
Kajian Pengaruh Fermentasi Kulit Kacang Tanah Amoniasi Menggunakan Starter *Aspergillus niger* terhadap Kandungan Selulosa, Hemiselulosa dan Lignin

Muhammad Lukman Hakim, B. I. M. Tampoebolon dan S. Mukodiningsih

*Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang
Jl. Prof.H. Soedarto, S. H. – Tembalang Semarang, Indonesia (50275
Corresponding E-mail : hakimmuhammadlukman@gmail.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh perlakuan perbedaan lama fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* setelah dilakukan proses amoniasi pada kulit kacang terhadap kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin. Metode penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan lama peram proses fermentasi 0 hari (T0), 5 hari (T1), 10 hari (T2) dan 15 hari (T3). Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh ($P < 0,05$) lama fermentasi terhadap kandungan selulosa dan lignin dan tidak berpengaruh terhadap kandungan hemiselulosa. Kandungan selulosa dan hemiselulosa menurun sampai lama peram 15 hari (33,93%) dan (8,96%). Kandungan lignin meningkat sampai lama peram 15 hari (30,85%). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan lama fermentasi dapat meningkatkan kualitas kulit kacang tanah amoniasi. Perlakuan terbaik terjadi pada lama fermentasi 15 hari.

Kata kunci : kulit kacang tanah, *Aspergillus niger*, selulosa, lignin

ABSTRACT

The aim of this research is to examine the treatment effect of different duration of fermentation using *Aspergillus niger* of peanut shells ammoniated against cellulose, hemicellulose and lignin content. The research method used a completely randomized design with 4 replications. The treatment that given is difference in duration of fermentation process of 0 days (T0), 5 days (T1), 10 days (T2) and 15 days (T3). The results showed that there was an effect ($P < 0.05$) of fermentation time on cellulose and lignin content and had no effect on hemicellulose content. The total cellulose and hemicellulose decreased to 15 days (33,93%) and (8,96%). Lignin content increased until 15 days (30,85%). Based on the results of the study it can be concluded that the old fermentation treatment can improve the quality of peanut shells ammoniated. The best treatment occurs at 15 days of fermentation.

Keywords : kulit kacang tanah, *Aspergillus niger*, selulosa, lignin..

PENDAHULUAN

Populasi ternak yang semakin meningkat harus diimbangi dengan ketersediaan jumlah pakan, baik dalam hal kualitas, kuantitas maupun kontinuitas. Sebagian besar ternak ruminansia pakannya berupa hijauan, sedangkan ketersediaan hijauan sangat bergantung pada musim. Di sisi lain, lahan untuk penanaman hijauan semakin sempit karena dimanfaatkan untuk pertanian, perkebunan dan pembangunan gedung pemukiman. Salah satu cara untuk menanggulangi hal tersebut yaitu dengan membuat pakan sendiri dengan memanfaatkan sumber-sumber pakan potensial non konvensional yang belum diketahui oleh peternak. Pemanfaatan sumber pakan non konvensional yang dapat digunakan salah satunya adalah produk samping industri pertanian yaitu kulit kacang tanah.

Kulit kacang tanah merupakan hasil ikutan tanaman kacang tanah yang produk utamanya telah digunakan sehingga memiliki kualitas yang rendah. Pakan yang berasal dari produk samping pertanian memiliki kualitas yang rendah sehingga perlu dilakukan pengolahan supaya dapat digunakan sebagai pakan yang memiliki kualitas tinggi (Retnani et al., 2015). Produksi kacang tanah di Jawa Tengah menurut data BPS tahun 2018 mencapai 91.234 ton. Kacang tanah memiliki bagian kulit sebesar $\pm 30\%$ (Junior et al., 2015). Berdasarkan data tersebut dapat diperkirakan bahwa produksi kulit kacang tanah di Jawa Tengah pada tahun 2018 sebesar ± 27.370 ton. Kulit kacang tanah memiliki kandungan kadar air sebesar 11,23%, bahan kering 88,57%, protein kasar 10,87%, lemak kasar 2,03%, serat kasar 61,30% dan BETN 20,27% (Rosniningasih, 2004). Jumlah produksi dan kandungan nutrisi kulit kacang tanah yang memiliki kadar protein yang cukup tinggi maka kulit kacang tanah sangat berpotensi untuk dijadikan salah satu bahan pakan. Namun, Kulit kacang tanah juga memiliki kandungan serat kasar yang sangat tinggi yaitu sebesar 61,30%. hal tersebut menjadi kendala untuk diberikan kepada ternak secara langsung, utamanya untuk ternak ruminansia. Salah satu cara untuk menurunkan kandungan serat kasar tersebut yaitu dengan melakukan proses pengolahan berupa perpaduan antara proses amoniasi dan fermentasi.

Amoniasi merupakan upaya peningkatan kualitas pakan berserat tinggi melalui proses pengolahan dengan menggunakan NH_3 (amonias). Proses amoniasi berfungsi untuk

merenggangkan ikatan serat dan memutus sebagian ikatan lignin dan selulosa serta ikatan lignin dan hemiselulosa (Prastyawan et al., 2012). Fermentasi merupakan salah satu upaya peningkatan kualitas bahan pakan yang telah banyak dilakukan. Proses fermentasi bertujuan menurunkan kadar serat kasar, meningkatkan pencernaan dan sekaligus meningkatkan kadar protein kasar (Tampoebolon et al, 2019). *Aspergillus niger* merupakan kapang yang digunakan untuk proses fermentasi bersifat selulolitik, mudah tumbuh pada suasana aerob dan pertumbuhannya cepat (Tampoebolon et al, 2019). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh perlakuan perbedaan lama waktu fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* setelah dilakukan proses amoniasi pada kulit kacang terhadap kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin. Manfaat dari penelitian ini adalah memperoleh informasi tentang lama waktu fermentasi terbaik kulit kacang tanah yang sudah diamoniasi ditinjau dari kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 – Januari 2019 di Laboratorium Teknologi Pakan dan Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian meliputi kulit kacang tanah yang telah digiling, urea untuk proses amoniasi, *Aspergillus niger* sebagai inokulum pada proses fermentasi, grinder untuk memperkecil ukuran kulit kacang tanah, plastik dan drum untuk tempat amoniasi, penampakan plastik untuk tempat fermentasi, timbangan untuk mengukur penggunaan urea dan starter serta peralatan yang akan digunakan untuk melakukan analisis selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan pendahuluan yang dilakukan yaitu amoniasi kulit kacang tanah dengan menggunakan amonia 5% terhadap bahan kering kulit kacang tanah yang dilanjutkan dengan fermentasi. Proses fermentasi dengan penambahan starter *Aspergillus niger* sebanyak 5% terhadap bahan kering. Kemudian dilakukan pemeraman dengan lama waktu fermentasi 0, 5, 10 dan 15 hari. Parameter yang diamati adalah kandungan selulosa,

hemiselulosa dan lignin. Perlakuan yang diberikan yaitu :

- T0 = Lama waktu fermentasi 0 hari
- T1 = Lama waktu fermentasi 5 hari
- T2 = Lama waktu fermentasi 10 hari
- T3 = Lama waktu fermentasi 15 hari

Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi pengadaan kulit kacang kemudian mengeringkan menggunakan sinar matahari lalu dihaluskan menggunakan mesin grinder, penyediaan urea dan *Aspergillus niger* dalam bentuk bubuk dengan konsentrasi minimal 108/gram sebagai starter dalam proses fermentasi yang diperoleh dari Agrotekno Lab Yogyakarta.

Tahap Amoniasi

Proses amoniasi dilakukan dengan cara basah menggunakan kadar ammonia 5% BK. Kulit kacang tanah yang sudah dicampur dengan larutan urea kemudian dimasukkan ke trash bag dan disimpan dalam drum selama 21 hari. Kulit kacang tanah yang sudah selesai diamoniasi kemudian diangin-anginkan supaya bau menyengat amonia hilang kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dicampur dengan molases 1% dan air. Kulit kacang tanah yang sudah dicampur molases dan air kemudian disterilisasi menggunakan autoclave selama 1 jam.

Tahap Fermentasi

Tahap fermentasi dilakukan dengan mencampurkan kulit kacang tanah amoniasi yang sudah steril dengan starter *Aspergillus niger* 5% BK secara aerob dengan lama fermentasi 0, 5, 10 dan 15 hari. Kulit kacang tanah amoniasi yang sudah difermentasi dengan masing-masing perlakuan kemudian dianalisis kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Analisis Laboratorium

Tahap pengambilan data dilakukan dengan melakukan analisis kandungan neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber ADF dan lignin (Van Soest, 1994). Analisis kandungan NDF menggunakan metode Van Soest (1994), yaitu dengan cara menimbang ± 1 gram sampel kering udara dimasukkan kedalam beaker glass 250 ml, dituangi 100 ml larutan deterjen netral (NDS) dan 0,5 gram Na_2SO_3 . Beaker glass dipanaskan selama 1 jam, suhu pemanasan diatur agar tidak terjadi pembuihan. Sampel disaring menggunakan krusibel yang sudah diketahui

beratnya dan terpasang pada pompa vacum. Sampel dicuci menggunakan air panas dengan suhu $\pm 80^\circ\text{C}$ dan selanjutnya dicuci lagi menggunakan aseton, diulang sebanyak 2 kali. Setelah bau aseton hilang, sampel beserta krusibel dimasukkan kedalam oven pada suhu 105°C selama 8 jam kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang serta dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{NDF} = \frac{(\text{berat krusibel} + \text{sampel}) - \text{berat sampel}}{\text{berat sampel kering udara} \times \% \text{ bahan kering sampel}} \times 100\%$$

Analisis kandungan ADF menggunakan metode Van Soest (1994), yaitu dengan cara menimbang ± 1 gram sampel kering udara dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml dan dituangi 100 ml larutan deterjen asam (ADS). Beaker glass dipanaskan sampai mendidih dan suhu pemanasan diatur agar tidak terjadi pembuihan. Residu sampel disaring dengan krusibel yang telah diketahui beratnya dan terpasang pada pompa vacum. Residu di cuci dengan aquadest panas, dilanjutkan pencucian dengan aseton yang diulangi sebanyak 2 kali. Setelah bau aseton hilang, sampel dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C selama 8 jam kemudian didinginkan dalam eksikator dan selanjutnya ditimbang serta dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ADF} = \frac{(\text{berat krusibel} + \text{residu}) - \text{berat krusibel}}{\text{berat sampel kering udara} \times \% \text{ bahan kering sampel}} \times 100\%$$

Kandungan hemiselulosa diperoleh dengan cara mengurangkan kandungan NDF dengan ADF (Harris, 1970).

$$\% \text{Hemiselulosa} = \% \text{NDF} - \% \text{ADF}$$

Kandungan lignin diperoleh dengan cara melakukan analisis menggunakan metode Van Soest (1994), yaitu dengan cara residu beserta krusibel dari penetapan kandungan ADF diletakkan pada nampan berisi air dingin yang mengalir dengan hati-hati, diatur dengan memiringkan nampan yang diberi 2 lubang pada pinggir nampan bagian bawah supaya krusibel dapat terendam air sedangkan isi krusibel tidak terkena air. Krusibel dituang H_2SO_4 72% sekitar setengah penuh isi krusibel dan biarkan sampai H_2SO_4 72% habis. Krusibel dipasang pada pompa vacum dan dilakukan pencucian menggunakan aquadest panas sebanyak 2 kali supaya residu tidak mengandung asam sulfat lagi. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 8 jam kemudian didinginkan dalam eksikator dan selanjutnya ditimbang. Sampel dilakukan pengabuan dengan tanur bersuhu $400 - 600^\circ\text{C}$ selama 4 – 6 jam setelah itu didinginkan

dalam eksikator dan selanjutnya ditimbang. Perhitungan kandungan lignin menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{Lignin} = \frac{\left(\frac{\text{berat krusibel} + \text{residu}}{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ setelah oven}} \right) - \left(\frac{\text{berat krusibel} + \text{residu}}{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ setelah tanur}} \right)}{\left(\frac{\text{berat sampel kering udara}}{\text{sebelum penetapan kadar afd}} \right) \times \% \text{ bahan kering sampel}} \times 100\%$$

Kandungan selulosa diperoleh dengan cara mengurangkan kandungan ADF dengan kandungan lignin.

$$\% \text{Selulosa} = \% \text{ADF} - \% \text{lignin}$$

Parameter Penelitian

Parameter yang diamati yaitu kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian diolah dan dianalisis menggunakan ANOVA dengan tingkat signifikansi 5% untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati. Jika diperoleh hasil signifikan atau menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) maka dilanjutkan uji Duncan dengan taraf 5% untuk mengetahui perbedaan nilai tengah masing-masing perlakuan (Srigandono, 1989).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad ; i = (1,2,3,4) \quad ; j = (1,2,3,4)$$

Keterangan :

- Y_{ij} = Kualitas nutrisi kulit kacang pada unit ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i
- μ = Nilai tengah umum kualitas pencernaan kulit kacang
- τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i
- ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada kulit kacang ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin fermentasi kulit

Kandungan Selulosa

Hasil penelitian mengenai pengaruh lama fermentasi kulit kacang tanah amoniasi terhadap kandungan selulosa pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 1. Lama waktu fermentasi mempengaruhi kandungan selulosa, semakin lama waktu fermentasi, kandungan selulosa semakin menurun. Penurunan kandungan

selulosa disebabkan karena selama proses fermentasi dinding sel mengalami perombakan menjadi komponen yang lebih sederhana. Hal ini erat kaitannya dengan proses pertumbuhan *Aspergillus niger* yang merupakan mikroba pencerna serat yang mampu mensekresikan enzim selulase. Setyoko dan Utami (2016) dalam penelitiannya melaporkan bahwa enzim selulase merupakan enzim yang disekresikan oleh mikroba pencerna serat yang berfungsi mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Semakin lama proses hidrolisis berjalan maka semakin banyak enzim yang berdifusi ke dalam substrat kulit kacang tanah sehingga produk yang dihasilkan semakin meningkat.

Perlakuan amoniasi mampu memutus atau merenggangkan ikatan antara selulosa dengan lignin yang sering disebut dengan ikatan lignoselulosa. Hal ini sesuai dengan pendapat Sumarsih et al. (2007) bahwa perlakuan amoniasi dapat meningkatkan proses degradasi dengan merenggangkan ikatan lignoselulosa sehingga karbohidrat dapat dengan mudah untuk dicerna. Ikatan lignin dan selulosa yang semakin renggang, mempermudah mikroba pada proses fermentasi dalam melakukan penetrasi ke bagian-bagian dalam substrat sehingga proses fermentasi dapat lebih cepat dan optimal dalam mendegradasi selulosa. Prasetya (2009) menyatakan bahwa perlakuan alkali dapat mendelignifikasi dengan cara memutus ikatan ester antara lignin dengan selulosa serta pembekakan selulosa, sehingga menurunkan kristalinitasnya. Van Soest (1994) menambahkan bahwa turunnya kristalinitas selulosa akan memudahkan penetrasi enzim selulase mikroba rumen.

Kandungan selulosa pada lama fermentasi 0 dan 5 hari lebih besar dibandingkan lama fermentasi 10 – 15 hari. Hal tersebut diduga karena pada awal proses fermentasi pola pertumbuhan mikroba masih pada fase adaptasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (2006) bahwa mikroorganisme yang dimasukkan ke dalam medium baru akan melakukan adaptasi terlebih dahulu dan mempunyai waktu generasi yang masih lambat sehingga membutuhkan waktu untuk tumbuh. Oleh karena itu, pada lama fermentasi 0 dan 5 hari, penurunan kandungan selulosa masih sedikit.

Kandungan Hemiselulosa

Hasil penelitian mengenai pengaruh lama fermentasi kulit kacang tanah amoniasi terhadap kandungan hemiselulosa pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 1. kandungan hemiselulosa kulit kacang tanah amoniasi semakin lama waktu fermentasi, hasilnya semakin menurun. Hal ini disebabkan semakin lama proses fermentasi maka jumlah *Aspergillus niger* semakin banyak, sehingga enzim hemiselulase yang disekresikan oleh *Aspergillus niger* juga semakin banyak. Enzim hemiselulase yang semakin lama waktu fermentasi

semakin banyak, maka akan mempermudah dalam proses degradasi hemiselulosa menjadi komponen yang lebih sederhana. Pendapat ini sesuai dengan pernyataan Winarno et al. (1981) bahwa bahan pakan yang mengalami fermentasi mempunyai nilai gizi yang lebih tinggi, karena adanya mikrobia yang mempunyai sifat katabolik terhadap komponen organik kompleks, sehingga akan mengubahnya menjadi komponen sederhana. Proses degradasi yang tinggi disebabkan karena jumlah mikrobia yang semakin lama waktu fermentasi tumbuh dan berkembang biak secara optimal, menyebabkan kemampuan mencerna bahan semakin baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Saha (2003) bahwa dalam proses fermentasi, mikrobia pencernaan serat yang mampu mensekresikan enzim hemiselulase, sehingga hemiselulosa dipecah menjadi komponen yang lebih sederhana meliputi pentosa (xilosa, arabinosa), heksosa (manosa, glukosa, galaktosa) dan asam uronat.

Amoniasi pada kulit kacang tanah berfungsi untuk merenggangkan ikatan lignin dengan hemiselulosa sehingga mempermudah kerja mikrobia dalam menguraikan hemiselulosa pada saat proses fermentasi. Pernyataan ini sesuai dengan pendapat Komar (1984) bahwa amoniasi dapat mengakibatkan perubahan komposisi dan struktur dinding sel yang berperan membebaskan ikatan antara lignin dengan hemiselulosa sehingga serat tersebut akan mudah diuraikan oleh enzim mikrobia.

Kandungan Lignin

Hasil penelitian mengenai pengaruh lama fermentasi kulit kacang tanah amoniasi terhadap kandungan lignin pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 1. Peningkatan kandungan lignin kulit kacang tanah amoniasi terjadi seiring dengan semakin lama waktu fermentasi. Peningkatan kandungan lignin bukan merupakan peningkatan absolut tetapi peningkatan secara proporsional. Hal ini diduga karena terdapat komponen selain lignin yang turun seperti selulosa, hemiselulosa dan BETN. Van Soest (1994) menyatakan bahwa komponen ADF adalah selulosa, lignin dan silika (abu), sedangkan komponen acid detergent soluble (ADS) adalah hemiselulosa dan nitrogen yang terdapat dalam dinding sel.

Kandungan lignin yang tidak mengalami penurunan pada proses fermentasi disebabkan karena starter *Aspergillus niger* yang digunakan dalam fermentasi tidak menghasilkan enzim ligninase sehingga tidak dapat mendegradasi lignin. Schuster et al. (2002) menyatakan bahwa *Aspergillus niger* merupakan mikrobia yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler seperti selulase, hemiselulase, amylloglukosidase,

xylanase, galaktosidase, glucose oxidase dan amylase. Selain itu lignin merupakan bagian dari serat yang bukan termasuk karbohidrat sehingga tidak dapat dicerna oleh mikroba *Aspergillus niger*. Hal ini sesuai dengan pendapat Chang et al. (1981) bahwa Lignin merupakan bahan organik bukan karbohidrat karena memiliki proporsi karbon yang tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan perbedaan lama waktu fermentasi pada kulit kacang tanah amoniasi dapat menurunkan kandungan selulosa dan hemiselulosa sedangkan kandungan lignin meningkat. Penurunan kandungan selulosa dan hemiselulosa paling efektif terjadi pada lama fermentasi selama 15 hari.

REFERENSI

- Chang, S.T. dan T.H. Quimio.1981. Tropical Mushrooms Biological Nature and Cultivation Methodes. The Chinese University Press, Hongkong.
- Junior, L. K. P., D. A. Swastini dan N. P. E. Leliqia. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit kacang tanah dengan metode maserasi terhadap profil lipid pada tikus Sprague Dawley diet lemak tinggi. Jurnal Farmasi. 4 (1): 18 - 25.
- Komar, A. 1984. Teknologi Pengolahan Jerami Sebagai Makanan Ternak. Cetakan Pertama. Yayasan Dian Grahita, Bandung.
- Pelczar, M dan E.C.S. Chan. 2006. Dasar-Dasar Mikrobiologi. UI-Press, Jakarta.
- Prasetya, D.E. 2009. Pengaruh Level Biofad sebagai Starter Mikrobia dan Lama Fermentasi terhadap Penurunan Komponen Serat Ampas Tebu Amoniasi. Program Studi Nutrisi dan Makanan Ternak, Universitas Diponegoro, Semarang. (Skripsi Sarjana Peternakan)
- Prastyawan, R.M., B.I.M. Tampoebolon dan S. Surono. 2012. Peningkatan kualitas tongkol jagung melalui teknologi amoniasi fermentasi (amofer) terhadap pencernaan bahan kering dan bahan organik serta protein total secara in vitro. J. Animal Agriculture. 1 (1): 611-621.
- Retnani, Y., I.G. Permana, N.R. Kumalasari dan Taryati. 2015. Teknik Membuat Biskuit Pakan

- Ternak dari Hasil samping Pertanian. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rosningsih, S. 2004. Pengaruh fermentasi dengan *Aspergillus niger* terhadap kandungan nutrient dan pencernaan protein in vitro kulit kacang tanah sebagai sumber bahan pakan berserat. Buletin Peternakan. 28 (4): 155-161.
- Saha, B.C. 2003. Hemicellulose Bioconversion. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30 (5): 279–291.
- Schuster, E., N.D. Coleman dan Frisvad. 2002. On Savety of *Aspergillus niger*. Appl. Microbial Biotechnol. 4 (59): 426-435.
- Setyoko, H. dan B. Utami. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa. Dalam : Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning.13 (1): 863-867.
- Srigandono, B. 1989. Rancangan Percobaan. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang. 140 hlm.
- Sumarsih, S., C.I. Sutrisno dan E. Pangestu. 2007. Kualitas nutrisi dan pencernaan daun eceng gondok amoniasi yang difermentasi dengan *Trichoderma viride* pada berbagai lama pemeraman secara In vitro. Indonesian J. Tropical Animal Agricultural. 32 (3): 257–261.
- Tampoebolon, B.I.M., B.W.H.E. Prasetyono dan S. Mukodiningsih. 2019. The effect of fermentation with different times of corn husk which has obtained ammoniation treatment in the production of VFA-NH₃ by in vitro digestibility. Dalam : IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing Lth., England. 247 (1): 012073.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of Ruminant; Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, The Cellulolytic Fermentation and The Chemistry of Forages and Plant Fibers. Second Edition. Cornell University Press, Ithaca.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz. 1984. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Gramedia, Jakarta.