



Kandungan dan Kualitas Nutrisi Campuran Darah Sapi dan Limbah Pertanian yang Difermentasikan oleh *Bacillus Amyloliquefaciens* sebagai Pakan Broiler

Content and Nutritional Quality of Mixed Bovine Blood and Agricultural Waste Fermented by Bacillus Amyloliquefaciens as Broiler Feed

R. F. Ramadhan^{1*}, Wizna², Y. Marlida², Mirzah², & H. Supratman¹

¹Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

²Fakultas Peternakan, Universitas Andalas

*Email korespondensi: rahmad.fani@unpad.ac.id

• Diterima: 18 Januari 2021 • Direvisi: 22 Februari 2021 • Disetujui: 22 Februari 2021

ABSTRAK. Campuran darah sapi dan limbah dapat dimanfaatkan sebagai pakan hal ini di karenakan kadar protein yang tinggi pada darah sapi dan ketersediaan yang melimpah sehingga sangat potensial untuk digunakan sebagai pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mencari perbandingan campuran terbaik antara darah sapi dan limbah industry pertanian (ampas kelapa, bungkil inti sawit dan bungkil kelapa), waktu fermentasi (24, 72 dan 120 jam) yang difermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3 x 3 x 3 dengan 3 ulangan. Faktor 1 yaitu perbandingan level darah dan limbah pertanian terdiri dari : A1 = 0,8:1; A2 = 1:1, A3 = 1:1,2 (v/v), faktor 2 yaitu jenis limbah (adsorben) terdiri dari: B1 = ampas kelapa, B2 = bungkil inti sawit, B3 = bungkil kelapa, dan faktor 3 yaitu lama fermentasi terdiri dari: C1 = 24 jam, C2 = 72 jam, C3 = 120 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan level darah 1:1,2, ampas kelapa, dan lama fermentasi 120 jam memiliki kandungan protein, serat kasar, retensi nitrogen, pencernaan serat kasar dan energi metabolisme terbaik dibandingkan dengan campuran yang lain. Kesimpulan penelitian ini yaitu campuran darah sapi dengan ampas kelapa (1:1,2) yang difermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 120 jam menghasilkan kualitas nutrisi, retensi nitrogen, pencernaan serat kasar, dan metabolisme energi terbaik dibandingkan dengan campuran darah dengan limbah pertanian lainnya.

Kata kunci: Darah sapi, limbah pertanian, fermentasi, bacillus amyloliquefaciens

ABSTRACT. A mixture of bovine blood and agricultural waste that can be used as animal feed, this is due to the high protein content in cow blood and its abundant availability so it is potential to be used as animal feed. The first stage is to find out the best combination between blood and agricultural waste (coconut pulp, palm kernel cake and coconut cake), and fermentation time (24, 72 and 120 hours) which is fermented by *Bacillus amyloliquefaciens*. This study used a 3x3x3 factorial completely randomized design (CRD) with 3 replications. Factor 1 is the ratio of blood levels and agricultural waste consisting of: A1 = 0.8:1, A2 = 1:1, A3 = 1:1.2 (v/v), factor 2 is the type of waste (adsorbent) consisting of: B1 = coconut dregs, B2 = palm kernel meal, B3 = coconut cake, and factor 3, namely the fermentation time consisting of: C1 = 24 hours, C2 = 72 hours, C3 = 120 hours. The results of this study showed a blood level of 1:1.2, coconut pulp, and fermentation time of 120 hours had the best protein, crude fiber, nitrogen retention, crude fiber digestibility and metabolic energy compared to other mixtures. The conclusion of this study is that the mixture of bovine blood with coconut pulp (1: 1.2) fermented by *Bacillus amyloliquefaciens* for 120 hours resulted in the best nutritional quality, nitrogen retention, crude fiber digestibility, and energy metabolism compared to blood mixtures with other agricultural wastes.

Keyword: Bovine blood, agricultural waste, fermentation, bacillus amyloliquefaciens

PENDAHULUAN

Perkembangan populasi ternak unggas di Indonesia, khususnya ayam broiler terus meningkat setiap tahunnya, tetapi tidak didukung oleh ketersediaan bahan pakan. Kendala dalam beternak unggas secara intensif adalah mahalanya harga pakan. Hal ini disebabkan oleh bahan pakan seperti tepung

ikan dan bungkil kedelai masih diimpor dari luar negeri. Pakan merupakan biaya paling tinggi dibandingkan biaya produksi lainnya. Oleh karena itu, perlu dicari bahan pakan terbaharukan yang dapat menggantikan penggunaan tepung ikan dan bungkil kedelai dalam ransum unggas sebagai sumber protein hewani dan nabati.

Ketersediaan sumberdaya lokal seperti hasil ikutan ternak dan limbah dari industri pertanian perlu dimanfaatkan secara optimal untuk menekan biaya produksi. Darah merupakan hasil ikutan ternak yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein bagi ternak dan memiliki potensi yang sangat besar untuk dijadikan bahan pakan penyusun ransum unggas. Darah sapi yang dihasilkan pertahunnya di Indonesia sebesar 11,9 juta kg (Ramadhan *et al.*, 2017). Darah dapat dimanfaatkan sebagai pakan dalam bentuk tepung darah. Tepung darah dapat dijadikan sebagai salah satu bahan pakan penyusun ransum ternak karena mengandung protein kasar yang tinggi yaitu 79,3% dan serat kasar 0,31% (Hasil analisis Laboratorium Teknologi Industri Pakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas, 2016). Kandungan air darah segar sekitar 80% sedangkan kandungan air tepung darah sekitar 16,5% (Setiowati *et al.*, 2014).

Sejumlah peneliti telah melakukan pengolahan tepung darah dengan cara pengeringan, penyerapan dan fermentasi. Pengolahan tepung darah dengan cara pengeringan paling umum digunakan dalam membuat tepung darah. Keterbatasan penggunaan tepung darah dan proses pengeringan yang membutuhkan waktu yang lama pada metode pengeringan pada pembuatan tepung darah membuat beberapa peneliti melakukan modifikasi pengolahan tepung darah dengan cara penyerapan menggunakan adsorben. Metode penyerapan merupakan salah satu metode pembuatan tepung darah untuk meningkatkan kualitas dari tepung darah dimana sebelum dijemur limbah darah dicampur dengan biji-bijian, limbah pertanian maupun limbah pemotongan hewan sebagai adsorben. Makinde dan Sonaiya (2011) melaporkan pemberian tepung darah yang diolah dengan mencampurkan limbah jagung dengan darah dapat diberikan maksimal 15% pada broiler stater dan finisher. Limbah industri pertanian yang dapat dimanfaatkan sebagai adsorben adalah ampas kelapa, bungkil inti sawit, dan bungkil kelapa, limbah tersebut merupakan limbah yang ketersediaannya sangat melimpah dan masih memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi. Kandungan protein dan serat kasar ampas

kelapa yaitu 4,89% dan 28,72% (Hidayati, 2011), bungkil inti sawit yaitu 14,49% dan 17,63% (Sinurat *et al.*, 2013) dan bungkil kelapa yaitu 16,6% dan 20,88% (Ramadhan *et al.*, 2016).

Penggunaan tepung darah dengan metode penyerapan hanya dapat dimanfaatkan sebesar 15% dalam ransum unggas, oleh karena itu beberapa peneliti juga telah memodifikasi metode penyerapan ini dengan menambahkan perlakuan fermentasi. *Bacillus amyloliquefaciens* merupakan bakteri gram positif yang mampu membentuk endospora dan dapat menghasilkan beberapa enzim seperti chitinase (Das *et al.*, 2012), lipase (Selvamohan *et al.*, 2012) endoglucanase (Ibrahim *et al.*, 2012). *Bacillus* merupakan salah satu bakteri penghasil Protein Sel Tunggal (PST) dan juga mampu menghasilkan berbagai jenis enzim yang dapat merombak zat makanan seperti karbohidrat, lemak dan protein menjadi senyawa yang lebih sederhana. Dari penjelasan di atas maka *Bacillus amyloliquefaciens* dapat dimanfaatkan sebagai inokulum fermentasi campuran darah dan limbah pertanian.

Produk fermentasi campuran darah dan limbah industri pertanian yang diinokulasikan dengan *Bacillus amyloliquefaciens* diharapkan mampu menjadi produk pakan fungsional untuk unggas. Hal ini disebabkan oleh sifat dari *Bacillus amyloliquefaciens* yang mampu membentuk endospora pada kondisi yang ekstrim seperti proses pemanasan dan endospora mampu bertahan sampai kondisi lingkungan kembali menguntungkan, kemudian membentuk proses germinasi, dan membentuk bakteri sel tunggal (Madigan *et al.*, 2012). Produk fermentasi yang mengandung spora yang mampu bergemini menjadi bakteri sel tunggal di usus halus dapat dijadikan probiotik bagi unggas karena mengandung mikroorganisme yang dapat meningkatkan populasi mikroorganisme yang menguntungkan dan mengurangi mikroorganisme patogen yang ada di dalam saluran pencernaan.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh kombinasi perlakuan terbaik antara level darah, jenis limbah industri pertanian (ampas kelapa, bungkil inti sawit dan bungkil kelapa) dan lama fermentasi terhadap

kualitas campuran darah dan limbah industry pertanian yang difermentasi dengan *Bacillus amyloliquefaciens* selama 24, 72, dan 120 jam.

MATERI DAN METODE

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3x3x3 dengan 3 ulangan. Faktor 1 yaitu perbandingan level darah dan limbah pertanian terdiri dari: A1 = 0,8:1; A2 = 1:1; A3 = 1:1,2 (v/v), faktor 2 yaitu jenis limbah (adsorben) terdiri dari: B1 = ampas kelapa, B2 = bungkil inti sawit, B3 = bungkil kelapa, dan faktor 3 yaitu lama fermentasi terdiri dari : C1 = 24 jam, C2 = 72 jam, C3 = 120 jam.

Model matematis Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola factorial dengan 3 faktor (3x3x3) yaitu:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

Dimana:

- Y_{ijkl} = nilai pengamatan sampel ke-1 yang memperoleh kombinasi perlakuan ke-I (taraf perlakuan faktor A), ke-j (taraf perlakuan faktor B) dan ke-k (taraf perlakuan faktor C).
- μ = nilai tengah populasi (rata-rata sesungguhnya)
- α_i = pengaruh aditif taraf ke-I dari faktor A
- β_j = pengaruh aditif taraf ke-j dari faktor B
- γ_k = pengaruh aditif taraf ke-k dari faktor C
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B
- $(\alpha\gamma)_{ik}$ = pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-k faktor C
- $(\beta\gamma)_{jk}$ = pengaruh interaksi taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C
- $(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A; taraf ke-j faktor B dan taraf ke-k faktor C
- ϵ_{ijkl} = pengaruh galat percobaan pada sampel ke-1 yang memperoleh kombinasi perlakuan ke-ijk.

Parameter yang Diukur

Parameter yang diukur pada percobaan ini adalah analisis kandungan zat makanan sebelum dan sesudah fermentasi (AOAC, 2005), retensi nitrogen (Sibbald dan Wolynetz, 1984), pencernaan serat kasar (Sibbald, 1975) dan energi metabolisme (Sibbald, 1975). Semua data yang diperoleh dianalisa menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan untuk membedakan antar perlakuan diuji dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Inokulum *Bacillus amyloliquefaciens* (Wizna et al. 2014)

Dedak padi sebanyak 100 g disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, kemudian dinginkan sampai suhu kamar (24°C). Aquades sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah ditumbuhi biakan murni *B. amyloliquefaciens*, kemudian cawan petri digoyang perlahan sampai mikroba lepas dari media lalu dimasukkan ke dalam tabung erlemeyer yang telah berisi aquades sebanyak 190 ml. Dedak padi yang sudah steril dicampur dengan aquades 200 ml yang sudah ada suspensi *B. amyloliquefaciens*. Inkubasi selama 24 jam kemudian keringkan dengan oven pada suhu 60°C sehingga berbentuk tepung yang dijadikan sebagai inokulum.

2. Fermentasi Campuran Darah dan Limbah Industri Pertanian

Pembuatan campuran darah dan limbah industri pertanian dilakukan menggunakan masing-masing 250 ml limbah industri pertanian (ampas kelapa, bungkil inti sawit, dan bungkil kelapa) yang sudah disterilisasi. Darah diambil dari RPH dan ditambahkan sebesar 200, 250, dan 300 ml ke dalam limbah industry pertanian, lalu diaduk hingga rata. Setelah tercampur lalu ditambahkan inokulum sebanyak 3% dari berat campuran darah dan limbah dan difermentasi selama 24 jam dengan suhu 40°C. Setelah difermentasi campuran tersebut dikeringkan dengan suhu 60°C. Selanjutnya masing-masing sampel dibawa ke laboratorium untuk di analisa kandungan zat makanan, serat kasar, retensi nitrogen, dan energi metabolisme.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kandungan nutrisi campuran darah sapi dengan limbah pertanian yang di fermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens*

a) Protein Kasar

Kandungan protein campuran darah sapi dan limbah pertanian yang difermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 24, 72, dan 120 jam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan protein kasar dari fermentasi darah sapi dan limbah pertanian dengan *Bacillus amyloliquefaciens* (% BK).

Jenis limbah pertanian	Level darah (ml)	Waktu fermentasi (jam)		
		24	72	120
AK (250 ml)	200 (1:0,8)	37,79 ^e	39,26 ^e	43,79 ^d
	250 (1:1)	39,24 ^e	43,75 ^{de}	48,40 ^b
	300 (1:1,2)	44,85 ^d	45,31 ^d	50,70^a
BIS (250 ml)	200 (1:0,8)	32,63 ^g	34,85 ^f	40,40 ^c
	250 (1:1)	40,09 ^c	41,57 ^e	44,25 ^d
	300 (1:1,2)	44,39 ^d	45,56 ^{cd}	47,48 ^{bc}
BK (250 ml)	200 (1:0,8)	36,70 ^e	39,69 ^e	40,76 ^e
	250 (1:1)	37,98 ^e	39,17 ^e	42,82 ^e
	300 (1:1,2)	39,75 ^e	43,82 ^{dc}	44,90 ^d

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0.05)

Pada tabel 1 dapat dilihat kandungan protein kasar dari campuran darah sapi dan limbah pertanian yang difermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens*. Hasil analisis keragaman menunjukkan adanya interaksi (P<0,05) antara jenis limbah pertanian, konsentrasi darah dan waktu fermentasi. Hal ini memperlihatkan jenis limbah pertanian, level darah, dan waktu fermentasi bersinergi dalam meningkatkan kandungan protein kasar pada fermentasi campuran darah dan limbah industri pertanian. Setelah dilakukan uji DMRT dapat dilihat campuran darah (300 ml) dengan AK dengan perbandingan 1,2:1 dan waktu fermentasi selama 120 jam memiliki kandungan yang berbeda nyata (P<0,05) terhadap kandungan protein kasar dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 50,70% sementara itu kandungan protein BIS 47,48 dan BK 44,90. Kandungan protein pada campuran darah dan ampas kelapa ini lebih tinggi dibandingkan campuran darah dan ampas kelapa yang belum difermentasi yaitu 35,75%.

Peningkatan kandungan protein kasar dari campuran darah dan ampas kelapa lebih tinggi dibandingkan dengan campuran darah dan bungkil kelapa serta campuran darah dan

bungkil inti sawit, hal ini karena ampas kelapa merupakan absorbans yang dapat menyerap darah lebih baik sehingga kadar air pada media fermentasi lebih baik sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan *Bacillus amyloliquefaciens*. Ampas kelapa memiliki daya serap yang lebih baik dibandingkan limbah industri pertanian lainnya dikarenakan ukuran partikel dari ampas kelapa lebih besar sehingga ruang pori untuk menyerap darah lebih banyak. Level darah 300 ml pada campuran darah dan limbah industri pertanian juga menyumbang peningkatan kandungan protein pada media fermentasi, hal ini dikarenakan meningkatnya jumlah darah sehingga kandungan protein ikut meningkat. Hal ini disebabkan darah sapi mengandung protein lebih dari 79,3% (Hasil analisis Laboratorium Teknologi Industri Pakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas, 2016).

Peningkatan protein kasar juga dapat disebabkan oleh aktivitas dari *Bacillus amyloliquefaciens*. Pada campuran darah 300 ml dengan ampas kelapa yang difermentasi selama 120 jam merupakan media tumbuh dan waktu fermentasi yang terbaik untuk *Bacillus amyloliquefaciens* sehingga bakteri dapat

memproduksi enzim secara optimal yang mengakibatkan peningkatan kualitas nutrisi dari produk fermentasi tersebut. Bakteri akan menghasilkan enzim sesuai dengan kandungan nutrisi pada media tumbuhnya, pada campuran darah dan ampas kelapa mengandung protein yang sangat tinggi sehingga *Bacillus amyloliquefaciens* lebih banyak memproduksi enzim protease untuk memecah protein pada media fermentasi tersebut. Amadou *et al.* (2010) menyatakan peningkatan kadar protein dikarenakan mikroba menganalisis protein kompleks menjadi asam amino bebas atau peptide yang lebih sederhana dengan adanya enzim proteolitik selama fermentasi.

Lama fermentasi juga mempengaruhi tingginya kandungan protein dari hasil fermentasi, semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak kesempatan mikroba untuk memecah substrat menjadi bentuk yang lebih sederhana. Martono *et al.* (2016) menyatakan terjadi peningkatan kadar protein seiring bertambahnya lama fermentasi. Sarasvati *et al.* (2014) juga melaporkan hasil fermentasi pods menggunakan *Bacillus subtilis* lama fermentasi 48 jam dapat meningkatkan protein sampai 1,4 kali lipat yang dapat dikaitkan dengan waktu sintesis enzim mikroba untuk penguraian substrat semakin banyak.

b) Serat Kasar

Kandungan serat kasar campuran darah sapi dan limbah pertanian yang di fermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 24, 72, dan 120 jam dapat di lihat pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 dapat dilihat kandungan serat kasar dari campuran darah sapi dan limbah pertanian yang di fermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens*. Hasil analisis keragaman menunjukkan ada interaksi ($P < 0,05$) antara jenis limbah pertanian, konsentrasi darah dan waktu fermentasi. Hal ini memperlihatkan jenis limbah pertanian, level darah, dan waktu fermentasi bersinergi dalam meningkatkan kandungan serat kasar pada fermentasi campuran darah dan limbah industri pertanian. Setelah dilakukan uji DMRT dapat dilihat kandungan serat kasar dari campuran darah sapi (300 ml) dengan AK dengan perbandingan 1,2:1 dan BIS tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Sementara itu, terdapat perbedaan yang sangat signifikan ($P < 0,01$) dibandingkan BK. Namun, kandungan serat kasar ampas kelapa dan darah dapat diturunkan lebih besar yaitu 14,72 menjadi 6,78% (53%) dibandingkan bungkil inti sawit dan bungkil kelapa.

Tabel 2. Rataan serat kasar dari fermentasi darah sapi dan limbah pertanian dengan *Bacillus amyloliquefaciens* (% BK).

Limbah pertanian	Level darah (ml)	Waktu fermentasi (jam)		
		24	72	120
AK (250 ml)	200 (1:0.8)	14,72 ^{hi}	11,78 ^{ef}	9,48 ^b
	250 (1:1)	9,29 ^{ab}	8,59 ^a	8,28 ^a
	300 (1:1.2)	8,29 ^a	7,45 ^a	6,78^a
BK (250 ml)	200 (1:0.8)	7,67 ^a	6,99 ^a	5,55 ^a
	250 (1:1)	6,85 ^a	5,75 ^a	5,33 ^a
	300 (1:1.2)	6,61 ^a	6,26 ^a	5,30 ^a
BIS (250 ml)	200 (1:0.8)	17,86 ⁱ	15,05 ⁱ	14,05 ^h
	250 (1:1)	13,87 ^{gh}	11,13 ^{cd}	10,42 ^{cd}
	300 (1:1.2)	12,00 ^e	9,44 ^{ab}	8,44 ^a

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Penurunan serat kasar pada campuran darah dan ampas kelapa dikarenakan terpenuhinya sumber nitrogen dan karbon untuk pertumbuhan bakteri sehingga bakteri

lebih optimal dalam menghasilkan enzim selulase untuk memecah serat kasar dimana sumber nitrogennya pada penelitian ini yaitu darah sapi dan sumber karbonnya yaitu limbah

pertanian. *Bacillus amyloliquefaciens* merupakan bakteri selulolitik yang menghasilkan enzim selulase yang dapat menguraikan kandungan serat kasar dalam proses fermentasi. Wizna *et al.* (2014) melaporkan *Bacillus amyloliquefaciens* adalah bakteri celulolitik dan dapat menurunkan serat kasar dan menghasilkan beberapa enzyme *xtracelluler* seperti *cellulase* dan *hemicellulase*. Menurut Murrad dan Azzaz (2010) menyatakan enzim selulase adalah kelompok enzim *fibrolityc* yang mampu menghidrolisis serat pada dinding sel tanaman menjadi glukosa. Penurunan serat kasar bisa juga dikarenakan jumlah darah yang terdapat pada media fermentasi, semakin banyak level darah maka kandungan serat kasarnya semakin menurun, hal ini karena darah mengandung serat kasar yang sangat rendah yaitu sebesar 0.31%.

Waktu fermentasi merupakan salah satu pengaruh penurunan serat kasar pada produk fermentasi, semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak kesempatan enzim untuk merombak substrat menjadi produk yang lebih sederhana. Pada penelitian ini semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan semakin besar penurunan serat kasar pada produk fermentasi. Hal ini sejalan dengan Wizna *et al.* (2014) yang menyatakan lama fermentasi dapat menurunkan serat kasar karena kesempatan

enzim untuk merombak serat kasar terutama selulosa dan hemiselulosa menjadi lebih sempurna dengan meningkatnya waktu fermentasi. Menurut Nurhajati dan Suprpto, (2013) perlakuan fermentasi dengan bakteri selulolitik menurunkan kandungan serat kasar. Kadar serat kasar menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi.

2. Kualitas nutrisi campuran darah sapi dengan limbah pertanian yang di fermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens*

a) Retensi Nitrogen

Pada tabel 3 dapat dilihat retensi nitrogen dari campuran darah sapi dan limbah pertanian yang di fermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 24, 72, dan 120 jam.

Hasil analisis keragaman menunjukkan ada interaksi ($P < 0,05$) antara jenis limbah pertanian, konsentrasi darah dan waktu fermentasi. Hal ini memperlihatkan jenis limbah pertanian, level darah, dan waktu fermentasi bersinergi dalam meningkatkan retensi nitrogen pada fermentasi campuran darah dan limbah industri pertanian. Setelah dilakukan uji DMRT dapat dilihat retensi nitrogen dari campuran darah dengan AK 1:1,2 berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap campuran darah dengan BIS dan BK yaitu sebesar 55,60.

Tabel 3. Rataan retensi nitrogen dari fermentasi darah sapi dan limbah pertanian dengan *Bacillus amyloliquefaciens* (% BK).

LimbahPertanian	Level darah (ml)	Waktu fermentasi (jam)		
		24	72	120
AK (250 ml)	200 (1:0.8)	28,21 ^m	24,84 ^m	30,75 ^{lm}
	250 (1:1)	34,50 ^{ik}	45,42 ^{de}	46,84 ^{cd}
	300 (1:1.2)	24,24 ^m	44,12 ^{def}	55,60^a
BK (250 ml)	200 (1:0.8)	30,75 ^{lm}	34,10 ^{ik}	38,59 ^{hi}
	250 (1:1)	41,58 ^{figh}	43,23 ^{efg}	46,26 ^{cde}
	300 (1:1.2)	33,02 ^{kl}	40,39 ^{gh}	49,25 ^c
BIS (250 ml)	200 (1:0.8)	34,26 ^{ik}	36,68 ^{ij}	40,25 ^{ghi}
	250 (1:1)	45,41 ^{de}	46,80 ^{cd}	48,67 ^c
	300 (1:1.2)	30,19 ^{lm}	44,58 ^{def}	52,59 ^b

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Peningkatan pencernaan protein suatu bahan pakan disebabkan oleh kualitas protein dalam pakan tersebut, semakin baik kualitas protein dalam pakan maka pencernaan

proteinnya semakin baik pula. Pada hasil penelitian ini kandungan protein yang paling tinggi yaitu campuran darah (1:1,2) dan AK yang difermentasi selama 120 jam

menghasilkan retensi nitrogen yang tinggi juga dibandingkan campuran darah dan limbah pertanian lainnya. Hal ini memperlihatkan semakin tinggi kandungan protein suatu bahan maka semakin tinggi pula protein yang dapat dicerna oleh tubuh. Jiang *et al.* (2015) melaporkan pencernaan protein menurun pada ransum yang mengandung protein rendah sementara itu tidak berpengaruh pada ransum yang mengandung protein tinggi. Pencernaan protein yang tinggi pada campuran darah dan ampas kelapa bisa juga dikarenakan oleh aktivitas *Bacillus amyloliquefaciens* yang lebih tinggi ketika ditumbuhkan pada darah dan ampas kelapa sebagai sumber nitrogen dan karbonnya sehingga enzim protease yang dihasilkan untuk memecah protein semakin meningkat pula. Mikroorganisme membutuhkan sumber nitrogen dan karbon untuk menghasilkan enzim. Dimana sumber N dan C pada penelitian ini yaitu darah dan limbah pertanian. Amodou *et al.* (2010) menyatakan fermentasi dapat merombak senyawa kompleks protein menjadi senyawa yang lebih sederhana dan mudah di cerna seperti asam amino bebas.

Retensi nitrogen suatu bahan menurut McDonald, *et al.* (2010) adalah bagian yang terserap dalam saluran pencernaan dan tidak dieksresikan dalam feses. Retensi nitrogen pada campuran darah (300 ml) dengan AK memiliki kandungan protein yang paling tinggi, hal ini mengakibatkan semakin banyak pula nitrogen

yang dapat di manfaatkan sebagai sumber protein pembentuk jaringan tubuh. Fermentasi juga dapat menyebabkan retensi nitrogen dari suatu bahan jadi meningkat. Fermentasi merupakan metode pengolahan bahan pakan untuk meningkatkan kualitas nutrisi dan juga pencernaan bahan pakan dengan memanfaatkan aktifitas dari mikroorganisme. Menurut Mirnawati *et al.* (2013) tingginya nilai pencernaan protein dikarenakan adanya proses fermentasi, hal ini disebabkan peran mikroorganisme yang mampu mengurai protein sehingga meningkatkan pencernaan protein.

b) Kecernaan Serat Kasar

Pada Tabel 4 dapat dilihat kecernaan serat kasar dari campuran darah dengan limbah industry pertanian yang difermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 24, 72, dan 120 jam.

Hasil analisis keragaman menunjukkan terdapat interaksi antara jenis limbah pertanian, konsentrasi darah dan waktu fermentasi. Hal ini memperlihatkan jenis limbah pertanian, level darah, dan waktu fermentasi bersinergi dalam meningkatkan kecernaan serat kasar pada fermentasi campuran darah dan limbah industry pertanian. Setelah dilakukan uji DMRT dapat dilihat campuran darah (300 ml) dengan AK yang difermentasi selama 120 jam oleh *Bacillus amyloliquefaciens* berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan campuran lainnya yaitu 49,88%.

Tabel 4. Rataan kecernaan serat kasar dari fermentasi darah sapi dan limbah pertanian dengan *Bacillus amyloliquefaciens* (% BK).

Limbahpertanian	Level darah (ml)	Waktu fermentasi		
		24	72	120
AK	200 (1:0.8)	36,38 ⁱ	37,37 ⁱ	38,55 ^g
	250 (1:1)	39,76 ^f	40,53 ^e	41,52 ^d
	300 (1:1.2)	42,68 ^c	45,31 ^b	49,88^a
BK	200 (1:0.8)	30,45 ^p	31,76 ^o	32,59 ^o
	250 (1:1)	33,60 ^m	34,31 ^l	35,64 ^k
	300 (1:1.2)	36,35 ⁱ	37,48 ^h	38,47 ^g
BIS	200 (1:0.8)	27,26 ^t	28,22 ^s	29,34 ^r
	250 (1:1)	30,43 ^q	31,46 ^p	32,63 ⁿ
	300 (1:1.2)	33,36 ^m	34,67 ^l	35,35 ^k

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Kecernaan serat kasar pada campuran darah dan ampas kelapa dipengaruhi oleh aktivitas enzim dari *Bacillus amyloliquefaciens* yang menghasilkan enzim selulase yang dapat memecah serat kasar sehingga penyerapannya di dalam usus halus semakin meningkat. Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* bersifat selulolitik dan dapat mendegradasi serat kasar, hal ini dikarenakan *Bacillus amyloliquefaciens* menghasilkan enzim selulase dan hemiselulase ekstraseluler (Wizna *et al.*, 2014). Kandungan serat kasar pada ampas kelapa juga merupakan salah satu faktor tingginya kecernaan serat kasar pada campuran darah dan ampas kelapa dibandingkan campuran darah dengan bungkil kelapa dan bungkil inti sawit, dimana kandungan serat kasar pada ampas kelapa mudah dicerna yang kemudian dapat digunakan sebagai sumber energi. Kecernaan serat kasar juga dipengaruhi oleh kandungan serat kasar pada campuran darah 1:1.2 dengan ampas kelapa lebih rendah dibandingkan campuran lainnya. Hernandez *et al.* (2011) juga melaporkan peningkatan kandungan serat kasar pada ransum akan mengakibatkan penurunan kecernaan nutrien. Sehingga semakin rendah kandungan serat kasar pada ransum dapat meningkatkan kecernaan zat nutrisi pada ransum.

Bacillus amyloliquefaciens juga menghasilkan spora yang tahan panas sehingga tidak mati pada proses pembuatan pakan yang menggunakan suhu tinggi sehingga spora dari *Bacillus amyloliquefaciens* dapat tumbuh kembali di saluran pencernaan dan dapat membantu proses pencernaan serat kasar di dalam usus

halus. Menurut Wizna *et al.* (2014) *Bacillus amyloliquefaciens* dapat hidup di usus halus ayam karena bakteri ini dapat tumbuh baik di bawah kondisi *aerobic* sampai *anaerobic* fakultatif, menghasilkan spora tahan panas, mampu tumbuh pada suhu 8-60 °C, pH 2-8 dan pada larutan garam konsentrasi tinggi yaitu 10%. Hal ini mengakibatkan spora *Bacillus amyloliquefaciens* dapat tumbuh kembali di dalam usus halus dan membantu penyerapan serat kasar.

c) Energi Metabolisme

Pada Tabel 5 dapat dilihat energi metabolisme dari campuran darah sapi dan limbah pertanian yang di fermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 24, 72, dan 120 jam.

Hasil analisis keragaman menunjukkan terdapat interaksi antara jenis limbah pertanian, konsentrasi darah dan waktu fermentasi. Hal ini memperlihatkan jenis limbah pertanian, level darah, dan waktu fermentasi bersinergi dalam meningkatkan energy metabolisme pada fermentasi campuran darah dan limbah industry pertanian. Setelah dilakukan uji DMRT dapat dilihat campuran darah (300 ml) dengan AK yang difermentasi selama 120 jam memiliki nilai energy metabolisme yang berbeda nyata ($P<0,05$) dibandingkan campuran darah dan limbah industry pertanian lainnya dengan energy metabolisme yaitu 3376 kkal. Energi metabolisme merupakan jumlah energi yang terkandung dalam makanan yang dapat dicerna kemudian dikurangi dengan energi yang dikeluarkan bersama feses.

Tabel 5. Rataan energy metabolisme dari fermentasi darah sapi dan limbah pertanian dengan *Bacillus amyloliquefaciens* (% BK).

Limbah pertanian	Level darah	Waktu fermentasi		
		24	72	120
AK	200 (1:0.8)	2888,67 ^e	2989,33 ^e	3056,33 ^d
	250 (1:1)	3093,67 ^d	3172,33 ^e	3235,33 ^b
	300 (1:1.2)	3270,00 ^b	3334,33 ^a	3376,00^a
BK	200 (1:0.8)	1950,67 ^p	2084,67 ^o	2200,00 ^{mn}
	250 (1:1)	2292,67 ^m	2407,00 ^k	2619,67 ⁱ
	300 (1:1.2)	2685,67 ⁱ	2813,00 ^g	2884,33 ^f
BIS	200 (1:0.8)	2177,67 ⁿ	2299,67 ^l	2377,00 ^l
	250 (1:1)	2517,67 ^k	2587,33 ⁱ	2709,67 ^{hi}
	300 (1:1.2)	2742,33 ^h	2896,00 ^e	3058,00 ^d

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Energi metabolisme yang tinggi pada campuran darah dan AK disebabkan oleh kandungan serat kasar yang rendah sehingga mengakibatkan peningkatan energi metabolisme. Hal ini sesuai dengan Ginindza *et al.* (2017) yang melaporkan kadar serat kasar yang tinggi pada ransum akan mengakibatkan penurunan asupan energi metabolisme pada ayam Venda. Hal ini dikarenakan ayam kekurangan enzim untuk mencerna sellulosa dan hemisellulosa yang terdapat pada serat kasar (Linberg, 2014). Sementara itu, Wizna *et al.* (2014) menyatakan semakin baik pertumbuhan *Bacillus amyloliquefaciens* maka semakin banyak enzim yang dihasilkan untuk merombak karbohidrat dan serat kasar menjadi glukosa yang akhirnya meningkatkan nilai energi metabolisme yang dimanfaatkan oleh ternak.

KESIMPULAN

Campuran darah dengan ampas kelapa (1:1,2) yang difermentasi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* selama 120 jam menghasilkan kualitas nutrisi, retensi nitrogen, pencernaan serat kasar, dan energi metabolisme terbaik dibandingkan campuran darah dengan limbah pertanian lainnya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Naskah artikel ini ditulis dengan bebas dan tidak memiliki konflik kepentingan yang berhubungan dengan keuangan, pribadi atau organisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amodou, I., Mohamed, T., Kamara, Tidjani, A., Foh, M.B.K. & Guo-Wei, L. 2010. Physicochemical and nutritional analysis of fermented soybean protein meal by *Lactobacillus plantarum* Lp6. *World Journal Dairy and Food Science* 5: 14-118
- AOAC. 2005. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Maryland: AOAC International. William Harwitz (ed). United States of America.
- Das, M. P., L. Jeyanthi R., S. Sharmila, Anu, Ankita B., & Dhiraj Kumar. 2012. Identification and optimization of cultural condition for chitinase production by *Bacillus amyloliquefaciens* SM3. *Jurnal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012, 4(11):4816-4821.
- Ginindza M. M., Jones W. N, & D. Norris. 2017. Effect of dietary crude fibre level on intake, digestibility and productivity of slow-growing indigenous Venda chickens aged one to 91 days. *Indian J. Anim. Res.*, 5(6): 1073-1079.
- Hidayati, S.G. 2011. Pengolahan Ampas Kelapa Dengan Mikroba Lokal Sebagai Bahan Pakan Ternak Unggas Alternatif di Sumatera Barat. *Jur. Embrio* (4) (1) (26 -36).
- Ibrahim, A.D., Mukhtar, Sa'adat I., Ibrahim, M.N., Oke, M.A. & Ajjolakewu, A.K. 2012. *Adonsonia digitata* (Baobab) fruit pulp as substrate for *Bacillus amyloliquefaciens* Endoglucanase production.
- Madigan M, Martinko J, Stahl D, & Clark D. 2012. *Brock Biology of Microorganisms*. Ed ke-13. New York: Pearson.
- Makinde, O. A. & E B Sonaiya. 2011. Utilization of sun-dried maize offal with blood meal in diets for broiler chickens. *Journal of Animal Sciences*. Vol. 1. No. 3. 106-111.
- Martono, Y., L. D Danriani, & Hartini. S. 2016. Pengaruh Protein terhadap Kandungan Protein dan Asam Amino Pada Tepung Gapek yang Difortifikasi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L))
- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh, C.A. Morgan, L.A. Sinclair, & R.G. Wilkinson. 2010. *Animal Nutrition*. 7th Ed. Prentice Hall, Pearson, Harlow, England, London, New York, Boston, San Fransisco, Toronto, Sydney, Tokyo, Singapore, Hong Kong, Seoul, Taipei, New Delhi, Cape Town, Madrid, Mexico City, Amsterdam, Munich, Paris, Milan.
- Mirawati., B. Sukamto, & V.D. Yuniarto. 2013. Kecernan Protein, Retensi Nitrogen dan Massa Protein Daging Ayam Broiler yang diberi Ransum daun Murbei (*Morus alba* L.) yang difermentasi dengan Cairan Rumen. *JITP Vol 3 no 1*.
- Murrad & Azzaz. 2010. Cellulase and Dairy Animal Feeding. *Journal Biotechnology*. 9(3): 238-258.
- Nurhajati, T. & T. Suprpto. 2013. Penurunan serat kasar dan peningkatan protein kasar sabut kelapa (*Cocos nucifera* Linn) secara amofer dengan bakteri selulolitik (*Actinobacillus* ML-08) dalam pemanfaatan limbah pasar sebagai sumber bahan pakan. *J. Agroveteriner*. 2 (1) : 1-11.

- R.F. Ramadhan, C. Yang, Wizna, Y. Marlida & Mirzah. 2017. Effects of amino acid composition in a *Bacillus amyloliquefaciens*-fermented mixture of bovine blood and coconut pulp on growth performance, blood cholesterol of broilers. *Int. J. Poult. Sci.*, CC: CC-CC.
- R.F. Ramadhan, Wizna, Y. Marlida & Mirzah. 2016. Fermentation of blood meal with *Bacillus amyloliquefaciens* as broiler feeding. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 11: 840-846.
- Sarasvati, S., B. Sujata, & S. Amita. 2014. Effects of Fermentation on Nutritional Quality of *Prosopis Juliflora* Pods as Alternative Fish Feed. *Res. J. Animal, Veterinary and Fishery Sci.* Vol. 2(12), 1-7
- Selvamohan, T., V. Ramadas, & T. A. Sathya. 2012. Optimization of Lipase Enzyme Activity Produced by *Bacillus amyloliquefaciens* Isolated from Rock Lobster *Paralichthys olivaceus*. *International Journal of Modern Engineering Research (IJMER)*.
- Setiowati S., E. Sudjarwo, & A. A. Hamiyanti. 2014. The effect of blood meal addition in the feed to carcass and giblet percentages of quail.
- Sibbald, I.R., 1975. The effect of level intake on metabolizable energy values measured with adult rooster. *poultry Science* 54: 1990-1998.
- Sibbald, I.R., & M.S. Wolynetz. 1984. Relationship between apparent and true metabolizable energy and the effect of nitrogen correction. *Poult Sci.* 63: 1386-1399.
- Sinurat AP, T. Purwadaria, & T. Pasaribu. 2013. Peningkatan Nilai Gizi Bungkil Inti Sawit dengan Pengurangan Cangkang dan Penambahan Enzim. *JITV Vol. 18 No 1 Th.* 2013: 34-41.
- Wizna, H. Muis, & A. Deswan. 2014. Pengaruh Dosis Inokulum dan Lama Fermentasi Campuran Dedak Padi dan Darah dengan *Bacillus amyloliquefaciens* terhadap Kandungan Serat Kasar, Kecernaan Serat Kasar, dan Energi Metabolisme. *Jurnal Peternakan Indonesia.* ISSN 1907-1760.
- Qingkui J., G. Lia, T. Zhanga, H. Zhanga, Xiuhua Gaob, Xiumei Xinga, J. Zhaoa, & F. Yang. 2015. Effects of dietary protein level on nutrients digestibility and reproductive performance of female mink (*Neovison vison*) during gestation. *Animal Nutrition* 1 (2015) 65-69.
- Hernandez, F., Lopez, M.J., Garcia, V., Martínez, S., Megias, M.D, & Madrid, J. 2011. Influence of cereal type and the inclusion of sunflower meal as a source of additional dietary fibre on nutrient retention, growth performance and digestive organ size in broilers from one to twenty-one days of age. *Anim Feed Sci Technol.* 165: 251-257.
- Lindberg, J.E. 2014. Fiber effects in nutrition and gut health in pigs. *J Anim Sci Biotechnol.* 5:15.