3.3. Kerangka Operasional Penelitian

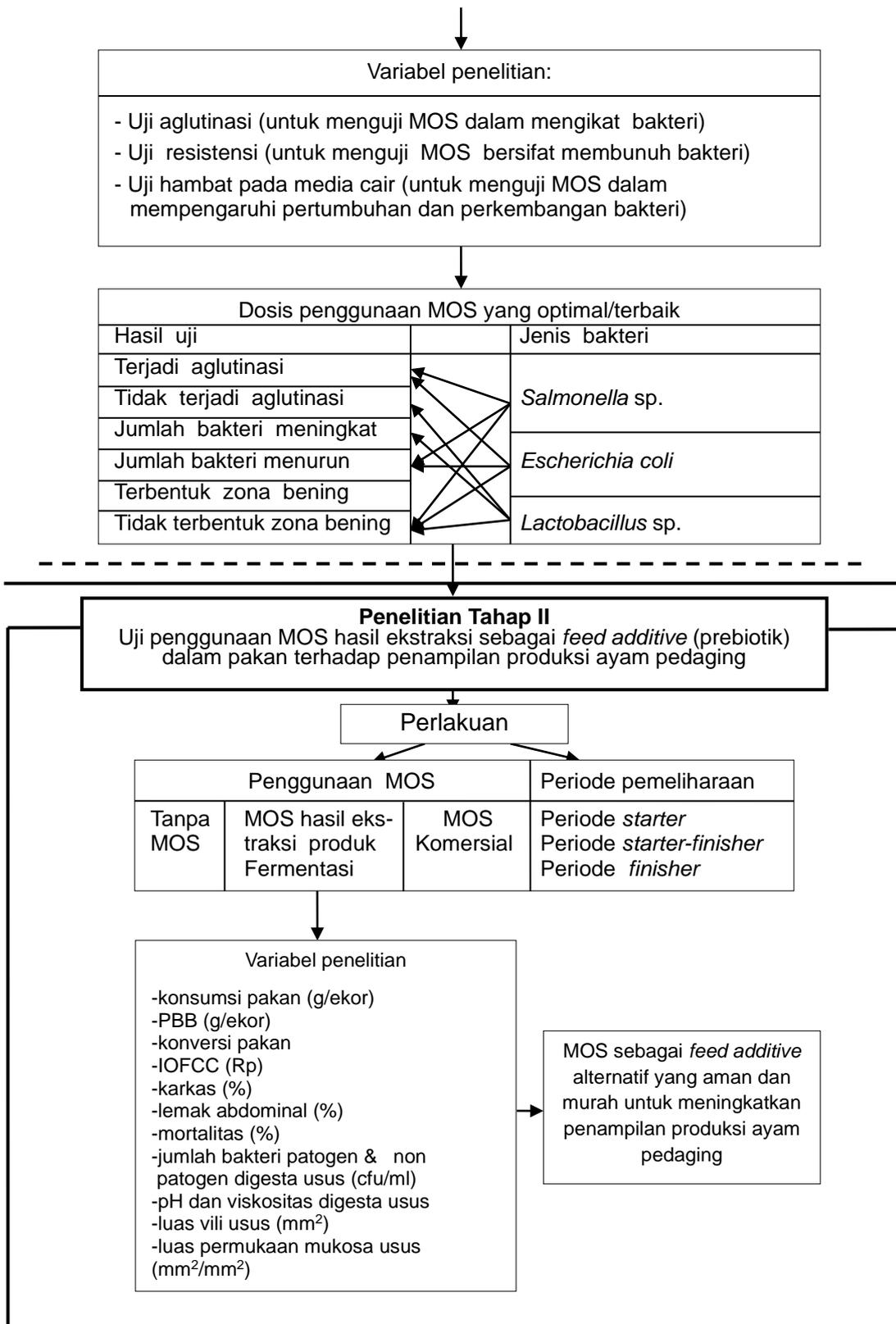
Kerangka operasional penelitian mulai dari pengujian rasio campuran BIS-onggok serta waktu inkubasi untuk menghasilkan MOS, sampai uji dosis MOS hasil ekstraksi untuk menurunkan jumlah bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen secara *in vitro* serta aplikasinya sebagai *feed additive* dalam pakan untuk meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging dapat dilihat pada Gambar 8.

Penelitian Tahap I
 Optimasi fermentasi campuran bungkil inti sawit dan onggok serta waktu inkubasi dalam menghasilkan MOS dan pengaruhnya untuk menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen

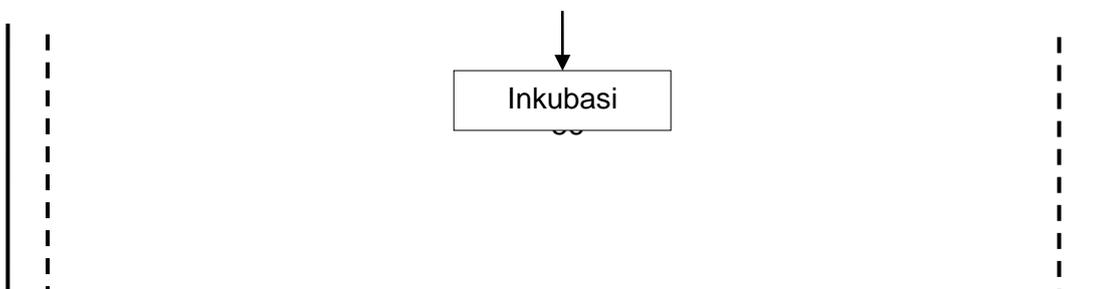


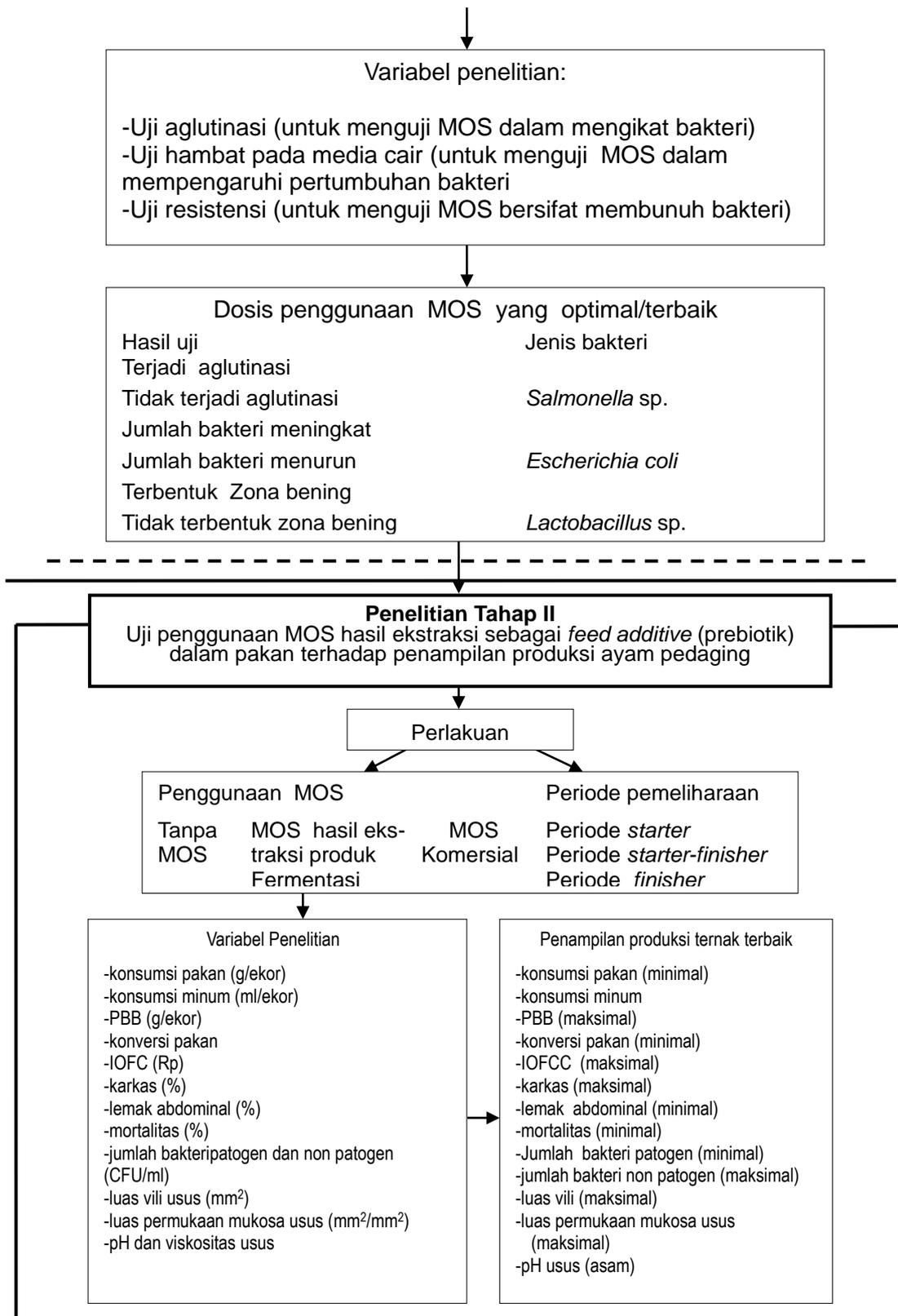
Percobaan 2
 Uji dosis penggunaan MOS hasil ekstraksi produk fermentasi yang optimal untuk menurunkan bakteri patogen (*Salmonella sp.* Dan *Escherichia coli*) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus sp.*) secara *in vitro*





Gambar 8. Alur kerangka operasional penelitian





Gambar 8. Alur kerangka operasional penelitian

IV. MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian telah dilaksanakan mulai bulan Agustus 2014 sampai Januari 2016. Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu penelitian tahap I (penelitian laboratorium) dan penelitian tahap II (penelitian lapang). Penelitian tahap I terdiri dari dua percobaan, yaitu percobaan 1 tentang uji rasio BIS-onggok serta waktu inkubasi untuk menghasilkan MOS dan percobaan 2 tentang uji dosis penggunaan MOS hasil ekstraksi produk fermentasi (pada percobaan 1) untuk menurunkan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) serta meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) secara *in vitro*. Penelitian tahap II adalah uji penggunaan MOS hasil ekstraksi dalam pakan sebagai *feed additive* terhadap penampilan produksi/performan ayam pedaging.

4.1. Penelitian Tahap I

Optimasi fermentasi campuran BIS-onggok serta waktu inkubasi dalam menghasilkan MOS dan pengaruhnya untuk menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen.

Lokasi Penelitian

Penelitian tahap I terdiri dari dua percobaan. Percobaan 1 telah dilakukan di Laboratorium NMT (Nutrisi dan Makanan Ternak) FAPET dan Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Percobaan II telah dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Cakupan Penelitian

Penelitian tahap I adalah untuk melaksanakan tujuan pertama dan membuktikan hipotesis pertama tentang pengaruh rasio BIS-onggok serta waktu inkubasi terhadap kandungan MOS. Penelitian tahap I juga untuk melaksanakan tujuan kedua dan membuktikan hipotesis kedua tentang pengaruh dosis penggunaan MOS untuk menurunkan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) serta meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) secara *in vitro*. Luaran penelitian tahap I adalah rasio BIS-onggok serta waktu inkubasi yang optimal dalam menghasilkan MOS yang maksimal serta dosis penggunaan MOS yang optimal untuk menurunkan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.).

4.1.1. Percobaan 1

Uji rasio BIS-onggok serta waktu inkubasi untuk menghasilkan MOS yang maksimal.

Materi Penelitian

Bahan percobaan yang digunakan adalah BIS, onggok, kapang *Aspergillus niger*, dan beberapa mineral (urea, KCl, NPK, ZA) . BIS diperoleh dari perusahaan pengolahan minyak sawit PTPN VII Provinsi Lampung, sedangkan onggok diperoleh dari perusahaan tapioka Bumi Waras Lampung Timur. Kapang *Aspergillus niger* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, demikian juga bahan-bahan kimia untuk keperluan analisis kandungan komponen serat (*Neutral Detergent Fiber* (NDF) dan *Acid Detergent Fiber* (ADF), selulosa, hemiselulosa dan lignin). kandungan gula reduksi dan gula mannanosa.

Alat yang digunakan untuk proses fermentasi adalah timbangan analitik kapasitas 210 g dengan ketelitian 0,001 g, timbangan kapasitas 2 kg dengan ketelitian 1 g, panci langsung, kompor, tempat fermentasi, *grinding*, dan oven. Alat yang digunakan untuk mengekstrak produk fermentasi campuran BIS dan onggok antara lain *mortar grinder*, *autoclave*, *centrifuge*, dan *rotary evaporator*. Seperangkat alat seperti oven, cawan, *crucible* dan *water bath* digunakan untuk analisis komponen serat. Pengukuran kandungan gula reduksi menggunakan alat labu takar, pipet, pemanas air, labu erlenmeyer dan seperangkat alat untuk titrasi. Sedangkan analisis gula manosa menggunakan alat HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) yang dilengkapi dengan kolom P-NH₂ *Carbohydrate* (30 x 1 cm).

Metode Penelitian

Metode penelitian adalah metode percobaan Laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 4 x 5. Faktor pertama adalah rasio BIS-onggok serta faktor kedua adalah waktu inkubasi. Faktor pertama terdiri dari empat perlakuan, yaitu R₀ = BIS 100% : onggok 0% ; R₁ = BIS 87,5% : onggok 12,5%; R₂ = BIS 75% : onggok 25%; R₃ = BIS 62,5% : onggok 37,5%. Faktor kedua adalah waktu inkubasi yang terdiri dari lima perlakuan, yaitu W₀ = 0 jam, W₁ = 24 jam, W₂ = 48 jam, W₃ = 72 jam, W₄ = 96 jam. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan. BIS sebelum difermentasi terlebih dahulu dibebaskan dari kandungan tempurung biji inti sawit ataupun kontaminan yang lain. BIS dan onggok ditimbang dengan perbandingan bahan sesuai dengan perlakuan dan dicampur sampai homogen. Substrat campuran BIS-onggok kemudian difermentasi dengan *Aspergillus niger* menggunakan

metode Nurhayati (2007). Produk fermentasi campuran BIS-onggok selanjutnya dianalisis berdasarkan variabel penelitian, diantaranya adalah kandungan komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin), kandungan gula reduksi dan gula mannososa. Kombinasi perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan kandungan gula reduksi dan mannososa tertinggi.

Variabel Penelitian

Pengamatan variabel pada percobaan 1 adalah sebagai berikut:

- Kandungan komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin). Pengukuran kandungan NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin berdasarkan metode Van Soest (Goering and Van Soest, 1970).
- Kandungan gula reduksi. Pengukuran kandungan gula reduksi berdasarkan metode Luff-Schrool (Sudarmadji dkk., 1984).
- Kandungan gula mannososa. Pengukuran kandungan gula mannososa berdasarkan metode Ramli *et al.* (1994)

Proses Ekstraksi MOS dan Pengukuran Variabel Penelitian

a. Proses ekstraksi MOS dari produk fermentasi

Proses ekstraksi dimulai dengan menggiling 100 g produk fermentasi dan 50 g pecahan kaca dengan menggunakan mortar grinder selama 15 menit, kemudian ditambah dengan aquades sebanyak 500 ml dan penggilingan dilanjutkan selama 15 menit. Campuran produk fermentasi, pecahan kaca dan aquades tersebut dipanaskan dengan menggunakan *autoclave* (121°C; 15 menit) dan selanjutnya didinginkan serta disaring dengan menggunakan kain saring. Supernatan yang diperoleh dilakukan pemusingan dengan menggunakan sentrifuge (12000 G; 15 menit), dan selanjutnya hasil supernatan dikoleksi. Supernatan yang diperoleh

dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* (Yamato RE 50) (Tafsin, 2007; Jaelani, 2007; Krisnan, 2010).

b. Pengukuran kandungan komponen serat

Analisis NDF dan ADF diperlukan untuk mengetahui kandungan hemiselulosa dalam produk fermentasi, selanjutnya analisis ADF dan lignin digunakan untuk menentukan kandungan selulosa produk fermentasi. Produk fermentasi setelah dikeringkan dan digiling dianalisis kandungan seratnya (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin) dengan menggunakan metode Van Soest (Goering and Van Soest, 1970). Analisis atau pengukuran NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin dapat dilihat pada Lampiran 1.

c. Pengukuran kandungan gula reduksi

Gula reduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi, sebagai akibat dari adanya gugus aldehid dan keton bebas. Gula yang termasuk dalam gula reduksi adalah semua monosakarida dan disakarida kecuali sukrosa. Analisis atau pengukuran gula reduksi dilakukan berdasarkan metode Luff-Schrool (Sudarmadji dkk., 1984). Prosedur pengukuran gula reduksi dapat dilihat pada Lampiran 2.

d. Pengukuran kandungan gula mannososa

Analisis atau Identifikasi komponen monosakarida dari polisakarida mannan dilakukan dengan menggunakan alat HPLC yang dilengkapi kolom P-NH₂ *Carbohydrate*. Penggunaan kecepatan alir 0,5 ml per menit dengan fase gerak menggunakan campuran 40% air dan 60% acetonitril pada suhu 25-28°C. Hidrolisa sampel sebelum diinjeksikan ke kolom dengan menggunakan 2 M *Trifluoro Acetic Acid* (TFA) selama 3 jam pada suhu 105°C dalam ampul dan dinetralkan dengan *ethyl acetate* (Ramli *et al.*, 1994).

Analisis Statistik

Data hasil penelitian ditabulasi dengan program excel dan dianalisis ragam berdasarkan rancangan acak lengkap pola faktorial 4 x 5. Uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dilakukan jika terdapat pengaruh perlakuan baik terhadap faktor utama (*main effect*) maupun terhadap pengaruh sederhana (*simple effect*) apabila terdapat interaksi antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1989). Data hasil penelitian dianalisis menggunakan program R dengan paket Agricolae (de Menndiburu, 2017).

4.1.2. Percobaan 2:

Uji dosis penggunaan MOS hasil ekstraksi .produk fermentasi yang optimal untuk menurunkan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) secara *in vitro*.

Materi Penelitian

Bahan yang digunakan adalah Aquades, HCl, media nutrien Broth, *Phosphate Buffer Saline* (PBS) 0.05M, *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Lactobacillus* sp., kertas cakram, NaCl fisiologis, dan media nutrien agar. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah *mortar grinder*, *autoclave*, *centrifuge*, *rotary evaporator*, ruang pemekatan, tabung dialysis (33 X 21 mm) mikroskop dan cawan petri.

Metode Penelitian

Metode penelitian adalah metode percobaan Laboratorium yaitu menguji hasil ekstraksi MOS dari produk fermentasi pada percobaan 1 dalam menurunkan jumlah bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) secara *in vitro*. Perlakuan dosis MOS terdiri dari 5 macam yaitu: $D_0 =$

tanpa penggunaan MOS (MOS 0 ppm), D₁ = penggunaan MOS ekstraksi 1000 ppm, D₂ = penggunaan MOS ekstraksi 2000 ppm, D₃ = penggunaan MOS ekstraksi 3000 ppm dan D₄ = penggunaan MOS ekstraksi 4000 ppm. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Uji *in vitro* terdiri dari uji aglutinasi (untuk menguji MOS dalam mengikat bakteri), uji resistensi (untuk menguji MOS dalam membunuh bakteri / bakterisidal) dan uji hambat pada media cair (untuk menguji MOS dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri). Kriteria penentuan perlakuan dosis terbaik adalah didasarkan pada terjadinya aglutinasi/clumping pada hasil uji aglutinasi (uji aglutinasi positif), tidak terbentuknya zona bening pada hasil uji resistensi (uji resistensi positif) dan kemampuan MOS dalam menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen pada hasil uji hambat pada media cair. Dosis terbaik penggunaan MOS ekstraksi kemudian dibandingkan dengan penggunaan MOS komersial (D₅).

Variabel Penelitian

Pada percobaan 2 dilakukan pengamatan variabel sebagai berikut:

- Uji aglutinasi (terjadi atau tidak terjadinya aglutinasi/*clumping*). Uji aglutinasi dilakukan berdasarkan metode Spring (Tafsin, 2007).
- Uji resistensi (terjadi atau tidak terjadinya pembentukan zona bening). Uji resistensi dilakukan berdasarkan metode Kirby-Bauer (Tafsin, 2007).
- Uji hambat pada media cair (terjadi penambahan atau penurunan jumlah koloni bakteri). Metode Tafsin (2007) digunakan sebagai acuan untuk melakukan uji hambat pada media cair.

Prosedur Uji Aglutinasi, Uji Resistensi dan Uji Hambat pada Media Cair

a. Uji aglutinasi

Uji aglutinasi dilakukan untuk melihat kemampuan MOS (0, 1000, 2000, 3000, dan 4000 ppm) dalam mengikat bakteri (*Salmonella* sp., *Escherichia coli*, dan *Lactobacillus* sp.). Uji ini diawali dengan menumbuhkan kultur bakteri menggunakan media *nutrient broth* selama 24 jam dengan tujuan untuk menstandarisasi konsentrasi bakteri. Selanjutnya melakukan sentrifugasi untuk memanen sel bakteri dan kemudian mensuspensikannya ke dalam larutan 0.05M PBS (*Phosphate Buffer Saline*) dengan pH 7,2 serta diukur pada kerapatan optik (OD 660nm=1,60). Selanjutnya dengan perlakuan yang sama MOS dilarutkan juga pada PBS (OD 660nm=1,60). Hasil uji aglutinasi dapat diamati dengan menggunakan mikroskop setelah mencampurkan MOS dan suspensi bakteri pada gelas obyek dengan perbandingan 1:1 yang sebelumnya dibiarkan terlebih dahulu selama kurang lebih 5 menit.

b. Uji Resistensi

Pengujian aktivitas hambat MOS terhadap bakteri (*Salmonella* sp., *Escherichia coli*, dan *Lactobacillus* sp.) di lakukan dengan penanaman bakteri di media nutrisi agar pada cawan petri. Kemudian meletakkan 5 buah kertas cakram yang masing-masing sebelumnya sudah diberi MOS sebanyak 50µl berturut-turut dengan konsentrasi 0, 1000, 2000, 3000 dan 4000 ppm pada media nutrisi agar tersebut. Selanjutnya kultur bakteri pada media nutrisi agar tersebut diinkubasi selama 24-48 jam, dan kemudian dilakukan pengamatan terhadap zona bening (*clearing zone*) yang terbentuk di sekitar kertas cakram.

c. Uji aktifitas hambat pada medium cair

Uji aktifitas hambat pada medium cair terhadap bakteri *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, dan *Lactobacillus* sp. di mulai dengan menanam bakteri dengan jumlah koloni awal 10^4 CFU/ml pada medium nutrisi broth yang sebelumnya telah ditambah MOS dengan konsentrasi 0, 1000, 2000, 3000, dan 4000ppm. Kemudian kultur tersebut diinkubasi selama 24 jam pada ruangan yang bersuhu 37°C . Selanjutnya melakukan pengamatan terhadap jumlah koloni yang terbentuk dengan melakukan penanaman kultur bakteri tersebut sebelumnya di media nutrisi agar pada cawan petri. Penghitungan jumlah koloni (cfu) pada media nutrisi agar dilakukan setelah kultur bakteri diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C .

Analisis Statistik

Data dari hasil pengamatan variabel penelitian dengan perlakuan level dosis penggunaan MOS ekstraksi dan penggunaan MOS komersial terhadap uji aglutinasi, uji resistensi dan uji hambat pada media cair dianalisis secara deskriptif.

4.2. Penelitian Tahap II

Uji penggunaan MOS hasil ekstraksi sebagai *feed additive* (prebiotik) terhadap performan ayam pedaging.

Lokasi Penelitian

Penelitian lapang telah dilakukan di kandang ternak milik masyarakat di Desa Sumber Sekar Kecamatan DAU Kotamadya Malang, serta Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Cakupan Penelitian

Penelitian tahap II adalah untuk melaksanakan tujuan ketiga dan membuktikan hipotesis ketiga tentang pengaruh penggunaan MOS hasil ekstraksi sebagai *feed additive* dalam pakan untuk meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging. Dosis MOS yang digunakan pada penelitian tahap II yaitu dosis optimal untuk menurunkan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli* serta meningkatkan *Lactobacillus* sp. secara uji *in vitro* pada penelitian tahap I percobaan 2. Luaran penelitian tahap II adalah menghasilkan MOS sebagai *feed additive* alternatif yang digunakan untuk meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging.

Materi Penelitian

Bahan yang digunakan adalah MOS hasil ekstraksi dari produk fermentasi, MOS komersial, pakan formulasi, Vaksin ND dan DOC ayam pedaging sampai umur 5 minggu sebanyak 288 ekor, plastik ukuran 1 dan 2 kg, plastik klip. Susunan dan kandungan nutrisi pakan percobaan disajikan pada Tabel 9. dan 10.

Tabel 9. Susunan pakan percobaan ayam pedaging periode *starter* dan *finisher*

| Bahan Pakan | <i>Starter</i> (%) | <i>Finisher</i> (%) |
|------------------|--------------------|---------------------|
| Jagung giling | 56,5 | 63,7 |
| Bekatul | 3,5 | 4,0 |
| Bungkil kedelai | 26,0 | 19,0 |
| Tepung ikan | 10,0 | 9,0 |
| Minyak sawit | 2,0 | 2,5 |
| Dikalsium fosfat | 0,8 | 0,2 |
| Kalsium karbonat | 0,5 | 1,0 |
| Lisin | 0,1 | 0,2 |
| Metionin | 0,2 | 0,1 |
| Garam | 0,1 | 0,1 |
| Premiks | 0,3 | 0,2 |
| Total | 100,0 | 100,0 |

Tabel 10. Kandungan nutrisi pakan percobaan

| Kandungan nutrisi* | Jenis pakan | |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| | Pakan <i>Starter</i> | Pakan <i>Finisher</i> |
| PK (%) | 23,08 | 19,99 |
| ME (kkal/kg) | 3.066 | 3.178 |
| LK (%) | 5,76 | 6,45 |
| SK (%) | 3,07 | 2,82 |
| Ca (%) | 1,00 | 0,99 |
| P (%) | 0,72 | 0,59 |
| Lisin (%) | 1,49 | 1,35 |
| Metionin (%) | 0,66 | 0,51 |
| Garam (%) | 0,10 | 0,10 |

*Dianalisis di Laboratorium NMT (Nutrisi dan Makanan Ternak) FAPET Universitas Brawijaya Malang.

Alat yang digunakan adalah kandang *litter*, seperangkat alat pakan dan minum, timbangan digital kapasitas 210 g dengan ketelitian 0,001 g, timbangan kapasitas 2 kg dengan ketelitian 0,1 g, timbangan digital kapasitas 5 kg dengan ketelitian 0,001 g, lampu penerang, termometer, higrometer, alat pembersih kandang, kayu reng dan kasa plastik untuk penyekat petak, pisau, telenan, nampan plastik.

Metode Penelitian

Metode penelitian adalah percobaan lapang dengan Rancangan Acak Lengkap pola tersarang (*nested design*). Pakan perlakuan terdiri dari 9 macam yang dibedakan atas 3 penggunaan jenis MOS (M_0 = tanpa penggunaan MOS, M_1 = penggunaan MOS hasil penelitian atau MOS hasil ekstraksi dari produk fermentasi campuran BIS-onggok, M_2 = penggunaan MOS komersial) dan 3 periode waktu pemberian MOS berdasarkan periode pemeliharaan tersarang pada penggunaan jenis MOS (P_1 = pemberian MOS pada saat periode *starter*, P_2 = Pemberian MOS mulai dari periode *starter* sampai periode *finisher*, P_3 = pemberian MOS pada saat periode *finisher*). *Time line* perlakuan periode saat pemberian MOS dapat dilihat pada lampiran 3. Masing-masing pakan perlakuan terdiri dari 4

ulangan. Pakan basal tanpa pemberian MOS digunakan sebagai kontrol. Pakan perlakuan adalah pakan basal yang ditambah dengan penggunaan MOS. Pakan diberikan dan disusun berdasarkan kebutuhan nutrisi sesuai dengan periode pemeliharaan. DOC pada percobaan ini dipelihara dalam kandang *litter* yang disekat sesuai dengan kebutuhan dengan ukuran 1x1 m² untuk setiap petak sebanyak 36 petak. Pada awalnya DOC ditimbang dan secara acak dibagi menjadi 36 kelompok yang sama. Selanjutnya 36 kelompok ini dibagi secara acak menjadi 9 kelompok perlakuan dan diulang sebanyak 4 ulangan untuk masing-masing perlakuan, serta masing-masing ulangan terdiri dari 8 ekor ayam pedaging. Adapun denah percobaan dapat dilihat pada Lampiran 4.

Kelompok perlakuan secara rinci dijabarkan sebagai berikut:

M₀P₁ = Pakan kontrol (pakan tanpa pemberian MOS).

M₀P₂ = Pakan kontrol (pakan tanpa pemberian MOS).

M₀P₃ = Pakan kontrol (pakan tanpa pemberian MOS).

M₁P₁ = Pakan dengan pemberian MOS hasil ekstraksi pada saat periode *starter*

M₁P₂ = Pakan dengan pemberian MOS hasil ekstraksi mulai dari periode *starter* sampai periode *finisher*

M₁P₃ = Pakan dengan pemberian MOS hasil ekstraksi pada saat periode *finisher*

M₂P₁ = Pakan dengan pemberian MOS komersial pada saat periode *starter*

M₂P₂ = Pakan dengan pemberian MOS komersial mulai dari periode *starter* sampai periode *finisher*

M₂P₃ = Pakan dengan pemberian MOS komersial pada saat periode *finisher*

Pemeliharaan ayam dilakukan selama 5 minggu dengan pemberian pakan serta minum secara *ad libitum*. Pakan yang diberikan dibedakan untuk ayam umur 0-3 minggu (periode *starter*) dan untuk ayam umur 4-5 minggu (periode *finisher*). Vaksin diberikan pada ayam umur 4 hari

dengan cara tetes mata dan umur 21 hari dengan melalui air minum yaitu memakai vaksin ND.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati adalah sebagai berikut:

- Konsumsi pakan (g/ekor), diukur setiap hari berdasarkan jumlah pakan yang diberikan (g) pada pagi hari dan dikurangi dengan sisa pakan (g) pada pagi berikutnya kemudian ditotal selama penelitian berlangsung.
- Pertambahan bobot badan (g/ekor), diukur berdasarkan selisih antara BB akhir (g) dan BB awal (g) pada setiap unit percobaan pada setiap minggu selama 5 minggu.
- Konversi pakan, dihitung berdasarkan jumlah pakan yang dikonsumsi (g) dibagi dengan PBB (g) selama penelitian berlangsung.
- *Income Over Feed and Chick Cost* (IOFCC) (Rp/ekor), dihitung berdasarkan selisih antara jumlah penerimaan dari hasil penjualan ayam (Rp/ekor) dengan jumlah biaya pengeluaran untuk pakan dan ditambah biaya pembelian DOC (Rp/ekor) .
- Persentase karkas (%), yaitu berat karkas (bobot ayam setelah dikurangi komponen non karkas seperti kepala, kaki, darah, bulu, dan seluruh isi rongga dada dan rongga perut) dibagi dengan bobot hidup (bobot pada waktu akan dipotong) dikalikan 100 persen.
- Persentase lemak abdominal (%), yaitu berat lemak (didapat dari lemak yang terdapat pada sekeliling *gizzard* dan lapisan yang menempel antara otot abdominal dan usus) dibagi dengan bobot hidup dikalikan 100%.
- Mortalitas (%), yaitu banyaknya ayam yang mati dibagi dengan banyaknya ayam pada saat awal penelitian pada setiap unit percobaan pada masing-masing perlakuan.

- Jumlah bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) dan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) pada digesta usus. Penghitungan jumlah bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) dan bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) menurut Sari dkk. (2013) dapat dilihat pada Lampiran 5.
- pH digesta usus, pengukuran pH digesta usus dilakukan dengan menggunakan alat pH meter menurut prosedur Mirzaie *et al.* (2012). Prosedur pengukuran pH digesta usus dapat dilihat pada Lampiran 6.
- Viskositas digesta usus, pengukuran viskositas dilakukan dengan sentrifugasi selama 8 menit menurut prosedur McDonald *et al.* (2001). Prosedur pengukuran viskositas dapat dilihat pada Lampiran 7.
- Luas vili usus ($\mu\text{m}^2/\text{vili}$) dan luas permukaan mukosa usus ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^2$). Perhitungan luas vili usus berdasarkan metode Iji *et al.* (2001) dan luas permukaan mukosa usus berdasarkan metode Drozdowski *et al.* (2005). Perhitungan luas vili usus dan permukaan mukosa usus dapat dilihat pada Lampiran 8.

Analisis Statistik

Data hasil penelitian ditabulasi dengan program excel dan dianalisis ragam berdasarkan Rancangan Acak Lengkap pola tersarang 3 x 3 dengan 4 ulangan. Apabila terdapat pengaruh perlakuan maka dilakukan uji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) sesuai dengan Steel dan Torrie (1989). Data hasil penelitian dianalisis menggunakan program R dengan paket Agricolae (de Menndiburu, 2017).

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Penelitian Tahap I : Optimasi Fermentasi Campuran BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi dalam Menghasilkan MOS dan Pengaruhnya untuk Menurunkan Bakteri Patogen dan Meningkatkan Bakteri Non Patogen

5.1.1. Percobaan I: Uji Rasio BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi dalam Menghasilkan MOS yang Maksimal

5.1.1.1. Pengaruh Rasio BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi terhadap Kandungan Komponen Serat (NDF, ADF, Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin)

Pengaruh perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan komponen serat (NDF, ADF, Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin) disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Rataan pengaruh perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin)

| Perlakuan | Komponen serat* | | | | |
|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | NDF (%) | ADF (%) | Selulosa (%) | Hemiselulosa (%) | Lignin (%) |
| Rasio | | | | | |
| R ₀ | 67,31±4,38 ^A | 44,24±2,99 ^A | 28,49±2,71 ^A | 23,07±3,95 ^A | 14,16±1,43 ^A |
| R ₁ | 58,14±7,05 ^C | 40,36±3,31 ^D | 24,80±4,58 ^B | 17,79±5,04 ^B | 13,42±1,44 ^C |
| R ₂ | 58,95±7,14 ^B | 42,10±1,77 ^C | 23,08±4,06 ^C | 16,05±5,67 ^C | 13,95±2,51 ^B |
| R ₃ | 57,72±5,17 ^C | 42,67±1,79 ^B | 20,72±3,37 ^D | 14,66±4,61 ^D | 12,12±1,45 ^D |
| Waktu inkubasi | | | | | |
| W ₀ | 65,58±2,45 ^B | 40,43±0,46 ^D | 26,46±1,63 ^B | 24,64±3,07 ^A | 10,93±0,69 ^E |
| W ₁ | 67,87±3,45 ^A | 45,17±1,36 ^A | 28,91±2,56 ^A | 21,70±2,60 ^B | 12,92±1,35 ^D |
| W ₂ | 58,72±7,42 ^C | 43,19±2,71 ^B | 24,60±5,24 ^C | 15,52±4,87 ^C | 13,48±1,85 ^C |
| W ₃ | 54,45±4,34 ^E | 40,35±2,49 ^D | 21,02±3,32 ^D | 14,10±4,45 ^D | 14,50±0,58 ^B |
| W ₄ | 56,04±5,18 ^D | 42,56±3,22 ^C | 20,37±3,25 ^E | 13,47±2,67 ^E | 15,25±1,16 ^A |

Keterangan: R₀ = BIS 100% : Onggok 0%, R₁ = BIS 87,5% : Onggok 12,5%, R₂ = BIS 75% : Onggok 25%, R₃ = BIS 62,5% : Onggok 37,5%; W₀ = Waktu inkubasi 0 jam, W₁ = Waktu inkubasi 24 jam, W₂ = Waktu inkubasi 48 jam, W₃ = Waktu inkubasi 72 jam, W₄ = Waktu inkubasi 96 jam.

*Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

5.1.1.1.1 Pengaruh Rasio BIS-Onggok terhadap Kandungan Komponen Serat (NDF, ADF, Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio BIS-onggok mempengaruhi ($P < 0,01$) kandungan komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin). Kandungan komponen serat (Tabel 11) secara umum semakin menurun dengan meningkatnya proporsi onggok dalam substrat. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan onggok dalam substrat dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger*, sehingga diproduksi enzim secara maksimal untuk mendegradasi komponen serat substrat campuran BIS-onggok. Enzim-enzim yang berpotensi mendegradasi serat kasar BIS yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* antara lain, yaitu adalah mannanase, glukosidase, galaktosidase, selulase, hemiselulase, dan xylanase (Noraini *et al.*, 2001; Norita *et al.*, 2010; Ab Rasyid *et al.*, 2009; Ibrahim *et al.*, 2014)

Tabel 11 memperlihatkan bahwa kandungan NDF cenderung menurun dengan bertambahnya onggok dalam substrat campuran BIS-onggok. Onggok merupakan substrat yang mengandung pati dan berfungsi sebagai sumber energi bagi *Aspergillus niger*. Kandungan pati onggok cukup tinggi berkisar antara 60-70% (Sebayang, 2005), 65,5% (Djuma'ali, 2013), 69,9% (Retnani dkk., 2010), 50-70% (Gaewchingduang and Pengthemkeerati, 2010) dan 66-68,89% (Edama *et al.*, 2014). Pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* dapat terpacu dengan tersuplainya kebutuhan nutrisi seperti energi melalui penambahan onggok. *Aspergillus niger* yang tumbuh dan berkembang pesat akan mampu memproduksi enzim-enzim pendegradasi komponen serat seperti selulase dan mannanase secara maksimal. Oleh karena itu dengan penambahan onggok semakin mempercepat degradasi selulosa dan hemiselulosa (mannan) menjadi karbohidrat sederhana, yang berdampak pada penurunan kandungan NDF substrat campuran BIS-onggok.

Penambahan ongkok pada perlakuan rasio BIS-ongkok menghasilkan dampak menurunnya nilai ADF. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 11 bahwa kandungan ADF perlakuan R₁, R₂ dan R₃ lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan R₀. Penurunan ADF ini disebabkan oleh terjadinya degradasi selulosa sebagai akibat adanya aktifitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* yang tumbuh dan berkembang karena tersuplai energi dari ongkok. Degradasi selulosa mengakibatkan penurunan nilai ADF.

Kandungan ADF berturut-turut dari perlakuan R₁, R₂ dan R₃ yaitu 40,36%, 42,10% dan 42,67%, mengalami kenaikan dengan bertambahnya penambahan ongkok. Peningkatan ADF ini diduga diakibatkan oleh adanya penambahan kitin, kitosan dan glukukan yang terkandung dalam dinding sel *Aspergillus niger*. Penambahan ongkok membantu memacu pertumbuhan *Aspergillus niger* yang semakin lebat. Pertumbuhan biomasa kapang yang lebat berperan dalam meningkatkan kandungan komponen serat penyusun ADF, sehingga berdampak pada peningkatan ADF substrat campuran BIS-ongkok. Komponen serat penyusun dinding sel *Aspergillus niger* yaitu kitin, kitosan dan glukukan (Husniati, 2016).

Perlakuan rasio BIS-ongkok menghasilkan kandungan selulosa substrat dari perlakuan R₀, R₁, R₂ dan R₃ berturut-turut adalah 28,49%, 24,80%, 23,08% dan 20,72%. Kandungan selulosa mengalami penurunan seiring dengan penambahan ongkok dalam substrat campuran BIS-ongkok. Penurunan kandungan selulosa ini disebabkan oleh terjadinya degradasi selulosa menjadi oligosakarida dan glukosa oleh enzim selulase yang dihasilkan *Aspergillus niger*. Selulosa ialah senyawa organik yang tidak larut dalam air dengan formula (C₆H₁₀O₅)_n yang merupakan komponen utama dalam serat tumbuhan. Selulosa adalah polimer yang mengandung unit-unit glukosa yang membentuk rantai lurus dan panjang (Saleh dkk., 2009). Selulosa adalah polimer linier yang

tersusun dari D-glukosa yang diikat oleh b-1,4 glycosida membentuk celobiosa. Senyawa ini didegradasi oleh enzim mikroba menjadi oligosakarida kemudian menjadi glukosa (Subowo, 2010).

Kandungan hemiselulosa perlakuan rasio BIS-onggok mengalami penurunan seiring dengan penambahan persentase onggok dalam substrat. Penurunan hemiselulosa ini disebabkan oleh terjadinya degradasi hemiselulosa oleh enzim hemiselulase yang diproduksi *Aspergillus niger*. Pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal dapat memproduksi enzim mannanase secara maksimal untuk mendegradasi hemiselulosa (mannan) menjadi mannan oligosakarida (MOS) dan mannos. Hemiselulosa merupakan senyawa heteropolimer dengan struktur kimia yang terbentuk dari dua sampai empat unit gula yang berbeda atau heteropolisakarida. Hemiselulosa mempunyai struktur kimia yang kompleks dan sering di kelompokkan sebagai mannan, xylan, galaktan dan arabinan (Agu *et al.*, 2014). Hemiselulosa memiliki sifat sedikit larut dalam air, larut dalam alkali, larut dan terhidrolisis oleh asam. Hidrolisis asam terhadap hemiselulosa lebih mudah jika dibandingkan dengan selulosa (Coniwanti dkk., 2009).

Kandungan lignin perlakuan rasio BIS-onggok cenderung mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya onggok dalam substrat. Penurunan kandungan lignin ini disebabkan oleh terjadinya degradasi lignin akibat adanya aktifitas enzim ligninase yang di hasilkan kapang *Aspergillus niger*, menjadi komponen yang lebih sederhana seperti coumaryl alkohol, conyferil alkohol dan sinapyl alkohol. Lignin penyusun jaringan tumbuhan selain selulosa dan hemiselulosa. Lignin merupakan polimer yang sangat kompleks yang tersusun dari unit phenylpropana seperti coumaryl alkohol, conyferil alkohol dan sinapyl alkohol yang saling terikat dalam struktur tiga dimensi, sehingga sangat sulit untuk didegradasi (Sajith *et al.*, 2016). Fungsi lignin memberi kekakuan pada

jaringan pengangkut tumbuhan dan melindungi struktur polisakarida (selulosa dan hemiselulosa) (Subowo, 2010).

Kandungan lignin perlakuan R₂ lebih tinggi dibandingkan dengan R₁ dan R₃. Hal ini mengindikasikan bahwa pada perlakuan R₂ terjadi proses pemutusan ikatan yang maksimal antara lignin dengan selulosa dan hemiselulosa. Namun kondisi ini tidak disertai dengan degradasi lignin yang tinggi sehingga mengakibatkan kandungan lignin pada R₂ lebih tinggi dibandingkan dengan R₁ dan R₃.

Kandungan lignin pada perlakuan R₃ paling rendah dibandingkan perlakuan R₀, R₁ dan R₂. Hal ini diduga disebabkan oleh degradasi lignin pada perlakuan R₃ berlangsung secara maksimal. Kandungan lignin pada perlakuan R₃ sebelum difermentasi cenderung rendah karena jumlah bungkil inti sawit yang mengandung lignin lebih tinggi dibandingkan ongkok pada perlakuan R₃ paling rendah, dibandingkan dengan perlakuan R₀, R₁ dan R₂. Sementara itu pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* sebagai penghasil enzim ligninase pada perlakuan R₃ lebih cepat dibandingkan perlakuan R₀, R₁ dan R₂, mengingat penambahan ongkok sebagai pemacuan pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* adalah paling tinggi. Kondisi ini mengakibatkan enzim ligninase yang dihasilkan kapang cukup untuk mendegradasi lignin sehingga berdampak pada penurunan lignin pada perlakuan R₃.

5.1.1.1.2 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Kandungan Komponen Serat (NDF, ADF, Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu inkubasi mempengaruhi ($P < 0,01$) kandungan komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin). Berdasarkan Tabel 11 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu inkubasi semakin menurunkan kandungan komponen serat, kecuali

kandungan lignin yang semakin meningkat dengan lamanya waktu inkubasi. Menurunnya kandungan komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa) seiring dengan lamanya waktu inkubasi, disebabkan oleh terjadinya degradasi komponen serat oleh enzim-enzim yang dihasilkan *Aspergillus niger* selama proses fermentasi.

Tingkat penurunan komponen serat selama proses fermentasi dipengaruhi oleh tinggi rendahnya produksi enzim yang dihasilkan *Aspergillus niger*. Jumlah produksi enzim dipengaruhi oleh fase atau kurva pertumbuhan *Aspergillus niger*. Fase pertumbuhan kapang/fungi menurut Suprihatin (2010), antara lain: (1) fase lag atau fase adaptasi yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat; (2) fase akselerasi, yaitu fase mulainya sel-sel membelah dengan kecepatan yang rendah; (3) fase eksponensial atau fase logaritmik, yaitu fase perbanyak jumlah sel yang sangat banyak dan aktivitas sel sangat meningkat. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH, kandungan nutrien, suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini kapang membutuhkan energi yang lebih banyak daripada fase yang lainnya. Fase ini merupakan fase yang penting bagi kehidupan fungi. Pada fase ini dapat dilakukan pemanenan enzim-enzim; (4) fase deselerasi, yaitu fase saat sel-sel mulai kurang aktif membelah. Pada fase ini dapat dilakukan pemanenan biomassa sel. Pada fase ini jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dibandingkan dengan sel yang mati; (5) fase stasioner atau fase statis, yaitu fase pada saat jumlah sel yang tumbuh seimbang dengan jumlah sel yang mati; (6) fase kematian, yaitu fase pada saat jumlah sel-sel yang mati lebih banyak dibandingkan dengan sel-sel yang tumbuh.

Kandungan komponen serat secara umum menurun tajam pada waktu inkubasi setelah 24 jam sampai 72 jam. Komponen serat (hemiselulosa dan

selulosa) mengalami sedikit penurunan pada waktu inkubasi 96 jam, tetapi komponen serat (NDF dan ADF) mengalami sedikit peningkatan. Sedangkan peningkatan kandungan lignin seiring dengan meningkatnya lama waktu inkubasi disebabkan oleh adanya akumulasi lignin sebagai akibat terputusnya ikatan lignoselulosa menjadi selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Neutral Detergent Fiber (NDF) campuran BIS-onggok pada waktu inkubasi 24 jam (W_1) mengalami peningkatan dibandingkan dengan waktu inkubasi 0 jam (W_0). Peningkatan kandungan NDF ini diduga disebabkan oleh tingginya aktifitas pemanfaatan isi sel atau NDS (*Neutral Detergent Soluble*) yang mudah larut oleh *Aspergillus niger* untuk pertumbuhan dan perkembangan dan disertai aktifitas perombakan dinding sel yang masih rendah. Isi sel yang menurun mengakibatkan naiknya kandungan NDF terhadap total bahan kering substrat campuran BIS-onggok. Peningkatan kandungan NDF sejalan dengan penelitian Nurcahyani dkk. (2006) yaitu kandungan NDF apas teh meningkat setelah waktu inkubasi 2 minggu dari 52,26% menjadi 53,48%.

Kandungan NDF campuran BIS-onggok menurun setelah waktu inkubasi 24 jam (W_1) sampai waktu inkubasi 72 jam (W_3). Penurunan NDF ini diakibatkan oleh terjadinya degradasi selulosa dan hemiselulosa (mannan) yang dapat dilihat pada Tabel 11. *Neutral Detergent Fiber* terdiri dari fraksi yang larut dalam asam (hemiselulosa) dan tidak larut dalam asam (ADF) yang berisi selulosa dan lignin. Selulosa dan hemiselulosa masing-masing menurun karena adanya aktifitas enzim selulase dan enzim manannase yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* dalam mendegradasi kedua komponen serat tersebut. Hal ini didukung oleh penelitian Pasaribu dkk. (2001) bahwa *Aspergillus niger* adalah kapang yang mampu memproduksi enzim selulase dan manannase. Rata-rata aktifitas enzim selulase dan enzim manannase *Aspergillus niger* pada fermentasi lumpur sawit yang di kemas dalam kantong plastik selama 12 minggu masing-masing adalah

49,54 U/gBK dan 215,04 U/g BK.

Kandungan NDF campuran BIS-onggok pada waktu inkubasi 96 jam (W_4) mengalami peningkatan dibandingkan waktu inkubasi 72 jam (W_3). Peningkatan kandungan NDF ini diakibatkan oleh penambahan NDF dari dinding sel *Aspergillus niger*. Biomasa *Aspergillus niger* berkembang dan bertambah banyak seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi yang disertai dengan meningkatnya komponen dinding sel. Dinding sel *Aspergillus niger* terdiri atas kitin, kitosan, glukukan dan mannan (Husniati, 2016). Lubis (2008) menyatakan bahwa galactomannan merupakan komponen utama dari dinding sel *Aspergillus niger*. Sedangkan Ardiati (2015) melaporkan bahwa senyawa galaktomannan dapat diisolasi dari dinding sel *Aspergillus niger* dengan berat rendemen galaktomannan sebesar 2,210 – 5,925% dari berat basah dinding sel *Aspergillus niger*.

Acid Detergent Fiber (ADF) (Tabel 11) semua perlakuan rasio BIS-onggok mengalami kenaikan pada waktu inkubasi 24 jam. Hal ini disebabkan oleh adanya aktifitas penggunaan NDS atau isi sel yang tinggi oleh kapang *Aspergillus niger* dan belum disertai aktifitas degradasi dinding sel yang tinggi. Kondisi ini mengakibatkan kandungan NDF yang tinggi dan berdampak pada kandungan ADF yang tinggi. Fraksi serat yang menyusun ADF adalah selulosa, lignin dan silika. Fraksi serat ADF belum terdegradasi secara maksimal dibuktikan dengan data selulosa dan lignin pada perlakuan W_1 yang dapat dilihat pada Tabel 11. Kandungan selulosa pada perlakuan W_1 lebih tinggi dari perlakuan W_0 dan W_2 , demikian juga kandungan lignin pada perlakuan W_1 lebih tinggi dari perlakuan W_0 dan lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan W_2 .

Kandungan ADF mengalami penurunan pada waktu inkubasi 48 (W_2) dan 72 jam (W_3). Penurunan ADF disebabkan oleh terjadinya degradasi selulosa. Degradasi selulosa terjadi sebagai akibat adanya aktifitas enzim selulase yang

dihasilkan kapang *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* merupakan kapang yang mampu menghasilkan enzim selulase dengan aktifitas enzim selulase dan kemampuan mengurai selulosa tertinggi dibandingkan dengan kapang yang lain. Aktifitas enzim selulase *Aspergillus niger* yaitu 2,19 U/ml paling tinggi dibandingkan dengan aktifitas enzim *Penicillium* sp, *Trichoderma reseei*, dan *Aspergillus oryzae* (Kasmiran dan Tarmizi, 2012). Kemampuan mengurai selulosa *Aspergillus niger* sebesar 39,86% paling tinggi dibandingkan dengan *T. koningii*, *T. harzianum*, *A. brevipes*, *Rhizophus* sp., *P. corylophillum*, *P. janthillenum* (Nursadin dkk., 2012).

Tabel 11 memperlihatkan bahwa kandungan ADF pada waktu inkubasi 96 jam mengalami sedikit kenaikan dibandingkan dengan perlakuan waktu inkubasi 72 jam. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya penambahan polisakarida kitin, kitosan dan glukukan dari dinding sel kapang *Aspergillus niger*. Kitin tergolong homopolisakarida linier yang tersusun atas molekul glukosa dengan cabang yang mengandung nitrogen. Kitin membentuk serat yang menyerupai selulosa. Dinding sel *Aspergillus niger* mengandung kitin-glukan dengan persentase kitin dan glukukan masing-masing adalah 32% dan 15-20% (Shahlaei and Pourhossein, 2013). Biomassa kapang mengalami pertumbuhan yang semakin lebat dengan bertambahnya waktu inkubasi. Kandungan kitin, kitosan dan glukukan dalam dinding sel kapang *Asspergillus niger* yang usia tumbuhnya tua lebih tinggi dibandingkan dengan yang muda. Oleh karena itu kandungan kitin dinding *Aspergillus niger* semakin tingggi dengan bertambahnya biomasa kapang dan semakin meningkatnya usia pertumbuhan kapang. Kondisi ini mengakibatkan peningkatan kandungan ADF campuran BIS-onggok.

Kandungan Selulosa (Tabel 11) pada waktu inkubasi 24 jam (W_1) lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan W_0 . Hal ini diduga disebabkan oleh adanya aktifitas penggunaan isi sel (NDS) yang tinggi oleh kapang *Aspergillus*

niger dengan disertai terjadinya degradasi dinding sel yang masih rendah. Kandungan selulosa pada waktu inkubasi 24 jam yang meningkat mengindikasikan bahwa pada waktu 24 jam pertama inkubasi pertumbuhan kapang *Aspergillus niger* berada fase lag dan fase akselerasi. Fase lag adalah fase penyesuaian sel-sel kapang dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat, sedangkan fase akselerasi adalah fase mulainya sel-sel kapang membelah dengan kecepatan yang rendah (Suprihatin, 2010).

Berdasarkan Tabel 11 kandungan selulosa substrat campuran BIS-onggok mengalami penurunan mulai perlakuan W_2 sampai W_4 . Penurunan kandungan selulosa ini disebabkan oleh terjadinya degradasi selulosa oleh enzim selulase yang dihasilkan kapang *Aspergillus niger* menjadi glukosa (Subowo, 2010). Kandungan selulosa menurun tajam yang diawali pada waktu inkubasi 48 sampai 72 jam mengindikasikan bahwa pada masa ini pertumbuhan *Aspergillus niger* sudah memasuki fase pertumbuhan logaritmik. Fase logaritmik adalah fase perbanyak jumlah sel yang sangat banyak dan aktifitas sel yang sangat meningkat. Enzim diproduksi dalam jumlah banyak dengan aktifitas enzim yang tinggi, sehingga pada fase ini *Aspergillus niger* membutuhkan energi lebih banyak yang dapat disuplai dari onggok. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa enzim selulase diproduksi secara maksimal oleh *Aspergillus niger* pada kisaran waktu 3 - 6 hari (Kasmiran dan Tarmizi, 2012; Ariyani dkk., 2014; Dos Santos *et al.*, 2016; Kusumaningati *et al.*, 2017). Selanjutnya menurut Mrudula and Murugammal (2011) waktu inkubasi optimal untuk menghasilkan enzim selulase yang maksimal adalah 72 jam pada SSF dan 96 jam pada SmF.

Penurunan kandungan selulosa pada waktu inkubasi 96 jam (W_4) relatif lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan W_2 dan W_3 . Kandungan selulosa yang menurun secara lambat mengindikasikan bahwa pertumbuhan *Aspergillus*

niger telah memasuki awal masa deselerasi dan fase stasioner. Fase deselerasi adalah fase sel-sel mulai kurang aktif membelah, sehingga produksi dan aktifitas enzim juga menurun dan berdampak pada penurunan selulosa yang relatif sedikit. Fase stasioner adalah fase pada saat jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati (Suprihatin, 2010).

Kandungan hemiselulosa (Tabel 11) substrat campuran BIS-onggok mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Penurunan kandungan hemiselulosa disebabkan oleh adanya aktifitas enzim mannanase yang diproduksi oleh kapang *Aspergillus niger* dalam mendegradasi hemiselulosa (mannan) menjadi mannan oligosakarida (MOS) ataupun mannanosa. *Aspergillus niger* merupakan salah satu kapang penghasil enzim mannanase. *Aspergillus niger* memproduksi enzim mannanase dengan aktifitas enzim 0,3489 U/ml lebih tinggi dibandingkan dengan *Aspergillus flavus* (0,1830 U/ml) dan *Aspergillus tamari* (0,1546 U/ml) (Agu et al., 2014). Yopi dkk. (2006) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* mampu memproduksi enzim mannanase dengan aktifitas enzim 0,102 U/ml lebih tinggi dibandingkan dengan *Eupenicillium javanicum* (0,088 U/ml), *Streptomyces lipmanii* (0,032 U/ml) dan lebih rendah dari *Saccharopolyspora flava* (0,133 U/ml) pada substrat bungkil inti sawit.

Penurunan hemiselulosa dimulai pada perlakuan W_1 atau waktu inkubasi 24 jam. Penurunan ini lebih cepat 24 jam dibandingkan dengan selulosa. Kondisi ini disebabkan karena hemiselulosa (mannan) bersifat lebih terlarut dibandingkan dengan selulosa, sehingga aktifitas penguraian enzim mannanase lebih cepat dibandingkan dengan enzim selulase. Puls and Poutanen (1989) menyatakan bahwa hemiselulosa adalah bagian dari dinding sel yang lebih mudah didegradasi dibandingkan dengan selulosa dan lignin. Hemiselulosa merupakan heteropolisakarida yang terdiri dari xylosa, mannanosa, galaktosa, arabinosa dan glukosa.

Berdasarkan Tabel 11 kandungan hemiselulosa menurun secara tajam pada waktu inkubasi 48 - 72 jam. Pada waktu inkubasi tersebut mengindikasikan bahwa pertumbuhan *Aspergillus niger* sudah mencapai fase log. Fase log merupakan fase terproduksinya enzim mannanase secara optimal. Pasaribu dkk. (2001) melaporkan bahwa aktifitas enzim mannanase *Aspergillus niger* diproduksi secara optimal pada waktu inkubasi 6 hari sebanyak 229,93 U/g BK pada lumpur sawit yang dikemas dalam plastik; 232,40 U/gBK dalam karung pakan dan 233 U/gBK dalam kantong semen. Selain itu Purwadaria dkk. (1998) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* ES 1 mampu memproduksi enzim mannanase secara optimal pada lama fermentasi 4 hari sebanyak 44,8 U/gBK (aerob) dan 27 U/gBK (anaerob).

Kandungan hemiselulosa mengalami sedikit penurunan pada waktu inkubasi 96 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* mengalami penurunan pada fase ini. Pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang melambat berdampak pada penurunan produksi enzim. Kondisi ini menurunkan degradasi hemiselulosa (mannan) menjadi oligosakarida dan mannanosa. Pada fase ini diduga merupakan fase deselerasi dari pertumbuhan *Aspergillus niger*.

Kandungan lignin (Tabel 11) substrat campuran BIS-onggok mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Peningkatan kandungan lignin ini diduga disebabkan oleh terjadinya degradasi lignoselulosa oleh aktifitas enzim lignoselulase yang dihasilkan kapang *Aspergillus niger*. Ikatan lignin dengan selulosa dan hemiselulosa yang terputus oleh enzim selama fermentasi sampai 96 jam yang tinggi dan tidak diimbangi dengan degradasi lignin oleh enzim ligninase yang tinggi mengakibatkan terakumulasinya lignin dalam substrat. *Aspergillus niger* bukan tergolong kapang yang efektif dalam memproduksi kelompok enzim ligninase. Dhakar *et al.*

(2015) menyatakan bahwa kelompok enzim ligninase diantaranya adalah Lignin Peroksidase (LiP), Mangan Peroksidase (MnP) dan Lakase (Lac). Hu *et al.* (2011) melaporkan bahwa aktifitas enzim lakase *Aspergillus niger* ($1.6 \text{ nmol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) lebih rendah dibandingkan dengan *Aspergillus oryzae* ($3,3 \text{ nmol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) dan *M. Grisea* ($24,1 \text{ nmol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$). Subowo (2015) melaporkan bahwa kemampuan *Aspergillus niger* dalam mengurai lignin (poly R-478) adalah 13,29% lebih rendah dibandingkan dengan *Penicillium* sp.R7.5 (16,46%), *P. ostreatus* (14,25%) dan lebih tinggi dari *L. Edodes* (10,72%).

5.1.1.2. Pengaruh Interaksi antara Rasio BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi terhadap Kandungan Komponen Serat (NDF, ADF, Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin)

Pengaruh perlakuan interaksi antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan komponen serat disajikan pada Tabel 12. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin). Berdasarkan Tabel 12 dapat dilihat bahwa kombinasi perlakuan antara R_0 dan W_1 mempengaruhi kandungan NDF tertinggi (72,05%), sedangkan kombinasi perlakuan R_2 dan W_4 memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan NDF (51,21%). Kandungan NDF secara umum menurun dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkatnya waktu inkubasi. Penurunan kandungan NDF ini disebabkan oleh terjadinya degradasi hemiselulosa dan selulosa menjadi karbohidrat yang lebih sederhana. Penurunan kandungan NDF yang optimal yang diikuti dengan peningkatan kandungan gula reduksi dan mannosa tertinggi adalah pada perlakuan R_2W_3 . Kandungan gula reduksi dan mannosa merefleksikan produksi MOS dari substrat hasil fermentasi. Persentase tingkat penurunan NDF setelah dilakukan

fermentasi pada kombinasi perlakuan R₂W₃ adalah 18,15%. Persentase ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan fermentasi 100% BIS oleh *Aspergillus* sp menurut Muangkeow and Chinajariyawong (2009) dan Supriyati dkk. (1998), yaitu 5,5% dan 16,94%.

Tabel 12. Rataan pengaruh interaksi antara perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa, dan lignin)

| Rasio | Waktu inkubasi | Komponen serat* | | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | NDF (%) | ADF (%) | Selulosa (%) | Hemiselulosa (%) | Lignin (%) |
| R ₀ | W ₀ | 68,62±1,42 ^b | 40,60±0,84 ^f | 27,91±0,58 ^{de} | 28,02±0,58 ^a | 11,78±0,24 ^g |
| | W ₁ | 72,05±1,54 ^a | 46,11±0,98 ^{ab} | 30,36±0,65 ^c | 25,94±0,55 ^b | 14,87±0,32 ^c |
| | W ₂ | 70,82±0,81 ^a | 47,26±0,54 ^a | 32,45±0,37 ^a | 23,56±0,27 ^d | 13,96±0,16 ^d |
| | W ₃ | 61,50±0,22 ^f | 41,08±0,15 ^f | 26,07±0,09 ^{gh} | 20,42±0,07 ^{ef} | 14,29±0,05 ^d |
| | W ₄ | 63,55±1,59 ^{de} | 46,15±1,16 ^{ab} | 25,65±0,52 ^{hi} | 17,39±0,44 ^h | 15,91±0,40 ^a |
| R ₁ | W ₀ | 66,16±0,69 ^c | 40,18±0,42 ^f | 27,27±0,28 ^{ef} | 25,98±0,27 ^b | 11,32±0,12 ^h |
| | W ₁ | 66,58±1,48 ^c | 45,89±1,02 ^{bc} | 31,5±0,70 ^b | 20,69±0,46 ^e | 13,19±0,29 ^{ef} |
| | W ₂ | 54,24±0,37 ^h | 40,78±0,28 ^f | 25,18±0,17 ⁱ | 13,45±0,09 ^{jk} | 12,92±0,09 ^f |
| | W ₃ | 51,57±0,70 ⁱ | 36,40±0,49 ^h | 20,52±0,28 ^l | 15,17±0,20 ^j | 14,23±0,19 ^d |
| | W ₄ | 52,15±0,54 ⁱ | 38,52±0,40 ^g | 19,52±0,20 ^{mn} | 13,63±0,14 ^j | 15,47±0,16 ^b |
| R ₂ | W ₀ | 65,00±0,52 ^{cd} | 40,49±0,33 ^f | 26,74±0,22 ^{fg} | 24,51±0,20 ^c | 10,25±0,08 ⁱ |
| | W ₁ | 68,75±3,03 ^b | 44,29±1,95 ^d | 28,50±1,27 ^d | 20,46±0,31 ^{ef} | 11,90±0,52 ^g |
| | W ₂ | 56,62±0,48 ^g | 43,57±0,37 ^{de} | 21,66±0,18 ^k | 13,06±0,11 ^k | 15,96±0,13 ^a |
| | W ₃ | 53,20±0,41 ^{hi} | 41,33±0,32 ^f | 20,19±0,16 ^{lm} | 11,87±0,10 ^m | 15,41±0,12 ^b |
| | W ₄ | 51,21±0,42 ⁱ | 40,83±0,34 ^f | 18,30±0,15 ^o | 10,37±0,09 ⁿ | 16,21±0,13 ^a |
| R ₃ | W ₀ | 62,53±1,13 ^{ef} | 40,46±0,24 ^f | 23,92±0,43 ^j | 20,06±0,36 ^{fg} | 10,36±0,19 ⁱ |
| | W ₁ | 64,11±0,64 ^{de} | 44,37±0,45 ^d | 25,27±0,25 ⁱ | 19,73±0,20 ^g | 11,71±0,12 ^g |
| | W ₂ | 53,21±0,37 ^{hi} | 41,17±0,28 ^f | 19,11±0,13 ⁿ | 12,04±0,08 ^{lm} | 11,08±0,08 ^h |
| | W ₃ | 51,53±1,01 ⁱ | 42,57±0,83 ^e | 17,29±0,34 ^p | 8,96±0,17 ^o | 14,06±0,27 ^d |
| | W ₄ | 57,23±0,12 ^g | 44,75±0,09 ^{cd} | 18,01±0,04 ^{op} | 12,49±0,03 ^l | 13,40±0,03 ^e |

Keterangan: R₀ = BIS 100% : Onggok 0%, R₁ = BIS 87,5% : Onggok 12,5%, R₂ = BIS 75% : Onggok 25%, R₃ = BIS 62,5% : Onggok 37,5%; W₀ = Waktu inkubasi 0 jam, W₁ = Waktu inkubasi 24 jam, W₂ = Waktu inkubasi 48 jam, W₃ = Waktu inkubasi 72 jam, W₄ = Waktu inkubasi 96 jam.

*Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Kandungan NDF campuran BIS-onggok sebelum mengalami proses fermentasi (W₀) meningkat seiring dengan bertambahnya bungkil inti sawit. Hal ini disebabkan oleh kandungan NDF bungkil inti sawit lebih tinggi dibandingkan dengan onggok. Kandungan NDF bungkil inti sawit adalah 65,2% (de Sausa

Figueredo *et al.*, 2014), 72,33% (Pangestu dkk., 2009), 74% (Ramin *et al.*, 2010), 78,54% (Puastuti dkk., 2014), sedangkan kandungan NDF onggok adalah 30,28% (Pangestu dkk., 2009) dan 52% (Babayemi *et al.*, 2010).

Persentase penurunan NDF perlakuan R₀, R₁, R₂, dan R₃ selama proses fermentasi (selama 96 jam dari W₀ sampai W₄) berturut turut yaitu: 7,39%, 21,18%, 21,22% dan 8,48%. Persentase penurunan NDF yang tertinggi adalah pada perlakuan R₂ (rasio BIS 75%:onggok 25%). Hal ini berarti bahwa onggok sebesar 25% merupakan jumlah penambahan onggok yang optimal untuk mensuplai energi *Aspergillus niger* pada proses fermentasi BIS. Persentase penurunan NDF yang paling tinggi pada perlakuan R₂ didukung oleh penurunan selulosa dan hemiselulosa yang paling tinggi pada perlakuan R₂ dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Persentase penurunan selulosa dan hemiselulosa perlakuan R₂ selama proses fermentasi adalah 31,56% dan 57,69%.

Persentase penurunan NDF yang paling rendah selama proses fermentasi (dari W₀ sampai W₄) adalah perlakuan R₀. Persentase penurunan NDF perlakuan R₀ selama proses fermentasi adalah 7,39%. Hal ini didukung juga dengan persentase penurunan selulosa dan hemiselulosa pada perlakuan R₀ adalah yang terendah. Persentase penurunan selulosa dan hemiselulosa perlakuan R₀ berturut-turut yaitu: 8,10% dan 37,94%. Hal ini membuktikan bahwa penambahan onggok sebagai sumber energi bagi *Aspergillus niger* pada proses fermentasi BIS diperlukan untuk meningkatkan degradasi komponen SK BIS.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan ADF. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan antara R₀ dan W₂ mempengaruhi kandungan ADF tertinggi (47,26%), sedangkan kombinasi perlakuan R₁ dan W₃ memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan ADF (36,40%). Secara umum kandungan ADF mengalami penurunan dengan

bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkat dengan semakin lama waktu inkubasi. *Acid Detergent Fiber* pada perlakuan R_2W_3 yang menghasilkan kandungan gula reduksi dan mannososa tertinggi mengalami kenaikan sebesar 2,07% setelah dilakukan fermentasi. Di sisi lain kenaikan kandungan ADF ini diikuti oleh penurunan selulosa dan kenaikan lignin yang cukup tinggi yaitu 24,50% dan 50,34%. Hal ini mengindikasikan bahwa sebenarnya terjadi penurunan kandungan ADF substrat pada perlakuan R_2W_3 . Peningkatan kandungan ADF ini diduga disebabkan oleh adanya penambahan kitin, kitosan dan glukukan yang merupakan komponen penyusun dinding sel kapang *Aspergillus niger* (Husniati, 2016).

Berdasarkan Tabel 12 dapat dilihat juga bahwa kandungan ADF pada waktu inkubasi 0 jam (sebelum dilakukan proses fermentasi) cenderung mengalami penurunan setelah penambahan onggok. Hal ini terjadi karena kandungan ADF bungkil inti sawit lebih besar dibandingkan dengan onggok. Kandungan ADF bungkil inti sawit menurut Lawal *et al.* (2010), de Sausa Figueredo *et al.* (2014), Ramin *et al.* (2010), Puastuti dkk. (2014) masing-masing adalah 25,7%, 34,4%, 42% dan 50,91%, sedangkan ADF onggok menurut Babayemi *et al.* (2010) adalah 25%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan selulosa. Berdasarkan Tabel 12 dapat dilihat bahwa kombinasi perlakuan antara R_0 dan W_2 mempengaruhi kandungan selulosa tertinggi (32,45%), sedangkan kombinasi perlakuan R_3 dan W_3 memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan selulosa (17,29%). Secara umum kandungan selulosa menurun dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkatnya waktu inkubasi. Penurunan kandungan selulosa yang optimal dengan menghasilkan gula reduksi yang tertinggi adalah kombinasi perlakuan R_2W_3 . Persentase

penurunan selulosa perlakuan R_2W_3 setelah dilakukan fermentasi adalah 24,5%. Penurunan selulosa disebabkan oleh terjadinya degradasi selulosa menjadi oligosakarida dan glukosa.

Kandungan selulosa campuran BIS-ongkok sebelum proses fermentasi (W_0) menurun seiring dengan berkurangnya persentase jumlah penambahan bungkil inti sawit. Hal ini disebabkan oleh kandungan selulosa bungkil inti sawit lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan selulosa onggok. Oleh karena itu dengan pengurangan persentase jumlah bungkil inti sawit yang ditambahkan dalam substrat campuran BIS-ongkok akan berdampak pada penurunan kandungan selulosa substrat. Kandungan selulosa bungkil inti sawit adalah 16,6% (Lawal *et al.* 2010), 26,5% (de Sausa Figueredo *et al.*, 2014), 38,91% (Sundari and Rosningsih, 2014), sedangkan kandungan selulosa onggok adalah 8,1% (Djuma'ali, 2013) dan 14% (Babayemi *et al.*, 2010).

Persentase penurunan selulosa perlakuan R_0 , R_1 , R_2 dan R_3 selama proses fermentasi (dari W_0 sampai W_4), yaitu 8,10%, 28,42%, 31,56% dan 24,71%. Penurunan selulosa tertinggi pada perlakuan R_3 dan terendah pada perlakuan R_0 . Rendahnya persentase penurunan selulosa perlakuan R_0 menunjukkan rendahnya proses degradasi selulosa oleh enzim selulase. Hal ini membuktikan bahwa penambahan onggok diperlukan untuk mensuplai energi bagi *Aspergillus niger* agar tumbuh dan berkembang secara optimal, sehingga diproduksi enzim selulase secara maksimal yang pada akhirnya dapat meningkatkan degradasi selulosa menjadi oligosakarida dan glukosa.

Berdasarkan kandungan selulosa pada Tabel 12 terlihat bahwa fase lag dan fase akselerasi *Aspergillus niger* perlakuan R_0 lebih panjang dibandingkan perlakuan R_1 , R_2 dan R_3 . Fase lag perlakuan R_0 lebih panjang 24 jam dibandingkan dengan R_1 , R_2 dan R_3 . Hal ini terbukti dari kandungan selulosa R_0

masih meningkat sampai lama inkubasi 48 jam. Konsekuensi dari kondisi ini adalah degradasi selulosa pada perlakuan fermentasi 100% BIS (R_0) lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan fermentasi BIS dengan penambahan onggok. Oleh karena itu perlakuan penambahan onggok pada fermentasi BIS bermanfaat dalam meningkatkan sekaligus mempercepat proses degradasi selulosa BIS.

Kandungan selulosa perlakuan R_3W_4 mengalami sedikit peningkatan dibandingkan dengan R_3W_3 . Peningkatan selulosa ini diduga disebabkan adanya penambahan kitin dari dinding sel *Aspergillus niger*. Komponen dinding sel *Aspergillus niger* yang telah memasuki usia tua pada fase pertumbuhan deselerasi dan stasioner (pada waktu inkubasi 96 jam) yaitu kitin, dapat mendukung peningkatan kandungan selulosa pada substrat campuran BIS-onggok.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan hemiselulosa. Berdasarkan Tabel 12 dapat dilihat bahwa kombinasi perlakuan antara R_0 dan W_0 mempengaruhi kandungan hemiselulosa tertinggi (28,02%), sedangkan kombinasi perlakuan R_3 dan W_3 memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan hemiselulosa (8,96%). Kandungan hemiselulosa secara umum menurun dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkatnya waktu inkubasi. Penurunan kandungan hemiselulosa disebabkan oleh terjadinya degradasi hemiselulosa (mannan) menjadi mannan oligosakarida (MOS) dan mannososa. Penurunan kandungan hemiselulosa yang optimal dengan dihasilkan kandungan mannososa yang tinggi adalah kombinasi perlakuan R_2W_3 . Persentase penurunan hemiselulosa kombinasi perlakuan R_2W_3 setelah dilakukan fermentasi adalah 51,57%. Persentase penurunan hemiselulosa ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan persentase penurunan hemiselulosa

fermentasi 100% bungkil inti sawit oleh *Aspergillus niger* yaitu 16,31% (Muangkeow and Chinajariyawong, 2009).

Kandungan hemiselulosa campuran BIS-onggok sebelum dilakukan proses fermentasi (W_0) menurun seiring dengan penambahan persentase jumlah onggok pada substrat campuran BIS-onggok. Penurunan kandungan hemiselulosa ini disebabkan oleh kandungan hemiselulosa onggok lebih rendah dibandingkan dengan kandungan hemiselulosa bungkil inti sawit. Oleh karena itu semakin tinggi perlakuan penambahan persentase onggok pada substrat campuran BIS-onggok akan berdampak pada penurunan kandungan hemiselulosa dalam substrat. Kandungan hemiselulosa bungkil inti adalah 32,8% (de Sausa Figueredo *et al.*, 2014), sedangkan hemiselulosa onggok adalah 27% (Babayemi *et al.*, 2010). Alshelmani *et al.* (2014) menyatakan bahwa bungkil inti sawit mengandung polisakarida bukan pati (NSPs) yang terdiri dari hemiselulosa 78% mannan, 3% arabinoxylan, 3% glucuronoxylan dan 12% selulosa.

Persentase tingkat penurunan hemiselulosa berturut turut dari perlakuan R_0 , R_1 , R_2 dan R_3 dari lama inkubasi 0 jam sampai 96 jam adalah 37,94%, 47,54%, 57,69% dan 37,74%. Tingkat penurunan hemiselulosa berturut turut dari yang tertinggi ke yang terendah adalah perlakuan R_2 , R_1 , R_0 dan R_3 . Tingkat penurunan yang maksimal pada perlakuan R_2 menandakan bahwa rasio BIS-onggok pada perlakuan R_2 adalah rasio yang optimal dalam menurunkan hemiselulosa. Kondisi ini membuktikan bahwa onggok merupakan bahan sumber pati yang dapat digunakan sebagai suplai energi untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan kapang *Aspergillus niger*.

Kandungan hemiselulosa perlakuan R_3 mengalami peningkatan pada lama inkubasi 96 jam. Hal ini disebabkan oleh adanya penambahan komponen galaktomannan dari dinding sel *Aspergillus niger*. Kapang *Aspergillus niger* pada

perlakuan R₃ diduga mengalami pertumbuhan yang lebih awal dan lebih cepat karena mendapatkan perlakuan penambahan onggok sebagai sumber pati yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan R₀, R₁ dan R₂ pada substrat campuran BIS-onggok. Kondisi ini berdampak pada peningkatan dinding sel *Aspergillus niger*. Dinding sel kapang mengandung polimer mannose dan galaktose yang disebut dengan galaktomannan (Engel *et al.*, 2012).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan lignin. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan antara R₂ dan W₄ mempengaruhi kandungan lignin tertinggi (16,21%), sedangkan kombinasi perlakuan R₂ dan W₀ memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan lignin (10,25%). Kandungan lignin secara umum menurun dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi. Penurunan kandungan lignin ini disebabkan oleh terjadinya degradasi lignin oleh enzim ligninase menjadi komponen yang lebih sederhana seperti coumaryl alkohol, conyferil alkohol dan sinapyl alkohol. Sedangkan Peningkatan kandungan lignin seiring dengan peningkatan waktu inkubasi disebabkan oleh adanya akumulasi lignin sebagai akibat terputusnya ikatan lignoselulosa menjadi selulosa, hemiselulosa dan lignin. Peningkatan kandungan lignin pada kombinasi perlakuan R₂W₃ adalah optimal yang diikuti dengan peningkatan kandungan gula reduksi dan mannososa tertinggi.

Lignin yang terkandung dalam substrat campuran BIS-onggok pada perlakuan W₀ cenderung mengalami penurunan seiring dengan pengurangan persentase jumlah bungkil inti sawit dalam substrat. Penurunan kandungan lignin ini disebabkan oleh kandungan lignin bungkil inti sawit lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan lignin onggok, sehingga semakin tinggi pengurangan persentase jumlah bungkil inti sawit pada substrat campuran BIS-

onggok akan menurunkan kandungan lignin dalam substrat. Kandungan lignin bungkil inti sawit adalah 21,12% (Sundari and Rosningsih, 2014), 14,91% (Puastuti dkk., 2014), 18,31% (Pimentel *et al.*, 2015), 15,5% (Lawal *et al.*, 2010), 17,36 (Saenphoom *et al.*, 2011). Kandungan lignin onggok adalah 11% (Pothiraj *et al.*, 2015) dan 2,2% (Djuma'ali, 2013).

Persentase peningkatan lignin perlakuan R₀, R₁, R₂ dan R₃ selama proses fermentasi (dari W₀ sampai W₄) berturut-turut yaitu: 35,06%, 36,66%, 58,15% dan 29,34%. Persentase peningkatan lignin yang tertinggi adalah perlakuan R₂ dan terendah pada perlakuan R₃. Penyebab akumulasi lignin pada perlakuan R₃ terendah adalah karena kandungan lignin pada perlakuan R₃ sebelum dilakukan fermentasi paling rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Disisi lain enzim ligninase yang diproduksi *Aspergillus niger* cukup tinggi untuk mendegradasi lignin sebagai akibat pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal dengan penambahan suplai energi dari onggok. Akumulasi Lignin R₂ paling tinggi diakibatkan oleh tingginya degradasi lignoselulosa oleh enzim lignoselulase substrat campuran BIS-onggok pada perlakuan R₂ menjadi selulosa, hemiselulosa dan lignin. Hasil ini didukung juga oleh penurunan selulosa dan hemiselulosa perlakuan R₂ paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

5.1.1.3. Pengaruh Rasio BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi terhadap Kandungan Gula Reduksi dan Mannosa

Pengaruh perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan gula reduksi dan mannosida disajikan pada Tabel 13. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi keduanya berpengaruh ($P < 0,01$) terhadap kandungan gula reduksi dan mannosida. Kandungan gula reduksi dan mannosida produk fermentasi secara

umum meningkat dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan semakin lama waktu inkubasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal dapat terjadi karena mendapatkan suplai energi dari onggok, sehingga menghasilkan enzim yang maksimal, khususnya enzim pendegradasi serat kasar menjadi gula yang terukur dalam variabel gula reduksi dan mannosa.

Tabel 13. Rataan pengaruh perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan gula reduksi dan mannosa

| Perlakuan | Gula reduksi (%) | Mannosa (mg) |
|----------------|------------------------|----------------------------|
| Rasio | | |
| R ₀ | 2,80±1,74 ^D | 429,15±103,91 ^C |
| R ₁ | 3,86±1,89 ^C | 432,89±74,20 ^C |
| R ₂ | 5,05±3,19 ^B | 539,45±156,88 ^A |
| R ₃ | 5,74±2,77 ^A | 480,46±111,17 ^B |
| Waktu inkubasi | | |
| W ₀ | 1,88±0,14 ^E | 343,88±9,07 ^E |
| W ₁ | 2,71±1,10 ^D | 428,92±84,69 ^D |
| W ₂ | 4,07±2,26 ^C | 453,93±87,97 ^C |
| W ₃ | 6,97±3,18 ^A | 597,56±97,52 ^A |
| W ₄ | 6,18±0,84 ^B | 528,16±115,16 ^B |

Keterangan: R₀ = BIS 100% : Onggok 0%, R₁ = BIS 87,5% : Onggok 12,5%, R₂ = BIS 75% : Onggok 25%, R₃ = BIS 62,5% : Onggok 37,5%; W₀ = Waktu inkubasi 0 jam, W₁ = Waktu inkubasi 24 jam, W₂ = Waktu inkubasi 48 jam, W₃ = Waktu inkubasi 72 jam, W₄ = Waktu inkubasi 96 jam.

*Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

5.1.1.3.1 Pengaruh Rasio BIS-Onggok terhadap Kandungan Gula Reduksi dan Mannosa

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio BIS-onggok berpengaruh (P<0,01) terhadap kandungan gula reduksi dan mannosa. Kandungan gula reduksi perlakuan rasio BIS-onggok mengalami peningkatan seiring dengan kenaikan persentase jumlah penambahan onggok dalam substrat. Onggok merupakan bahan sumber pati yang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan kapang *Aspergillus niger*. Pertumbuhan dan perkembangan kapang yang optimal menghasilkan produksi enzim yang maksimal, khususnya enzim pendegradasi karbohidrat

komplek menjadi gula sederhana yang terukur dalam variabel gula reduksi. Hal ini di dukung oleh pernyataan Pangesti dkk. (2012) bahwa Penambahan bahan sumber karbon seperti molases pada media fermentasi dapat mempengaruhi pertumbuhan fungi, aktifitas enzim dan lamanya waktu inkubasi. Penambahan molases sebanyak 5% pada media fermentasi dapat meningkatkan berat kering sel miselia *Aspergillus niger* tertinggi yaitu 0,0104 g. Selanjutnya Mojsov (2010) melaporkan penambahan glukosa pada media fermentasi menghasilkan berat kering sel *Aspergillus niger* sebanyak 4,5 g/l paling tinggi dibandingkan dengan sumber karbon yang lain yaitu fruktosa, galaktosa, laktosa dan ampas apel. Fuadi dkk. (2015) melaporkan bahwa variasi perlakuan penambahan glukosa sebanyak 5 ml dan waktu inkubasi 11 hari menghasilkan aktifitas enzim selulase tertinggi yaitu 0,0797 unit/ml dan 0,0766 unit/ml.

Gula reduksi merupakan golongan gula (karbohidrat) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Ujung gula reduksi mengandung gugus aldehyd dan keton bebas. Golongan gula yang termasuk gula pereduksi adalah monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa, mannososa) dan disakarida, kecuali sukrosa dan pati (polisakarida). Hasil gula reduksi berhubungan dengan aktivitas enzim, semakin tinggi aktivitas enzim maka semakin tinggi pula gula reduksi yang dihasilkan (Lehninger, 1982).

Kandungan mannososa perlakuan rasio BIS-onggok cenderung mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya persentase penambahan onggok dalam substrat campuran BIS-onggok. Onggok merupakan bahan sumber pati yang bermanfaat sebagai suplai energi untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan kapang *Aspergillus niger*. Pembelahan dan perbanyakan sel miselia kapang dapat berlangsung lebih cepat dan lebat dengan ditambahkan onggok dalam substrat. Kondisi ini mengakibatkan terpacunya produksi dan aktifitas enzim pendegradasi karbohidrat terutama hemiselulosa (mannan)

menjadi optimal, sehingga mannan oligosakarida (MOS) ataupun gula mannanosa dapat dihasilkan secara maksimal. Hal ini didukung oleh Ab Rasyid *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa penambahan bahan sumber energi bermanfaat untuk memacu pertumbuhan kapang *Aspergillus niger*. Penambahan sumber carbon molases sebanyak 4% menghasilkan aktifitas enzim mannanase tertinggi (411,09 U/g substrat) dan diikuti dengan sumber karbon yang lain yaitu pati (394,16 U/g substrat), glukosa (389,14 U/g substrat), sukrosa (382,87 U/g substrat), maltosa (365,31 U/g substrat) dan laktosa (313,25 U/g substrat). Kandungan mannanosa perlakuan R₃ lebih rendah dibandingkan dengan R₂. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya kompetisi penggunaan nutrisi oleh kapang *Aspergillus niger* sebagai akibat adanya pertumbuhan dan perkembangan biomasa kapang yang cepat dan lebat karena mendapatkan suplai energi dari penambahan ongkok yang terbanyak di bandingkan perlakuan R₀, R₁, dan R₂.

Mannosa merupakan monosakarida penyusun mannan. Mannan merupakan komponen penyusun hemiselulosa yang dapat diklasifikasikan menjadi 4 macam, yaitu linier mannan, glukomanan, galaktomanan dan galaktoglukomanan (Sigres dan Sutrisno, 2015). Komponen hemiselulosa bungkil inti sawit sebagian besar terdiri dari linier mannan dan galaktomannan (Sinurat, 2012). Kandungan mannan bungkil inti sawit adalah 58% (Saenphoom *et al.*, 2011). Mannan bungkil inti sawit merupakan polisakarida dengan formasi linier berbentuk kristal dengan ikatan β -(1-4) yang sulit didegradasi (Jaelani dkk., 2008).

Mannan dapat dihidrolisis menjadi manno oligosakarida ataupun mannanosa yang berfungsi sebagai prebiotik oleh enzim endo β -mannanase (1,4- β -D-mannan mannanohydrolase [EC 3.2.1.78]) dan exo β -mannosidase (β -D-mannanopyranoside hydrolase [EC 3.2.1.25]). Hidrolisis mannan juga

memerlukan enzim glukosidase ataupun galaktosidase selain mannanase (Yopidkk., 2006). Enzim mannanase mampu menghidrolisis β -1.4-D-mannopirosil yang merupakan rantai utama polimer heteromannan, sehingga dihasilkan rantai yang lebih pendek berupa manooligosakarida. Senyawa manooligosakarida kemudian dihidrolisis oleh enzim β -mannosidase, α -glukosidase dan α -galaktosidase menghasilkan gula mannososa, glukosa dan galaktosa (Sigres dan Sutrisno, 2015).

5.1.1.3.2 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Kandungan Gula Reduksi dan Mannosa

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu inkubasi berpengaruh ($P < 0,01$) terhadap kandungan gula reduksi dan mannososa. Berdasarkan Tabel 13 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu inkubasi semakin meningkat pula kandungan gula reduksi dan mannososa yakni sampai W_3 atau selama masa inkubasi 72 jam dan setelah itu sedikit menurun pada W_4 .

Tabel 13 memperlihatkan bahawa kandungan gula reduksi substrat campuran BIS-onggok mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Peningkatan gula reduksi ini disebabkan oleh adanya akumulasi gula reduksi sebagai akibat adanya aktivitas enzim selulase dan enzim mannanase ataupun enzim lain yang memecah karbohidrat kompleks menjadi komponen gula sederhana yaitu disakarida ataupun monosakarida (glukosa dan mannososa). Tingkat kenaikan gula reduksi mulai dari perlakuan W_0 , W_1 , W_2 dan W_3 berturut-turut adalah 0%, 44,15%, 50,18% dan 71,25%, sedangkan dari perlakuan W_3 ke W_4 mengalami penurunan sebesar 11,33%. Berdasarkan tingkat kenaikan ataupun penurunan gula reduksi dapat digunakan untuk menggambarkan kurva pertumbuhan kapang *Aspergillus niger*. Waktu inkubasi setelah 0 jam sampai 24 jam merupakan fase adaptasi dan akselerasi, ditandai

dengan persentase kenaikan gula reduksi yang lebih rendah dibandingkan dengan waktu inkubasi 48 dan 72 jam. Fase logaritmik dicapai pada waktu inkubasi setelah 24 sampai 72 jam, ditandai dengan adanya peningkatan gula reduksi yang tajam yaitu antara 50,18 – 71,25%. Sedangkan fase deselerasi dan stasioner dicapai pada waktu inkubasi 72 jam sampai 96 jam yang ditandai dengan menurunnya gula reduksi sebanyak 11,33%. Hal ini di dukung oleh pernyataan Kusumaningati *et al.* (2017) bahwa Nutrisi dalam medium akan semakin berkurang seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Perbanyak jumlah sel mikroba yang semakin bertambah dapat mengakibatkan kompetisi penggunaan nutrisi dalam medium. Kondisi ini mengakibatkan kecepatan pertumbuhan mikroba menurun dan akhirnya berhenti kemudian memasuki fase kematian (*death phase*).

Tabel 13 memperlihatkan bahwa kandungan mannosida substrat campuran BIS-onggok mengalami peningkatan dari waktu setelah inkubasi 0 jam sampai 72 jam. Peningkatan kandungan mannosida ini disebabkan oleh akumulasi mannosida sebagai akibat terjadinya degradasi polisakarida mannan menjadi gula mannosida. Degradasi mannan terjadi sebagai akibat adanya aktifitas enzim mannanase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger*. Youssef *et al.* (2006) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* merupakan kapang yang mempunyai rekor menghasilkan aktifitas mannanase tertinggi dibandingkan 7 kapang lain (*Aspergillus ochraceous*, *Alternaria alternata*, *Penicillium sp*, *Neosartorya fischeri*, *Aspergillus versicolor*, *Stachybotrys chartarum* dan *Rhinoctadiella atrovirens*) yang berpotensi menghasilkan mannanase. Aktifitas enzim mannanase *Aspergillus niger* pada media statik dan bergerak masing-masing adalah 3,00 dan 2,69 U_{mL}⁻¹. Alsarrani (2011) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* sangat berpotensi menghasilkan aktifitas enzim ekstraseluler β-mannanase dan β-

Galaktosidase tertinggi (2,90 dan 0,95 U/ml) dibandingkan dengan *Aspergillus flavus* (2,54 dan 0,75 U/ml) dan *Aspergillus ochraceus* (2,16 dan 0,3 U/ml). Aktifitas enzim mannanase *Aspergillus niger* secara optimal dicapai pada suhu 30°C, waktu inkubasi 6 hari, pH 5 dan jumlah spora 3×10^6 .

Perlakuan waktu inkubasi menghasilkan tingkat peningkatan kandungan mannanosa substrat yang fluktuatif. Kandungan mannanosa mengalami peningkatan dari waktu setelah inkubasi 0 sampai 72 jam. Tingkat peningkatan kandungan mannanosa berturut-turut dari perlakuan W_0 , W_1 , W_2 dan W_3 adalah 0%, 24,73%, 5,83% dan 31,64%. Kandungan mannanosa mengalami penurunan sebesar 11,61% dari waktu inkubasi 72 jam ke 96 jam. Tingkat peningkatan kandungan mannanosa dari waktu inkubasi 0 jam sampai 96 jam yang fluktuatif dapat digunakan untuk menggambarkan kurva pertumbuhan kapang *Aspergillus niger*.

Fase pertumbuhan adaptasi dan akselerasi dicapai pada waktu inkubasi setelah 0 jam sampai 24 jam. Fase pertumbuhan ini ditandai dengan adanya kandungan mannanosa yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan waktu inkubasi dari 48 ke 72 jam. Fase pertumbuhan logaritmik dicapai pada waktu setelah inkubasi 24 sampai 72 jam. Pada waktu inkubasi 24 sampai 48 jam terjadi peningkatan kandungan mannanosa yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan waktu inkubasi dari 0 ke 24 jam maupun dari 48 ke 72 jam. Peningkatan kandungan mannanosa yang relatif rendah ini diduga disebabkan oleh penggunaan gula mannanosa yang tinggi oleh kapang *Aspergillus niger* sebagai energi untuk pertumbuhan dan perkembangan kapang. Pembelahan dan perbanyakan sel miselia kapang berlangsung pesat pada fase pertumbuhan logaritmik. Pada fase logaritmik di waktu inkubasi 24 sampai 48 jam diduga terjadi penggunaan gula mannanosa dalam jumlah yang tinggi, mengingat gula mannanosa sudah terproduksi sejak 24 jam pertama dari waktu inkubasi. Gula mannanosa lebih awal terproduksi dibandingkan dengan gula glukosa. Hal ini dibuktikan dengan adanya

penurunan hemiselulosa pada Tabel 11 yang terjadi lebih cepat sejak 24 jam pertama dari waktu inkubasi dibandingkan dengan penurunan selulosa yang baru terjadi sejak 48 jam dari waktu inkubasi. Degradasi hemiselulosa (mannan) menjadi mannan oligosakarida (MOS) ataupun mannosa mengakibatkan peningkatan kandungan gula reduksi sejak 24 jam waktu inkubasi.

Pertumbuhan biomasa kapang masih berlangsung dengan pesat pada waktu inkubasi 48 sampai 72 jam. Pertumbuhan biomasa kapang yang pesat mengakibatkan peningkatan produksi dan aktifitas enzim pendegradasi serat kasar yang tinggi. Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan tertinggi kandungan gula reduksi dan mannosa (Tabel 13). Kandungan mannosa dari waktu inkubasi 72 jam sampai 96 jam mengalami penurunan sebesar 11,61%. Penurunan kandungan mannosa ini diduga disebabkan oleh menurunnya produksi dan aktifitas enzim pendegradasi serat kasar sebagai akibat bertambahnya usia kapang.

5.1.1.3.2 Pengaruh Interaksi antara Rasio BIS-Onggok dan Waktu Inkubasi terhadap Kandungan Gula Reduksi dan Mannosa

Pengaruh interaksi antara perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan gula reduksi dan mannosa disajikan pada Tabel 14. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap gula reduksi dan mannosa. Berdasarkan Tabel 14 dapat dilihat bahwa kombinasi perlakuan antara R_2 dan W_3 mempengaruhi kandungan gula reduksi tertinggi (10,05%), sedangkan kombinasi perlakuan R_0 dan W_1 memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan gula reduksi (1,40%). Kandungan gula reduksi secara umum meningkat dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkatnya waktu inkubasi. Kandungan gula reduksi tertinggi dicapai kombinasi perlakuan R_2W_3

(10,05%), dengan persentase peningkatan setelah dilakukan fermentasi yaitu 477,59%.

Tabel 14. Rataan pengaruh interaksi antara perlakuan rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap gula reduksi dan mannosa

| Rasio | Waktu inkubasi | Gula reduksi (%) | Mannosa (mg) |
|----------------|----------------|-------------------------|---------------------------|
| R ₀ | W ₀ | 1,93±0,04 ^{kl} | 354,51±7,33 ^l |
| | W ₁ | 1,40±0,03 ⁿ | 309,66±6,61 ⁿ |
| | W ₂ | 1,68±0,02 ^m | 387,50±4,41 ^j |
| | W ₃ | 3,01±0,01 ^h | 527,21±1,92 ^e |
| | W ₄ | 5,99±0,15 ^e | 566,91±14,22 ^d |
| R ₁ | W ₀ | 1,78±0,02 ^{lm} | 343,88±3,59 ^{lm} |
| | W ₁ | 2,74±0,06 ⁱ | 424,41±9,42 ⁱ |
| | W ₂ | 2,94±0,02 ^{hi} | 368,45±2,50 ^k |
| | W ₃ | 5,02±0,07 ^f | 526,37±7,11 ^e |
| | W ₄ | 6,84±0,07 ^d | 501,33±5,15 ^f |
| R ₂ | W ₀ | 1,74±0,02 ^{lm} | 344,07±2,05 ^{lm} |
| | W ₁ | 2,37±0,10 ^j | 445,89±19,66 ^h |
| | W ₂ | 4,18±0,04 ^g | 479,53±4,04 ^g |
| | W ₃ | 10,05±0,08 ^a | 753,64±5,87 ^a |
| | W ₄ | 6,91±0,46 ^d | 674,13±5,55 ^b |
| R ₃ | W ₀ | 2,07±0,04 ^k | 333,04±6,02 ^m |
| | W ₁ | 4,32±0,04 ^g | 535,71±5,38 ^e |
| | W ₂ | 7,50±0,05 ^c | 580,26±4,05 ^{cd} |
| | W ₃ | 9,82±0,19 ^b | 583,00±18,25 ^c |
| | W ₄ | 5,00±0,18 ^f | 370,29±0,77 ^k |

Keterangan: R₀ = BIS 100% : Onggok 0%, R₁ = BIS 87,5% : Onggok 12,5%, R₂ = BIS 75% : Onggok 25%, R₃ = BIS 62,5% : Onggok 37,5%; W₀ = Waktu inkubasi 0 jam, W₁ = Waktu inkubasi 24 jam, W₂ = Waktu inkubasi 48 jam, W₃ = Waktu inkubasi 72 jam, W₄ = Waktu inkubasi 96 jam.
*Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Persentase peningkatan gula reduksi perlakuan R₀, R₁, R₂ dan R₃ selama proses fermentasi (dari W₀ sampai W₄) berturut-turut yaitu: 210,36%, 284,27%, 297,13%, dan 141,55%. Persentase peningkatan gula reduksi yang tertinggi adalah perlakuan R₂ dan yang terendah perlakuan R₃. Persentase peningkatan gula reduksi perlakuan R₂ yang tertinggi menunjukkan bahwa, penambahan onggok perlakuan R₂ pada fermentasi BIS adalah optimal dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger*, sehingga terproduksi enzim pendegradasi serat kasar yang maksimal. Sedangkan persentase peningkatan

gula reduksi terendah perlakuan R_3 diduga disebabkan oleh adanya penggunaan gula oleh kapang yang tumbuh dan berkembang dengan pesat dan lebat karena mendapatkan suplai onggok yang tertinggi.

Hasil analisis ragam juga menunjukkan bahwa terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi terhadap kandungan mannososa. Berdasarkan Tabel 14 dapat dilihat bahwa kombinasi perlakuan antara R_2 dan W_3 mempengaruhi kandungan mannososa tertinggi (753,64mg), sedangkan kombinasi perlakuan R_0 dan W_1 memberikan pengaruh terendah terhadap kandungan mannososa (309,66mg). Kandungan mannososa secara umum meningkat dengan bertambahnya proporsi onggok dalam substrat dan meningkatnya waktu inkubasi. Kandungan mannososa tertinggi setelah dilakukan fermentasi dicapai kombinasi perlakuan R_2W_3 (753,64 mg), dengan persentase peningkatan sebesar 119,04%.

Persentase peningkatan kandungan mannososa perlakuan R_0 , R_1 , R_2 dan R_3 berturut-turut yaitu: 59,91%, 45,79%, 95,93% dan 11,18%. Persentase peningkatan kandungan mannososa yang tertinggi adalah perlakuan R_2 dan terendah perlakuan R_3 . Persentase peningkatan kandungan mannososa perlakuan R_2 tertinggi yang diikuti juga dengan tertingginya kandungan gula reduksi menunjukkan bahwa penambahan onggok pada proses fermentasi BIS perlakuan R_2 adalah optimal. Hal ini di dukung dengan data penurunan kandungan hemiselulosa dan selulosa yang tertinggi pada perlakuan R_2 . Hal ini membuktikan bahwa penambahan onggok 25% pada fermentasi BIS 75% mengakibatkan degradasi selulosa dan hemiselulosa yang maksimal sehingga dihasilkan MOS yang terefleksi dari kandungan gula reduksi dan mannososa yang maksimal.

Penurunan kandungan mannososa perlakuan R_0 pada waktu inkubasi 24 jam (W_1) diduga disebabkan oleh adanya pemanfaatan gula mannososa sebagai energi

Aspergillus niger untuk adaptasi dengan medium tumbuhnya dan mengawali pembelahan sel, yang belum diimbangi dengan diproduksikannya enzim pendegradasi serat kasar substrat campuran BIS-onggok. Kondisi ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* perlakuan R₀ lebih lambat dibandingkan dengan R₁, R₂ dan R₃. Hal ini ditunjukkan dengan fase adaptasi dan akselerasi dari pertumbuhan *Aspergillus niger* yang lebih panjang sampai hampir 48 jam dibandingkan dengan perlakuan R₁, R₂ dan R₃ yang mempunyai fase adaptasi dan akselerasi hampir 24 jam. Fase adaptasi dan akselerasi yang lebih singkat perlakuan R₁, R₂ dan R₃ ditandai dengan lebih tingginya kandungan mannosa pada W₁ dibandingkan dengan W₀. Kondisi ini juga sejalan dengan kandungan gula reduksi. Hal ini membuktikan bahwa dengan penambahan onggok pada fermentasi BIS bermanfaat dalam mempersingkat waktu fermentasi BIS. Sedangkan penurunan kandungan mannosa perlakuan R₁, R₂ dan R₃ pada waktu inkubasi W₄ diduga disebabkan oleh pemanfaatan gula mannosa untuk energi hidupnya *Aspergillus niger* yang tidak diimbangi dengan tingginya degradasi serat kasar substrat campuran BIS-onggok. Pada waktu inkubasi 96 jam diduga merupakan fase deselerasi dan stasioner *Aspergillus niger* pada perlakuan R₁, R₂ dan R₃, sehingga pada fase ini kapang sudah memasuki usia tua dan tidak terlalu produktif lagi dalam menghasilkan enzim pendegradasi serat kasar.

Berdasarkan hasil dan pembahasan percobaan 1 yaitu uji rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi dalam menghasilkan MOS yang maksimal dapat disimpulkan bahwa: 1) Rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi mempengaruhi komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin), gula reduksi dan mannosa; 2) terdapat interaksi antara rasio BIS-onggok dan waktu inkubasi dalam mempengaruhi komponen serat (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin), gula reduksi dan mannosa; 3) Penambahan onggok pada fermentasi BIS

bermanfaat untuk mempersingkat waktu fermentasi dan memaksimalkan produksi MOS; 4) Perlakuan R₂W₃ merupakan kombinasi perlakuan yang terbaik (optimal) dalam menghasilkan MOS yang maksimal yang terefleksi dari kandungan gula reduksi (10,05%) dan mannosa (753,60mg).

Kombinasi perlakuan terbaik (optimal) campuran BIS 75%:onggok 25% dan waktu inkubasi 72 jam dari percobaan 1 akan diekstraksi untuk menghasilkan MOS. MOS hasil ekstraksi selanjutnya diuji keampuannya dalam menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen *secara in vitro* dengan berbagai macam perlakuan level dosis penggunaan MOS pada percobaan 2.

5.1.2. Percobaan II: Uji Dosis Penggunaan MOS Hasil Ekstraksi Produk Fermentasi yang Optimal untuk Menurunkan Bakteri Patogen dan Meningkatkan Bakteri Non Patogen secara *In Vitro*

5.1.2.1. Uji Aglutinasi

Hasil uji aglutinasi penggunaan MOS hasil ekstraksi dengan dosis 0 ppm sampai 4000 ppm dan penggunaan MOS komersial terhadap bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp.) dan bakteri non pathogen (*Lactobacillus* sp.) disajikan pada Tabel 15.

Table 15. Hasil uji aglutinasi MOS terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Lactobacillus* sp.

| Dosis/MOS | Bakteri | | |
|--|-------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Salmonella</i> sp. | <i>Lactobacillus</i> sp. |
| D ₀ (Tanpa MOS / 0 ppm) | -* | - | - |
| D ₁ (Penambahan MOS ekstraksi 1000 ppm) | +** | + | - |
| D ₂ (Penambahan MOS ekstraksi 2000 ppm) | + | + | - |
| D ₃ (Penambahan MOS ekstraksi 3000 ppm) | + | + | - |
| D ₄ (Penambahan MOS ekstraksi 4000 ppm) | ++*** | + | - |
| D ₅ (Penambahan MOS komersial) | ++ | + | - |

*(-) Tidak ada partikel MOS yang menggumpal bersama bakteri, **(+)

Partikel-partikel MOS menggumpal bersama bakteri, ***(+)

Partikel-partikel MOS menggumpal bersama bakteri lebih banyak dibandingkan **(+)

Uji aglutinasi menunjukkan bahwa baik penambahan MOS hasil ekstraksi

maupun MOS komersial menunjukkan hasil yang positif terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp., tetapi negatif terhadap *Lactobacillus* sp. Hasil yang positif menunjukkan bahwa MOS dapat menggumpal dengan bakteri (terbentuk *clumping*). *Clumping* terbentuk karena terjadinya perlekatan antara mannanosa dengan reseptor bakteri. Fimbriae type-1 bakteri adalah reseptor yang mengandung lektin yang sensitif terhadap mannanosa (Spring *et al.*, 2000). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Spring *et al.* (2000) yang melaporkan bahwa uji aglutinasi penggunaan MOS hasil ekastraksi dari *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan hasil yang positif terhadap beberapa strain *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Peneliti lainnya melaporkan juga bahwa uji aglutinasi penggunaan MOS hasil ekstraksi dari BIS terhadap *Salmonella* sp. menunjukkan hasil yang positif (Tafsin, 2007).

5.1.2.2. Uji Resistensi

Hasil uji resistensi penggunaan MOS hasil ekstraksi dan MOS komersial terhadap bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp.) dan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.) disajikan pada Tabel 16.

Table 16. Hasil uji resistensi MOS terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Lactobacillus* sp.

| Dosis/MOS | Bakteri | | |
|--|-------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Salmonella</i> sp. | <i>Lactobacillus</i> sp. |
| D ₀ (Tanpa MOS / 0 ppm) | + | + | + |
| D ₁ (Penambahan MOS ekstraksi 1000 ppm) | + | + | + |
| D ₂ (Penambahan MOS ekstraksi 2000 ppm) | + | + | + |
| D ₃ (Penambahan MOS ekstraksi 3000 ppm) | + | + | + |
| D ₄ (Penambahan MOS ekstraksi 4000 ppm) | + | + | + |
| D ₅ (Penambahan MOS komersial) | + | + | + |

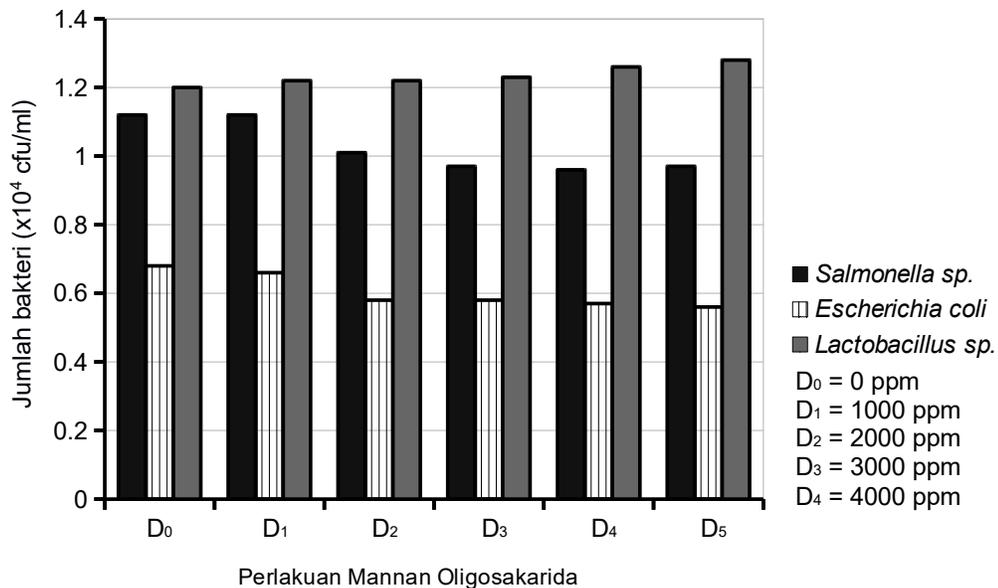
*(+) Tidak terbentuk zona bening

Uji resistensi penggunaan MOS hasil ekstraksi maupun MOS komersial terhadap ketiga bakteri menunjukkan hasil yang positif. Hal ini terlihat dengan

tidak terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram yang diberi MOS dengan dosis 0 ppm sampai 4000 ppm. Uji resistensi yang positif mengindikasikan bahwa penggunaan MOS hasil ekstraksi sampai pada dosis 4000 ppm tidak bersifat bakterisidal atau membunuh bakteri. Hasil penelitian ini sejalan dengan Tafsir (2007) dan Syahrudin dkk. (2008) bahwa uji resistensi dari MOS hasil ekstraksi bungkil inti sawit secara kimia dan fisik terhadap *Salmonella* sp. menunjukkan hasil yang positif.

5.1.2.3. Uji Hambat Pada Media Cair

Hasil uji hambat pada media cair penggunaan MOS hasil ekstraksi dengan dosis 0 ppm sampai 4000 ppm dan MOS komersial terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Lactobacillus* sp. dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil uji hambat pada media cair penggunaan MOS hasil ekstraksi (D₀-D₄) dan MOS komersial (D₅) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Lactobacillus* sp.

Escherichia coli dan *Salmonella* sp. cenderung menurun seiring dengan meningkatnya dosis MOS ekstraksi. Jumlah *Escherichia coli* lebih rendah daripada *Salmonella* sp. Penurunan *Escherichia coli* pada D₄ adalah 16,18% (dari 0,68x10⁴ menjadi 0,57x10⁴ cfu/ml) dibandingkan dengan D₀. Selanjutnya penurunan *Salmonella* sp. pada D₄ adalah 14,29% (dari 1,12x10⁴ menjadi 0,96x10⁴ cfu/ml) dibandingkan dengan D₀. Sementara itu, penurunan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Pada D₅ adalah 17,65% (dari 0,68x10⁴ menjadi 0,56x10⁴ cfu/ml) dan 13,39% (dari 1,12x10⁴ menjadi 0,97x10⁴ cfu/ml) dibandingkan dengan D₀. Penurunan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. diduga diakibatkan terjadinya efek *clumping* bakteri, sehingga pada saat dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri pada media agar terhitung menjadi lebih sedikit.

Hasil uji hambat pada media cair penggunaan MOS hasil ekstraksi terhadap *Lactobacillus* sp. mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya dosis penggunaan MOS. Jumlah *Lactobacillus* sp. juga meningkat dengan penambahan MOS komersial. Peningkatan jumlah koloni *Lactobacillus* sp. pada perlakuan D₄ dan D₅ masing-masing adalah 5% (dari 1,20x10⁴ menjadi 1,26x10⁴ cfu/ml) dan 6,7% (dari 1,20x10⁴ menjadi 1,28x10⁴ cfu/ml) dibandingkan dengan D₀. Peningkatan jumlah *Lactobacillus* sp. mengindikasikan bahwa MOS ekstraksi dapat berfungsi sebagai prebiotik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Chen *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa oligosakarida yang diekstrak dari BIS dapat mendorong pertumbuhan strain *Lactobacillus* sp. dan berpotensi sebagai sumber prebiotik.

Berdasarkan hasil dan pembahasan percobaan 2, yaitu Uji dosis penggunaan MOS hasil ekstraksi produk fermentasi untuk menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen dapat disimpulkan bahwa: 1) uji aglutinasi perlakuan dosis (1000–4000 ppm) penggunaan MOS ekstraksi produk fermentasi campuran BIS-onggok adalah positif terhadap bakteri patogen

(*Echerichia coli* dan *Salmonella* sp.) dan negatif pada dosis 0 ppm serta terhadap bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.); 2) intensitas aglutinasi (*clumping*) yang tertinggi ditunjukkan pada dosis 4000 ppm yang setara dengan penggunaan MOS komersial; 3) uji resistensi semua perlakuan dosis (0-4000 ppm) penggunaan MOS ekstraksi terhadap semua bakteri menunjukkan hasil yang positif dengan ditandai tidak terbentunya zona bening; 4) uji hambat pada media cair perlakuan dosis (1000-4000 ppm) penggunaan MOS ekstraksi ataupun MOS komersial dapat menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen, dengan tingkat penurunan bakteri patogen dan peningkatan bakteri non patogen tertinggi pada dosis 4000 ppm.

Hasil ekstraksi MOS dari produk fermentasi campuran BIS-onggok dosis 4000 ppm pada percobaan 2, selanjutnya di aplikasikan penggunaannya sebagai feed additive (prebiotik) dalam pakan dan dievaluasi pengaruhnya terhadap penampilan produksi ayam pedaging pada penelitian tahap II (penelitian lapang).

5.2. Penelitian Tahap II: Uji Penggunaan MOS Hasil Ekstraksi sebagai *Feed Additive* (Prebiotik) dalam Pakan terhadap Penampilan Produksi Ayam Pedaging.

5.2.1. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Konsumsi Pakan, PBB, FCR, dan IOFCC Ayam Pedaging

Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap penampilan produksi (konsumsi pakan, PBB, FCR, dan IOFCC) ayam pedaging disajikan pada Tabel 17. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,01$) konsumsi pakan ayam pedaging, tetapi periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi ($P > 0,05$) konsumsi pakan ayam. Berdasarkan Tabel 17 dapat

dilihat bahwa ayam yang diberi pakan kontrol memberikan pengaruh pada konsumsi pakan yang tertinggi (2367,01 g) dan berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (2298,93 g) maupun dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial (2249,35 g).

Tabel 17. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap konsumsi pakan, PBB, FCR dan IOFCC ayam pedaging

| MOS | Periode | Konsumsi pakan (g) | PBB (g/ekor) | FCR | IOFCC (Rp) |
|-----------------------|----------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------------|
| M ₀ | P ₁ | 2317,43±71,95 | 1171,32±21,91 | 1,98±0,08 | 6317,25± 688,67 |
| | P ₂ | 2357,22±55,44 | 1244,89±32,88 | 1,89±0,06 | 7565,51± 676,38 |
| | P ₃ | 2426,37±89,05 | 1181,22±43,59 | 2,06±0,12 | 5920,30±1111,49 |
| Rataan M ₀ | | 2367,01±81,38 ^{A*} | 1199,14±45,86 ^B | 1,98±0,11 ^A | 6601,02±1061,65 ^A |
| M ₁ | P ₁ | 2287,09±28,80 | 1270,50±73,13 | 1,81±0,11 | 7394,86±1524,38 |
| | P ₂ | 2262,57±34,48 | 1306,63±25,07 | 1,73±0,04 | 6942,17± 510,86 |
| | P ₃ | 2347,13±105,20 | 1259,78±49,11 | 1,86±0,09 | 6528,60± 990,43 |
| Rataan M ₁ | | 2298,93±70,32 ^B | 1278,97±52,21 ^A | 1,80±0,10 ^B | 6955,21±1053,08 ^A |
| M ₂ | P ₁ | 2221,98±31,72 | 1268,62±53,13 | 1,75±0,09 | 6044,48±1246,59 |
| | P ₂ | 2282,75±12,90 | 1328,34±111,48 | 1,73±0,16 | 3337,12±2310,36 |
| | P ₃ | 2243,32±33,13 | 1280,59±67,72 | 1,76±0,10 | 5476,05±1405,79 |
| Rataan M ₂ | | 2249,35±36,20 ^C | 1292,52±78,33 ^A | 1,75±0,11 ^B | 4952,55±1975,03 ^B |

Keterangan: M₀ = Pakan kontrol, M₁ = Pakan yang diberi MOS hasil ekstraksi, M₂ = Pakan yang diberi MOS komersial; P₁ = Pemberian MOS saat fase *starter*, P₂ = Pemberian MOS dari fase *starter* sampai *finisher*, P₃ = Pemberian MOS mulai dari fase *finisher*.

*Superskrip huruf kapital yang berbeda pada kolom yang sama pada perlakuan penggunaan jenis MOS menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Sedangkan konsumsi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan konsumsi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi. Konsumsi ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Sohail *et al.* (2013) dan Abudabos and Yehia (2013) yang melaporkan bahwa pemberian MOS dalam pakan dapat menekan konsumsi pakan ayam dengan PBB yang lebih tinggi dari kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ayam mengkonsumsi pakan lebih rendah, tetapi dengan pencernaan pakan dan penyerapan nutrisi pakan yang lebih efektif dan

efisien, dapat menghasilkan PBB yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal ini didukung dengan jumlah bakteri *Lactobacillus* sp. pada ayam yang mendapatkan perlakuan pakan yang diberi MOS lebih tinggi dibandingkan dengan pakan kontrol (Tabel 20). *Lactobacillus* sp. adalah bakteri menguntungkan yang bermanfaat membantu menghasilkan enzim pencernaan (Susilawati dkk., 2015, Suciati dkk., 2016, Melliawati dkk., 2015), sehingga meningkatkan pencernaan pakan di saluran pencernaan ayam pedaging. Selain itu, viskositas digesta usus ayam yang mendapatkan perlakuan pemberian MOS yang lebih rendah (Tabel 20) dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol mempermudah penyerapan nutrisi pakan. Demikian juga tingginya luas vili dan permukaan mukosa usus ayam yang diberi MOS pada penelitian ini (Tabel 21) menyebabkan meningkatnya penyerapan nutrisi pakan dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Namun demikian beberapa peneliti berbeda dengan hasil penelitian ini dimana konsumsi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Bozkurt *et al.*, 2008; Bozkurt *et al.*, 2009). Selain itu, Benites *et al.* (2008) menyatakan bahwa konsumsi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dibandingkan dari kontrol meskipun secara statistik tidak berbeda. Konsumsi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS pada umur yang sama (35 hari) pada penelitian ini lebih rendah (2274,14 g) dibandingkan dengan penelitian Benites *et al.* (2008) yaitu 3355,05 g (Bio-MOS) dan 3252,00 g (SAF-Mannan). Rendahnya konsumsi pakan ini diduga disebabkan oleh perbedaan strain yang digunakan dalam penelitian. Pada penelitian Benites *et al.* (2008) menggunakan strain Hubbard, sedangkan pada penelitian ini menggunakan strain Lohmann.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,01$) PBB ayam pedaging, sedangkan periode saat

pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi ($P>0,05$) PBB ayam. Berdasarkan Tabel 17 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial memberikan pengaruh yang tertinggi pada PBB (1292,52 g) meskipun pengaruhnya tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (1278,97 g). Selanjutnya PBB ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial maupun MOS hasil ekstraksi keduanya berbeda ($P<0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol (1199,14 g). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ayam yang diberi MOS tumbuh dan berkembang lebih cepat dibandingkan dengan kontrol. PBB ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol diduga disebabkan oleh manfaat MOS dalam memacu aktifitas enzim pada mukosa usus yang berdampak pada penurunan viskositas usus sehingga mengakibatkan penyerapan nutrisi lebih efektif dan efisien (Barros *et al.*, 2015). Disamping itu Waldroup *et al.* (2003) dan Benites *et al.* (2008) menyatakan bahwa tingginya PBB ayam yang diberi pakan mengandung MOS disebabkan oleh pengaruh positif dari MOS dalam mengurangi kolonisasi bakteri patogen dan memperbaiki integritas usus halus seperti meningkatkan tinggi vili. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Abudabos and Yehia (2013), Barros *et al.* (2015), Bozkurt *et al.* (2008) dan Benites *et al.* (2008) yang melaporkan bahwa ayam yang diberi MOS menghasilkan PBB lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Pertambahan bobot badan ayam pada perlakuan periode saat pemberian MOS mulai fase *starter* sampai *finisher* pada penggunaan jenis MOS (baik MOS ekstraksi maupun MOS komersial) cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian MOS pada fase *starter* maupun *finisher* saja. Hal ini disebabkan ayam yang diberi MOS mulai dari fase *starter* sampai fase *finisher* mampu menjaga keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam sehingga berdampak

pada peningkatan proses pencernaan pakan dan penyerapan nutrisi pakan. Keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan pada penelitian ini dibuktikan dengan jumlah *Lactobacillus* sp. pada digesta usus ayam pada perlakuan ayam yang diberi MOS dari *starter* sampai *finisher* pada penggunaan jenis MOS baik MOS ekstraksi ataupun MOS komersial lebih tinggi dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS hanya pada saat fase *starter* ataupun *finisher* saja (Tabel 20). Demikian pula jumlah *Escherichia coli* pada digesta usus ayam pada perlakuan ayam yang diberi MOS dari *starter* sampai *finisher* pada penggunaan jenis MOS baik MOS ekstraksi ataupun MOS komersial lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS hanya pada saat fase *starter* ataupun *finisher* saja (Tabel 20). Abudabos and Yehia (2013) menyatakan bahwa bakteri yang merugikan dapat merusak mukosa usus halus sehingga mengurangi pencernaan pakan, penyerapan nutrisi dan pada akhirnya mengurangi PBB ayam. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Benites *et al.* (2008) bahwa pemberian dua macam MOS secara kontinyu menghasilkan PBB yang lebih tinggi (2497,3 g pada Bio-Mos dan 2429,9 g pada SAF-Mannan) daripada saat *starter* saja (2495,4 g pada Bio-Mos dan 2405,6 g pada SAF-Mannan).

Pertambahan bobot badan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (1278,97 g) maupun MOS komersial (1292,52 g) pada penelitian ini berturut-turut dihasilkan dari bobot badan (1315,73 g) dan (1329,74 g). Bobot badan pada umur yang sama pada penelitian ini lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Benites *et al.* (2008) yaitu 1921,05 g (pada ayam yang diberi pakan mengandung Bio-Mos) dan 1860,25 g (pada ayam yang diberi pakan mengandung SAF-Mannan). Bobot badan ayam yang lebih rendah pada penelitian ini disebabkan oleh lebih rendahnya konsumsi pakan sehingga menghasilkan bobot badan yang lebih rendah. Hasil penelitian ini serupa dengan

hasil penelitian Rokade *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa penambahan bobot badan per hari ayam yang diberi pakan mengandung MOS adalah 38,34 g, sedangkan pada penelitian ini adalah 37,79 g.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,01$) konversi pakan ayam pedaging, sedangkan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi ($P > 0,05$) konversi pakan ayam. Berdasarkan Tabel 17 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial memberikan pengaruh pada konversi pakan yang terendah atau yang terbaik (1,75), walaupun pengaruhnya tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (1,80). Selanjutnya konversi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial dan MOS hasil ekstraksi berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol (1,98). Rata-rata konversi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS (1,77) hasil penelitian ini mendekati hasil penelitian Benites *et al.* (2008) yaitu 1,74 pada ayam yang diberi pakan mengandung Bio-MOS dan 1,77 pada ayam yang diberi pakan mengandung SAF-Mannan.

Konversi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik MOS komersial maupun MOS hasil ekstraksi adalah lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan oleh pengaruh MOS dalam memperbaiki pencernaan pakan dan penyerapan nutrisi dalam saluran pencernaan. Kondisi ini mengakibatkan konsumsi pakan dapat tertekan sehingga menghasilkan konversi pakan yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Abudabos and Yehia (2013) dan Sohail *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa ayam yang diberi MOS menghasilkan konversi pakan lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Peneliti yang lain (Bozkurt *et al.*, 2008) melaporkan bahwa konversi pakan antara ayam yang diberi pakan kontrol dan

ayam yang diberi pakan mengandung MOS tidak berbeda secara statistik, walaupun konversi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih baik.

Konversi pakan pada perlakuan periode saat pemberian MOS pada fase *starter* sampai *finisher* baik pada penggunaan MOS hasil ekstraksi maupun MOS komersial cenderung lebih rendah (baik) dibandingkan dengan fase *starter* ataupun *finisher* saja. Hal ini disebabkan oleh pemberian MOS yang kontinyu dari *starter* sampai *finisher* dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan yang mengakibatkan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi pakan meningkat yang pada akhirnya meningkatkan konversi pakan menjadi otot (bobot badan).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,05$) IOFCC (*Income Over Feed and Chick Cost*) ayam pedaging, tetapi periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi IOFCC ayam ($P < 0,05$). Nilai IOFCC pada penelitian ini berasal dari hasil pendapatan yang diperoleh dari penjualan ayam dikurangi dengan biaya yang dikeluarkan untuk pakan dan pembelian DOC (*Day Old Chick*). Harga DOC untuk semua perlakuan adalah sama yaitu Rp 5000 per ekor. Oleh karena itu, perbedaan nilai IOFCC diantara perlakuan sebenarnya hanya disebabkan oleh biaya pengeluaran pakan pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan Tabel 17 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi memberikan pengaruh pada IOFCC yang tertinggi (Rp 6955,21) meskipun pengaruhnya tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol (Rp 6601,02). Sedangkan IOFCC ayam yang di beri pakan mengandung MOS hasil ekstraksi dan kontrol berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial (Rp 4952,55). IOFCC ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan oleh pemberian MOS hasil ekstraksi

menghasilkan pengaruh positif dalam meningkatkan PPB ayam lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol, sehingga berdampak pada peningkatan nilai IOFCC. IOFCC ayam yang diberi perlakuan MOS komersial lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS hasil ekstraksi. Hal ini disebabkan oleh harga MOS komersial lebih tinggi dibandingkan dengan harga MOS hasil ekstraksi, sehingga peningkatan PBB ayam yang diberi MOS komersial yang tidak berbeda dengan ayam yang diberi perlakuan MOS hasil ekstraksi menghasilkan keuntungan yang belum bisa mengimbangi tingginya harga MOS komersial. Oleh karena itu, secara kumulatif ayam yang diberi MOS hasil ekstraksi memberikan keuntungan yang tertinggi. Barros *et al.* (2015) melaporkan bahwa IOFC (*Income Over Feed Cost*) ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dari ayam yang diberi pakan kontrol.

IOFCC ayam pada perlakuan periode saat pemberian MOS fase *starter* pada penggunaan jenis MOS baik MOS ekstraksi ataupun MOS komersial cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan fase *starter* sampai *finisher* ataupun *finisher* saja. Hal ini disebabkan oleh tambahan biaya pengeluaran untuk pemberian MOS pada ayam yang diberi MOS hanya pada saat periode *starter* lebih sedikit dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS mulai dari periode *starter* sampai *finisher* ataupun periode *finisher* saja. Biaya pengeluaran yang lebih sedikit ini disebabkan oleh jumlah pemberian MOS lebih sedikit pada saat *starter* bila dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* ataupun pada saat *finisher*, mengingat pemberian MOS dihitung berdasarkan kebutuhan pakan. Selain itu, hal ini didukung juga dengan hasil bobot badan ayam yang tidak berbeda secara statistik dari ketiga perlakuan periode saat pemberian MOS baik pada penggunaan MOS ekstraksi ataupun MOS komersial.

5.2.2. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Persentase Karkas, Persentase Lemak Abdominal dan Mortalitas ayam pedaging

Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap persentase karkas, persentase lemak abdominal dan mortalitas ayam pedaging disajikan pada Tabel 18.

Tabel 18. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap persentase karkas, persentase lemak abdominal dan mortalitas ayam pedaging

| MOS | Periode | Persentase karkas (%) | Persentase lemak abdominal (%) | Mortalitas** |
|-----------------------|----------------|--------------------------|--------------------------------|--------------|
| M ₀ | P ₁ | 67,99±3,86 | 1,45±0,21 | 0,77±0,08 |
| | P ₂ | 68,14±2,24 | 1,56±0,29 | 0,73±0,04 |
| | P ₃ | 64,88±3,77 | 1,20±0,34 | 0,83±0,04 |
| Rataan M ₀ | | 67,00±3,43 ^{B*} | 1,41±0,30 ^A | 0,77±0,07 |
| M ₁ | P ₁ | 68,63±0,48 | 1,23±0,23 | 0,75±0,05 |
| | P ₂ | 72,45±2,90 | 1,01±0,16 | 0,75±0,05 |
| | P ₃ | 70,80±2,82 | 1,22±0,14 | 0,77±0,08 |
| Rataan M ₁ | | 70,62±2,68 ^A | 1,15±0,20 ^B | 0,76±0,05 |
| M ₂ | P ₁ | 71,40±4,12 | 1,22±0,25 | 0,73±0,04 |
| | P ₂ | 73,19±1,87 | 0,90±0,14 | 0,73±0,04 |
| | P ₃ | 71,19±1,88 | 1,20±0,33 | 0,73±0,04 |
| Rataan M ₂ | | 71,93±2,73 ^A | 1,10±0,28 ^B | 0,73±0,04 |

Keterangan: M₀ = Pakan kontrol, M₁ = Pakan yang diberi MOS hasil ekstraksi, M₂ = Pakan yang diberi MOS komersial; P₁ = Pemberian MOS saat fase *starter*, P₂ = Pemberian MOS dari fase *starter* sampai *finisher*, P₃ = Pemberian MOS mulai dari fase *finisher*.

*Superskrip huruf kapital yang berbeda pada kolom yang sama pada perlakuan penggunaan jenis MOS menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

**Hasil transformasi data ke akar (mortalitas + 0.5).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi (P<0,01) persentase karkas ayam pedaging, sedangkan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi (P>0,05) persentase karkas ayam. Berdasarkan Tabel 18 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial memberikan pengaruh

pada persentase karkas ayam yang tertinggi (71,93%) meskipun pengaruhnya tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (70,62%). Selanjutnya persentase karkas ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial dan MOS hasil ekstraksi keduanya berbeda ($P<0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol (67,00%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase karkas ayam yang diberi MOS lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan oleh pengaruh MOS dalam meningkatkan efisiensi pencernaan dan penyerapan nutrisi pakan didalam saluran pencernaan untuk pertumbuhan dan perkembangan sehingga menghasilkan karkas yang lebih tinggi. Barros *et al.* (2015) menyatakan bahwa MOS memberikan efek positif bagi mukosa usus dengan cara mengurangi kolonisasi bakteri patogen pada dinding saluran pencernaan sehingga membawa pengaruh pada peningkatan performan dan karkas. Bozkurt *et al.* (2008) dan Abudabos and Yehia (2013) melaporkan bahwa persentase karkas ayam yang diberi MOS lebih tinggi dibandingkan dengan karkas ayam yang diberi pakan kontrol walaupun secara statistik tidak berbeda.

Persentase karkas ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS baik MOS ekstraksi ataupun MOS komersial cenderung tertinggi (72,45% pada M_1 dan 73,19% pada M_2) dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS saat *starter* (68,63% pada M_1 dan 71,40% pada M_2) ataupun dengan ayam yang diberi MOS saat *finisher* (70,80% pada M_1 dan 71,19% pada M_2) meskipun secara statistik tidak berbeda. Pemberian MOS yang dimulai dari periode *starter* sampai *finisher* mampu memberikan pengaruh dalam menjaga keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam. Kondisi ini mengakibatkan peningkatan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi yang maksimal. Penyerapan nutrisi yang efektif dan maksimal mengakibatkan peningkatan pertumbuhan dan perkembangan ayam yang lebih cepat dan

menghasilkan persentase karkas yang lebih tinggi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,05$) persentase lemak abdominal ayam pedaging, sedangkan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi ($P > 0,05$) persentase lemak abdominal ayam. Berdasarkan Tabel 18 dapat dilihat bahwa persentase lemak abdominal ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial (1,10%) tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan persentase lemak abdominal ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (1,15%), akan tetapi persentase lemak abdominal kedua perlakuan tersebut lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan persentase lemak abdominal ayam yang diberi pakan kontrol (1,41%). Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Bozkurt *et al.* (2008 dan 2009) dan Abudabos and Yehia (2013) yang melaporkan bahwa persentase lemak abdominal antara ayam yang diberi MOS dan kontrol tidak berbeda ($P > 0,05$). Barros *et al.* (2015) melaporkan sebaliknya bahwa persentase lemak abdominal ayam yang mengandung MOS lebih tinggi daripada persentase lemak abdominal ayam yang diberi pakan kontrol. Sementara itu, ayam pada perlakuan periode saat pemberian MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS baik MOS ekstraksi ataupun MOS komersial cenderung memberikan pengaruh terhadap persentase lemak abdominal ayam yang terendah (1,01% pada M_1 dan 0,90% pada M_2) meskipun secara statistik tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan ayam yang diberi MOS saat *starter* (1,23% pada M_1 dan 1,22% pada M_2) maupun dengan ayam yang diberi MOS saat *finisher* (1,22% pada M_1 dan 1,20% pada M_2).

Persentase lemak abdominal ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial dan MOS hasil ekstraksi lebih rendah dibandingkan dengan persentase lemak abdominal ayam yang diberi pakan kontrol. Hal ini disebabkan oleh MOS dalam saluran pencernaan berfungsi menekan kolonisasi bakteri

patogen dan meningkatkan bakteri non patogen. Bakteri non patogen ini seperti *Lactobacillus* sp. diduga menurunkan aktivitas acetyl-CoA carboxylase, yang membatasi laju enzim dalam sintesis asam lemak meskipun mekanismenya belum jelas (Toghyani and Tabeidian, 2011; Sarwono dkk., 2012). Sarwono dkk. (2012) melaporkan bahwa suplementasi probiotik dalam pakan ayam kampung dapat menurunkan level triglycerida dalam darah dan selanjutnya dapat menurunkan persentase lemak abdominal. Hal ini bisa dilihat dari tingginya PBB meskipun konsumsi pakan ayam yang diberi MOS lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (Tabel 17), sedangkan ayam yang diberi pakan kontrol dengan mengkonsumsi pakan lebih banyak tapi dikonversi menjadi lemak lebih banyak dibandingkan ayam yang diberi MOS. Keadaan ini juga bisa dilihat pada ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* baik pada penggunaan MOS ekstraksi ataupun MOS komersial yang cenderung menghasilkan persentase lemak abdominal paling rendah meskipun secara statistik tidak berbeda dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS pada periode saat *starter* maupun saat *finisher* saja.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS dan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi ($P > 0,05$) mortalitas ayam pedaging (Tabel 18). Mortalitas ayam pada penelitian ini secara keseluruhan adalah 20 dari 288 ekor atau sebanyak 6,94% dengan rincian 10,42% untuk ayam yang diberi pakan kontrol, 7,29% untuk ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi, dan 3,13% untuk ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial (Tabel 19). Mortalitas pada penelitian ini (6,94%) melebihi batas ambang normal persentase kematian pemeliharaan ayam pedaging yaitu 5% (Risa dkk., 2014).

Pemberian MOS dalam pakan mampu menekan mortalitas pada penelitian ini. Mortalitas ayam pada penelitian ini, terutama pada ayam yang diberi pakan

mengandung MOS adalah sekitar 5%. Mortalitas hasil penelitian ini mendekati hasil penelitian Bozkurt *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa mortalitas ayam yang diberi pakan mengandung MOS adalah 4,51%. Selain itu, Hooge (2004a) yang melakukan metha-analysis terhadap ayam pedaging melaporkan bahwa angka mortalitas ayam yang diberi pakan mengandung MOS (4,43%) lebih rendah daripada ayam yang diberi pakan kontrol yang mengandung antibiotik (5,40%). Benites *et al.* (2008) melaporkan bahwa angka mortalitas kumulatif ayam pedaging yang diberi pakan mengandung MOS (2,50%) tidak berbeda dengan ayam yang diberi pakan kontrol (2,60%).

Tabel 19. Mortalitas (%) ayam pedaging yang diberi perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS

| MOS | Periode | Jumlah ayam mati |
|---------------------------|----------------|------------------|
| M ₀ | P ₁ | 3 |
| | P ₂ | 1 |
| | P ₃ | 6 |
| Mortalitas M ₀ | | 10,42 |
| M ₁ | P ₁ | 2 |
| | P ₂ | 2 |
| | P ₃ | 3 |
| Mortalitas M ₁ | | 7,29 |
| M ₂ | P ₁ | 1 |
| | P ₂ | 1 |
| | P ₃ | 1 |
| Mortalitas M ₂ | | 3,13 |

Keterangan: M₀ = Pakan kontrol, M₁ = Pakan yang diberi MOS hasil ekstraksi, M₂ = Pakan yang diberi MOS komersial; P₁ = Pemberian MOS saat fase *starter*, P₂ =Pemberian MOS dari fase *starter* sampai *finisher*, P₃ = Pemberian MOS mulai dari fase *finisher*.

5.2.3. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Perlakuan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Jumlah *Lactobacillus* sp, Jumlah *Escherichia coli*, pH, dan Viskositas Digesta Usus Ayam Pedaging

Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap jumlah

bakteri *Lactobacillus* sp., jumlah *Escherichia coli*, pH dan viskositas digesta usus ayam pedaging disajikan pada Tabel 20.

Tabel 20. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap Jumlah *Lactobacillus* sp, Jumlah *Escherichia coli*, pH, dan viskositas digesta usus ayam pedaging

| MOS | Periode | <i>Lactobacillus</i> sp. (Log CFU/ml) | <i>Escherichia coli</i> (Log CFU/ml) | pH | Viskositas |
|-----------------------|----------------|--|---|------------------------|------------------------|
| M ₀ | P ₁ | 11,01±0,00 ^{a**} | 4,10±0,02 ^a | 6,81±0,07 | 3,53±0,90 ^a |
| | P ₂ | 11,01±0,01 ^a | 4,09±0,01 ^a | 6,69±0,10 | 3,55±0,84 ^a |
| | P ₃ | 11,01±0,00 ^a | 4,09±0,02 ^a | 6,67±0,19 | 3,55±0,95 ^a |
| Rataan M ₀ | | 11,01±0,00 ^{C*} | 4,09±0,01 ^A | 6,72±0,13 ^A | 3,54±0,81 ^A |
| M ₁ | P ₁ | 11,12±0,00 ^b | 3,98±0,00 ^b | 6,68±0,23 | 2,69±0,87 ^a |
| | P ₂ | 11,13±0,00 ^a | 3,90±0,00 ^c | 6,52±0,15 | 1,41±0,57 ^b |
| | P ₃ | 11,00±0,00 ^c | 4,01±0,00 ^a | 6,50±0,08 | 2,77±0,54 ^a |
| Rataan M ₁ | | 11,08±0,06 ^B | 3,96±0,05 ^B | 6,57±0,17 ^B | 2,29±0,89 ^B |
| M ₂ | P ₁ | 11,12±0,01 ^b | 3,95±0,01 ^b | 6,51±0,11 | 1,90±0,40 ^a |
| | P ₂ | 11,20±0,00 ^a | 3,91±0,00 ^c | 6,48±0,05 | 1,19±0,31 ^b |
| | P ₃ | 11,10±0,01 ^c | 4,02±0,01 ^a | 6,58±0,16 | 2,49±0,89 ^a |
| Rataan M ₂ | | 11,14±0,04 ^A | 3,96±0,05 ^B | 6,52±0,11 ^B | 1,86±0,77 ^B |

Keterangan: M₀ = Pakan kontrol, M₁ = Pakan yang diberi MOS hasil ekstraksi, M₂ = Pakan yang diberi MOS komersial; P₁ = Pemberian MOS saat fase *starter*, P₂ =Pemberian MOS dari fase *starter* sampai *finisher*, P₃ = Pemberian MOS mulai dari fase *finisher*.

*Superskrip huruf kapital yang berbeda pada kolom yang sama pada perlakuan penggunaan jenis MOS menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

**Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama pada perlakuan periode saat pemberian MOS pada setiap penggunaan jenis MOS menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS, keduanya mempengaruhi (P<0,01) jumlah *Lactobacillus* sp. dalam digesta usus ayam pedaging. Berdasarkan Tabel 20 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial memberikan pengaruh pada jumlah *Lactobacillus* sp. usus ayam yang tertinggi (11,14 Log cfu/ml) dan berbeda (P<0,05) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (11,08 Log cfu/ml) ataupun ayam yang diberi pakan kontrol (11,01 Log cfu/ml). Demikian juga jumlah *Lactobacillus* sp. dalam usus ayam yang diberi pakan

mengandung MOS hasil ekstraksi berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Baurhoo *et al.* (2007) yang melaporkan bahwa jumlah *Lactobacillus* sp. ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dari jumlah *Lactobacillus* sp. ayam yang diberi pakan kontrol.

Lactobacillus sp ayam pada perlakuan periode saat pemberian MOS pada perlakuan tanpa MOS (kontrol) tidak berbeda ($P > 0,05$), namun berbeda ($P < 0,05$) pada penggunaan MOS ekstraksi (M_1) dan komersial (M_2). *Lactobacillus* sp pada ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* baik pada penggunaan MOS ekstraksi maupun pada penggunaan MOS komersial adalah tertinggi dibandingkan dengan ayam pada pemberian MOS saat fase *starter* ataupun *finisher* saja.

Jumlah *Lactobacillus* sp. ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik MOS komersial ataupun MOS hasil ekstraksi lebih tinggi di bandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan oleh fungsi MOS dalam menekan bakteri merugikan dengan cara terikat pada fimbriae bakteri patogen dan terekskresi keluar bersama feses. Penurunan populasi bakteri yang merugikan mengakibatkan berkurangnya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi bagi bakteri menguntungkan (*Lactobacillus* sp.). Kondisi ini memberikan dampak yang positif bagi *Lactobacillus* sp. untuk tumbuh dan berkembang lebih baik, sehingga jumlah *Lactobacillus* sp. mengalami peningkatan dalam saluran pencernaan ayam dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Hasil ini sesuai dengan Koc *et al.*, (2010) yang melaporkan bahwa jumlah *Lactobacillus* sp. pada usus ayam yang diberi perlakuan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan MOS lebih tinggi dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Peningkatan jumlah *Lactobacillus* sp. dalam saluran pencernaan ayam mengakibatkan peningkatan performan ayam pedaging yang terbukti dengan

tertingginya PBB dan persentase karkas ayam pedaging pada penelitian ini.

Lactobacillus sp. ayam pada perlakuan periode saat pemberian MOS mulai fase *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS baik MOS ekstraksi maupun MOS komersial memberikan pengaruh terhadap jumlah *Lactobacillus* sp. tertinggi dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS pada fase *starter* ataupun *finisher* saja. Pemberian MOS yang kontinyu dari fase *starter* sampai *finisher* memacu peningkatan jumlah *Lactobacillus* sp. dalam saluran pencernaan ayam pedaging. MOS bermanfaat bagi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp.) yang menguntungkan dalam saluran pencernaan mampu memfermentasi MOS dan menghasilkan energi yang dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Lactobacillus* sp. Baurhoo *et al.* (2007) menyatakan bahwa tingginya *Lactobacillus* sp. dan bakteri menguntungkan lainnya dalam saluran pencernaan memberikan kontribusi penting terhadap meningkatnya tinggi vili usus dan menyebabkan sehatnya kondisi saluran pencernaan. Kondisi ini dapat meningkatkan penyerapan nutrisi pakan yang dikonsumsi ayam yang pada akhirnya dapat meningkatkan PBB ayam.

Lactobacillus sp. pada perlakuan periode saat pemberian MOS fase *finisher* pada penggunaan MOS baik MOS ekstraksi maupun MOS komersial terendah dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS pada fase *starter* sampai *finisher* atau fase *starter* saja. Hal ini diduga disebabkan oleh tertekannya jumlah *Lactobacillus* sp. sebagai akibat melemahnya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi, tumbuh dan berkembang dengan bakteri patogen yang berkesempatan menginfeksi sejak fase *starter* dalam saluran pencernaan ayam pedaging. Hal ini dibuktikan dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada perlakuan periode saat pemberian MOS pada fase *finisher* baik pada penggunaan MOS ekstraksi maupun MOS komersial tertinggi dibandingkan dengan perlakuan pemberian MOS saat *starter* sampai *finisher* ataupun *starter* saja.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS, keduanya mempengaruhi ($P < 0,01$) jumlah *Escherichia coli* ayam pedaging. Berdasarkan Tabel 20 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan kontrol memberikan pengaruh jumlah *Escherichia coli* (4,09 Log cfu/ml) yang tertinggi pada digesta usus ayam dan berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (3,96 Log cfu/ml) dan MOS komersial (3,96 Log cfu/ml). Sementara itu jumlah *Escherichia coli* ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Baurhoo *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa jumlah *Escherichia coli* ayam yang diberi pakan mengandung MOS berkurang atau lebih sedikit dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Perlakuan periode saat pemberian MOS pada perlakuan tanpa penggunaan MOS/kontrol (M_0) tidak mempengaruhi ($P > 0,05$) jumlah *Escherichia coli*. Ayam yang diberi MOS mulai periode *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS ekstraksi (M_1) maupun pada penggunaan MOS komersial (M_2) memberikan pengaruh terhadap jumlah *Escherichia coli* yang terendah (3,90 Log cfu/ml pada M_1 dan 3,91 Log cfu/ml pada M_2), dan berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi MOS pada saat periode *finisher* (4,01 Log cfu/ml pada M_1 dan 4,02 Log cfu/ml pada M_2) maupun ayam yang diberi MOS saat *starter* (3,98 Log cfu/ml pada M_1 dan 3,95 Log cfu/ml pada M_2).

Jumlah *Escherichia coli* pada ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik komersial maupun hasil ekstraksi lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. Hal ini disebabkan oleh fungsi MOS yang dapat menekan bakteri merugikan (*Escherichia coli*) dalam saluran pencernaan ayam. Hasil ini sesuai dengan Koc *et al.*, (2010) bahwa jumlah *Escherichia coli* pada

usus ayam yang diberi perlakuan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan MOS lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol. MOS dalam saluran pencernaan bertindak sebagai molekul dengan daya ikat tinggi untuk melekat pada fimbria tipe-1 dari bakteri patogen (Spring *et al.*, 2000). Perlekatan gula mannososa pada fimbria bakteri tipe-1 menghambat penempelan bakteri patogen pada sel-sel ephitel usus dan dikeluarkan dari saluran pencernaan bersama feses. Oleh karena itu dengan adanya MOS dapat mencegah terjadinya kolonisasi bakteri patogen dalam saluran pencernaan ayam (Bozkurt *et al.*, 2008).

Escherichia coli ayam yang diberi MOS secara kontinyu dari saat *starter* sampai *finisher* baik pada penggunaan MOS ekstraksi maupun penggunaan MOS komersial lebih sedikit dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS pada saat *starter* atau *finisher* saja. Hal ini disebabkan oleh keberadaan MOS dalam saluran pencernaan secara kontinyu dapat menekan bakteri patogen yang mengakibatkan kestabilan keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam. Kestabilan keseimbangan mikroflora ayam memberikan pengaruh yang positif terhadap kesehatan saluran pencernaan ayam dan peningkatan performan ayam pedaging. Sementara itu, jumlah *Escherichia coli* ayam pada perlakuan pemberian MOS saat fase *finisher* pada penggunaan MOS ekstraksi maupun MOS komersial tertinggi dibandingkan dengan perlakuan pemberian MOS saat fase *starter* sampai *finisher* maupun fase *starter* saja. Hal ini diduga disebabkan oleh pemberian MOS yang dimulai saat fase *finisher* belum mencukupi untuk menurunkan bakteri patogen yang sudah terlanjur berkembang dalam saluran pencernaan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,05$) pH usus ayam pedaging, sedangkan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi

($P > 0,05$) pH usus ayam pedaging. Berdasarkan Tabel 20 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan kontrol memberikan pengaruh pada pH ayam yang tertinggi (6,72) dan berbeda pengaruhnya ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi (6,57) maupun MOS komersial (6,52). Sementara itu, pH usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Markovic *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa pH ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih rendah dibandingkan dengan pH usus ayam yang diberi pakan kontrol.

Ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik komersial maupun hasil ekstraksi menghasilkan pH digesta usus lebih rendah dibandingkan dengan pH usus ayam yang diberi pakan kontrol. MOS merupakan bahan yang dapat difermentasi oleh bakteri menguntungkan khususnya bakteri asam laktat dalam saluran pencernaan ayam. Hasil fermentasi MOS antara lain adalah asam-asam organik seperti asam laktat, asetat, propionat dan butirrat berpengaruh pada penurunan pH saluran pencernaan (Rachmawati dkk., 2005, Samal and Behura, 2015). Kondisi asam dalam saluran pencernaan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan bakteri yang merugikan, sehingga mengurangi kolonisasi bakteri patogen dalam saluran pencernaan ayam (Macfarlane *et al.*, 2008; Bozkurt *et al.*, 2008).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,01$) viskositas digesta usus ayam pedaging, demikian juga perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,05$) viskositas digesta usus ayam pedaging. Berdasarkan Tabel 20 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan kontrol memberikan pengaruh pada viskositas digesta usus ayam yang tertinggi (3,54) dan berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi

(2,29) maupun ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial (1,86). Sementara itu viskositas digesta usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial. Perlakuan periode saat pemberian MOS pada tanpa penggunaan MOS (M0) tidak berbeda ($P>0,05$), namun pada penggunaan MOS ekstraksi maupun pada penggunaan MOS komersial berbeda ($P<0,05$) terhadap viskositas digesta usus. Ayam yang diberi MOS saat *finisher* baik pada penggunaan MOS ekstraksi ataupun MOS komersial memberikan pengaruh terhadap viskositas digesta usus yang tertinggi meskipun pengaruhnya tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi MOS saat *starter*, tetapi berbeda ($P<0,05$) dengan ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher*.

Viskositas digesta usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik komersial maupun hasil ekstraksi lebih rendah dibandingkan dengan viskositas digesta usus ayam yang diberi pakan kontrol. Hal ini disebabkan oleh manfaat MOS dalam menjaga kestabilan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam. Penurunan bakteri patogen sebagai dampak adanya MOS dapat meningkatkan dominasi bakteri menguntungkan. Bakteri menguntungkan dalam saluran pencernaan mampu memproduksi enzim yang membantu meningkatkan proses pencernaan pakan. Proses pencernaan pakan mengubah molekul makanan dari ukuran besar menjadi ukuran yang kecil. Penurunan molekul makanan ini mengakibatkan penurunan viscositas cairan usus (Moftakharzadeh *et al.*, 2017). Viskositas cairan usus yang menurun mempermudah penyerapan nutrisi pakan yang pada akhirnya meningkatkan PBB ayam (Barros *et al.*, 2015). Demikian juga viskositas digesta usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS secara kontinyu dari *starter* sampai *finisher* mengakibatkan nilai viscositas yang lebih rendah dibandingkan dengan viskositas digesta usus ayam yang diberi MOS pada saat *starter* atau pada *finisher* saja.

5.2.4. Pengaruh Perlakuan Penggunaan Jenis MOS dalam Pakan dan Perlakuan Periode Saat Pemberian MOS pada Penggunaan Jenis MOS terhadap Luas Vili dan Permukaan Mukosa Usus Ayam Pedaging

Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap luas vili dan luas permukaan mukosa usus ayam pedaging disajikan pada Tabel 21.

Tabel 21. Rataan pengaruh perlakuan penggunaan jenis MOS dalam pakan dan perlakuan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS terhadap luas vili dan permukaan mukosa usus ayam pedaging

| MOS | Periode | Luas vili usus (μm^2) | Luas permukaan mukosa usus (μm^2) |
|-----------------------|----------------|------------------------------------|--|
| M ₀ | P ₁ | 1495,17±299,22 | 17100,11±3976,80 ^{a**} |
| | P ₂ | 1246,86±282,12 | 17810,12±2428,73 ^a |
| | P ₃ | 1461,27±355,37 | 17456,99±3360,59 ^a |
| Rataan M ₀ | | 1401,10±306,19 ^B | 17455,74±3015,57 ^{B*} |
| M ₁ | P ₁ | 1709,89±449,66 | 27212,62±4253,75 ^a |
| | P ₂ | 1786,93±274,50 | 27786,60±5475,27 ^a |
| | P ₃ | 1512,38±94,71 | 18927,99±1847,02 ^b |
| Rataan M ₁ | | 1669,73±304,51 ^A | 24642,41±5649,13 ^A |
| M ₂ | P ₁ | 1561,15±250,28 | 23971,15±5898,84 ^b |
| | P ₂ | 1948,36±151,25 | 31712,45±4129,93 ^a |
| | P ₃ | 1755,45±208,91 | 25155,38±4699,82 ^b |
| Rataan M ₂ | | 1754,99±249,97 ^A | 26946,33±5728,10 ^A |

Keterangan: M₀ = Pakan kontrol, M₁ = Pakan yang diberi MOS hasil ekstraksi, M₂ = Pakan yang diberi MOS komersial; P₁ = Pemberian MOS saat fase *starter*, P₂ = Pemberian MOS dari fase *starter* sampai *finisher*, P₃ = Pemberian MOS mulai dari fase *finisher*.

*Superskrip huruf kapital yang berbeda pada kolom yang sama pada perlakuan penggunaan jenis MOS menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

**Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama pada perlakuan periode saat pemberian MOS pada setiap penggunaan jenis MOS menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi (P<0,05) luas vili usus ayam pedaging, sedangkan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS tidak mempengaruhi (P>0,05) luas vili usus ayam. Berdasarkan Tabel 21 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial memberikan pengaruh pada luas vili usus ayam yang tertinggi (1754,99 μm^2), meskipun pengaruhnya tidak

berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi ($1669,73 \mu\text{m}^2$). Selanjutnya luas vili usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial maupun dan MOS hasil ekstraksi, keduanya berbeda ($P<0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol ($1401,10 \mu\text{m}^2$). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Markovic *et al.* (2009) dan Baurhoo *et al.* (2007) yang melaporkan bahwa tinggi vili usus ayam, yang berkaitan erat dengan luas vili usus ayam pada ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi daripada ayam yang diberi pakan kontrol. Ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS ekstraksi dan komersial cenderung memberikan pengaruh tertinggi ($1786,93 \mu\text{m}^2$ pada M_1 dan $1948,36 \mu\text{m}^2$ pada M_2) terhadap luas vili usus meskipun pengaruhnya secara statistik tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi MOS pada saat periode *starter* ($1709,89 \mu\text{m}^2$ pada M_1 dan $1561,15 \mu\text{m}^2$ pada M_2) maupun dengan ayam yang diberi MOS pada saat *finisher* ($1512,38 \mu\text{m}^2$ pada M_1 dan $1755,45 \mu\text{m}^2$ pada M_2).

Luas vili usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik komersial maupun hasil ekstraksi lebih tinggi daripada luas vili usus ayam yang diberi pakan kontrol. Hal ini disebabkan oleh fungsi MOS yang dapat mengurangi kerusakan sel-sel dinding usus dan memperbaiki sel-sel dalam saluran pencernaan. Selain itu energi yang diperoleh dari nutrisi pakan yang dikonsumsi digunakan untuk pertumbuhan sel-sel sehingga meningkatkan luas vili usus (Zikic *et al.* 2011). MOS juga berfungsi melindungi mukosa usus dari insiden menempelnya bakteri patogen dan membawa bakteri patogen untuk keluar dari saluran pencernaan bersama feses, sehingga bakteri menguntungkan (probiotik) dapat berkembang lebih baik.

Ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS ekstraksi dan MOS komersial cenderung menghasilkan luas

vili usus tertinggi dibandingkan dengan ayam yang diberi MOS hanya pada saat periode *starter* atau *finisher* saja. Pemberian MOS yang dimulai dari periode *starter* sampai *finisher* membawa pengaruh pada terjaganya keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan. Dominasi populasi bakteri yang menguntungkan pada saluran pencernaan dapat memperbaiki integritas usus halus seperti meningkatkan tinggi vili dan lebar villi. Dominasi bakteri menguntungkan pada penelitian ini dibuktikan dengan jumlah *Lactobacillus* sp. yang lebih tinggi dibandingkan *Escherichia coli*, khususnya pada digesta usus ayam yang mendapatkan perlakuan MOS dari *starter* sampai *finisher* yaitu 11,13 Log cfu/ml pada M₁ dan 11,20 Log cfu/ml pada M₂ (*Lactobacillus* sp.) dan 3,90 Log cfu/ml pada M₁ dan 3,91 Log cfu/ml M₂ (*Escherichia coli*). Peningkatan tinggi dan lebar vili mengakibatkan meningkatnya luas permukaan villi, dan berdampak pada semakin efektifnya penyerapan nutrisi pakan dan tingginya performan ayam yang terbukti pada tertingginya PBB dan persentase karkas ayam pedaging.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,01$) luas permukaan mukosa usus ayam pedaging, demikian juga periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS mempengaruhi ($P < 0,05$) luas permukaan mukosa usus ayam. Berdasarkan Tabel 21 dapat dilihat bahwa ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial memberikan pengaruh pada luas permukaan mukosa usus ayam yang tertinggi ($26946,33 \mu\text{m}^2$) meskipun pengaruhnya tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS hasil ekstraksi ($24642,41 \mu\text{m}^2$). Selanjutnya luas permukaan mukosa usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial maupun dan MOS hasil ekstraksi, keduanya berbeda ($P < 0,05$) dengan ayam yang diberi pakan kontrol ($17455,74 \mu\text{m}^2$). Ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS ekstraksi (M₁) memberikan pengaruh terhadap luas permukaan mukosa usus yang tertinggi ($27786,60 \mu\text{m}^2$)

meskipun pengaruhnya secara statistik tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi MOS pada periode *starter* ($27212,62 \mu\text{m}^2$), tetapi berbeda ($P<0,05$) dengan ayam yang diberi MOS pada saat *finisher* ($18927,99 \mu\text{m}^2$). Sementara itu luas permukaan mukosa usus ayam yang diberi MOS saat *starter* pada penggunaan MOS komersial tidak berbeda ($P>0,05$) dengan ayam yang diberi MOS saat *finisher*, namun keduanya lebih rendah ($P<0,05$) daripada ayam yang diberi MOS dari *starter* sampai *finisher* ($31712,45 \mu\text{m}^2$).

Luas permukaan mukosa usus ayam yang diberi pakan mengandung MOS baik komersial maupun hasil ekstraksi lebih tinggi dibandingkan dengan luas permukaan mukosa usus ayam yang diberi pakan kontrol. Hal ini disebabkan oleh fungsi MOS dapat memberikan kestabilan penghunian pada mikroflora yang menguntungkan dalam saluran pencernaan. Keadaan ini mengakibatkan sel-sel di lapisan usus (enterosit) hidup atau bertahan lebih lama untuk terjadinya pergantian sel yang pada akhirnya meningkatkan tinggi vili dan memperluas mukosa usus serta meningkatkan penyerapan nutrisi pakan (Markovic *et al.*, 2009; Zikic *et al.*, 2011). Hal ini terbukti pada PBB ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih tinggi dibandingkan dengan ayam yang diberi pakan kontrol, meskipun konsumsi pakan ayam yang diberi pakan mengandung MOS lebih sedikit.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ayam yang diberi MOS mulai saat *starter* sampai *finisher* pada penggunaan MOS ekstraksi ataupun MOS komersial mempunyai luas permukaan mukosa usus lebih tinggi dibandingkan ayam yang diberi pakan saat *starter* atau *finisher* saja. Hal ini berarti bahwa pemberian MOS secara kontinyu dari *starter* sampai *finisher* memberi efek memperluas permukaan mukosa usus ayam. MOS dapat difermentasi oleh bakteri probiotik (bakteri yang menguntungkan). Hasil fermentasi MOS oleh bakteri menguntungkan antara lain adalah asam organik seperti asam

butirat, asam laktat, asam asetat, asam propionat (Pan *et al.*, 2009). Asam butirat bermanfaat sebagai sumber energi untuk membantu pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel serta meningkatkan indeks proliferasi sel di usus (Kinoshita *et al.*, 2002). Proses ini memberikan keuntungan pada penyembuhan trauma, infeksi, dan radang pada saluran pencernaan serta memperbaiki morfologi usus seperti meningkatkan tinggi dan lebar vili usus. Peningkatan tinggi dan lebar vili usus berpengaruh pada meningkatnya luas permukaan mukosa usus, sehingga penyerapan nutrisi pakan menjadi lebih efektif. Hal ini terbukti pada PBB ayam yang diberi MOS mulai dari periode *starter* sampai *finisher* lebih tinggi dibandingkan dengan PBB ayam yang diberi MOS hanya pada periode *starter* atau *finisher* saja (Tabel 17). Abdelqader and Al Fataftah (2015) melaporkan bahwa tinggi dan luas Vili usus ayam pedaging yang diberi pakan dengan penambahan asam butirat lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol baik dalam kondisi suhu pemeliharaan normal ataupun mengalami cekaman panas.

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian tahap II (penelitian lapang) yaitu: uji penggunaan MOS hasil ekstraksi sebagai *feed additive* (prebiotik) dalam pakan terhadap penampilan produksi ayam pedaging dapat disimpulkan bahwa: 1) Penggunaan jenis MOS mempengaruhi konsumsi pakan, PBB, FCR, IOFCC, persentase karkas, persentase lemak abdominal, jumlah *Lactobacillus* sp, jumlah *Escherichia coli*, pH digesta usus, viskositas digesta usus, luas vili usus, dan luas permukaan mukosa usus; 2) periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS mempengaruhi jumlah *Lactobacillus* sp., jumlah *Escherichia coli*, viskositas digesta usus, dan luas permukaan mukosa usus, namun tidak mempengaruhi konsumsi pakan, PBB, FCR, IOFCC, persentase karkas, persentase lemak abdominal, pH digesta usus, dan luas vili usus; 3) penggunaan jenis MOS dan periode saat pemberian MOS pada penggunaan jenis MOS

secara statistik tidak mempengaruhi mortalitas, tetapi penggunaan MOS cenderung menekan mortalitas ayam pedaging dibandingkan dengan kontrol. 4) Penggunaan MOS ekstraksi dalam pakan menghasilkan keuntungan yang lebih tinggi dibandingkan dengan MOS komersial maupun kontrol.

5.3. Pembahasan Umum

Dampak negatif penggunaan feed aditif antibiotik dapat mengakibatkan resistensi bakteri patogen yang membahayakan ternak dan manusia. Dengan demikian, diperlukan usaha untuk mencari alternatif pengganti antibiotik dengan bahan alami yang berpengaruh positif terhadap kesehatan saluran pencernaan dan meningkatkan penampilan produksi ternak. Prebiotik seperti mannan oligosakarida (MOS) merupakan feed aditif alami yang telah terbukti meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan penampilan produksi ternak unggas (Abudabos and Yehia, 2013). Mannan oligosakarida yang terdapat di pasar secara komersial saat ini diperoleh dari dinding sel luar *Saccharomyces cerevisiae* yang ketersediaannya masih impor di Indonesia, sehingga perlu dicari sumber MOS alternatif, seperti bungkil inti sawit (BIS) (Rezaei *et al.*, 2015; Jahromi *et al.*, 2016). Mannan oligosakarida yang berasal dari BIS sangat memungkinkan dikembangkan karena ketersediaan BIS sangat berlimpah di negara tropis termasuk di Indonesia.

Bungkil inti sawit mengandung serat kasar dengan struktur kimia yang kompleks yang tersusun dari polisakarida seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Hemiselulosa merupakan bagian terbesar dari polisakarida BIS yang sebagian besar terdiri dari mannan (58%) (Jaafar and Jarvis, 1992). Polisakarida mannan dapat didegradasi atau dipecah menjadi karbohidrat yang lebih sederhana yaitu MOS. Degradasi serat kasar BIS dapat dilakukan secara enzimatik dengan melibatkan peran mikrobiologi melalui proses fermentasi.

Enzim-enzim pendegradasi serat kasar BIS antara lain selulase, hemiselulase, mannanase, galaktosidase dan xylanase (Yokomizo, 2005; Purnawan *et al.*, 2017; Saenphoom *et al.*, 2011). *Aspergillus niger* dilaporkan dapat mendegradasi serat kasar BIS karena aktivitas berbagai macam enzim diatas yang dapat diproduksi oleh kapang tersebut (de Vries, 2001; Norita, 2005; Youssef *et al.* 2006; Ab Rasyid *et al.*, 2009; Andersen *et al.*, 2012). Pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* yang optimal memerlukan ketersediaan energi dari substrat yang difermentasi. Produksi enzim dipengaruhi oleh fase pertumbuhan *Aspergillus niger* dan ketersediaan nutrisi dalam substrat. Perlakuan penambahan bahan yang mengandung energi (pati) seperti onggok pada proses fermentasi BIS adalah salah satu cara untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger*, sehingga diproduksi enzim-enzim pendegradasi BIS yang maksimal.

Hasil penelitian penambahan onggok pada fermentasi bungkil inti sawit (BIS-onggok) dengan menggunakan *Aspergillus niger* pada penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan NDF, selulosa, hemiselulosa cenderung menurun, tetapi kandungan gula reduksi dan mannanosa cenderung meningkat dengan meningkatnya proporsi onggok dalam substrat pada waktu inkubasi yang lebih lama. Sementara itu kandungan ADF dan lignin meningkat dengan lamanya inkubasi, tetapi menurun dengan meningkatnya proporsi onggok dalam substrat. Kombinasi perlakuan yang terbaik pada penelitian ini adalah R₂ (BIS 75%, O 25%) dan W₃ (72 jam) dengan produksi MOS tertinggi yang terefleksi dari kandungan gula reduksi (10.05%) dan mannanosa (753.64 mg). Kombinasi perlakuan ini menghasilkan penurunan kandungan NDF 18.15%, selulosa 24.5%, hemiselulosa 51.57% dan peningkatan kandungan ADF 2.08%, lignin 50.34%, gula reduksi 477.60% dan mannanosa 119.00%.

Penurunan NDF disebabkan oleh adanya degradasi hemiselulosa (mannan) dan selulosa substrat campuran BIS-O selama proses fermentasi. Degradasi hemiselulosa (mannan) dan selulosa menjadi oligosakarida, mannanosa dan glukosa terjadi sebagai akibat adanya aktifitas enzim mannanase dan selulase yang diproduksi oleh *Aspergillus niger*. Penurunan NDF sebesar 18,15% pada perlakuan R₂W₃ dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan hasil fermentasi 100% BIS dari penelitian Swe *et al.*, (2009), Muangkeow and Chinajariyawong (2009), dan Supriyati dkk. (1998), berturut-turut yaitu 13,55%, 5,5% dan 16,94%. Sementara persentase penurunan hemiselulosa (mannan) sebagai bahan baku MOS pada kombinasi perlakuan R₂W₃, setelah dilakukan fermentasi adalah 51,57%. Persentase penurunan hemiselulosa ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan persentase penurunan hemiselulosa fermentasi 100% bungkil inti sawit oleh *Aspergillus niger* yaitu 16,31% (Muangkeow and Chinajariyawong, 2009). Penambahan onggok sebagai sumber energi (pati) pada proses fermentasi dalam penelitian ini bermanfaat dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* sehingga meningkatkan produksi enzim yang mendegradasi komponen serat kasar BIS menjadi komponen gula seperti oligosakarida dan monosakarida. Konsekuensi dari kondisi ini adalah menurunnya komponen serat kasar (NDF, ADF, selulosa, hemiselulosa dan lignin) dan meningkatnya MOS yang direfleksikan dengan kandungan gula reduksi dan mannanosa.

MOS hasil ekstraksi dari produk fermentasi campuran 75% BIS dan 25% onggok diperlukan pengujian secara *in vitro* sebelum diaplikasikan sebagai *feed additive* dalam pakan ayam pedaging. Uji *in vitro* adalah uji skala laboratorium yang terdiri dari tiga macam yaitu uji aglutinasi, uji resistensi dan uji hambat pada media cair. Uji aglutinasi untuk mengetahui MOS bisa terikat atau melekat pada fimbriae tipe-1 bakteri patogen. Uji resistensi untuk mengetahui MOS tidak

bersifat membunuh bakteri. Selanjutnya uji hambat pada media cair untuk mengetahui MOS dapat menurunkan bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Salmonella* sp.) dan meningkatkan bakteri non patogen (*Lactobacillus* sp.).

Hasil uji aglutinasi menunjukkan bahwa penggunaan dosis MOS ekstraksi 1000-4000 ppm menunjukkan hasil yang positif terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp., tetapi negatif terhadap *Lactobacillus* sp. Hasil aglutinasi positif berarti MOS dapat terikat atau menempel pada fimbriae tipe-1 bakteri patogen (ditandai dengan terbentuknya *clumping* atau penggumpalan). Intensitas terjadinya *clumping* pada uji aglutinasi dengan dosis MOS 4000 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah. Hasil uji aglutinasi dosis MOS ekstraksi 4000 ppm setara dengan MOS komersial.

Uji resistensi penggunaan MOS ekstraksi 0-4000 ppm dan MOS komersial menunjukkan hasil yang positif baik terhadap bakteri patogen maupun bakteri non patogen. Hasil positif uji resistensi ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram yang diberi MOS. Hasil ini mengindikasikan bahwa penggunaan MOS hasil ekstraksi sampai pada dosis 4000 ppm tidak bersifat bakterisidal atau membunuh bakteri. Hasil ini memperkuat hasil uji aglutinasi bahwa MOS hanya diaglutinasi bersama bakteri patogen dan tidak membunuh bakteri.

Hasil uji hambat pada media cair menunjukkan bahwa jumlah *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. cenderung menurun seiring dengan meningkatnya dosis MOS ekstraksi. Hasil uji hambat media cair dengan dosis 4000 ppm tidak jauh berbeda dengan penggunaan MOS komersial. Penurunan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. pada penggunaan MOS ekstraksi 4000 ppm dibandingkan dengan kontrol, berturut-turut adalah 16,18% dan 14,29%. Sedangkan penurunan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. pada penggunaan MOS komersial dibandingkan dengan kontrol, berturut-turut adalah 17,65% dan

13,39%. Penurunan *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. diduga diakibatkan terjadinya efek *clumping* bakteri, sehingga pada saat dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri pada media agar terhitung menjadi lebih sedikit. Sementara itu, hasil uji hambat pada media cair penggunaan MOS hasil ekstraksi terhadap *Lactobacillus* sp. mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya dosis penggunaan MOS. Jumlah *Lactobacillus* sp. juga meningkat dengan penambahan MOS komersial. Peningkatan jumlah *Lactobacillus* sp. dengan penggunaan MOS ekstraksi 4000 ppm dan MOS komersial, berturut-turut adalah 5% dan 6,7%. Hasil uji hambat pada media cair ini memperkuat hasil uji aglutinasi dan uji resistensi bahwa menurunnya jumlah bakteri patogen disebabkan oleh terjadinya pengikatan atau penempelan MOS dengan bakteri patogen sehingga bakteri terhitung lebih sedikit pada saat penghitungan bakteri karena bakteri patogen tergumpal dengan MOS. Sementara jumlah bakteri non patogen meningkat karena tidak terjadi penempelan antara MOS dan bakteri non patogen serta MOS bersifat tidak membunuh bakteri.

Hasil penelitian penggunaan MOS yang diekstrak dari dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam pakan terhadap peningkatan penampilan ayam pedaging sudah banyak dilakukan oleh beberapa peneliti, diantaranya yaitu Hooge (2004a), Kocher *et al.* (2004), Sinovec *et al.* (2005), Benites *et al.* (2008), Abudabos and Yehia (2013), dan Barros *et al.* (2015). Hasil penelitian tentang penggunaan MOS ekstraksi dari produk fermentasi campuran BIS-onggok dalam pakan dapat memperbaiki penampilan produksi ayam pedaging dibandingkan dengan kontrol, dalam hal peningkatan PBB dan persentase karkas serta penurunan konsumsi pakan, konversi pakan dan persentase lemak abdominal. Penampilan produksi ayam ini tidak berbeda dengan ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial. Penggunaan MOS ekstraksi dalam pakan ayam pedaging lebih menguntungkan dibandingkan dengan kontrol (tanpa

menggunakan MOS) maupun menggunakan MOS komersial. Disamping itu penggunaan MOS ekstraksi maupun MOS komersial dapat menekan angka mortalitas dibandingkan dengan kontrol. Angka mortalitas secara keseluruhan pada penelitian ini adalah 6.94% dengan rincian 7.29% pada ayam yang diberi pakan mengandung MOS ekstraksi, 3.13% pada ayam yang diberi pakan mengandung MOS komersial dan 10.42% pada ayam yang diberi pakan kontrol.

Penggunaan MOS berpengaruh positif terhadap kondisi saluran pencernaan ayam pedaging dibandingkan dengan tanpa menggunakan MOS (kontrol). Penggunaan MOS baik MOS ekstraksi maupun MOS komersial dapat meningkatkan Jumlah *Lactobacillus* sp dan menurunkan jumlah *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan ayam pedaging. Selain itu penggunaan MOS baik ekstraksi ataupun MOS komersial dapat menurunkan pH dan viskositas digesta usus serta meningkatkan luas vili dan permukaan mukosa usus. Hasil ini menunjukkan bahwa mannan oligosakarida efektif menempel pada fimbriae tipe-1 bakteri patogen yang biasa melakukan kolonisasi pada dinding saluran pencernaan dan terekskresi bersama feses. Bakteri patogen yang terikat dengan MOS dan terekskresi bersama feses dapat menurunkan populasi bakteri patogen dalam saluran pencernaan. Kondisi ini mengakibatkan meningkatnya rasio bakteri non patogen terhadap bakteri patogen sehingga terjadi keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan yang menyehatkan yang pada akhirnya meningkatkan penampilan produksi ternak.

Periode pemberian MOS dalam penelitian ini tidak mempengaruhi konsumsi pakan, PBB, konversi pakan, IOFCC, persentase karkas, persentase lemak abdominal, pH digesta usus, dan luas permukaan vili usus, tetapi mempengaruhi jumlah *Lactobacillus* sp., jumlah *Escherichia coli*, viskositas digesta usus, dan luas permukaan mukosa usus. Pemberian MOS dalam pakan dari *starter* sampai *finisher* menghasilkan jumlah *Lactobacillus* sp. dan luas

permukaan mukosa usus tertinggi serta menghasilkan jumlah *Escherichia coli* dan viskositas digesta usus terendah dibandingkan dengan pemberian MOS saat fase *starter* atau *finisher* saja.

Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa penggunaan MOS dalam pakan dapat memperbaiki kesehatan saluran pencernaan ayam pedaging dibandingkan dengan kontrol. Kondisi saluran pencernaan yang sehat mengakibatkan peningkatan pencernaan dan penyerapan nutrisi pakan yang pada akhirnya dapat meningkatkan penampilan produksi ayam pedaging.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Perlakuan campuran bungkil inti sawit sebanyak 75% dan onggok 25% dengan waktu inkubasi 72 jam adalah kombinasi terbaik dalam menghasilkan MOS (prebiotik) yang terefleksi dari kandungan gula reduksi (10,05%) dan mannososa (753,64 mg) yang tertinggi..
2. Penggunaan MOS ekstraksi 4000 ppm merupakan dosis terbaik dalam menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri non patogen.
3. Penggunaan MOS ekstraksi dalam pakan dapat memperbaiki penampilan produksi/performan ayam pedaging yaitu meningkatkan pertambahan bobot badan, persentase karkas, jumlah bakteri non patogen, luas vili dan permukaan mukosa usus serta menurunkan konsumsi pakan, konversi pakan, persentase lemak abdominal, mortalitas, bakteri patogen, pH dan viskositas digesta usus. Penggunaan MOS dalam pakan sejak periode *starter* sampai *finisher* dapat meningkatkan bakteri non patogen dan luas permukaan mukosa usus serta menurunkan bakteri patogen dan menurunkan viskositas digesta usus.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa penggunaan MOS ekstraksi 4000 ppm dapat diaplikasikan sebagai prebiotik pada pemeliharaan ayam pedaging.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelqader, A. and A.R. Al-Fataftah. 2016. Effect of Dietary Butyric Acid on Performance, Intestinal Morphology, Microflora Composition and Intestinal Recovery of Heat-Stressed Broilers. *Livestock Science* **183**: 78-83.
- Ab Rasyid, S., I. Darah, and I. Che Omar. 2009. "Utilization of Palm Kernel Cake for the Production of Mannanase by an Indigenous Filamentous Fungus, *Aspergillus niger* USM F4 under Solid Substrate Fermentation." *Internet Journal of Microbiology* **9** (1): 1-9.
- Abudabos, A.M., and H.M. Yehia. 2013. "Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* on Live Performance of Broilers under *Clostridium perfringens* Challenge." *Italian Journal of Animal Science* **12** (2): 231-35. doi:10.4081/ijas.2013.e38.
- Abun. 2008. "Hubungan Mikroflora Dengan Metabolisme Dalam Saluran Pencernaan Unggas Dan Monogastrik." *Makalah*. Jurusan Nutrisi Dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Agu, K.C., F.C. Okafor, O.C. Amadi, A.E. Mbachu, N.S. Awah, and L.C. Odili. 2014. "Production of Mannanase Enzyme Using *Aspergillus* sp. Isolated from Decaying Palm Press Cake." *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB)* **2** (12A): 863-70.
- Alimon, A.R. 2004. "The nutritive value of palm kernel cake for animal feed." *Palm Oil Developments* **40** (1): 12-14.
- Alsarrani, A.Q. 2011. "Production of Mannan-Degrading Enzyme by *Aspergillus niger*." *Journal of Taibah University for Science* **5**. Taibah University: 1-6. doi:10.1016/S1658-3655(12)60032-6.
- Alshelmani, M.I., T.C. Loh, H.L. Foo, W.H. Lau, and A.Q. Sazili. 2014. "Biodegradation of Palm Kernel Cake by Cellulolytic and Hemicellulolytic Bacterial Cultures through Solid State Fermentation." *The Scientific World Journal* **2014**: 1-8.
- Amrullah, I.K. 2003. *Nutrisi Ayam Pedaging*. Satu gunung budi. Bogor
- Andersen, M.R., M. Giese, R.P. de Vries, and J. Nielsen. 2012. "Mapping the Polysaccharide Degradation Potential of *Aspergillus niger*." *BMC Genomics* **13** (1): 313. doi:10.1186/1471-2164-13-313.
- Anonim. 2011. Optimizing Broiler Feed Conversion Ratio. Ross Tech-Notes. <http://en.aviagen.com/assets/Uploads/AAServiceBulletinFCRJuly2011.pdf> (Accessed 6 April 2014).
- Andrizal. 2003. Potensi, Tantangan dan Kendala Pengembangan Agroindustri Ubi Kayu dan Kebijakan Industri Perdagangan yang Diperlukan. Pemberdayaan Agribisnis Ubi Kayu Mendukung Ketahanan Pangan. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian.

- Antari, R. dan U. Umiyah. 2009. "Pemanfaatan Tanaman Ubi Kayu dan Limbahnya secara Optimal sebagai Pakan Ternak Ruminansia." *Wartazoa* **19** (4): 191–200.
- Ardiati, S. 2015. "Studi Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Galaktomannan Dari Fungi *Aspergillus niger* Isolat Tanah Humus." <https://text-id.123dok.com/document/rz3ml7my-studi-isolasi-dan-karakterisasi-senyawa-galaktomannan-dari-fungi-aspergillus-niger-isolat-tanah-humus.html>. (Diakses 10 August 2015).
- Aritonang, D. 1986. Perkebunan Kelapa Sawit, Sumber Pakan Ternak. *Jurnal Litbang Pertanian* **4**: 93-99.
- Ariyani, S.B., Asmawit, dan P.P. Utomo. 2014. "Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat." *Biopropal Industri* **5** (2): 61–67.
- Aviana, T. dan H.G. Pohan. 2012. Pengaruh Proses Pengolahan Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap Kandungan Skopolitin. *Warta IHP/Journal of Agro-Based Industry* **29** (2): 1-10.
- Azhar, M. 2009. "Inulin sebagai Prebiotik." *Sainstek* **12** (1): 1–8.
- Babayemi, O.J., O.J. Ifut, U.A. Inyang, and L.J. Isaac. 2010. "Quality and Chemical Composition of Cassava Wastes Ensiled With *Albizia saman* Pods." *Agricultural Journal* **5** (3): 225–28.
- Badan Pusat Statistik. 2013. Luas Panen – Produktifitas - Produksi tanaman ubi kayu seluruh propinsi. [http://www. Bps. Go.id/tnmn_pgn.php](http://www.Bps.Go.id/tnmn_pgn.php). (Diakses pada 28 Pebruari 2014).
- Baker, S E. 2006. "*Aspergillus niger* Genomics: Past, Present and into the Future." *Medical Mycology* **44** (September): S17-21. Doi:10.1080/13693780600921037.
- Balagopalan, C, G. Padmaja, and M. George. 2006. "Improving the Nutritional Value of Cassava Product Using Microbial Techniques." <http://www.fao.org/livestock/agap/frg/AHPP95/95-127.pdf> (Accessed 13 March 2006).
- Barros, V.R.S. Mendes de, G.R.Q. Lana, S.R.V. Lana, Â,M.Q. Lana, F.S.A. Cunha, and J.V.E. Neto. 2015. "B-Mannanase and Mannan Oligosaccharides in Broiler Chicken Feed." *Ciência Rural* **45** (1): 111–17. doi:10.1590/0103-8478cr20131544.
- Baurhoo, B., P.R. Ferket, and X. Zhao. 2009. "Effects of Diets Containing Different Concentrations of Mannan oligosaccharide or Antibiotics on Growth Performance, Intestinal Development, Cecal and Litter Microbial Populations, and Carcass Parameters of Broilers." *Poultry Science* **88**: 2262–72. doi:10.3382/ps.2008-00562.
- Baurhoo, B., L. Phillip, and C. A. Ruiz-Feria. 2007. "Effects of Purified Lignin and Mannan Oligosaccharides on Intestinal Integrity and Microbial Populations in the Ceca and Litter of Broiler Chickens." *Poultry Science* **86** (6): 1070–78. doi:10.1093/ps/86.6.1070.

- Benites, V., R. Gilharry, A. G. Gernat, and J. G. Murillo. 2008. "Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide from Bio-Mos or SAF-Mannan on Live Performance of Broiler Chickens." *Journal of Applied Poultry Research* **17** (4): 471–75. doi:10.3382/japr.2008-00023.
- Biggs, P., C.M. Parsons, and G.C. Fahey. 2007. "The Effects of Several Oligosaccharides on Growth Performance, Nutrient Digestibilities, and Cecal Microbial Populations in Young Chicks." *Poultry Science* **86** (11): 2327–36. doi:10.3382/ps.2007-00427.
- Bovera, F., A. Lestingi, S. Marono, F. Iannaccone, S. Nizza, K. Mallardo, L. de Martino, and A. Tateo. 2012. "Effect of Dietary Mannan-Oligosaccharides on In Vivo Performance, Nutrient Digestibility and Caecal Content Characteristics of Growing Rabbits." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **96** (1): 130–36. doi:10.1111/j.1439-0396.2011.01134.x.
- Bozkurt, M., K. Kucukyilmaz, A. U. Catli, and M. Cinar. 2009. "Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide with or without Oregano Essential Oil and Hop Extract Supplementation on the Performance and Slaughter Characteristics of Male Broilers." *South African Journal of Animal Science* **39** (3): 223–32. doi:10.4314/sajas.v39i3.49157.
- Bozkurt, M., K. Kucukyilmaz, A.U. Catli, and M. Cinar. 2008. "Growth Performance and Slaughter Characteristics of Broiler Chickens Fed with Antibiotic, Mannan Oligosaccharide and Dextran Oligosaccharide Supplemented Diets." *International Journal of Poultry Science* **7** (10): 969–77.
- Brummer, M., C.J. van Rensburg, and C.A. Moran. 2010. "Saccharomyces cerevisiae cell wall products: The Effects on Gut Morphology and Performance of Broiler Chickens." *South African Journal of Animal Science* **40** (1): 14–21. doi:10.4314/sajas.v40i1.54125.
- Chen, W.L., J.B. Liang, M.F. Jahromi, N. Abdullah, Y.W. Ho, and V. Tufarelli. 2015. "Enzyme Treatment Enhances Release of Prebiotic Oligosaccharides from Palm Kernel Expeller." *BioResources* **10** (1): 196–209. doi:10.15376/biores.10.1.196-209.
- Choct, M. 2006. "Enzymes for the Feed Industry: Past, Present and Future." *World's Poultry Science Journal* **62** (1): 5–15. doi:10.1079/WPS200480.
- Chong, C. H., I. Zulkifli, and R. Blair. 2008. "Effects of Dietary Inclusion of Palm Kernel Cake and Palm Oil, and Enzyme Supplementation on Performance of Laying Hens." *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **21** (7): 1053–58. doi:10.5713/ajas.2008.70581.
- Coniwanti, P., S. Novalina, dan I.K. Putri. 2009. "Pengaruh Konsentrasi Larutan Etanol, Temperatur dan Waktu Pemasakan pada Pembuatan Pulp Eceng Gondok melalui Proses Organosol V." *Jurnal Teknik Kimia* **16** (4): 34–41.
- Daud, M., W.G. Piliang, dan I.P. Kompiang. 2007. "Persentase dan Kualitas Karkas Ayam Pedaging yang Diberi Probiotik dan Prebiotik dalam Ransum." *JITV* **12** (3): 167–74.
- de Menndiburu, F. 2017. "Statistical Procedures for Agricultural Research." <https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/agricolae.pdf>.

- Departemen Perindustrian. 2007. Gambaran Sekilas Industri Minyak Kelapa Sawit. Sekretariat Jenderal Departemen Perindustrian. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiHyvTu7o_dAhUCXSsKHYYieBcMQFjAAegQIARAC&url=http%3A%2F%2Fkemenperin.go.id%2Fdownload%2F289%2FPaket-Informasi-Komoditi-Minyak-Kelapa-Sawit&usg=AOvVaw3Z8OR0F_5MOq0ZPDCYQoNT (Diakses 28 Maret 2018).
- Departemen Pertanian. 2013. Produksi, luas areal dan produktivitas perkebunan di Indonesia. <http://www.deptan.go.id/Indikator/tabel-3-prod-lsareal-prodvitas-bun.pdf> (Diakses pada 8 Juli 2013).
- Departemen Pertanian. 2014. Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian. Pembuatan Tepung Tapioka. <http://www.Cybex.deptan/penyuluhan/pembuatan-tepung-tapioka>. (Diakses pada 7 Maret 2014).
- Departemen Pertanian. 2014. Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian. Syarat Pertumbuhan Ketela Pohon. <http://Cybex.deptan.go.id/lokalita/syarat-pertumbuhan-ketela-pohon>. (Diakses pada 26 Mei 2014).
- de Sausa Figueredo, R., K.A. De Pinho Costa, P.S. Epifanio, E. Da Costa Severiano, W.S. Cruvinel, T.S. Moreira, and K.C. Guimarães. 2014. "Silage Quality of *Piata palisadegrass* with Palm Kernel Cake." *Semina: Ciências Agrárias, Londrina* **35** (1): 505–18. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n1p505.
- de Vries, R.P., J. Visser, and P. Ronald. 2001. "Aspergillus Enzymes Involved in Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **65** (4): 497–522. doi:10.1128/MMBR.65.4.497.
- Dhakar, K., R. Kooliyottil, A. Joshi, and A. Pandey. 2015. "Simultaneous Production of Ligninolytic Enzymes by a Temperature and pH Tolerant Strain of *Aspergillus niger* under Different Cultural Conditions." *Indian Journal of Biotechnology* **14**: 81–86.
- Dhawan, S., and J. Kaur. 2007. "Microbial mannanases: An Overview of Production and Applications." *Critical Reviews in Biotechnology* **27** (4): 197–216.
- Djuma'ali. 2013. "Biokonversi Onggok Menjadi Ethanol Dengan Menggunakan Multienzim." *Disertasi*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya.
- Djunaidi, I.H., O. Sjojfan, dan D. Hardini. 2000. Pengaruh Penggunaan Campuran Limbah Tepung Tapioka (Gamblong) dan Kotoran Ayam Kering (DPW) Terfermentasi/FGDPW dalam Pakan terhadap Penampilan Ayam Pedaging. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* **12**: 123-129.
- Dos Santos, T.C., G.A. Filho, A.R. de Brito, A.J.V. Pires, R.C.F. Bonomo, and M. Franco. 2016. "Production and Characterization of Cellulolytic Enzymes by *Aspergillus niger* and *Rhizopus* sp . By Solid State Fermentation of Prickly Pear 1." *Rev. Caatinga, Mossoró* **29** (1): 222–33. doi:10.1590/1983-21252016v29n126rc.

- Drozdowski, L., T. Woudstra, G. Wild, M.T. Clandinin, and A.B.R. Thomson. 2005. "Dietary Lipids Modify the Age-Associated Changes in Intestinal Uptake of Fructose in Rats." *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* **288**: G125-134. doi:10.1152/ajpgi.00311.2003.
- Duffaud, G U Y D, Carol M M C Cutchen, Pascal Leduc, Kimberley N Parker, Robert M Kelly, Chemical Engineering, North Carolina, and North Carolina. 1997. "Purification and Characterization of Extremely Thermostable Beta Mannana." *Applied and Environmental Microbiology* **63** (1): 169–77.
- Edama, N.A., A. Sulaiman, S. Noraida, and A. Rahim. 2014. "Enzymatic Saccharification of Tapioca Processing Wastes into Biosugars through Immobilization Technology." *Biofuel Research Journal* **1**: 2–6.
- Engel, J., P.S. Schmalhorst, and F.H. Routier. 2012. "Biosynthesis of the Fungal Cell Wall Polysaccharide Galactomannan Requires Intraluminal GDP-Mannose." *The Journal of Biological Chemistry* **287** (53): 44418–24. doi:10.1074/jbc.M112.398321.
- FAO. 2005. *Endogenous and Exogenous Feed Toxins*. http://www.fao.org/DOCREP/ARTICLE/AGRIPPA/659_en-10.htm (Accessed 14 January 2005).
- Fauzi, M., E.H. Kardhinata, dan L.A.P. Putri. 2015. Identifikasi dan Inventarisasi Genotip Tanaman Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) di Kabupaten Serdang Bedagi Sumatera Utara. *Jurnal Online Agroekoteknologi* **3** (3): 1082-1088.
- FAO. 2014. Broiler Sample Profile. <http://www.fao.org/wairdocs/lead/x6170e/x6170e3g.htm> (Accessed 16 June 2014).
- Ferket, P.R. 2004. "Alternatives to Antibiotics in Poultry Production : Responses , Practical Experience and Recommendations." In *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium, Kentucky, USA*, 56–67.
- Ferket, P.R., and A.G. Gernat. 2006. "Factors that Affect Feed Intake of Meat Birds : A Review." *International Journal of Poultry Science* **5** (10): 905–11.
- Fernandez, F., M. Hinton, and B. Van Gils. 2002. "Dietary Mannan-Oligosaccharides and Their Effect on Chicken Caecal Microflora in Relation to *Salmonella enteritidis* Colonization." *Avian Pathology* **31** (1): 49–58. doi:10.1080/03079450120106000.
- Fouché, N. 2009. "Expression of Mannanases in Fermentative Yeasts." Thesis. Stellenbosch University.
- Fuadi, A.M., H. Abdillah, A. Achmad, E.P. Danang, dan A. Setiawan. 2015. "Pengaruh Kadar Glukosa dan Waktu Inokulasi pada Optimasi Pembuatan Enzim Selulase dengan Menggunakan Jamur *Aspergillus niger* dan Substrat Kertas." In *Simposium Nasional Rapi XIV*: 186–92.
- Gaewchingduang, S., and P. Pengthemkeerati. 2010. "Enhancing Efficiency for Reducing Sugar from Cassava Bagasse by Pretreatment." *International Journal of Environmental and Ecological Engineering* **4** (10): 477–80.

- Gibson, G.R., and M.B. Roberfroid. 1995. "Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics." *The Journal of Nutrition* **125** (6): 1401–12. doi:10.1079/NRR200479.
- Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. "Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)." Agricultural Handbook, No. 379, ARS-USDA. Washington, DC.
- Haryati, T. dan Supriyati. 2010. "Pemanfaatan Senyawa Oligosakarida dari Bungkil Kedelai dan Ubi Jalar pada Ransum Ayam Pedaging." *JITV* **15** (4): 253–60.
- Haryati, T., M.H. Togatorop, A.P. Sinurat, T. Purwadaria, dan Murtiyeni. 2006. "Pemanfaatan Bungkil Kelapa Fermentasi dengan *Aspergillus niger* dalam Ransum Ayam Pedaging." *JITV* **11** (3): 182–90.
- Hasriyanti, H., I. Abbas, dan M.N.Z. Leo. 2016. Aplikasi peta jenis tanah dalam mengidentifikasi lahan berpotensi untuk perkebunan kelapa sawit di Kecamatan Cendana Kabupaten Enrekang. *Jurnal Pendidikan Geografi* **21** (1) Jan 2016.
- Hooge, D.M. 2004a. "Metha-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003." *International Journal of Poultry Science* **3** (3): 163–74.
- . 2004b. "Turkey Pen Trials with Dietary Mannan Oligosaccharide: Meta-Analysis, 1993-2003." *International Journal of Poultry Science* **3** (3): 179–88. <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ijps/2004/179-188.pdf>.
- Hooge, D.M., A. Kiers, and A. Connolly. 2013. "Meta-Analysis Summary of Broiler Chicken Trials with Dietary Actigen™ (2009-2012)." *International Journal of Poultry Science* **12** (1): 1–8.
- Hu, H.L., J. van den Brink, B.S. Gruben, H.A.B. Wösten, J.D. Gu, and R.P. de Vries. 2011. "Improved Enzyme Production by Co-cultivation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* and with other Fungi." *International Biodeterioration and Biodegradation* **65** (1): 248–52.
- Husniati. 2016. "Sumber Galaktomanan Dari Fungi *Aspergillus Niger* Isolat Tanah Humus Dan Karakteristiknya." <http://docplayer.info/29569887-Abstrak-sumber-galaktomanan-dari-fungi-aspergillus-niger-isolat-tanah-humus-dan-karakterisasinya-oleh-husniati.html>. (Diakses 14 Mei 2016).
- Ibrahim, D., H. Puspitaloka, A.R. Rahim, and S.L. Hong. 2014. "Address: School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia, 11800 Penang, Malaysia."
- Ibrahim, S. 2008. "Hubungan Ukuran-Ukuran Usus Halus dengan Berat Badan Broiler." *Agripet* **8** (2): 42–46.
- Iji, P.A., A.A. Saki, and D.R. Tivey. 2001. "Intestinal Structure and Function of Broiler Chickens on Diets Supplemented with a Mannan Oligosaccharide." *Journal of Science Food and Agriculture* **81** (12): 1186–92.
- Jaafar, M.D. and M.C. Jarvis. 1992. Mannans of Oil Palm Kernels. *Phytochemistry* **31** (2): 463-464.

- Jaelani, A. 2007. "Peningkatan Kulaitas Bungkil Inti Sawit Oleh Kapang *Trichoderma Reesei* Sebagai Pendegradasi Polisakarida Mannan Dan Pengaruhnya Terhadap Penampilan Ayam Pedaging." *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- . 2011. "Performans Ayam Pedaging yang Diberi Enzim Beta Mannanase dalam Ransum yang Berbasis Bungkil Inti Sawit." *Media Sains* **3** (2): 228–37.
- Jaelani, A., W.G. Piliang, Suryahadi, dan I. Rahayu. 2008. "Hidrolisis Bungkil Inti Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) oleh Kapang *Trichoderma reesei* sebagai Pendegradasi Polisakarida Mannan (Hydrolysis of Palm Kernel Cake (*Elaeis guineensis* Jacq) by Fungi *Trichoderma reesei* that Degrades Mannan Polysaccharides)." *Animal Production* **10** (1): 42–49.
- Jahromi, M.F., J.B. Liang, N. Abdullah, Y.M. Goh, R. Ebrahimi and P. Shokryazdan. 2016. Extraction and characterization of oligosaccharides from palm kernel cake as prebiotic. *Bioresources* **11** (1): 674-695.
- Jamroz, D., A. Wiliczekiewicz, J. Orda, T. Wertelecki, and J. Skorupinska. 2004. "Response of Broiler Chickens to the Diets Supplemented with Feeding Antibiotic or Mannanoligosaccharides." *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* **7** (2) #06
- Jianyi, S., and L. Weifen. 2001. "The Preparation of Mannan Oligosakarida from *Sacharomyces cerevisiae* and its Effects on Intestinal Microflora in Chicken." *Journal of Zhijiang University (Agriculture and Life Science)* **27** (4): 447–50.
- Kasmiran, A. dan Tarmizi. 2012. "Aktivitas Enzim Selulase dari Kapang Selulolitik pada Substrat Ampas Kelapa." *Lentera* **12** (1): 9–14.
- Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. 2011. Warta Ekspor (DJPEN/MJL/002/06/2011 Edisi Juni). Kampanye Negatif Kelapa Sawit. Potensi Kelapa Sawit Indonesia. Kiat-kiat Menghadapi Kampanye Negatif Kelapa Sawit. http://djpen.kemendag.go.id/app_frontend/admin/docs/publication/2481336970842.pdf. (Diakses pada 29 Mei 2018)
- Kinoshita, M., Y. Suzuki, and Y. Saito. 2002. Butyrate Reduces Colonic Paracellular Permeability by Enhancing PPAR γ Activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **293**: 827–831.
- Klis, F.M., P. Mol, K. Hellingwerf, and S. Brul. 2002. "Dynamics of Cell Wall Structure in *Saccharomyces cerevisiae*." *FEMS Microbiology Reviews* **26** (3): 239–56. doi:10.1016/S0168-6445(02)00087-6.
- Koc, F., H. Samli, A. Okur, M. Ozduven, H. Akyurek, and N. Senkoylu. 2010. "Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and/or Mannanoligosaccharide on Performance, Blood Parameters and Intestinal Microbiota of Broiler Chicks." *Bulgarian Journal of Agricultural Science* **16** (5): 643-650.
- Kocher, A., N.J. Rodegers, and M. Choct. 2004. "Efficacy of Alternatives to AGPS in Broilers Challenged with *Clostridium perfringens*." In *Proceeding of Australian Poultry Science Symposium*, 130–34.
- Kompiang, I.P. 2009. "Pemanfaatan Mikroorganiesm sebagai Probiotik untuk Meningkatkan Produksi Ternak Unggas di Indonesia." *Pengembangan Inovasi Pertanian* **2** (3): 177–91.

- Krisnan, R. 2010. "Ekstraksi dan Produksi Mannan Oligosakarida (MOS) dari Bungkil Inti Sawit Sebagai Antimikroba (Enterobacter) Dan Immunostimulan Untuk Menekan Angka Kematian Sebesar 20-30%."
- Kurakake, M. and T. Komaki. 2001. "Production of β -Mannanase and β -Mannosidase from *Aspergillus awamori* K4 and Their Properties." *Current Microbiology* **42** (6): 377–80. doi:10.1007/s002840010233.
- Kusumaningati, M.A., A. Muhibuddin, and Nimatuzzahroh. 2017. "Potency of *Aspergillus* sp. in Hydrolysis Process to Produce Ethanol from Vegetable and Fruit Wastes at Wonokromo Market, Surabaya." *International Journal of Science and Technology* **6** (1): 1–7.
- Lawal, T.E., E.A. Iyayi, B.A. Adeniyi, and O.A. Adaramoye. 2010. "Biodegradation of Palm Kernel Cake with Multienzyme Complexes from Fungi and Its Feeding Value for Broilers." *International Journal of Poultry Science* **9** (7): 695–701.
- Lehninger, A.L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Erlangga. Jakarta.
- Lubis, R.D. 2008. "Aspergilosis." <http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/3432/08E00886.pdf;jsessionid=3B2A24A67E971783EAB4D718F2A1EE13?sequence=1> (Diakses 14 Mei 2016).
- Macfarlane, G.T., H. Steed and S. Macfarlane. 2008. "Bacterial Metabolism and Health-Related Effects of Galacto-Oligosaccharides and Other Prebiotics." *Journal of Applied Microbiology* **104** (2): 305-344.
- Manin, F. 2010. "Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* dari Saluran Pencernaan Ayam Buras Asal Lahan Gambut sebagai Sumber Probiotik." *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* **XIII** (5): 221–28.
- Markovic, R, D Sefer, M Krsti, and B Petrujki. 2009. "Effect of Different Growth Promoters on Broiler Performance and Gut Morphology." *Archivos de Medicina Veterinaria* **41** (2): 163–69. <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=173013746010>.
- May, D.J. and B.D. Lott. 2000. The Effect of Environmental Temperature on Growth and Feed Conversion of Broilers to 21 Days of Age. *Poultry Science* **79** (5): 660-671.
- McDonald, D.E., D.W. Pethick, B.P. Mullan, and D.J. Hampson. 2001. "Increasing Viscosity of the Intestinal Contents Alters Small Intestinal Structure and Intestinal Growth, and Stimulates Proliferation of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Newly-Weaned Pigs." *British Journal of Nutrition* **86**: 487–98. doi:10.1079/BJN2001416.
- Melliawati, R., A.C. Djohan, dan Yopi. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Enzim Protease. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* **1** (2): 184-188
- Metia, M. 2016. Teknologi Pasca Panen Ayam Potong (Broiler). *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Pendidikan Tinggi*, Padang.

- Midilli, M., M. Alp, N. Kocabağlı, Ö.H. Muğlali, N. Turan, H. Yilmaz, and S. Çakir. 2008. "Effects of Dietary Probiotic and Prebiotic Supplementation on Growth Performance and Serum IgG Concentration of Broilers." *South African Journal of Animal Sciences* **38** (1): 21–27. doi:10.4314/sajas.v38i1.4104.
- Miguel, J.C., S.L. Rodriguez-Zas, and J.E. Pettigrew. 2004. "Efficacy of a Mannan Oligosaccharide (Bio-Mos((R))) for Improving Nursery Pig Performance." *Journal of Swine Health and Production* **12** (6): 296–307.
- Mirzaie, S., M. Zaghari, S. Aminzadeh, and M. Shivazad. 2012. "The Effects of Non-Starch Polysaccharides Content of Wheat and Xylanase Supplementation on the Intestinal Amylase, Aminopeptidase and Lipase Activities, Ileal Viscosity and Fat Digestibility in Layer Diet." *Iranian Journal of Biotechnology* **10** (3): 208–14.
- Moftakharzadeh, S.A., H. Moravej, and M. Shivazad. 2017. Effect of Using the Matrix Values for NSP-Degrading Enzymes on Performance, Water Intake, Litter Moisture and Jejunal Digesta Viscosity of Broilers Fed Barley-Based Diet. *Maringá* **39** (1): 65-72.
- Mohamed, M.A., H.M.A. Hassan, and E.M.A. El-Barkouky. 2008. "Effect of Mannan Oligosaccharide on Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chicks." *Journal of Agriculture & Social Science* **4** (1): 13–17. http://www.fspublishers.org/jass/past-issues/JASSVOL_4_NO_1/3.pdf.
- Mojsov, K. 2010. "The Effects of Different Carbon Sources on Biosynthesis of Pectinolytic Enzymes by *Aspergillus niger*." *ATI - Applied Technologies & Innovations* **3** (3): 23–29.
- Mrudula, S., and R Murugammal. 2011. "Production of Cellulase by *Aspergillus niger* Under Submerge and Solid State Fermentation Using Coir Waste as a Substrate." *Brazilian Journal of Microbiology* **42**: 1119–27.
- Muangkeow, N., and C. Chinajariyawong. 2009. "Determination of True Amino Acid Digestibility and Metabolizable Energy in Fermented Palm Kernel Meal with *Aspergillus wentii* TISTR 3075 for Chickens." *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)* **6** (2): 231–41.
- Norita, S.M., M. Rosfarizan, and A.B. Ariff. 2010. "Evaluation of the Activities of Concentrated Crude Mannan-Degrading Enzymes Produced by *Aspergillus niger*." *Malaysian Journal of Microbiology* **6** (2): 171–80.
- Noraini S, MD. Jaafar MD, Ahmad A, and Sevagam. 2001. Palm Kernel Cake (PKC) Degrading Ability of Fungal Strains During Solid Substrate Fermentation. *Proc. 23rd MSAP Ann.Conf., 27-29 May 2001*, Langkawi, Malaysia. pp. 176-177.
- Nurchayani, E.P., C.I. Sutrisno, dan Surahmanto. 2006. "Utilitas Ampas Teh yang Difermentasi dengan *Aspergillus niger* didalam Rumen." *Jurnal Protein* **13** (1): 17–22.
- Nurhayati. 2005. Evaluasi Nutrisi Campuran Bungkil Intisawit dan Onggok yang Difermentasi Menggunakan *Aspergillus niger* sebagai Bahan Pakan Alternatif. *Tesis*. Program Pascasarjana Unibraw. Malang.

- Nurhayati. 2007. "Pengaruh Tingkat Penggunaan Campuran Bungkil Inti Sawit dan Onggok Terfermentasi oleh *Aspergillus niger* dalam Pakan terhadap Penampilan Ayam Pedaging [The Effect of Usage Level of Fermented Palm Kernel Cake-Cassava Byproduct Mixture in Ration on Broiler Performance]." *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture* **32** (1): 28–32.
- Nurhayati, O. Sjoftan, dan Koentjoko. 2006. "Kualitas Nutrisi Campuran Bungkil Inti Sawit dan Onggok yang Difermentasi Menggunakan *Aspergillus niger* [The Nutritional Quality of Palm Kernel Cake and Tapioca Waste Mixture Fermented by *Aspergillus Niger*]." *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture* **3** (3): 172–78.
- Nurhayati, C.U. Wirawati, dan D.D. Putri. 2009. Kajian fermentasi campuran bungkil inti sawit dan onggok serta aplikasinya sebagai pakan yang dikombinasi dengan kunyit untuk menghasilkan unggas organik. *Laporan Penelitian*. Polinela. Bandar Lampung.
- Nurhayati, CU. Wirawati, dan D.D. Putri. 2011. Kajian fermentasi campuran bungkil inti sawit dan onggok dengan lama fermentasi dan level penambahan mineral yang berbeda. *Prosiding: Peran strategis sains dan teknologi dalam membangun karakter bangsa. Seminar Nasional Sains Dan Teknologi – IV*. Universitas Lampung. 29 – 30 Nopember 2011.
- Nursadin, I. Suswanto, dan Supriyanto. 2012. "Penapisan Jamur Antagonis Asidofilik Lignoselulolitik dari Tanah Gambut terhadap Penyakit Layu Fusarium." *Jurnal Perkebunan & Lahan Tropika* **2** (1): 27–34.
- Obadina, A.O., O.B. Oyewole, L.O Sanni, and S.S. Abiola. 2006. "Fungal Enrichment of Cassava Peels Proteins." *African Journal of Biotechnology* **5** (3): 302–4.
- Pan, X.D., F.Q. Chen, T.X. Wu, H.G. Tang, and Z.Y. Zhao. 2009. Prebiotic Oligosaccharides Change the Concentrations of Short-Chain Fatty Acids and the Microbial Population of Mouse Bowel. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* **10** (4): 258-263.
- Pangesti, N.W.I., A. Pangastuti, dan E.N. Retnaningtyas. 2012. "Pengaruh Penambahan Molase pada Produksi Enzim Xilanase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi." *Bioteknologi* **9** (2): 41–48. doi:10.13057/biotek/c090202.
- Pangestu, E., J. Achmadi, F. Wahyono, dan L.K. Nuswantara. 2009. "Beberapa Bahan Pakan Hasil Samping Agroindustri Terhadap Kalsium (Characteristic of Binding Capacity of Fiber Sources from Some Agroindustry Byproduct)." In *Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan*. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang, 55–63.
- Pasaribu, T., T. Purwadaria, A.P. Sinurat, J. Rosida, dan D.O.D. Saputra. 2001. "Evaluasi Nilai Gizi Lumpur Sawit Hasil Fermentasi dengan *Aspergillus niger* pada Berbagai Perlakuan Penyimpanan." *JITV* **6** (4): 224–30.
- Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, D.F. Figueiredo, M.M. Boiago, S.R. Carvalho, and V.F. Bordon. 2005. Intestinal Mucosa Development in Broiler Chickens Fed Natural Growth Promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science* **7** (4): 221-229.

- Phong, N.V., N.T. Hoa Ly, N.V. Nhac, and D.T. Hang. 2013. "Protein Enrichment of Cassava by-Products Using *Aspergillus Niger* and Feeding the Product to Pigs." *Livestock Research for Rural Development* **25** (7): Article #130. <http://www.lrrd.org/lrrd25/7/hang25130.htm>.
- Pimentel, L.R., F. Ferreira, R.R. Silva, A. Resende, E. Santana, D.O. Rodrigues, and P.A.D. Oliveira. 2015. "Acta Scientiarum Feeding Behavior of Lactating Cows Fed Palm Kernel Cake in the Diet." *Acta Scientiarum Animal Sciences* **37** (1): 83–89. doi:10.4025/actascianimsci.v37i1.23391.
- Pothiraj, C., A. Arun, and M. Eyini. 2015. "Simultaneous Saccharification and Fermentation of Cassava Waste for Ethanol Production." *Biofuel Research Journal* **5**: 196–202.
- PTPN VII. 2004. <http://www.ptpn7.co.id/indver/sawithslkebun.asp> (Diakses pada 3 Desember 2004).
- Puastuti, W., D. Yulistiani, dan I.W.R. Susana. 2014. "Evaluasi Nilai Nutrisi Bungkil Inti Sawit yang Difermentasi dengan Kapang sebagai Sumber Protein Ruminansia." *JITV* **19** (2): 143–51.
- Puls and K. Poutanen. 1989. Mechanism of enzyme hydrolysis of hemicelluloses (xylans) and procedures for determination of the enzyme activities involved. In *Enzyme Systems for Lignocellulose Degradation*, pp. 151-165. Edited by M. P. Coughlan. London: Elsevier Applied Science.
- Purnawan, A., Yopi, and T.T. Irawadi. 2017. "Production of Manooligomannan from Palm Kernel Cake by Mannanase Produced from *Streptomyces Cyaenus*." *Biosaintifika* **9** (1): 73-80.
- Purwadaria, T., A.P Sinurat, T. Haryati, I. Sutikno, Supriyati, dan J. Darma. 1998. "Korelasi antara Aktivitas Enzim Mannanase dan Selulase terhadap Kadar Serat Lumpur Sawit Hasil Fermentasi dengan *Aspergillus niger*." *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **3** (4): 230–36.
- Rahayu, E., P.B. Hastuti, dan J. Banamtuan. 2008. "Kajian Produktivitas Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) pada Lahan yang Diaplikasi Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit di PT. SAM. 1. Kabupaten Kampar Riau" **15** (1): 24–47.
- Rachmawati, I., Suranto, dan R. Setyaningsih. 2005. Uji antibakteri bakteri asam laktat asal asinan sawi terhadap bakteri patogen. *Bioteknologi* **2** (2): 43-48.
- Ramin, M., A.R. Alimon, and M. Ivan. 2010. "Effects of Fungal Treatment on the in Vitro Digestion of Palm Kernel Cake." *Livestock Research for Rural Development* **22** (4): Article #82.
- Ramli, N., K. Takegawa, and S. Iwahara. 1994. "Degradation of Unsaturated Polysaccharide Derived from Acidic Polysaccharide of *Fusarium* Sp. M7-1 by a Bacterium Isolated from Soil." *Journal of Fermentation and Bioengineering* **77** (5): 572–74. doi:10.1016/0922-338X(94)90133-3.
- Retnani, Y., N. Hasanah, Rahmayeni, dan L. Herawati. 2010. "Uji Sifat Fisik Ransum Ayam Broiler Bentuk Pellet yang Ditambahkan Perikat Onggok melalui Proses Penyemprotan Air." *Agripet* **10** (1): 13–18.

- Rezaei, S., M.F. Jahromi, J.B. Liang, I. Zulkifli, A.S. Farjam, V. Laudadio, and V. Tufarelli. 2015. Effect of Oligosaccharides Extract from Palm Kernel Expeller on Growth Performance, Gut Microbiota and Immune Response in Broiler Chickens. *Poultry Science* **94**: 2414-2420.
- Risa, E., R. Semaun dan I.D. Novita. 2014. Evaluasi Penurunan Angka Mortalitas dan Morbiditas Ayam Pedaging yang Mendapatkan Penambahan Tepung Lempuyang (*Zingiber aromaticum* val) dalam Ransum. *Jurnal Galung Tropika* **3** (3): 192-200.
- Risnajati, D. 2011. "Pengaruh Tingkat Penambahan Tepung Daun Singkong dalam Ransum Komersial terhadap Performa Broiler Strain CP 707." *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* **XIV** (2): 62–67.
- Rofiq, M.N. 2003. Pengaruh Pakan Berbahan Baku Lokal terhadap Performans Vili Usus Halus Ayam Broiler. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* **5** (5): 190-194.
- Rokade, J.J., M. Kagate, S.K. Bhanja, M. Mehra, A. Goel, M. Vispute and A.B. Mandal. 2017. "Effect of Mannan-Oligosaccharides (MOS) Supplementation on Performance, Immunity and HSP70 Gene Expression in Broiler Chicken during Hot-Dry Summer." *Indian Journal of Animal Research* **1**: 1-7.
- Rombe, M.B. 2012. "Kajian Efisiensi Biaya Penggunaan Makanan pada Ayam Broiler yang Diberi Ransum Rumput Laut (Study of Income Over Feed and Chick Cost Efficiency of Broiler Fed on Sea Grass)." *JITP* **2** (2): 138–43.
- Rosa, P.S., D.E. Faria Filho, F. Dalhke, B.S. Vieira, M. Macari, and R.L. Furlan. 2007. "Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens with Different Growth Potential and Submitted to Heat Stress." *Brazilian Journal of Poultry Science* **9** (3): 181–86.
- Saenphoom, P., Juan Boo Liang, Y.W. Ho, T.C. Loh, and M. Rosfarizan. 2011. "Effect of Enzyme Treatment on Chemical Composition and Production of Reducing Sugars in Palm (*Elaeis Guineensis*) Kernel Expeller." *African Journal of Biotechnology* **10** (68): 15372–77. doi:10.5897/AJB11.1211.
- Sajith, S., P. Priji, S. Sreedevi, and S. Benjamin. 2016. "An Overview on Fungal Cellulases with an Industrial Perspective." *Journal Nutrition & Food Sciences* **6** (1): 1–13. doi:10.4172/2155-9600.1000461.
- Saleh, A., M.M.D. Pakpahan, dan N. Angelin. 2009. "Pengaruh Konsentrasi Pelarut, Temperatur dan Waktu Pemasakan pada Pembuatan Pulp dari Sabut Kelapa Muda." *Jurnal Teknik Kimia* **16** (3): 35–44.
- Samal, L. and N.C. Behura, 2015. Prebiotics: An Emerging Nutritional Approach for Improving Gut Health of Livestock and Poultry. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, **10**: 724-739.
- Sandi, S., R. Palupi, dan Amyesti. 2012. "Pengaruh Penambahan Tahu dan Dedak Fermentasi terhadap Karkas, Usus dan Lemak Abdomen Ayam Broiler." *Agrinak* **2** (1): 1–5.
- Sari, L, dan T. Purwadaria. 2004. "Pengkajian Nilai Gizi Hasil Fermentasi Mutan *Aspergillus niger* pada Substrat Bungkil Kelapa dan Bungkil Inti Sawit." *Biodiversitas* **5** (2): 48–51.

- Sari, M.L., A. Abrar, dan M. Merint. 2013. "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Usus Ayam Broiler." *Agripet* **13** (1): 43–48.
- Sarica, S., M. Corduk, G.F. Yarim, G. Yenisehirli, and U. Karatas. 2009. "Effects of Novel Feed Additives in Wheat Based Diets on Performance, Carcass and Intestinal Tract Characteristics of Quail." *South African Journal of Animal Science* **39** (2): 144–57.
- Sarwono, S.R., T. Yudiarti, dan E. Suprijatna. 2012. "Pengaruh Pemberian Probiotik terhadap Trigliserida Darah, Lemak Abdominal, Bobot dan Panjang Saluran Pencernaan Ayam Kampung (The Effect of Probiotic on Serum Triglyceride, Abdominal Fat, Weight and Length of Digestive Organs of Kampung Chicken)." *Animal Agriculture Journal* **1** (2): 157–67.
- Sebayang, F. 2005. "Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim α -Amilase dari *Aspergillus niger* dengan Menggunakan Media Campuran Onggok dan Dedak." *Jurnal Komunikasi Penelitian* **17** (5): 81–88.
- Sekoni, A.A., J.J. Omege, G.S. Bawa, and P.M. Esuga. 2008. "Evaluation of Enzyme (Maxigrain®) Treatment of Graded Levels of Palm Kernel Meal (PKM) on Nutrient Retention." *Pakistan Journal of Nutrition* **7** (4): 614–19.
- Setiawan, I. dan E. Sujana. 2014. "Bobot Akhir, Persentase Karkas Dan Lemak Abdominal Ayam Broiler Yang Di Panen Pada Umur Yang Berbeda." In *Seminar Nasional Peternakan Unpad. Pengembangan Sistem Produksi Dan Pemanfaatan Sumberdaya Lokal Untuk Kemandirian Pangan Asal Ternak*, 563–67.
- Shahlaei, M., and A. Pourhossein. 2013. "Biomass of *Aspergillus niger*: Uses and Applications." *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences* **2** (1): 66–73.
- Sigres, D.P. dan A. Sutrisno. 2015. "Enzim Mananase dan Aplikasi di Bidang Industri: Kajian Pustaka Mannanase and the Application in Industry: A Review." *Jurnal Pangan dan Agroindustri* **3** (3): 899–908.
- Sinovec, Z., R. Markovic, and D. Gledic. 2005. "Influence of Bio-Mos on Broilers Performances and Gut Morphology." In *Proceedings of the 15th European Symposium on Poultry Nutrition*, 353–55.
- Sinurat, A.P. 2012. "Teknologi Pemanfaatan Hasil Samping Industri Sawit Untuk Meningkatkan Ketersediaan Bahan Pakan Unggas Nasional." *Pengembangan Inovasi Pertanian* **5** (2): 65–78.
- Sjofjan, O., Aulanni'am, D. Irfan, dan Surisdarto. 2001. "Perubahan Kandungan Bahan Organik dan Protein pada Fermentasi Campuran Onggok dan Kotoran Ayam." *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* **13**: 1–7.
- Sjofjan, O., Surisdarto, Irfan D., dan Aulanni'am. 2002. Penggunaan Fermentasi Campuran Onggok dan Kotoran Ayam pada Pakan Ternak Unggas. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* **14**: 66-73.
- Skinner-Noble, D.O., and R.G. Teeter. 2004. "Components of Feed Efficiency in Broiler Breeding Stock: Influence of Water Intake and Gastrointestinal Contents." *Poultry Science* **83**: 1260–63.

- Sohail, M. U., A. Ijaz, M. Younus, M. Z. Shabbir, Z. Kamran, S. Ahmad, H. Anwar, et al. 2013. "Effect of Supplementation of Mannan Oligosaccharide and Probiotic on Growth Performance, Relative Weights of Viscera, and Population of Selected Intestinal Bacteria in Cyclic Heat-Stressed Broilers." *Journal of Applied Poultry Research* **22** (3): 485–91.
- Spring, P. 1996. "Effects of Mannanoligosaccharide on Different Cecal Parameters and on Cecal Concentrations of Enteric Pathogens in Poultry." Swiss Federal Institute of Technology Zurich.
- Spring, P., C. Wenk, K.A. Dawson, and K.E. Newman. 2000. "The Effects of Dietary Mannanoligosaccharides on Cecal Parameters and the Concentrations of Enteric Bacteria in the Ceca of Salmonella-Challenged Broiler Chicks 1." *Poultry Science* **79**: 205–11.
- Srivastava, P.K., and M. Kapoor. 2017. "Production, Properties, and Applications of Endo- β -Mannanases." *Biotechnology Advances* **35** (1): 1–19. doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.11.001.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1989. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Diterjemahkan oleh Bambang Sumantri. Gramedia Pustaka. Jakarta
- Subowo, Y.B. 2010. "Uji Aktifitas Enzim Selulase dan Ligninase dari Beberapa Jamur dan Potensinya sebagai Pendukung Pertumbuhan Tanaman Terong (*Solarium melongena*)." *Berita Biologi* **10** (1): 1–6.
- . 2015. "Seleksi Jamur Penghasil Enzym Ligninase Dan Kemampuannya Menguraikan Limbah Cair Kelapa Sawit." In *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, **1** (8):1766–70. doi:10.13057/psnmbi/m010804.
- Subekti, K. H. Abbas, dan K.A. Zura. 2012. Kualitas Karkas (Berat Karkas, Persentase Karkas, dan Lemak Abdominal) Ayam Broiler yang Diberi Kombinasi CPO (Crude Palm Oil) dan Vitamin C (Ascorbic Acid) dalam Ransum sebagai Anti Stress. *Jurnal Peternakan Indonesia*, **14** (3): 447-453.
- Suciati, P., W. Tjahjaningsih, E.D. Masithah, dan H. Pramono. 2016. "Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla* spp.) sebagai Kandidat Probiotik." *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* **8** (2): 94-108.
- Sudarmadji, S., Haryono, dan Suhardi, B. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Ed.ke-3. Liberty. Yogyakarta.
- Sugito, W. Manalu, D.A. Astuti, E. Handharyani, dan Chairul. 2007. "Morfometrik Usus dan Performa Ayam Broiler yang Diberi Cekaman Panas dan Ekstrak N-Heksana Kulit Batang 'Jaloh' (*Salix Tetrasperma Roxb*)." *Media Peternakan* **30** (3): 198–206.
- Suherman, K., Suprawi, dan T. Widyastuti. 2013. "Konsentrasi VFA Total dan Amonia pada Onggok yang Difermentasi dengan *Aspergillus niger* secara *in Vitro*". *Jurnal Ilmiah Peternakan* **1** (3): 827-834.

- Sundari, and S. Rosningsih. 2014. "Palm Kernel Cake Fermented with *Candida Utilis* for Mannose-Enriched Local Feed Supply." *International Journal of Scientific & Engineering Research* **5** (9): 832-835.
- Sundu, B., and J. Dingle. 2003. "Use of Enzymes to Improve the Nutritional Value of Palm Kernel Meal and Copra Meal." In *Proceedings of Queensland Poultry Science Symposium* **11**: 1–15.
- Suprayogi, W.P.S. 2010. Inkorporasi Sulfur dalam Protein Onggok melalui Teknologi Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Caraka Tani* **XXV** (1): 33-37.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA University Press. Surabaya.
- Supriyati, T Pasaribu, H Hamid, dan A Sinurat. 1998. "Fermentasi Bungkil Inti Sawit secara Substrat Padat dengan Menggunakan *Aspergillus niger*." *JITV* **3** (3): 165–70.
- Surono, L.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Sutikno, Marniza, Selviana, dan N. Musita. 2016. Pengaruh Konsentrasi Enzim Selulase, α -amilase dan Glukoamilase terhadap Kadar Gula Reduksi dari Onggok. *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian* **21** (1): 1-12.
- Susilawati, I.O., U.M. Batubara, dan H. Riani. 2015. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi. *Prosiding Emirata bidang MIPA BKS-PTN Barat*. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Swe, K.H., A.R. Alimon, and M. Ramin. 2009. "Effect of Delaying Sporulation by Addition of Ammonium Sulphate on the Fermentation of Palm Kernal Cake Based Substrate by *Aspergillus Niger*." *American Journal of Agricultural and Biological Science* **4** (4): 262–65. doi:10.3844/ajabssp.2009.262.265.
- Syahrudin, Yatno, N. Ramli, dan K.G. Wiryawan. 2008. "Polisakarida Mannan Produk Samping Pembuatan Konsentrat Protein dari Bungkil Inti Sawit Sebagai Pengendali *Eschericia Coli* (*in Vitro*) (Mannan Polysaccharides in Byproducts of Protein Concentrate from Palm Kernels as *Escherichia coli* Control)." In *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 617–22.
- Tabler, G.T., I.L. Berry and A.M. Mendenhall. 2004. Mortality Patterns Associated with Commercial Broiler Production. University of Arkansas. <http://www.thepoultrysite.com/articles/253/mortality-patterns-associated-with-commercial-broiler-production> (Accessed 20 June 2014).
- Tabrani, H., E. Kusumanti, Surono, E.T. Setiatin, B. Waluyo, dan H.E. Prasetyono. 2004. http://www.undip.ac.id/riset/riset_pub_bangteklpn.htm (Diakses pada 3 Desember 2004).
- Tafsin, M. 2007. "Kajian Polisakarida Mannan dari Bungkil Inti Sawit sebagai Pengendali *Salmonella thypimurium* dan Immunostimulan pada Ayam." *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Tampoebolon, B.I.M. 2009. "Kajian Perbedaan Aras dan Lama Pemeraman Fermentasi Ampas Sagu dengan *Aspergillus niger* terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar." In *Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan*. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro. Semarang, 235–43.
- Toghyani, M., and S.A. Tabeidian. 2011. "Effect of Probiotic and Prebiotic as Antibiotic Growth Promoter Substitutions on Productive and Carcass Traits of Broiler Chicks." In *International Conference on Food Engineering and Biotechnology* **9**: 82–86.
- Umam, M.K., H.S. Prayogi, dan V.M.A. Nurgiartiningsih. 2014. The Performance of Broiler Rearing in System Stage Floor and Double Floor. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* **24** (3): 79-87.
- Vale, M.M., D.J. Moura, I.A. Nääs, and D.F. Pereira. 2010. "Characterization of Heat Waves Affecting Mortality Rates of Broilers between 29 Days and Market Age." *Brazilian Journal of Poultry Science* **12** (4): 279–85. doi:10.1590/S1516-635X2010000400010.
- Verdonk, J.M.A.J., S.B. Shim, P. Van Leeuwen, and M.W.A. Verstegen. 2005. "Application of Inulin-Type Fructans in Animal Feed and Pet Food." *British Journal of Nutrition* **93** (Suppl. 1): S125–38. doi:10.1079/bjn20041355.
- Waldroup, P.W., C.A. Fritts, and F. Yan. 2003. "Utilization of Bio-Mos® Mannan Oligosaccharide and Bioplex® Copper in Broiler Diets." *International Journal of Poultry Science* **2** (1): 44–52.
- Xu, Z. R., X. T. Zou, C. H. Hu, M. S. Xia, X. A. Zhan, and M. Q. Wang. 2003. "Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Growing Pigs." *Poultry Science* **82**: 1030–36. doi:10.1093/ps/82.6.1030.
- Yang, Y., P.A. Iji, and M. Choct. 2009. "Dietary Modulation of Gut Microflora in Broiler Chickens: A Review of the Role of Six Kinds of Alternatives to In-Feed Antibiotics." *World's Poultry Science Journal* **65**: 97–114. doi:10.1017/S0043933909000008.
- Yang, Y., P.A. Iji, A. Kocher, L.L. Mikkelsen, and M. Choct. 2007a. "Effects of Mannanligosaccharide on Growth Performance, the Development of Gut Microflora, and Gut Function of Broiler Chickens Raised on New Litter." *Journal of Applied Poultry Research* **16**: 280–88.
- . 2008a. "Effects of Mannanligosaccharide and Fructooligosaccharide on the Response of Broilers to Pathogenic *Escherichia Coli* Challenge." *British Poultry Science* **49** (5): 550–59.
- Yang, Y., P.A. Iji, A. Kocher, E. Thomson, L.L. Mikkelsen, and M. Choct. 2008b. "Effects of Mannanligosaccharide in Broiler Chicken Diets on Growth Performance, Energy Utilisation, Nutrient Digestibility and Intestinal Microflora." *British Poultry Science* **49** (2): 186–94. doi:10.1080/00071660801998613.

- Yang, Y, P A Iji, and M Choct. 2007b. "Effects of Different Dietary Levels of Mannanligosaccharides on Growth Performance and Gut Development of Broiler Chickens." *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **20** (7): 1084–91.
- Yasin, I. 2010. "Pencernaan Serat Kasar pada Ternak Unggas." *Jurnal Ilmiah Inkoma* **21** (3): 125–35.
- Yokomizo, F. 2005. Mannose-Containing Palm Kernel Meal. US 6896918 B2, issued 2005.
- Yopi, A. Purnawan, A. Thontowi, H. Hermansyah, dan A. Wijanarko. 2006. "Preparasi Mannan dan Mannanase Kasar dari Bungkil Kelapa Sawit." *Jurnal Teknologi* **20** (4): 312–19.
- Youssef, A.S., M.Y. El-Naggar, S.A. El-Assar, and E.A. Beltagy. 2006. "Optimization of Cultural Conditions for β -Mannanase Production by a Local *Aspergillus Niger* Isolate." *International Journal of Agriculture & Biology* **8** (4): 539–45.
- Zahura, A.U., M.M. Rahman, A. Inoue, and T. Ojima. 2012. "Characterization of a β -D-Mannosidase from a Marine Gastropod, *Aplysia Kurodai*." *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **162** (1–3): 24–33. doi:10.1016/j.cbpb.2008.02.011.
- Zhang, W.F., D.F. Li, W.Q. Lu, and G.F. Yi. 2003. "Effects of Isomalto-Oligosaccharides on Broiler Performance and Intestinal Microflora." *Poultry Science* **82** (4): 657–63.
- Zikic, D., L. Peric, G. Uscebrka, S. Stojanovic, D. Milic, and L. Nollet. 2011. "Influence of Dietary Mannanligosaccharides on Histological Parameters of the Jejunal Mucosa and Growth Performance of Broiler Chickens." *African Journal of Biotechnology* **10** (32): 6172–76. doi:10.5897/AJB10.2103.
- Zulaidah, A. 2011. "Modifikasi Ubi Kayu secara Biologi Menggunakan Starter Bimo–CF Menjadi Tepung Termodifikasi Pengganti Gandum." *Thesis*. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur dan pengukuran NDF serta ADF.

- a) Prosedur dan pengukuran NDF
- Menimbang ± 1 g sampel yang telah digiling dan lewat saringan 1 mm
 - Menempatkan sampel ke dalam beaker glass untuk didigesti.
 - Menambahkan 100 ml larutan detergent yang dingin (temperature kamar), 30 g (Sodium Lauryl Sulfat), 18,61g EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetat), 4,56 g (Natrium Hydrogen Pospat / $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 6,81 g (Natrium Tetra Borat Dechyrad / $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$), 5 g (Natrium Sulfat/ Na_2SO_3), dan 10 ml ethoxy ethanol.
 - Memanaskan larutan di atas selama 5 – 10 menit (mengurangi panas, apabila mulai mendidih untuk mencegah terjadinya busa).
 - Mengatur pendidihan dengan konstan, dan melakukan digesti selama 60 menit sejak mulai mendidih.
 - Menempatkan cawan yang telah ditimbang pada tempat penyaringan.
 - Menggoyang-goyangkan beaker glass untuk mencampur bagian yang padat.
 - Mengisi cawan dan menjalankan pompa vakum, diawali dengan vakum rendah, kemudian dinaikkan kecepatannya.
 - Mencuci sampel dalam cawan dengan air panas (80°C) dan menghentikan vakum serta mengisi dengan air, mengulangi pencucian. Mencuci cawan dua kali dengan aseton dan memvakum sampai kering. Mengeringkan cawan dalam oven pengering dengan suhu 105°C semalam.
 - Menimbang neutral detergent fiber yang merupakan dinding sel.
 - Perhitungan NDF (%):

$$\frac{\text{Berat cawan dan dinding sel} - \text{berat cawan}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

- b) Prosedur dan pengukuran ADF
- Menimbang ± 1 gram sampel kedalam beaker glass atau tempat lain yang dapat digunakan untuk digesti.
 - Menambahkan 100 ml larutan Acid detergent yang dingin (temperatur ruang) dan 2 ml decahydronaphthalene, 26,65 ml H_2SO_4 , 20 g CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide).
 - Memanaskan larutan di atas selama 5 – 10 menit (mengurangi panas untuk menghindari timbulnya busa).

Lampiran 1. (Lanjutan)

- Melakukan digesti selama 60 menit sejak mulai mendidih dengan mengatur tingkat didih yang rendah dan konstan.
- Menyaring dengan Crucible yang telah ditimbang beratnya pada tempat penyaringan dengan mempergunakan vakum dan sekali-kali diaduk dengan pengaduk gelas.
- Mencuci 2 kali dengan air panas (90 – 100°C).
- Mengulangi pencucian dengan acetone sampai air cucian tidak berwarna, dan dibantu dengan pengadukan memakai pengaduk gelas.
- Mencuci dengan hexane. Hexane ditambahkan pada cawan sewaktu cawan masih mengandung acetone (Hexane tidak perlu ditambahkan apabila tidak terjadi gumpalan-gumpalan).
- ADF dan hexane disedot (dengan vakum) dan keringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 8 jam atau semalam; kemudian dinginkan dalam desikator dan ditimbang.
- Perhitungan ADF (%):
$$\frac{\text{Berat cawan + fiber} - \text{berat cawan}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

c) Analisis kandungan selulosa dan lignin (Chesson, 1981)

- Satu g sampel kering (berat a) ditambahkan 150 ml H₂O atau alkohol-benzene dan direfluk pada suhu 100°C dengan water bath selama 1 jam.
- Hasilnya disaring, residu dicuci dengan air panas 300 ml.
- Residu kemudian dikeringkan dengan oven sampai beratnya konstan dan kemudian ditimbang (berat b).
- Residu ditambah 150 ml H₂SO₄ 1 N, kemudian direfluk dengan water bath selama 1 jam pada suhu 100°C.
- Hasilnya disaring dan dicuci sampai netral (300 ml) dan residunya dikeringkan hingga beratnya konstan, kemudian berat ditimbang (berat c).
- Residu kering ditambahkan 100 ml H₂SO₄ 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam.
- Ditambahkan 150 ml H₂SO₄ 1N dan direfluk pada suhu 100°C dengan water bath selama 1 jam pada pendingin balik.
- Residu disaring dan dicuci dengan H₂O sampai netral (400 ml).
- Residu kemudian dipanaskan dengan oven dengan suhu 105°C sampai beratnya konstan dan ditimbang (berat d).
- Selanjutnya residu diabukan dan ditimbang (berat e).

Perhitungan kadar selulosa dan kadar lignin menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Kadar selulosa} = ((c-d)/a) \times 100\%$$

$$\text{Kadar lignin} = ((d-e)/a) \times 100\%$$

Lampiran 2. Pengukuran kandungan gula reduksi

Pengukuran gula reduksi dilakukan dengan mencampur sampel dengan aquades hingga 100 ml dalam labu takar dan selanjutnya dilakukan pengambilan larutan sampel tersebut sebanyak 1 ml, 2 ml dan 3 ml serta meletakkan masing-masing sampel tersebut pada erlenmeyer. Penambahan larutan 25 ml reagen Luff-Schrool dan aquades sebanyak 24 ml, 23 ml serta 22 ml (hingga volume larutan 50 ml) ke dalam masing-masing erlenmeyer. Penutupan masing-masing erlenmeyer dengan kapas basah sebagai pendingin balik. Memanaskan masing-masing erlenmeyer yang telah berisi larutan sampel tersebut selama 2 menit dan dididamkan selama 10 menit, apabila terjadi pengurangan volume, maka ditambahkan aquades melalui botol semprot. Memilih salah satu dari 3 erlenmeyer tersebut untuk dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali berdasarkan endapan merah bata yang dihasilkan serta larutan biru CuSO_4 yang seimbang. Mendinginkan erlenmeyer yang dipilih secara cepat dengan cara merendam erlenmeyer tersebut dalam air dingin. Menambahkan 15 ml KI 20% dan 25 ml H_2SO_4 26,5% melalui dinding erlenmeyer dan menutup erlenmeyer tersebut dengan aluminium foil. Mentitrasi larutan sampai dalam erlenmeyer dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N sampai warna kuning mentah atau pucat. Menambahkan 2 ml amilum 1% kemudian dihomogenkan. Mentitrasi kembali dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sampai tepat larutan berwarna coklat susu. Melakukan titrasi dengan prosedur yang sama pada larutan blanko (campuran antara aquades sebanyak 25 ml dengan 25 ml larutan luff-Schrool). Penentuan kadar gula reduksi dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar gula reduksi (\%)} = \frac{\text{mg gula reduksi}}{\text{mg sampel}} \times \text{FP} \times 100\%$$

(Sudarmadji dkk., 1984)

Lampiran 3. *Time line* perlakuan periode saat pemberian MOS

| Perlakuan | Periode pemeliharaan ayam minggu ke | | | | |
|----------------|-------------------------------------|---|---|---------------------------|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| P ₁ | Pakan mengandung MOS | | | Pakan kontrol (tanpa MOS) | |
| P ₂ | Pakan mengandung MOS | | | | |
| P ₃ | Pakan kontrol (tanpa MOS) | | | Pakan mengandung MOS | |

Keterangan: P₁ = pemberian MOS saat fase *starter* (ayam umur 1-3 minggu), P₂ = pemberian MOS dari fase *starter* sampai *finisher* (ayam umur 1-5 minggu), P₃ = pemberian MOS mulai fase *finisher* (ayam umur 4-5 minggu).

 → Pakan mengandung MOS
 → Pakan kontrol (tanpa MOS)

Lampiran 4. Denah percobaan penelitian

| | | | |
|----------|----------|----------|----------|
| M_2P_2 | M_0P_1 | M_2P_1 | M_2P_1 |
| M_1P_2 | M_2P_2 | M_0P_1 | M_2P_3 |
| M_0P_3 | M_0P_1 | M_1P_1 | M_2P_3 |
| M_0P_3 | M_2P_2 | M_1P_3 | M_2P_1 |
| M_1P_3 | M_0P_2 | M_0P_3 | M_1P_2 |
| M_2P_3 | M_0P_1 | M_1P_3 | M_2P_1 |
| M_0P_3 | M_2P_2 | M_1P_1 | M_2P_3 |
| M_1P_2 | M_1P_1 | M_0P_2 | M_1P_3 |
| M_1P_2 | M_0P_2 | M_0P_2 | M_1P_1 |

Lampiran 5. Penghitungan jumlah bakteri patogen (*Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*) serta non patogen (*Lactobacillus* sp.) (Sari dkk., 2013)

Penghitungan jumlah bakteri dilakukan dengan cara memotong usus halus sepanjang 5 cm. Sampel bagian usus halus kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang terisi media selektif MRS Broth 3 mldan diinkubasi selama 24 jam. Cairan hasil inkubasi kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dilakukan pengenceran serial sampai 10^{-9} . Larutan hasil pengenceran 10^{-9} dikultur pada media MRS agar dengan metode *pour plate* dan diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dilakukan setelah proses penginkubasian selama 24 jam pada media cawan petri. Koloni bakteri dicari dengan mengamati secara morfologis dari bentuk dan warnanya. Setelah itu dihitung jumlah koloni bakteri dengan pengenceran yang mengandung jumlah koloni antara 30 – 30 (Sari dkk., 2013).

Lampiran 6. Prosedur dan pengukuran pH digesta usus (Mirzaie *et al.*, 2012).

Usus halus dipotong secepatnya setelah ayam dipotong. Kedua sisi usus halus kemudian dilakukan pengikatan. Ikatan pada kedua sisi usus dilepaskan dan kemudian digesta dikeluarkan. Sampel digesta usus diambil sebanyak 1 g dengan cara menyayat usus secara melintang. Sampel digesta kemudian diletakkan kedalam beaker glass. Aquades sebanyak 9 kali digesta usus dimasukkan dalam beaker glass yang berisi sampel digesta usus. Digesta usus dan aquades dicampur dan diaduk selama 5 menit. Pengukuran pH larutan campuran digesta usus dan aquades menggunakan pH meter (Mirzaie *et al.*, 2012).

Lampiran 7. Pengukuran viskositas digesta usus

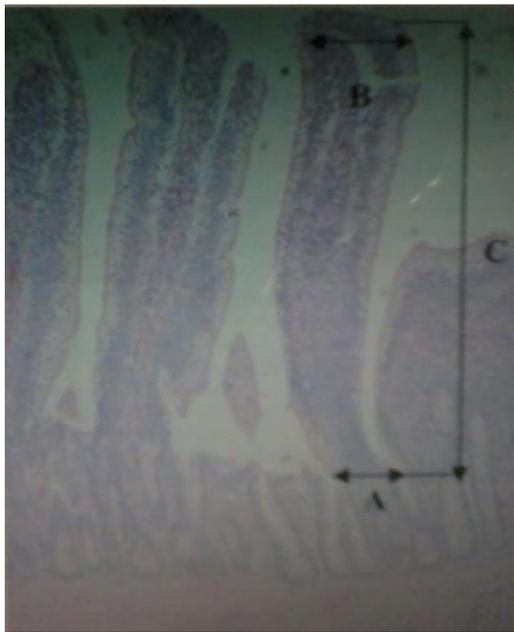
Viskositas digesta usus halus diukur dengan cara mengambil digesta segar dari usus kemudian dicairkan dengan air 1:1 (v/v), dicampur dan kemudian disentrifugasi pada 12.000 g selama 8 menit. Bagian supernatan diambil sebanyak 0,5 ml dan diukur menggunakan viscometer pada suhu 25°C dengan kecepatan 60 per detik (McDonald *et al.*, 2001).

Lampiran 8. Perhitungan luas vili usus dan luas permukaan mukosa usus (Iji *et al.*, 2001 dan Drozdowski *et al.*, 2005).

Perhitungan luas vili usus dan luas permukaan mukosa usus dilakukan dengan membuat preparat histopatologi usus, yaitu dengan memotong bagian usus secara membujur dan dibilas dengan air untuk membersihkan isinya. Sampel usus dimasukkan kedalam larutan fixative BNF (Buffer Normal Formalin) 10%. Setelah mengalami fiksasi maka langkah selanjutnya adalah dehidrasi yaitu menarik air dalam batas tertentu dengan menggunakan larutan alkohol atau aceton konsentrasi bertingkat. Larutan alkohol yang digunakan pada konsentrasi awal adalah 70% selama 2 jam, kemudian dipindahkan kedalam alkohol 80% selama 2 jam, lalu dipindahkan kedalam alkohol 95% selama 2 jam, terakhir dipindahkan kedalam alkohol absolut (PA) I, II, III selama 2 jam. Selanjutnya proses clearing (penjernihan) dengan larutan xylol I, II, dan III selama 1 jam yaitu untuk menarik alkohol dalam jaringan sehingga jaringan menjadi jernih. Proses infiltrating dengan memasukkan jaringan pada parafin I, II, dan III dengan suhu 60 °C selama 1 jam. Proses embedding (penanaman jaringan) berfungsi untuk membantu memudahkan pemotongan jaringan yang sangat tipis. Jaringan dimasukkan dalam parafin cair, setelah didinginkan *parafine block tissue* dipotong dengan mikrotome setebal 5-6 mikron. Potongan direntangkan pada air hangat suhu ± 50 °C, dan setelah dilekatkan pada gelas objek, jaringan dimasukkan kedalam inkubator 40 °C. Proses deparafinasi dan rehidrasi dilakukan dengan memasukkan jaringan kedalam xylol selama 2-3 menit, dipindahkan kedalam alkohol absolut selama 1-2 menit, alkohol 95% 1-2 menit, alkohol 70% 1-2 menit, dan dipindahkan ke aquadest.

Lampiran 8. (Lanjutan)

Proses pewarnaan dengan hematoksinlin dilakukan selama 10 menit, lalu dicuci dengan air kran mengalir selama 15 menit, dimasukkan kedalam larutan eosin selama 20 menit, kemudian aquadest. Setelah itu proses dehidrasi kembali dilakukan dengan menarik air dan alkohol, yaitu slide dipindahkan dari alkohol 70% sampai alkohol 95%, alkohol absolut I, II, dan III masing-masing beberapa celupan. Proses clearing xylol I, II, dan III masing-masing 5-15 menit, lalu proses mounting menggunakan canada balsam. Pengukuran jumlah dan tinggi vili (Gambar 10) dilakukan menggunakan mikroskop olympus pembesaran objek 4 kali dan video mikrometer pada 10 lapang pandang untuk setiap preparat histopatologi.



Gambar 10. Vili usus: A (lebar basal vili), B (lebar apikal vili), dan C (tinggi vili); Luas vili usus (mm^2/vili) = $[(A+B)/B] \times C$ (Iji *et al*, 2001); Luas permukaan mukosa usus = kerapatan vili (vili/mm^2) x luas vili usus (mm^2/mm^2).

Lampiran 9. Analisis statistik Neutral Detergent Fibre (NDF)

Analysis of Variance Table

Response: NDF

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 929.88 | 309.96 | 257.390 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 1677.39 | 419.35 | 348.224 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 326.57 | 27.21 | 22.599 | 4.196e-14 *** |
| Residuals | 40 | 48.17 | | 1.20 | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for NDF

Mean Square Error: 1.204244

Rasio, means

| | NDF | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|----------|----------|
| R0 | 67.30599 | 4.379716 | 15 | 61.25656 | 73.82183 |
| R1 | 58.14070 | 7.052851 | 15 | 50.89292 | 68.12545 |
| R2 | 58.95486 | 7.138511 | 15 | 50.73404 | 72.15668 |
| R3 | 57.72142 | 5.166988 | 15 | 50.75388 | 64.66116 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 |
|--|-----------|-----------|-----------|
| | 0.8098586 | 0.8515298 | 0.8787884 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R0 | 67.31 |
| b | R2 | 58.95 |
| c | R1 | 58.14 |
| c | R3 | 57.72 |

Duncan's new multiple range test for NDF

Mean Square Error: 1.204244

Waktu, means

| | NDF | std | r | Min | Max |
|----|----------|---------|----|----------|----------|
| W0 | 65.57531 | 2.44617 | 12 | 61.42699 | 69.64068 |
| W1 | 67.87092 | 3.44511 | 12 | 63.39887 | 73.82183 |
| W2 | 58.72243 | 7.42255 | 12 | 52.84467 | 71.63992 |
| W3 | 54.45002 | 4.34324 | 12 | 50.75388 | 61.69849 |
| W4 | 56.03504 | 5.17605 | 12 | 50.73404 | 64.46866 |

Lampiran 9. (Lanjutan)

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0.9054494 | 0.9520393 | 0.9825152 | 1.0044831 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | W1 | 67.87 |
| b | W0 | 65.58 |
| c | W2 | 58.72 |
| d | W4 | 56.04 |
| e | W3 | 54.45 |

Duncan's new multiple range test for NDF

Mean Square Error: 1.204244

Rasio:Waktu, means

| | NDF | std | r | Min | Max |
|-------|----------|-----------|---|----------|----------|
| R0:W0 | 68.62040 | 1.4185870 | 3 | 67.00046 | 69.64068 |
| R0:W1 | 72.04763 | 1.5385774 | 3 | 71.08055 | 73.82183 |
| R0:W2 | 70.81913 | 0.8059206 | 3 | 70.02895 | 71.63992 |
| R0:W3 | 61.49743 | 0.2236405 | 3 | 61.25656 | 61.69849 |
| R0:W4 | 63.54537 | 1.5944654 | 3 | 61.70424 | 64.46866 |
| R1:W0 | 66.15901 | 0.6913183 | 3 | 65.39945 | 66.75144 |
| R1:W1 | 66.58133 | 1.4774931 | 3 | 65.18097 | 68.12545 |
| R1:W2 | 54.23521 | 0.3674323 | 3 | 53.97362 | 54.65529 |
| R1:W3 | 51.57327 | 0.6966826 | 3 | 50.89292 | 52.28521 |
| R1:W4 | 52.15470 | 0.5359233 | 3 | 51.76309 | 52.76547 |
| R2:W0 | 64.99562 | 0.5239780 | 3 | 64.45990 | 65.50701 |
| R2:W1 | 68.75188 | 3.0315271 | 3 | 66.34547 | 72.15668 |
| R2:W2 | 56.62476 | 0.4769122 | 3 | 56.26965 | 57.16682 |
| R2:W3 | 53.19618 | 0.4145394 | 3 | 52.73849 | 53.54641 |
| R2:W4 | 51.20585 | 0.4213533 | 3 | 50.73404 | 51.54464 |
| R3:W0 | 62.52620 | 1.1296694 | 3 | 61.42699 | 63.68405 |
| R3:W1 | 64.10285 | 0.6436304 | 3 | 63.39887 | 64.66116 |
| R3:W2 | 53.21063 | 0.3716390 | 3 | 52.84467 | 53.58770 |
| R3:W3 | 51.53319 | 1.0053250 | 3 | 50.75388 | 52.66795 |
| R3:W4 | 57.23423 | 0.1191563 | 3 | 57.15418 | 57.37117 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 8 | 9 | 10 | 11 | | |
| 1.8109 | 1.9041 | 1.9650 | 2.0090 | 2.0425 | 2.0690 |
| 2.0906 | 2.1085 | 2.1236 | | | |
| 2.1364 | | | | | |
| 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| 18 | 19 | 20 | | | |
| 2.1474 | 2.1569 | 2.1653 | 2.1725 | 2.1789 | 2.1845 |
| 2.1895 | 2.1938 | | | | |
| 2.1977 | | | | | |

Lampiran 9. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|-------|-------|
| a | R0:W1 | 72.05 |
| a | R0:W2 | 70.82 |
| b | R2:W1 | 68.75 |
| b | R0:W0 | 68.62 |
| c | R1:W1 | 66.58 |

| | | |
|----|-------|-------|
| c | R1:W0 | 66.16 |
| cd | R2:W0 | 65.00 |
| de | R3:W1 | 64.10 |
| de | R0:W4 | 63.55 |
| ef | R3:W0 | 62.53 |
| f | R0:W3 | 61.50 |
| g | R3:W4 | 57.23 |
| g | R2:W2 | 56.62 |
| h | R1:W2 | 54.24 |
| hi | R3:W2 | 53.21 |
| hi | R2:W3 | 53.20 |
| i | R1:W4 | 52.15 |
| i | R1:W3 | 51.57 |
| i | R3:W3 | 51.53 |
| i | R2:W4 | 51.21 |

Lampiran 10. Analisis statistik Acid Detergent Fibre (ADF)

Analysis of Variance Table

Response: ADF

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 115.687 | 38.562 | 74.721 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 196.683 | 49.171 | 95.276 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 149.944 | 12.495 | 24.212 | 1.307e-14 *** |
| Residuals | 40 | 20.643 | 0.516 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for ADF

Mean Square Error: 0.516087

Rasio, means

| | ADF | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|----------|----------|
| R0 | 44.23982 | 2.992672 | 15 | 39.63952 | 47.81111 |

R1 40.35503 3.306187 15 35.91864 46.95596
 R2 42.10072 1.768316 15 40.15223 46.48246
 R3 42.66528 1.794335 15 40.24946 44.85313

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

2 3 4
 0.5301678 0.5574476 0.5752922

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R0 | 44.24 |
| b | R3 | 42.67 |
| c | R2 | 42.1 |
| d | R1 | 40.36 |

Duncan's new multiple range test for ADF

Mean Square Error: 0.516087

Waktu, means

| | ADF | std | r | Min | Max |
|----|----------|-----------|----|----------|----------|
| W0 | 40.43255 | 0.4637641 | 12 | 39.63952 | 41.20156 |
| W1 | 45.16588 | 1.3647978 | 12 | 42.73895 | 47.24586 |
| W2 | 43.19550 | 2.7135635 | 12 | 40.58487 | 47.81111 |
| W3 | 40.34387 | 2.4905707 | 12 | 35.91864 | 43.51137 |
| W4 | 42.56323 | 3.2219302 | 12 | 38.23063 | 46.82293 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

2 3 4 5
 0.5927456 0.6232453 0.6431962 0.6575773

Lampiran 10. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | W1 | 45.17 |
| b | W2 | 43.2 |
| c | W4 | 42.56 |
| d | W0 | 40.43 |
| d | W3 | 40.34 |

Duncan's new multiple range test for ADF

Mean Square Error: 0.516087

Rasio:Waktu, means

| | ADF | std | r | Min | Max |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|
| R0:W0 | 40.59793 | 0.83927955 | 3 | 39.63952 | 41.20156 |
| R0:W1 | 46.11038 | 0.98468726 | 3 | 45.49144 | 47.24586 |
| R0:W2 | 47.26333 | 0.53785598 | 3 | 46.73598 | 47.81111 |
| R0:W3 | 41.07509 | 0.14937295 | 3 | 40.91420 | 41.20938 |
| R0:W4 | 46.15236 | 1.15804402 | 3 | 44.81516 | 46.82293 |
| R1:W0 | 40.18323 | 0.41988839 | 3 | 39.72189 | 40.54306 |
| R1:W1 | 45.89167 | 1.01837295 | 3 | 44.92646 | 46.95596 |
| R1:W2 | 40.78157 | 0.27628664 | 3 | 40.58487 | 41.09744 |

| | | | | | |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|
| R1:W3 | 36.39882 | 0.49169696 | 3 | 35.91864 | 36.90128 |
| R1:W4 | 38.51985 | 0.39581647 | 3 | 38.23063 | 38.97095 |
| R2:W0 | 40.48592 | 0.32638714 | 3 | 40.15223 | 40.80447 |
| R2:W1 | 44.28913 | 1.95287311 | 3 | 42.73895 | 46.48246 |
| R2:W2 | 43.56617 | 0.36692850 | 3 | 43.29295 | 43.98323 |
| R2:W3 | 41.32770 | 0.32205241 | 3 | 40.97213 | 41.59979 |
| R2:W4 | 40.83466 | 0.33601271 | 3 | 40.45841 | 41.10483 |
| R3:W0 | 40.46313 | 0.23612103 | 3 | 40.24946 | 40.71663 |
| R3:W1 | 44.37236 | 0.44552469 | 3 | 43.88507 | 44.75883 |
| R3:W2 | 41.17094 | 0.28755015 | 3 | 40.88778 | 41.46269 |
| R3:W3 | 42.57389 | 0.83054437 | 3 | 41.93007 | 43.51137 |
| R3:W4 | 44.74607 | 0.09315711 | 3 | 44.68349 | 44.85313 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | | | | | | | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| 8 | | 9 | 10 | 11 | | | | |
| 1.1855 | 1.2465 | 1.2864 | 1.3152 | 1.3371 | 1.3545 | 1.3686 | 1.3803 | 1.3902 |
| 1.3986 | | | | | | | | |
| | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | | |
| 18 | | 19 | 20 | | | | | |
| 1.4058 | 1.4121 | 1.4175 | 1.4222 | 1.4264 | 1.4301 | 1.4333 | 1.4362 | 1.4387 |

Lampiran 10. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|----|-------|-------|
| a | R0:W2 | 47.26 |
| ab | R0:W4 | 46.15 |
| ab | R0:W1 | 46.11 |
| bc | R1:W1 | 45.89 |
| cd | R3:W4 | 44.75 |
| d | R3:W1 | 44.37 |
| d | R2:W1 | 44.29 |
| de | R2:W2 | 43.57 |
| e | R3:W3 | 42.57 |
| f | R2:W3 | 41.33 |
| f | R3:W2 | 41.17 |
| f | R0:W3 | 41.08 |
| f | R2:W4 | 40.83 |
| f | R1:W2 | 40.78 |
| f | R0:W0 | 40.60 |
| f | R2:W0 | 40.49 |
| f | R3:W0 | 40.46 |
| f | R1:W0 | 40.18 |
| g | R1:W4 | 38.52 |
| h | R1:W3 | 36.40 |

Lampiran 11. Analisis statistik selulosa

Analysis of Variance Table

Response: Selulosa

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 481.49 | 160.496 | 808.338 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 626.23 | 156.558 | 788.505 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 151.57 | 12.631 | 63.614 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 40 | 7.94 | 0.199 | | |

Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Selulosa

Mean Square Error: 0.198551

Rasio, means

| | Selulosa | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|----------|----------|
| R0 | 28.48745 | 2.707065 | 15 | 25.08008 | 32.82266 |
| R1 | 24.79913 | 4.575768 | 15 | 19.37838 | 32.22751 |
| R2 | 23.08012 | 4.064790 | 15 | 18.13146 | 29.90923 |
| R3 | 20.71801 | 3.366920 | 15 | 17.02448 | 25.48558 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 |
|--|-----------|-----------|-----------|
| | 0.3288425 | 0.3457631 | 0.3568314 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R0 | 28.49 |
| b | R1 | 24.8 |
| c | R2 | 23.08 |
| d | R3 | 20.72 |

Duncan's new multiple range test for Selulosa

Mean Square Error: 0.198551

Waktu, means

| | Selulosa | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|----------|----------|
| W0 | 26.46186 | 1.628716 | 12 | 23.50001 | 28.32738 |
| W1 | 28.90535 | 2.555809 | 12 | 24.98806 | 32.22751 |
| W2 | 24.60097 | 5.243393 | 12 | 18.97915 | 32.82266 |
| W3 | 21.01661 | 3.322748 | 12 | 17.02448 | 26.15080 |
| W4 | 20.37110 | 3.248672 | 12 | 17.98236 | 26.08262 |

Lampiran 11. (Lanjutan)

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0.3676571 | 0.3865749 | 0.3989496 | 0.4078697 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | W1 | 28.91 |
| b | W0 | 26.46 |
| c | W2 | 24.6 |
| d | W3 | 21.02 |
| e | W4 | 20.37 |

Duncan's new multiple range test for Selulosa

Mean Square Error: 0.198551

Rasio:Waktu, means

| | Selulosa | std | r | Min | Max |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|
| R0:W0 | 27.91237 | 0.57703142 | 3 | 27.25344 | 28.32738 |
| R0:W1 | 30.36089 | 0.64835685 | 3 | 29.95336 | 31.10853 |
| R0:W2 | 32.44660 | 0.36924181 | 3 | 32.08457 | 32.82266 |
| R0:W3 | 26.06559 | 0.09478965 | 3 | 25.96349 | 26.15080 |
| R0:W4 | 25.65180 | 0.51590646 | 3 | 25.08008 | 26.08262 |
| R1:W0 | 27.26968 | 0.28495027 | 3 | 26.95660 | 27.51387 |
| R1:W1 | 31.49704 | 0.69894472 | 3 | 30.83459 | 32.22751 |
| R1:W2 | 25.18290 | 0.17060891 | 3 | 25.06144 | 25.37795 |
| R1:W3 | 20.52102 | 0.27721021 | 3 | 20.25031 | 20.80430 |
| R1:W4 | 19.52499 | 0.20063191 | 3 | 19.37838 | 19.75364 |
| R2:W0 | 26.74485 | 0.21561012 | 3 | 26.52441 | 26.95528 |
| R2:W1 | 28.49793 | 1.25658009 | 3 | 27.50046 | 29.90923 |
| R2:W2 | 21.66379 | 0.18245952 | 3 | 21.52793 | 21.87118 |
| R2:W3 | 20.19396 | 0.15736450 | 3 | 20.02021 | 20.32691 |
| R2:W4 | 18.30008 | 0.15058431 | 3 | 18.13146 | 18.42116 |
| R3:W0 | 23.92053 | 0.43217542 | 3 | 23.50001 | 24.36348 |
| R3:W1 | 25.26553 | 0.25368080 | 3 | 24.98806 | 25.48558 |
| R3:W2 | 19.11059 | 0.13347405 | 3 | 18.97915 | 19.24601 |
| R3:W3 | 17.28588 | 0.33721823 | 3 | 17.02448 | 17.66652 |

Lampiran 12. Analisis statistik hemiselulosa

Analysis of Variance Table

Response: Hemiselulosa

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 609.48 | 203.160 | 2483.07 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 1194.92 | 298.729 | 3651.15 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 122.84 | 10.237 | 125.12 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 40 | 3.27 | 0.082 | | |

Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Hemiselulosa

Mean Square Error: 0.08181776

Rasio, means

| | Hemiselulosa | std | r | Min | Max |
|----|--------------|----------|----|----------|----------|
| R0 | 23.06618 | 3.950474 | 15 | 16.88908 | 28.43912 |
| R1 | 17.78568 | 5.040442 | 15 | 13.38875 | 26.20839 |
| R2 | 16.05414 | 5.666247 | 15 | 10.27563 | 24.70254 |
| R3 | 14.65614 | 4.608759 | 15 | 8.82381 | 20.43459 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 |
|--|-----------|-----------|-----------|
| | 0.2110939 | 0.2219557 | 0.2290608 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R0 | 23.07 |
| b | R1 | 17.79 |
| c | R2 | 16.05 |
| d | R3 | 14.66 |

Duncan's new multiple range test for Hemiselulosa

Mean Square Error: 0.08181776

Waktu, means

| | Hemiselulosa | std | r | Min | Max |
|----|--------------|----------|----|----------|----------|
| W0 | 24.64275 | 3.070851 | 12 | 19.71036 | 28.43912 |
| W1 | 21.70504 | 2.601743 | 12 | 19.51380 | 26.57597 |
| W2 | 15.52693 | 4.873332 | 12 | 11.95689 | 23.82881 |
| W3 | 14.10614 | 4.449431 | 12 | 8.82381 | 20.48911 |
| W4 | 13.47180 | 2.669484 | 12 | 10.27563 | 17.64573 |

Lampiran 12. (Lanjutan)

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0.2360101 | 0.2481540 | 0.2560978 | 0.2618238 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | W0 | 24.64 |
| b | W1 | 21.71 |
| c | W2 | 15.53 |
| d | W3 | 14.11 |
| e | W4 | 13.47 |

Duncan's new multiple range test for Hemiselulosa

Mean Square Error: 0.08181776

Rasio:Waktu, means

| | Hemiselulosa | std | r | Min | Max |
|-------|--------------|------------|---|----------|-----------|
| R0:W0 | 28.022470 | 0.57930748 | 3 | 27.36094 | 28.439119 |
| R0:W1 | 25.937256 | 0.55389018 | 3 | 25.58910 | 26.575968 |
| R0:W2 | 23.555798 | 0.26806460 | 3 | 23.29297 | 23.828808 |
| R0:W3 | 20.422345 | 0.07426754 | 3 | 20.34235 | 20.489112 |
| R0:W4 | 17.393012 | 0.43642135 | 3 | 16.88908 | 17.645726 |
| R1:W0 | 25.975779 | 0.27142987 | 3 | 25.67756 | 26.208385 |
| R1:W1 | 20.689659 | 0.45912017 | 3 | 20.25451 | 21.169484 |
| R1:W2 | 13.453643 | 0.09114564 | 3 | 13.38875 | 13.557848 |
| R1:W3 | 15.174454 | 0.20498560 | 3 | 14.97427 | 15.383929 |
| R1:W4 | 13.634844 | 0.14010687 | 3 | 13.53247 | 13.794518 |
| R2:W0 | 24.509692 | 0.19759086 | 3 | 24.30768 | 24.702538 |
| R2:W1 | 20.462748 | 0.30950590 | 3 | 20.10751 | 20.674220 |
| R2:W2 | 13.058589 | 0.10998370 | 3 | 12.97669 | 13.183598 |
| R2:W3 | 11.868481 | 0.09248695 | 3 | 11.76637 | 11.946620 |
| R2:W4 | 10.371190 | 0.08534054 | 3 | 10.27563 | 10.439809 |
| R3:W0 | 20.063070 | 0.36248222 | 3 | 19.71036 | 20.434594 |
| R3:W1 | 19.730482 | 0.19810566 | 3 | 19.51380 | 19.902328 |
| R3:W2 | 12.039692 | 0.08408881 | 3 | 11.95689 | 12.125010 |
| R3:W3 | 8.959297 | 0.17478068 | 3 | 8.82381 | 9.156581 |
| R3:W4 | 12.488159 | 0.02599917 | 3 | 12.47069 | 12.518038 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---------|---------|---------|---------|---------|
| 7 | 8 | 9 | 10 | |
| 0.47202 | 0.49631 | 0.51219 | 0.52365 | 0.53239 |
| 0.53931 | 0.54493 | 0.54960 | | |
| 0.55353 | | | | |
| 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| 17 | 18 | 19 | 20 | 16 |
| 0.5569 | 0.5597 | 0.5622 | 0.5644 | 0.5663 |
| 0.5679 | 0.5694 | 0.5707 | 0.5718 | |
| 0.57284 | | | | |

Lampiran 12. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|-------|-------|
| a | R0:W0 | 28.02 |
| b | R1:W0 | 25.98 |
| b | R0:W1 | 25.94 |
| c | R2:W0 | 24.51 |

| | | |
|----|-------|-------|
| d | R0:W2 | 23.56 |
| e | R1:W1 | 20.69 |
| ef | R2:W1 | 20.46 |
| ef | R0:W3 | 20.42 |
| fg | R3:W0 | 20.06 |
| g | R3:W1 | 19.73 |
| h | R0:W4 | 17.39 |
| i | R1:W3 | 15.17 |
| j | R1:W4 | 13.63 |
| jk | R1:W2 | 13.45 |
| k | R2:W2 | 13.06 |
| l | R3:W4 | 12.49 |
| lm | R3:W2 | 12.04 |
| m | R2:W3 | 11.87 |
| n | R2:W4 | 10.37 |
| o | R3:W3 | 8.96 |

Lampiran 13. Analisis statistik lignin

Analysis of Variance Table

Response: Lignin

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 37.638 | 12.546 | 256.046 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 131.721 | 32.930 | 672.055 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 41.741 | 3.478 | 70.988 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 40 | 1.960 | 0.049 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Lignin

Mean Square Error: 0.04899929

Rasio, means

| | Lignin | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|----------|----------|
| R0 | 14.15810 | 1.427658 | 15 | 11.49975 | 16.13741 |
| R1 | 13.42470 | 1.438901 | 15 | 11.19099 | 15.64721 |
| R2 | 13.94612 | 2.511177 | 15 | 10.16395 | 16.32127 |
| R3 | 12.12084 | 1.454457 | 15 | 10.17523 | 14.37110 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 |
|--|-----------|-----------|-----------|
| | 0.1633604 | 0.1717661 | 0.1772645 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R0 | 14.16 |
| b | R2 | 13.95 |
| c | R1 | 13.42 |
| d | R3 | 12.12 |

Duncan's new multiple range test for Lignin

Mean Square Error: 0.04899929

Waktu, means

| | Lignin | std | r | Min | Max |
|----|----------|-----------|----|----------|----------|
| W0 | 10.92612 | 0.6890315 | 12 | 10.16395 | 11.95290 |
| W1 | 12.91500 | 1.3509173 | 12 | 11.48156 | 15.23185 |
| W2 | 13.47664 | 1.8459455 | 12 | 10.99917 | 16.10931 |
| W3 | 14.49704 | 0.5799881 | 12 | 13.84882 | 15.51512 |
| W4 | 15.24739 | 1.1622352 | 12 | 13.38442 | 16.32127 |

Lampiran 13. (Lanjutan)

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0.1826425 | 0.1920403 | 0.1981878 | 0.2026190 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | W4 | 15.25 |
| b | W3 | 14.50 |
| c | W2 | 13.48 |
| d | W1 | 12.92 |
| e | W0 | 10.93 |

Duncan's new multiple range test for Lignin

Mean Square Error: 0.04899929

Rasio:Waktu, means

| | Lignin | std | r | Min | Max |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|
| R0:W0 | 11.77779 | 0.24348175 | 3 | 11.49975 | 11.95290 |
| R0:W1 | 14.86578 | 0.31745878 | 3 | 14.66624 | 15.23185 |
| R0:W2 | 13.95547 | 0.15881297 | 3 | 13.79975 | 14.11721 |
| R0:W3 | 14.28517 | 0.05194920 | 3 | 14.22922 | 14.33187 |

| | | | | | |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|
| R0:W4 | 15.90630 | 0.39911711 | 3 | 15.44544 | 16.13741 |
| R1:W0 | 11.32097 | 0.11829667 | 3 | 11.19099 | 11.42234 |
| R1:W1 | 13.18933 | 0.29268173 | 3 | 12.91192 | 13.49521 |
| R1:W2 | 12.91921 | 0.08752493 | 3 | 12.85689 | 13.01927 |
| R1:W3 | 14.22789 | 0.19219886 | 3 | 14.04020 | 14.42430 |
| R1:W4 | 15.46609 | 0.15892414 | 3 | 15.34997 | 15.64721 |
| R2:W0 | 10.24842 | 0.08262016 | 3 | 10.16395 | 10.32906 |
| R2:W1 | 11.89800 | 0.52462744 | 3 | 11.48156 | 12.48723 |
| R2:W2 | 15.95656 | 0.13439137 | 3 | 15.85649 | 16.10931 |
| R2:W3 | 15.41364 | 0.12011313 | 3 | 15.28102 | 15.51512 |
| R2:W4 | 16.21399 | 0.13341874 | 3 | 16.06460 | 16.32127 |
| R3:W0 | 10.35731 | 0.18712695 | 3 | 10.17523 | 10.54911 |
| R3:W1 | 11.70690 | 0.11754415 | 3 | 11.57833 | 11.80886 |
| R3:W2 | 11.07534 | 0.07735348 | 3 | 10.99917 | 11.15382 |
| R3:W3 | 14.06147 | 0.27431536 | 3 | 13.84882 | 14.37110 |
| R3:W4 | 13.40317 | 0.02790413 | 3 | 13.38442 | 13.43523 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|--|----|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | | | |
| | | 8 | | 9 | | 10 | | | | | |
| 0.36529 | 0.38408 | 0.39638 | 0.40524 | 0.41200 | 0.41736 | 0.42171 | 0.42532 | 0.42836 | | | |
| | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | | | | | 17 |
| 18 | | 19 | 20 | | | | | | | | |
| 0.4309 | 0.4332 | 0.4351 | 0.4368 | 0.4382 | 0.4395 | 0.4407 | 0.4417 | 0.4425 | 0.443304 | | |

Lampiran 13. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

| Groups, | Treatments | and means |
|---------|------------|-----------|
| a | R2:W4 | 16.21 |
| a | R2:W2 | 15.96 |
| a | R0:W4 | 15.91 |
| b | R1:W4 | 15.47 |
| b | R2:W3 | 15.41 |
| c | R0:W1 | 14.87 |
| d | R0:W3 | 14.29 |
| d | R1:W3 | 14.23 |
| d | R3:W3 | 14.06 |
| d | R0:W2 | 13.96 |
| e | R3:W4 | 13.40 |
| ef | R1:W1 | 13.19 |
| f | R1:W2 | 12.92 |
| g | R2:W1 | 11.90 |
| g | R0:W0 | 11.78 |
| g | R3:W1 | 11.71 |
| h | R1:W0 | 11.32 |
| h | R3:W2 | 11.08 |
| i | R3:W0 | 10.36 |
| i | R2:W0 | 10.25 |

Lampiran 14. Analisis statistik gula reduksi

Analysis of Variance Table

Response: Gulareduksi

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 75.926 | 25.309 | 1466.57 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 229.559 | 57.390 | 3325.58 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 112.298 | 9.358 | 542.28 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 40 | 0.690 | 0.017 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Gulareduksi

Mean Square Error: 0.01725705

Rasio, means

| | Gulareduksi | std | r | Min | Max |
|----|-------------|----------|----|----------|-----------|
| R0 | 2.802025 | 1.744904 | 15 | 1.381239 | 6.077100 |
| R1 | 3.863986 | 1.889651 | 15 | 1.759528 | 6.920252 |
| R2 | 5.050738 | 3.190065 | 15 | 1.728174 | 10.116533 |
| R3 | 5.742531 | 2.770503 | 15 | 2.033506 | 10.035881 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 |
|--|------------|------------|------------|
| | 0.09694718 | 0.10193560 | 0.10519868 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R3 | 5.743 |
| b | R2 | 5.051 |
| c | R1 | 3.864 |
| d | R0 | 2.802 |

Duncan's new multiple range test for Gulareduksi

| | | | | | | | | | | |
|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | | | |
| 18 | 19 | 20 | | | | | | | | |
| | 0.2558 | 0.2571 | 0.2582 | 0.2592 | 0.2601 | 0.2608 | 0.2615 | 0.2621 | 0.2626 | 0.26308 |

Lampiran 14. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|----|-------|-------|
| a | R2:W3 | 10.05 |
| b | R3:W3 | 9.82 |
| c | R3:W2 | 7.50 |
| d | R2:W4 | 6.91 |
| d | R1:W4 | 6.84 |
| e | R0:W4 | 5.99 |
| f | R1:W3 | 5.02 |
| f | R3:W4 | 5.03 |
| g | R3:W1 | 4.32 |
| g | R2:W2 | 4.18 |
| h | R0:W3 | 3.01 |
| hi | R1:W2 | 2.94 |
| i | R1:W1 | 2.74 |
| j | R2:W1 | 2.37 |
| k | R3:W0 | 2.07 |
| kl | R0:W0 | 1.93 |
| lm | R1:W0 | 1.78 |
| lm | R2:W0 | 1.74 |
| m | R0:W2 | 1.68 |
| n | R0:W1 | 1.40 |

Lampiran 15. Analisis statistik mannanosa

Analysis of Variance Table

Response: Mannosa

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|---------|---------|---------------|
| Rasio | 3 | 119666 | 39889 | 571.74 | < 2.2e-16 *** |
| Waktu | 4 | 450068 | 112517 | 1612.75 | < 2.2e-16 *** |
| Rasio:Waktu | 12 | 292968 | 24414 | 349.94 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 40 | 2791 | 70 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Mannosa

Mean Square Error: 69.76697

Rasio, means

| | Mannosa | std | r | Min | Max |
|----|----------|-----------|----|----------|----------|
| R0 | 429.1543 | 103.91474 | 15 | 305.5001 | 575.1419 |
| R1 | 432.8891 | 74.19956 | 15 | 339.9356 | 533.6406 |
| R2 | 539.4532 | 156.87673 | 15 | 342.0115 | 758.6019 |
| R3 | 480.4585 | 111.17187 | 15 | 327.1817 | 595.0011 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 |
|--|----------|----------|----------|
| | 6.164202 | 6.481380 | 6.688857 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | R2 | 539.5 |
| b | R3 | 480.5 |
| c | R1 | 432.9 |
| c | R0 | 429.2 |

Duncan's new multiple range test for Mannosa

Mean Square Error: 69.76697

Waktu, means

| | Mannosa | std | r | Min | Max |
|----|----------|------------|----|----------|----------|
| W0 | 343.8751 | 9.074323 | 12 | 327.1817 | 359.7796 |
| W1 | 428.9164 | 84.693092 | 12 | 305.5001 | 540.3717 |
| W2 | 453.9337 | 87.968301 | 12 | 366.6739 | 584.3739 |
| W3 | 597.5557 | 97.520804 | 12 | 519.4304 | 758.6019 |
| W4 | 528.1629 | 115.160408 | 12 | 369.7682 | 678.5935 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--|----------|----------|----------|----------|
| | 6.891787 | 7.246404 | 7.478370 | 7.645577 |

Lampiran 15. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | W3 | 597.6 |
| b | W4 | 528.2 |
| c | W2 | 453.9 |
| d | W1 | 428.9 |
| e | W0 | 343.9 |

Duncan's new multiple range test for Mannosa
 Mean Square Error: 69.76697

Rasio:Waktu, means

| | Mannosa | std | | r | Min | Max |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|-----|
| R0:W0 | 354.5086 | 7.3287432 | 3 | 346.1396 | 359.7796 | |
| R0:W1 | 309.6566 | 6.6127184 | 3 | 305.5001 | 317.2820 | |
| R0:W2 | 387.4947 | 4.4096838 | 3 | 383.1712 | 391.9858 | |
| R0:W3 | 527.2065 | 1.9172297 | 3 | 525.1415 | 528.9301 | |
| R0:W4 | 566.9050 | 14.2246466 | 3 | 550.4798 | 575.1419 | |
| R1:W0 | 343.8837 | 3.5933593 | 3 | 339.9356 | 346.9631 | |
| R1:W1 | 424.4094 | 9.4179847 | 3 | 415.4831 | 434.2521 | |
| R1:W2 | 368.4510 | 2.4961791 | 3 | 366.6739 | 371.3048 | |
| R1:W3 | 526.3743 | 7.1105791 | 3 | 519.4304 | 533.6406 | |
| R1:W4 | 501.3271 | 5.1514617 | 3 | 497.5629 | 507.1981 | |
| R2:W0 | 344.0716 | 2.0450835 | 3 | 342.0115 | 346.1013 | |
| R2:W1 | 445.8939 | 19.6611278 | 3 | 430.2870 | 467.9760 | |
| R2:W2 | 479.5270 | 4.0387324 | 3 | 476.5197 | 484.1174 | |
| R2:W3 | 753.6401 | 5.8728555 | 3 | 747.1560 | 758.6019 | |
| R2:W4 | 674.1332 | 5.5471837 | 3 | 667.9218 | 678.5935 | |
| R3:W0 | 333.0365 | 6.0170153 | 3 | 327.1817 | 339.2036 | |
| R3:W1 | 535.7059 | 5.3788025 | 3 | 529.8227 | 540.3717 | |
| R3:W2 | 580.2620 | 4.0527232 | 3 | 576.2712 | 584.3739 | |
| R3:W3 | 583.0021 | 18.2491002 | 3 | 562.0010 | 595.0011 | |
| R3:W4 | 370.2861 | 0.7709007 | 3 | 369.7682 | 371.1720 | |

alpha: 0.05 ; Df Error: 40

Critical Range

| | | | | | | | | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | | | |
| 8 | 9 | 10 | 11 | | | | | | |
| 13.784 | 14.493 | 14.957 | 15.291 | 15.546 | 15.748 | 15.913 | 16.049 | 16.164 | 16.2613 |
| | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | | |
| 19 | 20 | | | | | | | | |
| 16.345 | 16.418 | 16.481 | 16.536 | 16.585 | 16.627 | 16.665 | 16.698 | 16.727 | |

Lampiran 15. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

| Groups, | Treatments | and means |
|---------|------------|-----------|
| a | R2:W3 | 753.6 |
| b | R2:W4 | 674.1 |
| c | R3:W3 | 583.0 |
| cd | R3:W2 | 580.3 |
| d | R0:W4 | 566.9 |
| e | R3:W1 | 535.7 |
| e | R0:W3 | 527.2 |
| e | R1:W3 | 526.4 |
| f | R1:W4 | 501.3 |
| g | R2:W2 | 479.5 |
| h | R2:W1 | 445.9 |

| | | |
|----|-------|-------|
| i | R1:W1 | 424.4 |
| j | R0:W2 | 387.5 |
| k | R3:W4 | 370.3 |
| k | R1:W2 | 368.5 |
| l | R0:W0 | 354.5 |
| lm | R2:W0 | 344.1 |
| lm | R1:W0 | 343.9 |
| m | R3:W0 | 333.0 |
| n | R0:W1 | 309.7 |

Lampiran 16. Analisis statistik konsumsi pakan

Analysis of Variance Table

Response: Konsumsipakan

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|---------|---------|---------------|
| Mos | 2 | 83740 | 41870 | 11.9498 | 0.0001918 *** |
| Mos:Periode | 6 | 47059 | 7843 | 2.2385 | 0.0699198 . |
| Residuals | 27 | 94603 | 3504 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Konsumsipakan

Mean Square Error: 3503.826

Mos, means

| | Konsumsipakan | std | r | Min | Max |
|----|---------------|----------|----|---------|---------|
| M0 | 2367.005 | 81.38086 | 12 | 2249.19 | 2539.56 |
| M1 | 2298.931 | 70.32158 | 12 | 2218.78 | 2501.00 |
| M2 | 2249.350 | 36.19957 | 12 | 2185.90 | 2295.28 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

2 3

49.58350 52.09426

Means with the same letter are not significantly different.

| Konsumsipakan groups | | |
|----------------------|----------|---|
| M0 | 2367.005 | a |
| M1 | 2298.931 | b |
| M2 | 2249.350 | c |

Mos:Periode, means

| | Konsumsipakan | std | r | Min | Max |
|-------|---------------|-----------|---|---------|---------|
| M0:P1 | 2317.427 | 71.94630 | 4 | 2249.19 | 2418.23 |
| M0:P2 | 2357.215 | 55.44166 | 4 | 2283.13 | 2415.48 |
| M0:P3 | 2426.372 | 89.04691 | 4 | 2321.79 | 2539.56 |
| M1:P1 | 2287.090 | 28.79620 | 4 | 2255.41 | 2325.15 |
| M1:P2 | 2262.573 | 34.48301 | 4 | 2218.78 | 2301.71 |
| M1:P3 | 2347.130 | 105.19869 | 4 | 2263.03 | 2501.00 |
| M2:P1 | 2221.977 | 31.71960 | 4 | 2185.90 | 2263.22 |
| M2:P2 | 2282.750 | 12.90373 | 4 | 2265.97 | 2295.28 |
| M2:P3 | 2243.323 | 33.12604 | 4 | 2210.83 | 2277.28 |

Lampiran 17. Analisis statistik pertambahan bobot badan (PBB)

Analysis of Variance Table Response: PBB

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|---------|---------|------------|
| Mos | 2 | 61096 | 30547.8 | 8.6769 | 0.00123 ** |
| Mos:Periode | 6 | 25562 | 4260.3 | 1.2101 | 0.33150 |
| Residuals | 27 | 95056 | 3520.6 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for PBB

Mean Square Error: 3520.592

Mos, means

| | PBB | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|----------|----------|
| M0 | 1199.142 | 45.86328 | 12 | 1147.050 | 1286.500 |
| M1 | 1278.967 | 52.20878 | 12 | 1175.775 | 1352.396 |
| M2 | 1292.515 | 78.33285 | 12 | 1169.295 | 1428.542 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 27

Critical Range

2 3

49.70198 52.21875

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|------|
| a | M2 | 1293 |
| a | M1 | 1279 |
| b | M0 | 1199 |

| Mos:Periode, means | | | | | | |
|--------------------|----------|-----------|---|----------|----------|--|
| | PBB | std | r | Min | Max | |
| M0:P1 | 1171.315 | 21.90607 | 4 | 1154.242 | 1201.717 | |
| M0:P2 | 1244.894 | 32.88026 | 4 | 1218.042 | 1286.500 | |
| M0:P3 | 1181.218 | 43.58682 | 4 | 1147.050 | 1244.438 | |
| M1:P1 | 1270.498 | 73.12883 | 4 | 1175.775 | 1352.396 | |
| M1:P2 | 1306.628 | 25.06549 | 4 | 1269.496 | 1324.071 | |
| M1:P3 | 1259.775 | 49.10628 | 4 | 1187.100 | 1293.353 | |
| M2:P1 | 1268.618 | 53.13293 | 4 | 1224.450 | 1335.250 | |
| M2:P2 | 1328.335 | 111.48313 | 4 | 1169.295 | 1428.542 | |
| M2:P3 | 1280.591 | 67.71560 | 4 | 1224.469 | 1363.412 | |

Lampiran 18. Analisis statistik *feed conversion ratio* (FCR)

Analysis of Variance Table

Response: FCR

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|----------|---------|--------------|
| Mos | 2 | 0.34864 | 0.174322 | 17.0481 | 1.63e-05 *** |
| Mos:Periode | 6 | 0.08987 | 0.014979 | 1.4648 | 0.2276 |
| Residuals | 27 | 0.27608 | 0.010225 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for FCR

Mean Square Error: 0.01022532

| Mos, means | | | | | | |
|------------|----------|------------|----|----------|----------|--|
| | FCR | std | r | Min | Max | |
| M0 | 1.976767 | 0.10722251 | 12 | 1.846436 | 2.213992 | |
| M1 | 1.800516 | 0.09689655 | 12 | 1.667714 | 1.950307 | |
| M2 | 1.746226 | 0.11127897 | 12 | 1.586212 | 1.962961 | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

2 3
0.08470408 0.08899324

Means with the same letter are not significantly different.

| | FCR | groups |
|----|----------|--------|
| M0 | 1.976767 | a |
| M1 | 1.800516 | b |
| M2 | 1.746226 | b |

| Mos:Periode, means | | | | | | |
|--------------------|----------|------------|---|----------|----------|--|
| | FCR | std | r | Min | Max | |
| M0:P1 | 1.979244 | 0.07939785 | 4 | 1.871648 | 2.061807 | |
| M0:P2 | 1.894295 | 0.05960696 | 4 | 1.846436 | 1.981451 | |
| M0:P3 | 2.056763 | 0.12119406 | 4 | 1.947145 | 2.213992 | |
| M1:P1 | 1.805029 | 0.11421964 | 4 | 1.667714 | 1.940125 | |

| | | | | | |
|-------|----------|------------|---|----------|----------|
| M1:P2 | 1.732029 | 0.03885656 | 4 | 1.687954 | 1.778336 |
| M1:P3 | 1.864489 | 0.09017933 | 4 | 1.776586 | 1.950307 |
| M2:P1 | 1.754421 | 0.09420827 | 4 | 1.637072 | 1.848356 |
| M2:P2 | 1.728776 | 0.16322252 | 4 | 1.586212 | 1.962961 |
| M2:P3 | 1.755481 | 0.09632140 | 4 | 1.627776 | 1.850476 |

Lampiran 19. Analisis statistik *income over feed and chick cost* (IOFCC)

Analysis of Variance Table

Response: iofcc

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|----------|----------|---------|-------------|
| Mos | 2 | 27414303 | 13707151 | 8.4491 | 0.001414 ** |
| Mos:Periode | 6 | 23702325 | 3950387 | 2.4350 | 0.051856 . |
| Residuals | 27 | 43802426 | 1622312 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for iofcc

Mean Square Error: 1622312

Mos, means

| | iofcc | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|------------|----------|
| M0 | 6601.021 | 1061.647 | 12 | 4620.60589 | 8323.049 |
| M1 | 6955.210 | 1053.080 | 12 | 5299.70588 | 9198.231 |
| M2 | 4952.547 | 1975.025 | 12 | 54.83547 | 7652.152 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

| | 2 | 3 |
|--|----------|----------|
| | 1066.923 | 1120.949 |

Means with the same letter are not significantly different.

| | iofcc | groups |
|----|----------|--------|
| M1 | 6955.210 | a |
| M0 | 6601.021 | a |
| M2 | 4952.547 | b |

Mos:Periode, means

| | iofcc | std | r | Min | Max |
|-------|----------|-----------|---|------------|----------|
| M0:P1 | 6317.249 | 688.6688 | 4 | 5782.62911 | 7324.212 |
| M0:P2 | 7565.510 | 676.3790 | 4 | 6710.35121 | 8323.049 |
| M0:P3 | 5920.304 | 1111.4883 | 4 | 4620.60589 | 7212.870 |
| M1:P1 | 7394.859 | 1524.3768 | 4 | 5531.43547 | 9198.231 |
| M1:P2 | 6942.166 | 510.8586 | 4 | 6228.15381 | 7379.852 |
| M1:P3 | 6528.604 | 990.4252 | 4 | 5299.70588 | 7376.455 |
| M2:P1 | 6044.478 | 1246.5912 | 4 | 4925.98383 | 7652.152 |

M2:P2 3337.115 2310.3596 4 54.83547 5438.559
M2:P3 5476.047 1405.7935 4 4151.05580 7317.436

Lampiran 20. Analisis statistik persentase karkas

Analysis of Variance Table

Response: persenkarkas

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|---------|---------|-----------|
| Mos | 2 | 156.38 | 78.191 | 9.4090 | 0.0007933 |
| Mos:Periode | 6 | 66.11 | 11.018 | 1.3259 | 0.2799154 |
| Residuals | 27 | 224.38 | 8.310 | | |

Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for persenkarkas

Mean Square Error: 8.310229

Mos, means

| | Persentasekarkas | std | r | Min | Max |
|----|------------------|----------|----|-------|-------|
| M0 | 67.00167 | 3.431323 | 12 | 61.12 | 71.85 |
| M1 | 70.62417 | 2.682812 | 12 | 68.00 | 75.40 |
| M2 | 71.92833 | 2.726966 | 12 | 66.62 | 75.57 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 27

Critical Range

2 3
2.414751 2.537027

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | M2 | 71.93 |
| a | M1 | 70.62 |
| b | M0 | 67.00 |

Mos:Periode, means

| | Persentasekarkas | std | r | Min | Max |
|-------|------------------|----------|---|-------|-------|
| M0:P1 | 67.9925 | 3.863611 | 4 | 63.71 | 71.85 |
| M0:P2 | 68.1350 | 2.238430 | 4 | 65.01 | 70.00 |
| M0:P3 | 64.8775 | 3.767690 | 4 | 61.12 | 70.00 |
| M1:P1 | 68.6300 | 0.484011 | 4 | 68.00 | 69.02 |
| M1:P2 | 72.4475 | 2.898935 | 4 | 68.48 | 75.40 |
| M1:P3 | 70.7950 | 2.824671 | 4 | 68.49 | 74.39 |
| M2:P1 | 71.4000 | 4.123461 | 4 | 66.62 | 75.22 |
| M2:P2 | 73.1925 | 1.868750 | 4 | 71.30 | 75.57 |
| M2:P3 | 71.1925 | 1.883213 | 4 | 70.00 | 74.00 |

Lampiran 21. Analisis statistik persentase lemak abdominal

Analysis of Variance Table

Response: Persentaselemak

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|----------|---------|-----------|
| Mos | 2 | 0.62367 | 0.311836 | 5.2545 | 0.01182 * |
| Mos:Periode | 6 | 0.66033 | 0.110056 | 1.8545 | 0.12585 |
| Residuals | 27 | 1.60235 | 0.059346 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Persentaselemak

Mean Square Error: 0.0593463

Mos, means

| | Persentaselemak | std | r | Min | Max |
|----|-----------------|-----------|----|------|------|
| M0 | 1.405000 | 0.3025498 | 12 | 0.82 | 1.94 |
| M1 | 1.154167 | 0.1953765 | 12 | 0.82 | 1.56 |
| M2 | 1.104167 | 0.2756631 | 12 | 0.76 | 1.54 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 27

Critical Range

| | 2 | 3 |
|--|-----------|-----------|
| | 0.2040622 | 0.2143954 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | M0 | 1.405 |
| b | M1 | 1.154 |
| b | M2 | 1.104 |

Mos:Periode, means

| | Persentaselemak | std | r | Min | Max |
|-------|-----------------|-----------|---|------|------|
| M0:P1 | 1.4525 | 0.2093442 | 4 | 1.21 | 1.72 |
| M0:P2 | 1.5625 | 0.2938679 | 4 | 1.31 | 1.94 |
| M0:P3 | 1.2000 | 0.3366502 | 4 | 0.82 | 1.58 |
| M1:P1 | 1.2325 | 0.2305609 | 4 | 1.04 | 1.56 |
| M1:P2 | 1.0125 | 0.1635797 | 4 | 0.82 | 1.22 |
| M1:P3 | 1.2175 | 0.1405643 | 4 | 1.02 | 1.34 |
| M2:P1 | 1.2175 | 0.2463568 | 4 | 1.02 | 1.54 |
| M2:P2 | 0.8950 | 0.1360147 | 4 | 0.76 | 1.08 |
| M2:P3 | 1.2000 | 0.3342654 | 4 | 0.80 | 1.54 |

Lampiran 22. Analisis statistik mortalitas

Analysis of Variance Table

Response: Mortalitas

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|----------|-----------|---------|--------|
| Mos | 2 | 0.013193 | 0.0065965 | 2.3562 | 0.1140 |
| Mos:Periode | 6 | 0.021369 | 0.0035616 | 1.2721 | 0.3029 |
| Residuals | 27 | 0.075592 | 0.0027997 | | |

Mos, means

| | Mortalitas | std | | r | Min | Max |
|----|------------|------------|----|-----------|-----------|-----|
| M0 | 0.7746573 | 0.06665552 | 12 | 0.7071068 | 0.8660254 | |
| M1 | 0.7551261 | 0.05428454 | 12 | 0.7071068 | 0.8660254 | |
| M2 | 0.7279724 | 0.03774740 | 12 | 0.7071068 | 0.7905694 | |

Mos:Periode, means

| | Mortalitas | std | | r | Min | Max |
|-------|------------|------------|---|-----------|-----------|-----|
| M0:P1 | 0.7677021 | 0.07645036 | 4 | 0.7071068 | 0.8660254 | |
| M0:P2 | 0.7279724 | 0.04173132 | 4 | 0.7071068 | 0.7905694 | |
| M0:P3 | 0.8282974 | 0.04356454 | 4 | 0.7905694 | 0.8660254 | |
| M1:P1 | 0.7488381 | 0.04818717 | 4 | 0.7071068 | 0.7905694 | |
| M1:P2 | 0.7488381 | 0.04818717 | 4 | 0.7071068 | 0.7905694 | |
| M1:P3 | 0.7677021 | 0.07645036 | 4 | 0.7071068 | 0.8660254 | |
| M2:P1 | 0.7279724 | 0.04173132 | 4 | 0.7071068 | 0.7905694 | |
| M2:P2 | 0.7279724 | 0.04173132 | 4 | 0.7071068 | 0.7905694 | |
| M2:P3 | 0.7279724 | 0.04173132 | 4 | 0.7071068 | 0.7905694 | |

Lampiran 23. Analisis statistik jumlah *Lactobacillus* sp.

Analysis of Variance Table

Response: LactobacillusLog

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|----------|----------|---------|---------------|
| Mos | 2 | 0.106016 | 0.053008 | 2921.77 | < 2.2e-16 *** |
| Mos:Periode | 6 | 0.059232 | 0.009872 | 544.14 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 27 | 0.000490 | 0.000018 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for LactobacillusLog

Mean Square Error: 1.814247e-05

Mos, means

| | LactobacillusLog | std | | r | Min | Max |
|----|------------------|-------------|----|----------|----------|-----|
| M0 | 11.00836 | 0.003670952 | 12 | 11.00225 | 11.01587 | |
| M1 | 11.08350 | 0.060150138 | 12 | 10.99867 | 11.13271 | |
| M2 | 11.14089 | 0.042400148 | 12 | 11.09342 | 11.20073 | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

2 3
0.003567911 0.003748580

Means with the same letter are not significantly different.

LactobacillusLog groups

| | | |
|----|----------|---|
| M2 | 11.14089 | a |
| M1 | 11.08350 | b |
| M0 | 11.00836 | c |

Duncan's new multiple range test for LactobacillusLog

Mean Square Error: 1.814247e-05

Mos:Periode, means

| | LactobacillusLog | std | | r | Min | Max |
|-------|------------------|-------------|---|----------|----------|-----|
| M0:P1 | 11.00818 | 0.001308917 | 4 | 11.00647 | 11.00960 | |
| M0:P2 | 11.00834 | 0.006231237 | 4 | 11.00225 | 11.01587 | |
| M0:P3 | 11.00856 | 0.002961662 | 4 | 11.00492 | 11.01218 | |
| M1:P1 | 11.11970 | 0.001842021 | 4 | 11.11727 | 11.12156 | |
| M1:P2 | 11.12851 | 0.003175812 | 4 | 11.12527 | 11.13271 | |
| M1:P3 | 11.00228 | 0.002754260 | 4 | 10.99867 | 11.00453 | |
| M2:P1 | 11.12359 | 0.006768711 | 4 | 11.11670 | 11.13253 | |
| M2:P2 | 11.19658 | 0.003232406 | 4 | 11.19289 | 11.20073 | |
| M2:P3 | 11.10250 | 0.006053142 | 4 | 11.09342 | 11.10562 | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

2 3
0.006156072 0.006467906

Lampiran 23. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

LactobacillusLog groups

| | | |
|-------|----------|---|
| M0:P1 | 11.00818 | a |
| M0:P2 | 11.00834 | a |
| M0:P3 | 11.00856 | a |
| M1:P1 | 11.11970 | b |
| M1:P2 | 11.12851 | a |
| M1:P3 | 11.00228 | c |
| M2:P1 | 11.12359 | b |
| M2:P2 | 11.19658 | a |
| M2:P3 | 11.10250 | c |

Lampiran 24. Analisis statistik jumlah *Escherichia coli* (Ecoli)

Analysis of Variance Table

Response: EcoliLog

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|----------|----------|---------|---------------|
| Mos | 2 | 0.131862 | 0.065931 | 774.281 | < 2.2e-16 *** |
| Mos:Periode | 6 | 0.046950 | 0.007825 | 91.894 | < 2.2e-16 *** |
| Residuals | 27 | 0.002299 | 0.000085 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for EcoliLog

Mean Square Error: 8.515155e-05

Mos, means

| | EcoliLog | std | r | Min | Max |
|----|----------|------------|----|----------|----------|
| M0 | 4.090888 | 0.01379915 | 12 | 4.079129 | 4.113181 |
| M1 | 3.963644 | 0.04524593 | 12 | 3.901260 | 4.009583 |
| M2 | 3.961392 | 0.04732388 | 12 | 3.910803 | 4.025306 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

| | 2 | 3 |
|--|-------------|-------------|
| | 0.007729691 | 0.008121100 |

Means with the same letter are not significantly different.

EcoliLog groups

| | | |
|----|----------|---|
| M0 | 4.090888 | a |
| M1 | 3.963644 | b |

M2 3.961392 b

Duncan's new multiple range test for EcoliLog

Mean Square Error: 8.515155e-05

Mos:Periode, means

| | EcoliLog | | std | | r | Min | Max |
|-------|----------|-------------|-----|----------|----------|-----|-----|
| M0:P1 | 4.096020 | 0.018635628 | 4 | 4.079181 | 4.113181 | | |
| M0:P2 | 4.088747 | 0.007504290 | 4 | 4.082451 | 4.099479 | | |
| M0:P3 | 4.087897 | 0.015538140 | 4 | 4.079129 | 4.111107 | | |
| M1:P1 | 3.979770 | 0.003584813 | 4 | 3.974783 | 3.982485 | | |
| M1:P2 | 3.904500 | 0.003175812 | 4 | 3.901260 | 3.908691 | | |
| M1:P3 | 4.006660 | 0.002342676 | 4 | 4.004321 | 4.009583 | | |
| M2:P1 | 3.947495 | 0.006768711 | 4 | 3.940607 | 3.956440 | | |
| M2:P2 | 3.914491 | 0.003232406 | 4 | 3.910803 | 3.918643 | | |
| M2:P3 | 4.022189 | 0.006053142 | 4 | 4.013110 | 4.025306 | | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

| | | |
|-------------|-------------|---|
| | 2 | 3 |
| 0.013377559 | 0.014055196 | |

Lampiran 24. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

| | EcoliLog | groups |
|-------|----------|--------|
| M0:P1 | 4.096020 | a |
| M0:P2 | 4.088747 | a |
| M0:P3 | 4.087897 | a |
| M1:P1 | 3.979770 | b |
| M1:P2 | 3.904500 | c |
| M1:P3 | 4.006660 | a |
| M2:P1 | 3.947495 | b |
| M2:P2 | 3.914491 | c |
| M2:P3 | 4.022189 | a |

Lampiran 25. Analisis statistik pH digesta usus

Analysis of Variance Table

Response: pH

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|----------|---------|-------------|
| Mos | 2 | 0.26915 | 0.134575 | 7.3245 | 0.002876 ** |
| Mos:Periode | 6 | 0.14585 | 0.024308 | 1.3230 | 0.281088 |
| Residuals | 27 | 0.49608 | 0.018373 | | |

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for pH
 Mean Square Error: 0.01837315

| Mos, | means | | | | | | |
|------|----------|-----------|----|------|------|--|--|
| | pH | std | r | Min | Max | | |
| M0 | 6.721667 | 0.1298834 | 12 | 6.43 | 6.88 | | |
| M1 | 6.566667 | 0.1698841 | 12 | 6.40 | 6.88 | | |
| M2 | 6.519167 | 0.1123678 | 12 | 6.42 | 6.74 | | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range
 2 3
 0.1135423 0.1192917

Means with the same letter are not significantly different.

| | pH | groups |
|----|----------|--------|
| M0 | 6.721667 | a |
| M1 | 6.566667 | b |
| M2 | 6.519167 | b |

| Mos:Periode, | means | | | | | | |
|--------------|--------|------------|---|------|------|--|--|
| | pH | std | r | Min | Max | | |
| M0:P1 | 6.8050 | 0.06608076 | 4 | 6.74 | 6.88 | | |
| M0:P2 | 6.6875 | 0.09604686 | 4 | 6.63 | 6.83 | | |
| M0:P3 | 6.6725 | 0.18500000 | 4 | 6.43 | 6.86 | | |
| M1:P1 | 6.6825 | 0.22514810 | 4 | 6.42 | 6.88 | | |
| M1:P2 | 6.5200 | 0.14719601 | 4 | 6.40 | 6.73 | | |
| M1:P3 | 6.4975 | 0.07932003 | 4 | 6.40 | 6.59 | | |
| M2:P1 | 6.5050 | 0.11210114 | 4 | 6.43 | 6.67 | | |
| M2:P2 | 6.4750 | 0.04654747 | 4 | 6.42 | 6.53 | | |
| M2:P3 | 6.5775 | 0.15542951 | 4 | 6.43 | 6.74 | | |

Lampiran 26. Analisis statistik viskositas

Analysis of Variance Table

Response: Viskositas

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|---------|-----------|---------|-----------------------|
| Mos | | | 2 18.3660 | 9.1830 | 17.0290 1.644e-05 *** |
| Mos:Periode | 6 | 8.0817 | 1.3469 | 2.4978 | 0.04716 * |
| Residuals | 27 | 14.5600 | 0.5393 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Viskositas

Mean Square Error: 0.5392593

Mos, means

| | Viskositas | std | r | Min | Max |
|----|------------|-----------|---------|------|-----|
| M0 | 3.541667 | 0.8147150 | 12 2.43 | 4.73 | |
| M1 | 2.289167 | 0.8924884 | 12 0.88 | 3.46 | |
| M2 | 1.857500 | 0.7733296 | 12 0.94 | 3.69 | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

2 3
0.6151268 0.6462750

Means with the same letter are not significantly different.

Viskositas groups

| | | |
|----|----------|---|
| M0 | 3.541667 | a |
| M1 | 2.289167 | b |
| M2 | 1.857500 | b |

Duncan's new multiple range test for Viskositas

Mean Square Error: 0.5392593

Mos:Periode, means

| | Viskositas | std | r | Min | Max |
|-------|------------|-----------|--------|------|-----|
| M0:P1 | 3.5275 | 0.9039681 | 4 2.54 | 4.73 | |
| M0:P2 | 3.5500 | 0.8401190 | 4 2.46 | 4.47 | |
| M0:P3 | 3.5475 | 0.9541619 | 4 2.43 | 4.71 | |
| M1:P1 | 2.6850 | 0.8727925 | 4 1.48 | 3.39 | |
| M1:P2 | 1.4100 | 0.5665686 | 4 0.88 | 2.05 | |
| M1:P3 | 2.7725 | 0.5356227 | 4 2.24 | 3.46 | |
| M2:P1 | 1.8950 | 0.4017047 | 4 1.46 | 2.37 | |
| M2:P2 | 1.1850 | 0.3094619 | 4 0.94 | 1.62 | |
| M2:P3 | 2.4925 | 0.8905944 | 4 1.58 | 3.69 | |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

2 3
1.065572 1.119548

Lampiran 26. (Lanjutan)

Means with the same letter are not significantly different.

| | Viskositas | groups |
|-------|------------|--------|
| M0:P1 | 3.5275 | a |
| M0:P2 | 3.5500 | a |
| M0:P3 | 3.5475 | a |
| M1:P1 | 2.6850 | a |
| M1:P2 | 1.4100 | b |
| M1:P3 | 2.7725 | a |
| M2:P1 | 1.8950 | a |
| M2:P2 | 1.1850 | b |
| M2:P3 | 2.4925 | a |

Lampiran 27. Analisis statistik luas vili usus

Analysis of Variance Table

Response: Luasvili

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|---------|---------|-----------|
| Mos | 2 | 818679 | 409339 | 5.1808 | 0.01246 * |
| Mos:Periode | 6 | 605323 | 100887 | 1.2769 | 0.30081 |

Residuals 27 2133276 79010

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Luas vili

Mean Square Error: 79010.21

Mos, means

| | Luasvili | std | r | Min | Max |
|----|----------|----------|----|-----------|----------|
| M0 | 1401.100 | 306.1893 | 12 | 967.5981 | 1886.598 |
| M1 | 1669.733 | 304.5087 | 12 | 1238.4791 | 2273.181 |
| M2 | 1754.989 | 249.9723 | 12 | 1281.1398 | 2067.314 |

alpha: 0.05 ; Df Error: 27

Critical Range

2 3

235.4548 247.3775

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|------|
| a | M2 | 1755 |
| a | M1 | 1670 |
| b | M0 | 1401 |

Mos:Periode, means

| | Luasvili | std | r | Min | Max |
|-------|----------|-----------|---|-----------|----------|
| M0:P1 | 1495.170 | 299.21768 | 4 | 1205.1102 | 1886.598 |
| M0:P2 | 1246.861 | 282.12150 | 4 | 967.5981 | 1604.455 |
| M0:P3 | 1461.269 | 355.36965 | 4 | 1027.1493 | 1786.750 |
| M1:P1 | 1709.894 | 449.66132 | 4 | 1238.4791 | 2273.181 |
| M1:P2 | 1786.926 | 274.50387 | 4 | 1424.4875 | 2091.744 |
| M1:P3 | 1512.379 | 94.70722 | 4 | 1454.2394 | 1653.718 |
| M2:P1 | 1561.154 | 250.28419 | 4 | 1281.1398 | 1890.019 |
| M2:P2 | 1948.359 | 151.24756 | 4 | 1727.9373 | 2067.314 |
| M2:P3 | 1755.453 | 208.91492 | 4 | 1444.1900 | 1880.159 |

Lampiran 28. Analisis statistik luas permukaan mukosa usus

Analysis of Variance Table

Response: Luasmukosa

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|-----------|-----------|---------|---------------|
| Mos | 2 | 588109775 | 294054887 | 16.7042 | 1.899e-05 *** |
| Mos:Periode | 6 | 336694610 | 56115768 | 3.1877 | 0.01697 * |
| Residuals | 27 | 475297371 | 17603606 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Duncan's new multiple range test for Luasmukosa

Mean Square Error: 17603606

| Mos, | means | | | | | |
|------|------------|----------|----|----------|----------|--|
| | Luasmukosa | std | r | Min | Max | |
| M0 | 17455.74 | 3015.565 | 12 | 13173.90 | 22639.18 | |
| M1 | 24642.41 | 5649.129 | 12 | 17450.87 | 33467.91 | |
| M2 | 26946.33 | 5728.103 | 12 | 18774.47 | 37211.66 | |

alpha: 0.05 ; Df Error: 27

Critical Range

| | |
|----------|----------|
| 2 | 3 |
| 3514.525 | 3692.491 |

Means with the same letter are not significantly different.

Groups, Treatments and means

| | | |
|---|----|-------|
| a | M2 | 26950 |
| a | M1 | 24640 |
| b | M0 | 17460 |

Duncan's new multiple range test for Luasmukosa

Mean Square Error: 17603606

Mos:Periode, means

| | Luasmukosa | std | r | Min | Max |
|-------|------------|----------|---|----------|----------|
| M0:P1 | 17100.11 | 3976.799 | 4 | 13302.38 | 22639.18 |
| M0:P2 | 17810.12 | 2428.728 | 4 | 15481.57 | 20857.92 |
| M0:P3 | 17456.99 | 3360.594 | 4 | 13173.90 | 20565.41 |
| M1:P1 | 27212.62 | 4253.746 | 4 | 22292.62 | 31824.54 |
| M1:P2 | 27786.60 | 5475.268 | 4 | 21367.31 | 33467.91 |
| M1:P3 | 18927.99 | 1847.019 | 4 | 17450.87 | 21498.33 |
| M2:P1 | 23971.15 | 5898.835 | 4 | 19217.10 | 32130.32 |
| M2:P2 | 31712.45 | 4129.927 | 4 | 27647.00 | 37211.66 |
| M2:P3 | 25155.38 | 4699.816 | 4 | 18774.47 | 30082.54 |

Lampiran 28. (Lanjutan)

Alpha: 0.05 ; DF Error: 27

Critical Range

| | |
|----------|----------|
| 2 | 3 |
| 6087.910 | 6396.292 |

Means with the same letter are not significantly different.

| | Luasmukosa | groups |
|-------|------------|--------|
| M0:P1 | 17100.11 | a |
| M0:P2 | 17810.12 | a |
| M0:P3 | 17456.99 | a |
| M1:P1 | 27212.62 | a |
| M1:P2 | 27786.60 | a |
| M1:P3 | 18927.99 | b |
| M2:P1 | 23971.15 | b |
| M2:P2 | 31712.45 | a |

M2:P3

25155.38

b