



ISSN 0126-1754

Volume 10, Nomor 2, Agustus 2010

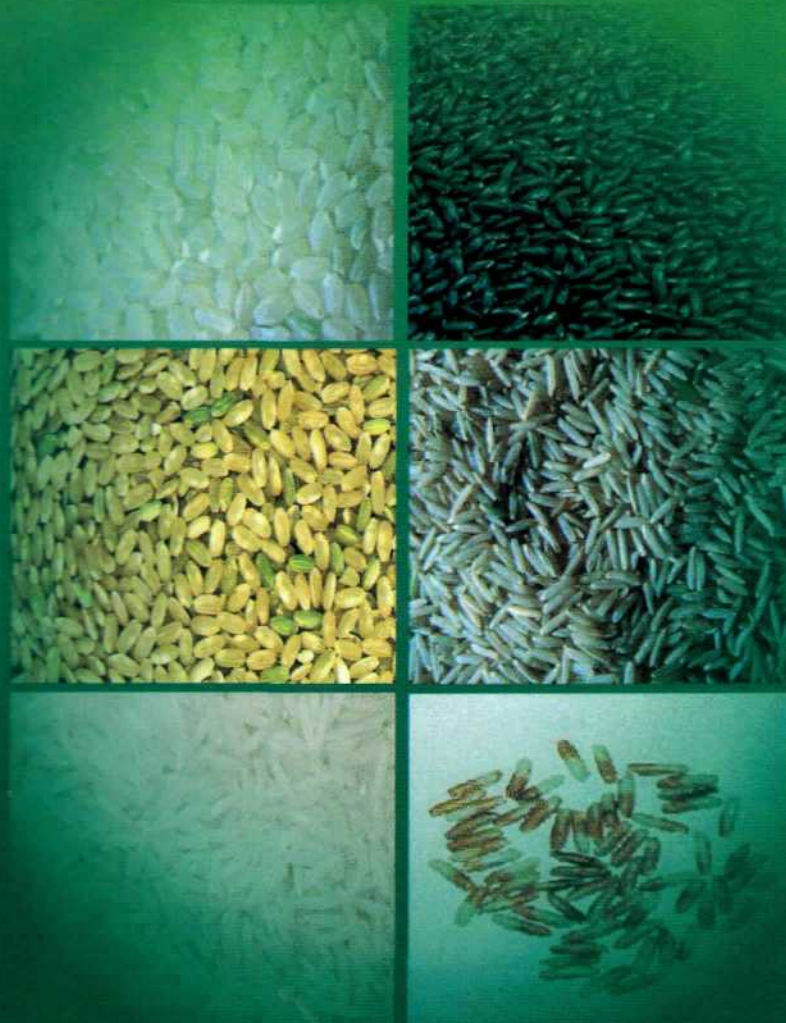
Terakreditasi Peringkat A

SK Kepala LIPI

Nomor 180/AU1/P2MBI/08/2009

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekaryat-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan beipedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Tukirin Partomihardjo

Redaksi Pelaksana

Marlina Ardiyani

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarto

Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id

ksamajp2biologi@yahoo.com

herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depart: Keragaman genetik plasma nutfah padi beras putih dan beras warna, sesuai makalah di halaman 143 Foto: Dwinita W Utami - Koleksi BB Biogen-Badan Pengembangan dan Penelitian Pertanian-Departemen Pertanian.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Uday and*)
Dr Joko Sulistyio (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid Ali Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Mogeia (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Bioiogi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)
Dr Endang T Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Bioiogi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adrian (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfhmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Bioiogi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan Ali (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Bioiogi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Ikiim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Bioiogi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
10(2)-Agustus 2010

Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Ary P. Keim - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. B Paul Naiola - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Endang Gati Lestari - *BB Litbang Bioteknologi dan
Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*
Dr. Endang Tri Margawati - *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Kusumadewi Sri Yulita - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Marlina Ardiyani - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Satya Nugroho - *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Drs. Edi Mirmanto, M.Sc. - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Herwasono Soedjito - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Joeni Setijo Rahajoe - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dr. Rianta - *Pusat Penelitian Limnologi LIPI*
Dr. Syahroma H. Nasution - *Pusat Penelitian Limnologi*
Prof. (Ris.) Dr. Woro A. Noerdjito - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*
Dra. Yuliasri Jamal, M.Sc. - *Pusat Penelitian Biologi LIPI*

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

PENINGKATAN KUALITAS NUTRISI TEPUNG DAUN LAMTORO SEBAGAI PAKAN IKAN DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK ENZIM CAIRAN RUMEN DOMBA (Improvement Nutrition Value of <i>Leucaena</i> Leaf Meal as Fish Feed with Addition of Sheep Rumen Fluid Enzyme)	
<i>Indira Fitriliyani, Enang Harris, Ing Mokoginta, Nahrowi</i>	135
SIDIJARI DNA PLASMA NUTFAH PADI LOKAL MENGGUNAKAN MARKA MOLEKULER SPESIFIK UNTUK SIFAT PADI BERAS MERAH [DNA Fingerprinting of Local Rice Germplasm using The Specific Markers for Red Rice]	
<i>Dwinita W. Utami, Aderahma Ilhami, Ida Hanarida</i>	143
PENGUNAAN VAKSIN <i>Aeromonas hydrophila</i>: PENGARUHNYA TERHADAP SINTASAN DAN IMUNITAS LARVA IKAN PATIN (<i>Pangasionodon hypophthalmus</i>) (The Application of <i>Aeromonas hydrophila</i> Vaccine: The Effects on The Survival Rate and Immunity of Patin Seed (<i>Pangasionodon hypophthalmus</i>))	
<i>Angela M Lusiasuti dan Wartono Hadie</i>	151
KEANEKARAGAMAN LUMUT DI TAMAN NASIONAL BUKIT BARISAN SELATAN, PROVINSI LAMPUNG, SUMATERA [Mosses Diversity In Bukit Barisan Selatan National Park, Lampung Province, Sumatera]	
<i>Florentina Indah Windadri</i>	159
PRIMER-PRIMER BARU UNTUK MENGAMPLIFIKASI GEN PENGKODE PROTEIN AMPLOP VIRUS DENGUE STRAIN CH53489 [Novel Primers to Amplify The Gene Coding for Envelope Protein of Dengue Virus Strain CH53489]	
<i>Ira Djajanegara</i>	167
ANALISIS VEGETASI POHON DI HUTAN HUJAN TROPIK HARAPAN, JAMBI [Vegetation Analysis of Trees in Harapan Rainforest, Jambi]	
<i>Muhammad Mansur, Teguh Triono, Ismail, Setyawan Warsono Adi, Enu Wahyu, Gofar Ismail</i>	173
KEANEKARAGAMAN KUMBANG LUCANID (Coleoptera: <i>Lucanidae</i>) DI TAMAN NASIONAL BOGANI NANI WARTA BONE, SULAWESI UTARA [Lucanids Beetle Diversity (Coleoptera: <i>Lucanidae</i>) in the Bogani Nani Wartabone National Park, North Sulawesi]	
<i>Roni Koneri</i>	179
ANALISIS PREDIKSI SEBARAN ALAMI GAHARU MARGA <i>Aquilaria</i> DAN <i>Gyrinops</i> DI INDONESIA [Natural Distribution Prediction Analyses of Agarwood Genera of <i>Aquilaria</i> and <i>Gyrinops</i>) in Indonesia]	
<i>Roemantyo dan Tukirin Partomihardjo</i>	189
VIRULENCE OF <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> AND REACTION OF RICE GENOTYPES TO THE RACES OF THE PATHOGEN [Virulensi <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> dan Reaksi Genotipe Padi Terhadap Ras Patogen]	
<i>Y Suryadi and Triny S Kadir</i>	199

KEANEKARAGAMAN TUMBUHAN PULAU SEPANJANG JAWA TIMUR [Plant Diversity of Sepanjang Island, East Java] <i>Rugayah, Suhardjono, S Susiarti</i>	205
PENGARUH LAMA PENYIMPANAN, SUHU DAN LAMA PENGERINGAN KENTANG TERHADAP KUALITAS KERIPIK KENTANG PUTIH [Effect of Storage, Temperature and Drying Duration of Potato on Potato chip Quality] <i>AH Asgar, Asih Kartasih, Asep Supriadi dan Henna Trisdyan</i>	217
SELEKSIJAMUR TANAH PENGURAI LIGNIN DAN PAH DARI BEBERAPA LINGKUNGAN DI BALI [The Selection of Lignin and PAHs Degrading Fungi from Some Environment in Bali] <i>YB Subowo dan Corazon</i>	227
PENGARUH EKSTRAK AIR DAN ETANOL <i>Kaempferia</i> spp. TERHADAP AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG YANG DIINDUKSI BAKTERI <i>Staphylococcus epidermidis</i> [Influenced of Water and Ethanol Extracts of <i>Kaempferia</i> spp. to Phagocytosis Activity and Capacity Macrophage Cells Induce by <i>Staphylococcus epidermidis</i>] <i>Tri Murningsih</i>	235
KERAGAMAN BAKTERI ENDOFITIK PADA EMPAT JENIS VARIETAS PADI DENGAN METODA ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) [The Diversity of Endophytic Bacteria Within Four Different Rice Varieties by Using ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) Method] <i>Dwi N Susilowati, Nurul Hidayatun, Tasliah, danKMulya</i>	241
RESPON TANAMAN PADI GOGO (<i>Oryza sativa</i> L.) TERHADAP STRESS AIR DAN INOKULASI MIKORISA [Response of Upland Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Under Water Stress and Mycorrhizae Inoculation] <i>Harmastini Sukiman, Syoflatin Syamsiyah dan Adiwirman</i>	249
KOMPOSISI JENIS KEPITING (Decapoda: <i>Brachyura</i>) DALAM EKOSISTEM MANGROVE DAN ESTUARI, TAMAN NASIONAL BALI BARAT [Crabs (Decapoda: <i>Brachyura</i>) Species Composition in Mangrove and Estuarine Ecosystem, West Bali National Park] <i>Dewi Citra Murniati</i>	259
<u>KOMUNIKASI PENDEK</u>	
CATATAN JENIS-JEMS TUMBUHAN ASING DAN INVASIF DI TAMAN NASIONAL GUNUNG CEDE PANGRANGO, JAWA BARAT [Recorded of Alien Invasive Species in Gunung Gede Pangrango National Park, West Java] <i>Sunaryo dan Eka F Tihurua</i>	265

**PENINGKATAN KUALITAS NUTRISI TEPUNG DAUN LAMTORO
SEBAGAI PAKAN IKAN DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK ENZIM
CAIRAN RUMEN DOMBA¹**
**[Improvement Nutrition Value of Leucaena Leaf Meal as Fish Feed with Addition
of Sheep Rumen Fluid Enzyme]**

Indira Fitriliyani^{212*}, Enang Harris³, Ing Mokoginta³, Nahrowi⁴

²Dosen FaPerikan.Unlam Jurusan Budidaya Perikanan

³Dosen FPIK IPB. Dept Budidaya Perairan

⁴Dosen Fapet IPB. Dept Ilmu Nutrisi Pakan Temak

*email: indiramabrur@yahoo.co.id

ABSTRACT

The aim of this experiment is to evaluate the nutrient quality of leucaena leaf meal (LLM) with addition of sheep rumen fluid enzyme for Nile tilapia feed and incubated in vitro either for 2 or 24 hours. This experiment was arranged in a completely randomized design with 6 treatments and 3 replications. Those treatments were enzyme levels of 0, 20, 40, 60, 80, and 100 ml/kg LLM. Results showed that nutrient quality of LLM with addition of sheep rumen fluid enzyme that incubated for 24 hours had the best result compared to that incubated for 2 hours. This finding significantly affected (PO.05) on the increase of sugar release (76.97%), soluble glucose (21.27%) and soluble protein (37.7%). It is concluded that sheep rumen fluid enzyme has a great potential for improving nutritional quality of leucaena leaf meal of fish feed.

Kata kunci: *Leucaena leaf meal (LLM), sheep rumen liquor enzyme, nutrient quality.*

PENDAHULUAN

Tepung daun lamtoro (TDL) merupakan sumber daya hayati lokal yang potensial untuk digunakan sebagai salah satu sumber protein nabati dalam pakan ikan. Hal ini disebabkan tingginya kandungan protein yaitu sekitar 34,38%, komposisi asam amino yang hampir seimbang dengan bungkil kedelai dan merupakan sumber vitamin A dengan kandungan B-karoten yang relatif tinggi. Selain itu mengandung xantofil sebagai sumber pigmentasi pada kulit dan kuning telur (Agbede dan Aletor, 2004) sebesar 25 - 30% (NAS, 1984), 24,2% (Sutardi, 1981) atau 24% (Scott *et al.*, 1982). Menurut NAS (1984) tanaman ini dapat menghasilkan bahan kering dari unsur-unsur yang dapat dimakan sebesar 6-8 ton per hektar per tahun atau sekitar 20-80 ton bahan segar. Di Indonesia tanaman leguminosa ini mudah ditanam, sehingga dapat membantu penyediaan pakan secara kontinyu sepanjang tahun.

Pemanfaatan bahan baku pakan ikan nila dari daun tumbuhan khususnya daun lamtoro dibatasi dengan kandungan yang tinggi dari komponen *neutral detergent fiber* (NDF) 39,5% dan *acid detergent fiber* (ADF) 35,10%. (Gracia *et al.* 1996). Namun daun lamtoro mempunyai defisiensi dalam asam amino

esensial (Agr, Thr, He, His, Met) dan kandungan mimosin (Lim and Dominy, 1991; Wee, 1985). Defisiensi asam amino dapat diatasi dengan menambahkan asam amino esensial yang menjadi pembatas (Santiago and Lovell, 1988). Sementara kandungan mimosin dapat direduksi dengan beberapa metode, antara lain dengan perendaman dan pemanasan (Wee and Wang, 1987; Widiastuti, 2001). Sedangkan keterbatasan ikan dalam memanfaatkan serat berkaitan dengan keterbatasan enzim selulolitik dalam saluran pencernaan ikan, bahkan pada level tertentu dapat menghambat pertumbuhan ikan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ikan tidak memiliki enzim selulase dan kemungkinan adanya populasi mikroba selulolitik di saluran pencernaan ikan juga masih menjadi kontroversi di kalangan peneliti (Stickney dan Shumway, 1974; Prejs dan Blaszczyk, 1977; Lindsay and Harris, 1980; Lessel and Lesel, 1986; Luczkovich dan Stellway, 1993; Saha dan Ray, 1998). Jalilvand *et al.* (2008) melaporkan enzim fibrilolitik eksogen sangat efektif sebagai penurun kadar serat bahan baku pakan seperti jerami padi, dan silase jagung. Penggunaan enzim eksogen diharapkan dapat menghidrolisis tepung daun lamtoro, sehingga dapat ditingkatkan kualitas nutrisi dan kecernaannya. Penggunaan enzim eksogen ini terkendala dengan

harga enzim komersil yang mahal di pasaran, sehingga sangatlah penting dicari sumber enzim yang murah dan efektif untuk meningkatkan kualitas nutrisi dari tepung daun lamtoro.

Cairan rumen domba merupakan salah satu sumber bahan suplemen alternatif yang murah dan **dapat** dimanfaatkan dengan mudah sebagai sumber enzim-enzim hidrolase (Moharrery dan Das, 2001). Enzim-enzim tersebut antara lain protease/deaminase yang mencerna protein atau peptida, amilase pencernaan pati, selulase pencernaan selulosa, hemiselulase (xylanase) pencernaan hemiselulosa (xylan), lipase pencernaan lemak, fitase dan lain-lain (Kung, 2006). Selain mengandung enzim, isi rumen domba juga mengandung asam-asam amino, vitamin dan mineral. Isi rumen domba sebagai sumber ekstrak enzim kasar bermanfaat dalam menghidrolisis (*predigestion*) TDL yang selanjutnya akan digunakan sebagai bahan campuran pakan ikan nila. Produk yang diekstraksi dari cairan rumen ini diharapkan dapat digunakan secara langsung, sehingga lebih efisien dibandingkan dengan menggunakan enzim asam amino, vitamin dan mineral komersial. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan ekstraksi enzim cairan rumen domba untuk meningkatkan kualitas nutrisi dari tepung daun lamtoro, sehingga pencernaan meningkat dan pertumbuhan ikan nila dapat lebih optimal.

MATERI DAN METODE

Eksperimen

Penelitian dilakukan dari Juni 2008 sampai Desember 2009, di Laboratorium Nutrisi Teraak Perah, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor (IPB). Bahan yang digunakan adalah tepung daun lamtoro yang diperoleh dari daerah Bogor, cairan rumen dari domba yang sudah dipotong di RPH (Rumah Pemotongan Hewan) tradisional di wilayah Ciampea, Bogor. Isi rumen tersebut dikeluarkan, kemudian diperas untuk mendapatkan cairan rumennya.

Persiapan Enzim Cairan Rumen

Cairan rumen sapi disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk direaksikan dengan ammonium sulfat menggunakan magnetic stirrer dan didiamkan selama semalam pada suhu 4°C. Cairan rumen kemudian disentrifus kembali

dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Endapan dikoleksi sebagai enzim kasar (Pantaya, 2003). Enzim kasar tersebut langsung digunakan untuk hidrolisis TDL.

Rancangan Penelitian

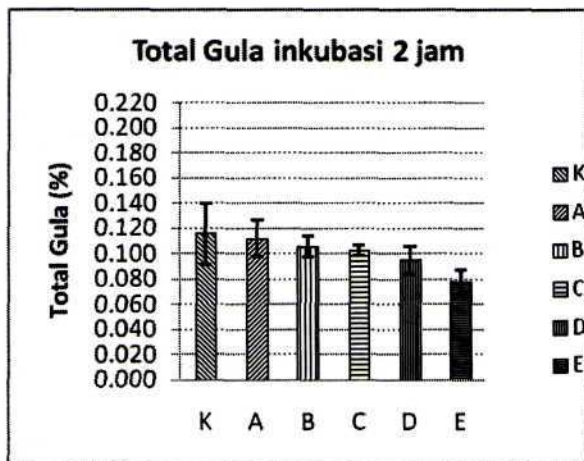
Percobaan ini disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan, setiap ulangan dilakukan pengulangan dua kali (duplo). Inkubasi dilakukan selama 2 jam dan 24 jam pada 6 level jumlah ekstrak enzim kasar yang ditampanyaitu 0(K), 20 (A), 40 (B), 60 (C), 80 (D) dan 100 (E) mL/kg TDL. Parameter yang diamati adalah kadar total gula dengan metode phenol sulfuric acid (Dubois *et al*, 1956), kadar glukosa terlarut dengan prosedur analisis metode Wedemeyer dan Yasutake (1977), kadar protein terlarut dengan metode analisis Bradford. Data perubahan kualitas nutrisi dianalisis menggunakan Anova dengan software SAS versi 6.12 (1997). Uji lanjut Duncan dilakukan pada data yang menunjukkan perbedaan nyata padataraf 0,05%.

HASIL

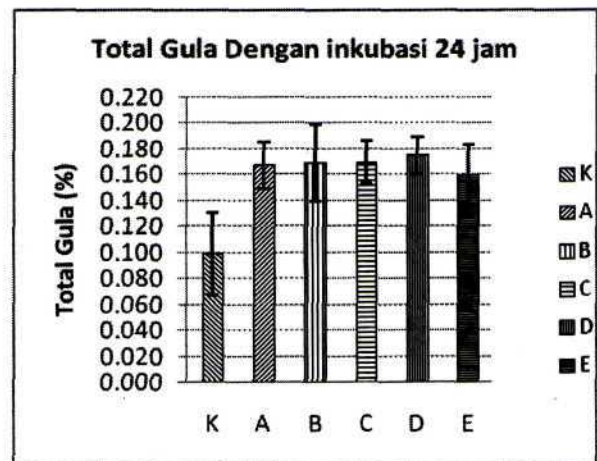
Parameter yang diukur pada inkubasi TDL dengan ekstrak enzim dari cairan rumen domba dengan waktu inkubasi 2 jam dan 24 jam adalah total gula, glukosa terlarut dan protein terlarut.

Total Gula Terlarut

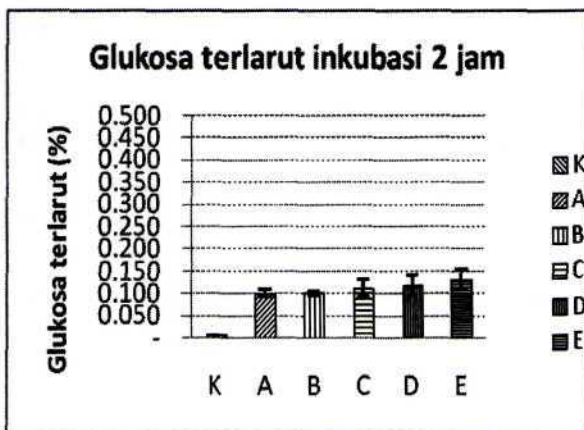
Hasil pengukuran total gula terlarut pada tepung daun lamtoro setelah diinkubasi 2 jam dan 24 jam dengan ekstrak enzim kasar dari cairan rumen domba masing-masing disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2. Konsentrasi ekstrak enzim kasar rumen domba yang diberikan nyata ($P < 0,05$) mempengaruhi kandungan total gula di dalam TDL pada periode inkubasi 2 dan 24 jam. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa pada waktu inkubasi 2 jam nilai total gula tertinggi yaitu 0,116% dicapai pada perlakuan tanpa penambahan enzim. Nilai kedua terbesar adalah pada perlakuan penambahan enzim 20 ml/kg pakan. Perlakuan tanpa penambahan enzim dan penambahan dosis enzim 20 ml/kg pakan menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada Gambar 2 dengan inkubasi 24 jam, total gula tertinggi yaitu 0,176% dicapai pada penambahan enzim 80 ml/kg. Nilai total gula terendah adalah 0,099% dicapai pada perlakuan tanpa



Gambar 1. Kadar total gula setiap perlakuan dengan masa inkubasi 2 jam



Gambar 2. Kadar total gula setiap perlakuan dengan masa inkubasi 24 jam



Gambar 3. Kadar glukosa terlarut setiap perlakuan dengan masa inkubasi 2 jam



Gambar 4. Kadar glukosa terlarut setiap perlakuan dengan masa inkubasi 24 jam

penambahan enzim. Perlakuan kontrol tanpa penambahan enzim memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan semua perlakuan yang mendapatkan tambahan enzim. Berdasarkan hasil tersebut terlihat adanya peningkatan nilai total gula tertinggi pada perlakuan penambahan enzim 80 ml/kg sebesar 76,97% dibandingkan dengan perlakuan kontrol (0,099%).

Pada periode inkubasi 2 jam nilai total gula lebih rendah dari nilai total gula yang dihasilkan pada periode 24 jam kecuali pada perlakuan kontrol nilai total gula inkubasi 2 jam lebih besar 0,016 % dibandingkan pada periode inkubasi 24 jam. Terdapat kecenderungan peningkatan jumlah enzim yang ditambahkan akan meningkatkan kandungan total gula.

Pola respon kadar total gula inkubasi 2 jam

mengambarkan bahwa semakin besar jumlah cairan ekstrak enzim rumen yang ditambahkan maka total gula cenderung menurun. Sedangkan pola respon total gula inkubasi 24 jam menggambarkan pola kuadratik dimana dengan meningkatnya jumlah cairan ekstrak enzim rumen yang ditambahkan terjadi peningkatan kadar total gula dan capaian maksimum dicapai pada jumlah cairan rumen 45,45 ml.

Glukosa Terlarut

Kadar glukosa terlarut di dalam TDL yang diinkubasi dengan ekstrak enzim cairan rumen domba menunjukkan hasil kerja dari enzim amilase dan selulase. Hasil pengukuran kadar glukosa terlarut pada inkubasi 2 jam dan 24 jam masing-masing disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4. Penambahan ekstrak enzim

cairan rumen domba nyata ($P < 0,05$) berpengaruh terhadap kadar gula terlarut tepung daun lamtoro dengan periode inkubasi 2 dan 24 jam. Pada Gambar 3, kadar glukosa terlarut dengan inkubasi 2 jam pada perlakuan tanpa penambahan enzim nyata berbeda dengan perlakuan yang mendapat penambahan enzim. Nilai tertinggi glukosa terlarut dicapai pada penambahan enzim 100ml/kg TDL sebesar 0,132%, dimana terjadi peningkatan kadar glukosa terlarut sebesar 13,60% dibandingkan perlakuan kontrol dengan nilai kadar glukosa terlarut 0,009%.

Hasil pengukuran kadar glukosa terlarut pada inkubasi 24 jam menunjukkan pola yang berbeda. Terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan tanpa penambahan enzim dengan semua perlakuan yang mendapat penambahan enzim. Sedangkan diantara perlakuan yang mendapat penambahan enzim, pada perlakuan 20ml/kg dan 40ml/kg terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan 60ml/kg; 80ml/kg dan 100ml/kg. Nilai kadar glukosa terlarut tertinggi yaitu 0,490% dicapai pada perlakuan 100ml/kgTDL, dimana terdapat peningkatan sebesar 21,27%, dari nilai terendah yaitu 0,022% dicapai pada perlakuan tanpa penambahan enzim.

Pada periode inkubasi 2 dan 24 jam, kadar glukosa terlarut memperlihatkan hasil yang cenderung semakin meningkat dengan bertambahnya jumlah cairan enzim kasar yang digunakan untuk menginkubasi TDL. Seluruh perlakuan pada periode inkubasi 24 jam memperlihatkan nilai glukosa terlarut yang lebih tinggi

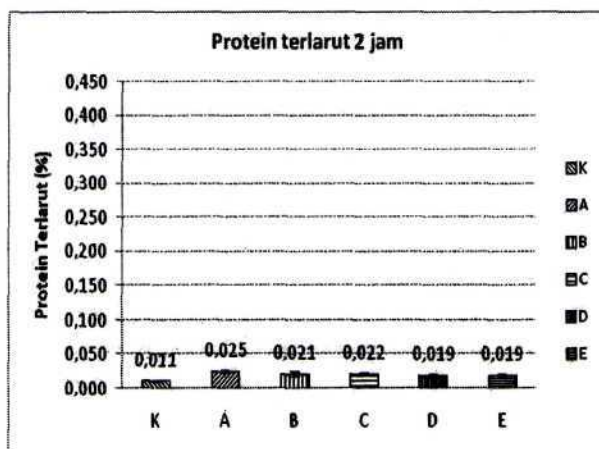
dibandingkan dengan perlakuan yang sama pada periode inkubasi 2 jam.

Respon kadar glukosa terlarut pada periode inkubasi 2 jam dan 24 jam membentuk pola persamaan garis linier. Pola respon tersebut menggambarkan semakin banyak ekstrak enzim rumen yang ditambahkan dan semakin lama periode inkubasi maka kadar glukosa terlarut akan semakin meningkat.

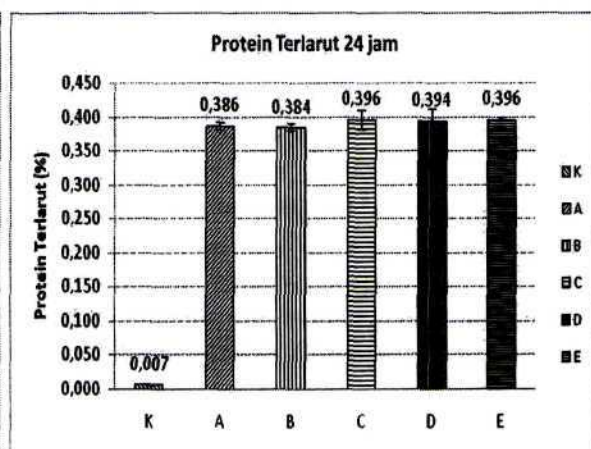
Protein Terlarut

Kadar protein terlarut merupakan produk antara pada hidrolisis protein oleh ekstrak enzim protease yang terkandung dalam ekstrak enzim kasar dari cairan rumen domba. Hasil pengukuran kadar protein terlarut pada inkubasi 2 jam dan 24 jam masing-masing disajikan pada Gambar 5 dan Gambar 6. Kadar protein terlarut secara nyata ($P < 0,05$) dipengaruhi oleh jumlah enzim yang ditambahkan ke dalam tepung daun lamtoro. Kadar protein terlarut meningkat sejalan dengan meningkatnya jumlah enzim kasar yang ditambahkan. Pada masa inkubasi 2 jam kadar protein terlarut tertinggi yaitu pada perlakuan penambahan ekstrak enzim 20ml/kg, yaitu sebesar 0,025%. Namun demikian, nilai ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan lain yang mendapat penambahan enzim. Nilai kadar protein terlarut terendah yaitu 0,011 %-dicapai pada perlakuan tanpa penambahan enzim dan menunjukkan perbedaan nyata dengan semua perlakuan yang mendapat penambahan enzim.

Pada inkubasi 24 jam TDL dengan ekstrak enzim kasar dari cairan rumen domba, nilai kadar protein



Gambar 5. Kadar protein terlarut setiap perlakuan dengan masa inkubasi 2 jam



Gambar 6. Kadar protein terlarut setiap perlakuan dengan masa inkubasi 24 jam

terlarut menghasilkan nilai yang jauh lebih tinggi dari perlakuan 0 jam. Nilai kadar protein terlarut tertinggi yaitu 0,0396% dicapai pada penambahan enzim 100ml/kg TDL. Namun demikian, nilai ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan lain. Nilai kadar protein terlarut terendah yaitu 0,007% dicapai oleh perlakuan tanpa penambahan enzim, yang berbeda nyata dengan semua perlakuan yang mendapat penambahan enzim.

Pada Gambar 5 dan 6 dapat dilihat bahwa kadar protein terlarut periode inkubasi 2 jam dan 24 jam, memperlihatkan hasil yang cenderung semakin meningkat dengan bertambahnya jumlah cairan enzim kasar yang digunakan. Seluruh perlakuan pada periode inkubasi 24 jam memperlihatkan nilai protein terlarut yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang sama pada periode inkubasi 2 jam.

Respon kadar protein terlarut membentuk pola kuadratik. Kadar protein terlarut pada 2 jam inkubasi akan mencapai maksimum pada pemberian ekstrak rumen sebesar 58,22 ml sedangkan pada 24 jam inkubasi akan mencapai kadar protein maksimum pada pemberian ekstrak rumen sebesar 50,78 ml.

PEMBAHASAN

Efektifitas ekstrak enzim kasar yang didapat dari cairan rumen domba untuk menghidrolisis tepung daun lamtoro diukur dengan menganalisa produk yang dihasilkan seperti total glukosa, kadar glukosa pakan, kadar protein terlarut. Hasil percobaan secara *in vitro* menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak enzim cairan rumen domba untuk menghidrolisis tepung daun lamtoro untuk bahan formulasi pakan ikan nila sangat dipengaruhi oleh jumlah enzim yang ditambahkan dan lama inkubasi. Hasil hidrolisis menunjukkan bahwa kadar total gula terlihat menurun sedangkan kadar glukosa terlarut dan kadar protein terlarut meningkat, dengan meningkatnya jumlah ekstrak enzim cairan rumen yang ditambahkan.

Aktifitas enzim dalam rumen sangat erat hubungannya dengan keragaman mikroorganisme dalam rumen. Mikroba rumen dapat dibagi dalam tiga grup utama yaitu bakteri, protozoa dan fungi (Czerkawski, 1986). Dilaporkan oleh Hungate (1966), terdapat beberapa jenis bakteri : (a) bakteri pencernaan selulosa (*Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus*

flavafaciens, *Ruminococcus albus*, *Butyrifibrio fibrisolvans*), (b) bakteri pencernaan hemiselulosa (*Butyrivibrio fibrisolvans*, *Bacteroides ruminicola*, *Ruminococcus* sp.), (c) bakteri pencernaan pati (*Bacteroides ammylophilus*, *Streptococcus bovis*, *Succinimonas amylolytica*), (d) bakteri pencernaan gula (*Triponema bryantii*, *Lactobacillus ruminus*), dan (e) bakteri pencernaan protein (*Clostridium sporogenus*, *Bacillus licheniformis*). Kehadiran fungi di dalam rumen diketahui sangat bermanfaat untuk pencernaan pakan serat, karena dapat membentuk koloni pada jaringan selulosa pakan. Rizoid fungi tumbuh jauh menembus dinding sel tanaman, sehingga pakan lebih terbuka untuk dicerna oleh enzim bakteri rumen. Protozoa rumen diklasifikasikan menurut morfologinya yaitu Holotrichs yang mempunyai silia hampir diseluruh tubuhnya dan mencerna karbohidrat yang fermentabel, sedangkan Oligotrichs yang mempunyai silia sekitar mulut umumnya merombak karbohidrat yang lebih sulit dicerna (Arora, 1989). Sangeetha *et al.* (2008) melaporkan bahwa *Bacillus* sp. mempunyai potensi untuk menghasilkan hormon protease dan lipase. Sedangkan Bairagi (2004) melaporkan bahwa inokulasi TDL dengan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans* dapat meningkatkan kadar protein sebesar 37,69-46,29 %, menurunkan kadar lemak 6,17-9,35 %, kadar abu dari 8,45% menjadi tidak terdeteksi (bahan organik terpakai), serat kasar turun 3,74-21,14%, selulosa meningkat 45,14 - 63,14%, hemiselulosa menurun 60,91-36,57%, dan asam fitat sedikit menurun 95,35-93,02%.

Pada penelitian peningkatan kualitas nutrisi TDL dengan penambahan ekstrak enzim cairan rumen domba, penurunan total gula merupakan hasil kerja enzim amilase dan selulase sebagai bahan penyusun mikroba yang terkandung pada cairan rumen domba. Aktifitas selulase sebesar $0,3313 \pm 0,0387$ U/menit.ml dan amilase sebesar $0,1315 \pm 0,0160$ U/menit.ml yang terkandung pada cairan rumen domba akan menghidrolisis ikatan kompleks molekul penyusun karbohidrat TDL. Enzim amilase akan menghidrolisis ikatan α -1,4 menjadi pati cair dan maltose sedangkan enzim selulase akan menghidrolisis selulosa yang memiliki rantai yang lebih pendek dari komponen kayu (selulosa, hemiselulosa, lignin). Enzim amilase akan menghidrolisis ikatan α -1,4 menjadi D-glukosa, maltose

dan sejumlah kecil destrin. Proses penghidrolisisan ini merupakan kerja kelompok endo amilase dan eksoamilase. Endo amilase yaitu enzim amilase yang bekerja dengan memecah ikatan pada bagian tengah substrat dengan pH optimum 5-7 dan suhu optimum 60-70°C. Endo-amilase banyak ditemukan pada tanaman dan mikroorganisme, terutama *Bacillus stearothermophilus*, *B-subtilus*, *Apergilus niger* dan *A.oryzae*. Sedangkan kelompok ekso-amilase adalah menghidrolisis unit-unit dari ujung non-reduksi substrat menjadi maltose dan maltotriosa dengan pH 4,5-5,5 dan suhu 40-60°C. Ekso-amilase banyak ditemukan pada tanaman dan mikroorganisme, terutama *Bacillus stearothermophilus*, *B-subtilus*, *Apergilus niger* dan *A.oryzae*. Jenis mikroorganisme ini sangat banyak didapatkan di rumen sehingga ketika cairan enzim dieksraksi untuk mendapatkan enzim kasar, jenis enzim amilase selulase juga dapat terdeteksi aktifitasnya.

Enzim selulase merupakan enzim inducibel, yaitu enzim yang dihasilkan sebagai tanggapan terhadap jenis makanan yang terdapat di dalam lingkungan pertumbuhan organisme penghasilnya. Enzim selulase merupakan enzim kompleks (multikomponen) yang terdiri dari beberapa enzim yang bekerja bertahap atau bersama-sama menguraikan selulosa menjadi D-glukosa (Kim *et al*, 1994). Terdapat empat kelompok enzim utama yang menyusun selulosa berdasarkan substrat masing-masing enzim, yaitu (a) endo (3(1-4) glukonase (P1-4 D-glukanohidrolase, EC 3.2.1.4), Cx-selulase, menghidrolisis ikatan glikosidik p (1-4) secara acak. Enzim ini tidak menyerang selobiosa tapi menghidrolisis selodekstrin. Enzim ini juga aktif menyerang selulosa yang telah disubstitusi misalnya karboksimetil; (b) enzim p(1-4) D-glukan selobiohidrolase (EC 3.2.1.91), Cl yang menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi dan menghasilkan selobiosa. Enzim ini dapat menyerang selodekstrin tapi tidak menyerang selulosa yang telah disubstitusi serta tidak dapat menghidrolisis selobiosa; (c) P(1-4) D-glukan glukohidrolase (EC 3.2.1.74), menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi dan menghasilkan glukosa. Enzim ini menyerang selooligosakarida dan CMC; dan (d) adalah (3(1-4) glukosidase atau p (1-4) D-glukosida glukohidrolase (EC 3.2.1.21), menghidrolisis

selobiosa dan rantai pendek selooligosakarida dan menghasilkan glukosa. Cone (1990) melaporkan hasil pengamatan dengan scanning elektron mikroskop yang memperlihatkan bahwa telah terjadi degradasi granula starch dengan penambahan cairan rumen bebas sel.

Kemampuan bakteri rumen untuk meningkatkan kualitas bahan baku pakan telah dibuktikan oleh Purnomohadi (2006). Dikatakan bahwa fermentasi jerami padi selama 7 hari dengan bakteri selulitik rumen menghasilkan penurunan bahan kering 10,6%, kadar serat 15,98% serta meningkatkan kandungan protein 54,50%.

Kurva respon kadar total gula pada periode inkubasi 2 jam adalah kurva respon linier sedangkan pada periode inkubasi 24 jam menghasilkan kurva respon kuadratik. Hal ini dimungkinkan adanya hubungan dengan ketersediaan substrat serta waktu inkubasi. Pada waktu inkubasi 2 jam, jumlah substrat yang tersedia masih memungkinkan enzim untuk bekerja sedangkan pada periode inkubasi 24 jam kerja enzim sudah maksimal untuk merombak substrat yang tersedia. Perlakuan tanpa enzim rumen mengandung polisakarida lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan penambahan enzim rumen, dimana perlakuan dengan penambahan enzim rumen 620 dan 1240 U/kg pada *wheat pollard* menurunkan kadar polisakarida masing-masing sebesar 4 dan 3,9%. Hidrolisis enzim 1240 U/kg terhadap komponen polisakarida *wheat pollard* juga akan meningkatkan kandungan oligosakarida dan monosakarida sebesar 5,5% dibandingkan, pada perlakuan tanpa penambahan enzim (Pantaya *et al.*, 2005). Laporan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana kurva respon kadar glukosa terlarut memperlihatkan hubungan bahwa semakin besar jumlah ekstrak cairan enzim rumen domba yang ditambahkan pada substrat TDL, jumlah glukosa terlarut akan meningkat dengan nilai kadar glukosa terlarut pada inkubasi 24 jam lebih tinggi dari periode inkubasi 2 jam. Hasil pengukuran kandungan gula pereduksi pada berbagai waktu inkubasi enzim rumen pada *wheat pollard* mendapatkan pola hubungan regresi linier kuadratik dengan waktu optimal 10 jam dan suhu optimal 38°C. Dikatakan oleh Pantaya *et al*, (2005) bahwa nilai gula pereduksi mulai menurun setelah 10 jam. Penelitian yang dilakukan

Malathii dan Devegowda (2002) pada pakan strater broiler, mendapatkan bahwa penggunaan multi enzim akan meningkatkan nilai total gula pada *sunflower meal*, *soybean meal*, *deoiled rice brain*, yang lebih besar dibandingkan dengan penggunaan enzim tunggal. Dilaporkan oleh Alemawor (2009) bahwa penggunaan multi enzim dapat meningkatkan kualitas nutrisi pada bahan baku pakan dimana nilai total gula meningkat, selulase dan lignin yang menurun. Penambahan enzim cairan rumen akan merombak komponen bahan yang sulit dicerna menjadi mudah dicerna, di mana selulosa dipecah menjadi komponen glukosa yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi hewan (Twoney *et al.*, 2003).

Kadar protein terlarut merupakan produk antara pada hidrolisis protein oleh ekstrak enzim protease yang terkandung dalam ekstrak enzim kasar dari cairan rumen domba. Kadar protein terlarut meningkat dengan peningkatan jumlah enzim kasar yang diberikan. Hal ini dimungkinkan dengan adanya aktivitas enzim protease pada cairan rumen domba sebesar ($0,117809 \pm 0,039654$ U/menit.ml). Enzim protease adalah enzim pemecah protein menjadi komponen penyusunnya yaitu asam amino yang siap diserap tubuh.

Peningkatan kualitas TDL dapat terlihat pada meningkatnya nilai total gula terlarut dan glukosa terlarut yang bermakna meningkatnya ketersediaan gula-gula sederhana. Sedangkan peningkatan nilai protein terlarut mengindikasikan meningkatnya ketersediaan monomer protein. Diharapkan dengan peningkatan kualitas nutrisi ini, penggunaan TD.L sebagai bahan baku pakan ikan dapat memberikan pertumbuhan yang optimal. Selain ini penggunaan TDL dalam bahan baku pakan diharapkan akan mengurangi komponen biaya pakan yang lain, terutama tepung ikan dan tepung bungkil kedelai.

KESIMPULAN

Hidrolisis tepung daun lamtoro dengan ekstrak enzim cairan rumen domba dapat menurunkan kadar total gula secara efektif. Sementara kadar glukosa terlarut dan kadar protein terlarut meningkat, dengan meningkatnya jumlah ekstrak enzim cairan rumen yang ditambahkan. Dengan demikian penambahan ekstrak

enzim cairan rumen domba dapat meningkatkan kualitas daun lamtoro sebagai bahan baku pakan ikan. Perlu dilakukan penelitian dengan periode inkubasi yang lebih beragam serta analisa komponen TDL secara lebih terperinci.

DAFTARPUSTAKA

- Agbede JO and VA Aletor.** 2004. Chemical characterization and protein quality evaluation of leaf protein concentrates from *Gliricidia sepium* and *Leucaena leucocephala*. *International Journal of Food, Science and Technology* 39, 253-261.
- Alemawor F, VP Dzogbefia, EOK Oddoye and JH Oldbam.** 2009. Enzyme cocktail for enhancing poultry utilisation of cocoa pod husk. *Scientific Research and Essays* 4(6), 555-559.
- AOAC.** 1995. *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Chapter 4. Journal of the Association of Analytical Chemist. Washington, DC, 17-34.
- Arora SP.** 1989. *Pencernaan Mikroba pada Ruminansia*. Terjemahan R Murwani. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Bairagi A, GK Sarkar, SK Sen and AK Ray.** 2004. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research* 35, 436-446.
- Bradford MM.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
- Cone JW.** 2006. Degradation of starch in feed concentrates by enzymes, rumen fluid and rumen enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 54(Issue 1), 23-34.
- Czerkawski JW.** 1986. *An Introduction to Rumen Studies*. 1st ed. Pergamon Press, New York.
- Pantaya Dadik, Nahrowi dan LA Sofyan.** 2005. Penambahan enzim cairan rumen pada pakan berbasis wheat pollard dengan proses pengolahan steam pelleting pada performans broiler. *Media Kedokteran Hewan*, 21(1).
- Dubois M, KA Gilles, JK Hamilton, PA Rebers and F Smith F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.* 28, 350.
- Duncan DD.** 1955. Multiple range and multiple 'P' test. *Biometrics* 11, 1-42.
- Garcia GW, TU Ferguson, FA Neckles and KAE Archibald.** 1996. The nutritive value and forage productivity of *Leucaena leucocephala*. *Anim Feed Sci Technol.* 60, 29-41.
- Hungate R.** 1966. *The Rumen and its Microbes*. Academic Press. London and New York,
- Jalilvand G, NE Odongo, S L6pez, A Nase-rian, R Valizadeh, F Eftekhari Shahrodi and KE France J.** 2008. Effects of different levels of an enzyme mixture on in vitro gas production parameters of contrasting forages. *Anim. Feed Sci. Tech.* 146, 289-301.
- Kung LJr, RJ Treacher, GA Nauman, AM Smagala, KM**

- Endres and MA Cohen. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 115-122.
- Lend R, C Frogeot and M Lesel. 1986. Cellulose digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 54, 11-17.
- Lim C, Dominy WG. 1991. Utilization of plant proteins by warm water fish, In: Akiyama DM, Tan RKH (Eds). Proc Aquaculture Feed processing and nutrition workshop. Thailand and Indonesia, 19-25 Sept 1991. pp 163 - 172.
- Lindsay GJH. and Harris JE. (1980) Carboxymethylcellulase activity in the digestive tracts of fish. *Journal of Fish Biology* 16, 219-233.
- Luczkovich JJ & Stellwag EJ. (1993) Isolation of cellulolytic microbes from the intestinal tract of the pinfish, *Lagodon rhomboides*: size-related changes in * diet and microbial abundance. *Marine Biology* 16, 381 -388.
- Malathi V and G Devegowda. 2002. In Vitro Evaluation of Nonstarch Polysaccharide Digestibility of Feed Ingredients by Enzymes. Department of Poultry Science, University of Agricultural Sciences, Hebbal, Bangalore-560 024, India, <http://ps.fass.org/cgi/reprint/80/3/302.pdf>.
- Moharrery A and Tirta K Das, 2002. Correlation between microbial enzyme activities in the rumen fluid of sheep under different treatments. *Reprod. Nutr. Dev.*, 4, 513-529.
- NAS. 1994. *Leucaena: Promising Forage and Tree Crop for the Tropics*. Second Edition. National Academy of Sciences. Washington.
- Ogunji J and M Wirtta. 2001. Alternative protein sources as substitutes for fishmeal in the diet of young tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn.). *The Israeli Journal of Aquaculture* 53, 34-43.
- Prejs A, Blaszyk M. (1977). Relationships between food and cellulase activity in freshwater fishes. *J. Fish Biol.* 11, 447-452.
- Purnomohadi M. 2006. Peranan Bakteri Selulolitik Cairan Rumen pada Fermentasi Jerami Padi Terhadap Mutu Pakan. *Jurnal Protein*, Vol 13, No. 2 13(2).
- Saha A and Ray AK. (1998). Cellulase activity in rohu "ngerlings. *Aquaculture Internationale*, 281-291.
- Sangeetha PT, MN Ramesh and SG Prapulla. 2004. Production of fructosyl transferase by *Aspergillus oryzae* CFR 202 in solid-state fermentation using agricultural by-products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, 530-537.
- Santiago CB and Lovell RT. 1988. Amino Acid Requirement for growth of Nile Tilapia. *Journal of Nutrition* 118: 1540-1546.
- Scott JR, Newton SH and Katayama RW. 1982. Evaluation of sunflower meal as a soybean meal replacement in rainbow trout diets. *Proceeding of Thirty-Sixth Annual Conference*. South-Eastern Association of Fish and Wildlife Agencies: October 31 to November 2. 1982. Jacksonville, Florida
- Stickney RR & Shumway SE. (1974). Occurrence of cellulose activity in the stomachs of fish. *Journal of Fish Biology* 6, 779-790.
- Sntardi, T. 1981. Sapi Perah dan Pcmbrnian Makanannya. Dep. Ilmu Makanan Ternak. Fak. Peternakan. Inst. Pertanian Bogor. Bogor
- Twoney LN, Muske JR, Kowe JB, Choct M, Brown W, Me Connell MF, Pethick DW. 2003. The effect of increasing level of soluble non starch polysaccharide on inclusion of feed enzyme in dog diet on fecal quality and digestibility. *Animal Feed Science and Technology* 108; 71-82.
- Vijaya GV, Gireesh T and Gajanan SB. 2002. Effect of enzymatic hydrolysis of proteins on growth of in milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 493-496.
- Wedemeyer GA dan Yasutake WT. 1977. Clinical Methods for the Assesment of the Effect Environmental Stress on Fish Health. Technical Papers of the U.S. Fish and Wildlife Service. Us. Departement of the Interior 89, 1-18.
- Wee KL and Wang SS. 1987. Nutritive value of leucaena leaf meal in pelleted feed for nile tilapia *Aquaculture* 62 (2), 97-108.
- Wee KL, Poe WE. 1985. Nutritive value of *Leucaena* leaf meal in pelleted feed for nile tilapia. *Aquaculture* 62, 97-108.
- Widyastuti T. 2001. Detoksifikasi daun lamtoro (*Leucaena leucephala*) secara fisik dan kimia serta pemanfaatannya sebagai sumber pigmentasi dalam ransum ayam broiler [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.