

PENGARUH PERENDAMAN DALAM CAIRAN RUMEN SAPI TERHADAP PENURUNAN BIOMASSA, DAN PERUBAHAN STRUKTUR ANATOMI KAPAS (GOSSYPIUM SP)

Ika Nur Rakhim Rahayu Setyaningsih, Munifatul Izzati, Teguh
Suprihatin

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang,
Semarang 50275 Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690

ABSTRACT

Energy crisis in many parts of the world encourages us to seek alternative solutions to solve the problem. Sources of raw materials in the manufacture of energy must be abundant, inexpensive, and easy to obtain, so that an idea to use leftover cotton crops which contain cellulose, as well as using cow rumen fluids and household waste. The purpose of this study is to study changes in the anatomical structure of cotton fibers and to investigate the influence of bovine rumen fluid to decrease biomass. This research was conducted at the Laboratory of Biological Structure and Function of Plants, Department of Biology, FSM, UNDIP. The design used is descriptive qualitative analysis, and test T. Parameters observed were decreased biomass, and changes in anatomic structure (macroscopic and microscopic). The results showed soaking the cotton in the cow rumen fluid decreased significantly influence cotton biomass, which in the cotton control aerobic larger 0.5% decline from the anaerobic control cotton and cotton anaerobic biomass decreased 3.5% greater than in the aerobic cotton rumen fluid immersion, and anatomical changes in the fiber structure is characterized by significant decomposition of the fiber cell wall. This was done as an initial step in the manufacture of cellulose-based bioethanol.

Keywords: immersion, bovine rumen fluid, anatomical structure, cellulose, cotton

ABSTRAK

Terjadinya krisis energi di berbagai belahan dunia mendorong kita untuk mencari solusi alternatif untuk memecahkan permasalahan tersebut. Sumber bahan baku dalam pembuatan energi harus melimpah, murah, dan mudah dalam memperolehnya, sehingga diambil suatu gagasan dengan menggunakan kapas sisa hasil pertanian yang banyak mengandung selulosa, serta menggunakan cairan rumen sapi yang merupakan limbah RPH. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perubahan struktur anatomi serat pada kapas dan untuk mengetahui adanya pengaruh cairan rumen sapi terhadap penurunan biomasanya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan, Jurusan Biologi, FSM, UNDIP. Rancangan yang digunakan adalah analisis kualitatif deskriptif, dan Uji T. Parameter yang diamati yaitu penurunan biomassa, dan perubahan struktur anatomi (makroskopis, dan mikroskopis). Hasil penelitian menunjukkan perendaman kapas dalam cairan rumen sapi berpengaruh signifikan terhadap penurunan biomassa kapas, dimana pada kapas kontrol aerob lebih besar 0,5% penurunannya dari kapas kontrol anaerob dan penurunan biomassa kapas anaerob lebih besar 3,5% dari kapas aerob dalam perendaman cairan rumen, dan perubahan struktur anatomi serat sangat signifikan yang ditandai dengan terurainya dinding

sel serat. Hal ini dilakukan sebagai langkah awal dalam pembuatan bioethanol berbasis selulosa.

Kata kunci : perendaman, cairan rumen sapi, struktur anatomi, selulosa, kapas

Pendahuluan

Krisis energi yang terjadi di berbagai negara di belahan dunia saat ini sudah memasuki tahapan yang sangat serius, dan memprihatinkan, sehingga harus segera dicari metode pemecahan masalahnya, termasuk Indonesia (Wiratmaja, 2012). Sumber bahan baku potensial yang ketersediaannya melimpah, berharga murah, dan mengandung struktur gula sederhana yang dapat diubah menjadi etanol yang dimanfaatkan sebagai energi alternatif. Indonesia merupakan negara pertanian, dengan produksi kapas yang cukup besar. Proses pembuatan etanol dari bahan berselulosa memerlukan beberapa tahapan sebelum menghasilkan etanol, salah satunya adalah tahapan fermentasi. Hal ini disebabkan karena struktur selulosa yang lebih kompleks, sehingga harus dirombak agar proses fermentasi sebagai tahapan awal pembuatan etanol dapat berlangsung dengan optimal (Anonim, 2012^a).

Isi rumen terdiri atas padatan yang berasal dari bahan yang dimakan, dan cairan yang berisi mikroba rumen, enzim-enzim, dan zat-zat makanan hasil perombakan mikroba rumen dan enzim, serta vitamin-vitamin, dan mineral-mineral yang larut dalam cairan rumen (Kamra, 2005). Isi rumen sapi yang berasal dari limbah Rumah Potong Hewan (RPH) cukup melimpah. Jika tidak ditangani dengan baik limbah ini berpotensi dalam mencemari lingkungan.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka selulosa pada bahan dasar

tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai Pengaruh Perendaman Dalam Cairan Rumen Sapi Terhadap Penurunan Biomassa, dan Struktur Anatomi Kapas (*Gossypium* sp). Hal ini dilakukan sebagai dasar acuan pembuatan bioethanol dalam meningkatkan potensi bahan bakar alternatif nabati berbasis selulosa.

Bahan dan Metode

Bahan Penelitian

Bahan penelitian yaitu kapas (*Gossypium* sp), limbah cairan rumen sapi, aquades, safranin 1%, dan alkohol 70%.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan metode kualitatif deskriptif pada perubahan warna air perendaman dan kualitatif deskriptif komparatif pada pengamatan makroskopis dan pengamatan mikroskopis serta kuantitatif dengan menggunakan Uji T pada pengamatan terhadap penurunan biomassa.

Hasil dan Pembahasan

1. Pengaruh Perendaman Dalam Cairan Rumen Sapi Terhadap Penurunan Biomassa

Pengamatan terhadap penurunan biomassa kapas dapat digunakan untuk mengetahui efektifitas degradasi selulosa. Hasil pengamatan terhadap penurunan biomassa kapas dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

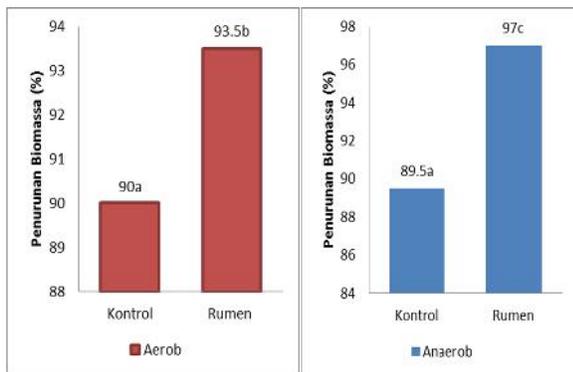
Tabel 1. Data hasil pengamatan terhadap prosentase penurunan biomassa kapas setelah perendaman empat minggu.

	Rata-rata penurunan biomassa (%)	
	Aquades	Cairan rumen sapi
Aerob	90 ^a	93,5 ^b
Anaerob	89,5 ^a	97 ^c

*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Berdasarkan Uji T dengan nilai $p < 0,05$

1.1. Penurunan Biomassa Kapas Setelah Perendaman Dalam Cairan Rumen Sapi

Pengamatan terhadap penurunan biomassa kapas dapat digunakan untuk mengetahui efektifitas degradasi selulosa. Hasil pengamatan terhadap penurunan biomassa kapas dapat dilihat pada Gambar 1 sebagai berikut :



*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Berdasarkan Uji T dengan nilai $p < 0,05$

Gambar 1. Histogram persentase penurunan biomassa kapas dalam cairan rumen sapi

Gambar 1. menunjukkan bahwa perendaman dengan menggunakan

cairan rumen sapi dapat menurunkan biomassa kapas baik secara aerob maupun anaerob. Penurunan biomassa kapas aerob sebesar 93,5% dibandingkan dengan yang direndam dalam aquades (kontrol) sebesar 90%. Hasil analisis statistik penurunan biomassa kapas aerob signifikan dengan nilai $p = 0,000$. Selain itu, perendaman dalam cairan rumen juga dapat menurunkan biomassa kapas anaerob. Kapas yang direndam dalam cairan rumen sapi mengalami penurunan biomassa sebesar 97% dibandingkan dengan yang direndam dalam aquades (kontrol) sebesar 89,5%. Penurunan biomassa ini secara statistik juga signifikan ($p = 0,000$).

Perendaman serat kapas dengan menggunakan aquades pada penelitian ini menunjukkan adanya penurunan biomassa baik itu dalam perlakuan aerob maupun anaerob dengan perbedaan penurunan biomassa hanya 0,5%. Jika dilihat dari sifat selulosa yang sulit terurai dalam air kemungkinan pada cairan rumen sapi yang digunakan sebagai media perlakuan perendaman masih banyak terkandung serat-serat kasar yang ikut dalam proses penyaringan pada saat pengambilan cairan, sehingga serat kasar ini kemungkinan terdegradasi terlebih dahulu dibandingkan dengan serat kapas, dan pada akhirnya mempengaruhi penurunan biomasanya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan biomassa kapas kemungkinan terjadi karena keberadaan mikroorganisme yang berasal dari cairan rumen sapi jumlahnya yang sangat melimpah. Trinci et al. (1994) menyatakan bahwa di dalam cairan rumen sapi mengandung protozoa, jamur, dan bakteri. Selain itu juga terdapat enzim-enzim yang

disekresikan oleh mikroba, zat-zat makanan hasil perombakan mikroba rumen dengan enzim, vitamin-vitamin, dan mineral-mineral yang larut dalam cairan rumen. Di dalam cairan rumen terdapat enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik dimana bakteri ini mempunyai kemampuan untuk memecahkan selulosa, dan mampu bertahan di dalam kondisi yang buruk pada saat makanan dengan kandungan serat kasar yang tinggi. Peres et al. (2002), menyatakan bahwa bakteri merombak selulosa secara ekstraseluler karena selulosa tidak larut air. Mikroba memiliki dua tipe sistem kerja enzim ekstraseluler: (1) Sistem hidrolitik, yaitu dengan cara menghasilkan enzim hidrolase yang bekerja merombak selulosa dan hemiselulosa, dan (2) Sistem oksidatif dan sekresi lignase ekstraseluler dengan cara depolimerisasi lignin. Selulosa mempunyai struktur yang kompleks sehingga sangat sulit untuk didegradasi, dan dikonversi bila dibandingkan dengan bahan dasar dari pati. Akan tetapi, hidrolisis enzimatik biomassa berselulosa prospektif karena dapat menghasilkan gula. Selain itu, beberapa jenis protozoa mempunyai kemampuan untuk menghancurkan dinding sel tanaman, selanjutnya beberapa jenis protozoa membutuhkan bakteri sebagai sumber makanannya. Protein yang berasal dari tanaman, dan bakteri kemungkinan merupakan sumber protein utama protozoa rumen. Aktivitas protozoa rumen dalam memangsa bakteri dalam rumen dapat memberikan arti positif, yaitu memberikan pasokan nitrogen ke dalam rumen yang merupakan hasil lisis bakteri.

Enzim selulase dapat dihasilkan dari mikroorganisme. Beberapa mikroorganism

isme yang dapat menghasilkan selulase antara lain kapang dan bakteri. Rumen tidak menghasilkan enzim pencernaan (enzim selulase), karena tidak terdapat sel-sel kelenjar pada jaringan epitel selaput mukosa, tetapi rumen selalu menerima saliva yang bersifat alkalis dengan karbonat sebagai komposisi utamanya. Saliva di dalam rumen berfungsi sebagai penyangga, dan membantu mempertahankan pH. Menurut Alam et al. (2004), bakteri selulolitik rumen mempunyai tingkat pertumbuhan yang lebih cepat bila dibandingkan dengan jamur rumen perombak selulosa, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan enzim selulase akan lebih pendek. Penggunaan bakteri penghasil enzim selulase dalam fermentasi dapat menjadi alternatif pada proses hidrolisis. Pemanfaatan bakteri dalam hidrolisis selulosa dilakukan dengan tujuan menghemat penggunaan enzim atau asam sebagai bahan untuk hidrolisa.

Penurunan biomassa kapas bisa digunakan untuk mengukur jumlah biomassa yang hilang karena perendaman dengan cairan rumen sapi. Kapas merupakan selulosa murni terbesar di alam. Smith dan Aidoo (1988), menyatakan bahwa selulosa terdapat hampir di semua material berkayu. Kandungan selulosa dalam bahan berkayu ini dapat mencapai 30-45% bahkan dapat mencapai 70-90% pada kapas. Kandungan selulosa tersebut bervariasi tergantung dari jenis dan bagian tanaman tersebut.

Menurut Rahmadi dkk (2003), selulosa adalah struktur karbohidrat yang berperan sebagai kerangka pada semua tanaman, dan merupakan salah

satu bahan organik yang ketersediannya sangat melimpah bagi ternak herbivore. Hanya ternak ruminansia yang mampu mendegradasi selulosa tanaman menjadi sebuah komponen yang bermanfaat untuk membentuk produk baik untuk kepentingan hidup maupun produksi. Kemampuan memanfaatkan selulosa/polisakarida tanaman dimungkinkan mengingat adanya beberapa bakteri, dan fungi dalam lambung yang mampu menghidrolisis selulosa menjadi selubiosa, dan glukosa.

Perlakuan uji lanjut merupakan proses tahapan yang cukup penting, dimana dalam hal ini selulosa akan terdegradasi yang ditandai dengan terurainya dinding sel serat selulosa pada kapas. Penelitian ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu perendaman maka semakin tinggi persentase penurunan biomassa yang akan terjadi. Hal ini kemungkinan perlakuan uji lanjut secara enzimatik membutuhkan waktu yang lebih lama bila dibandingkan dengan perlakuan uji lanjut secara kimiawi, sehingga nantinya didapat hasil yang optimal. Hidrolisis selulosa secara enzimatik mempunyai beberapa keuntungan, yaitu konversi lebih tinggi dengan hasil samping yang rendah, dan membutuhkan energi yang sedikit. Proses enzimatik merupakan proses bersih lingkungan, dimana bahan yang digunakan adalah bahan yang terbaharukan yang berasal dari limbah pertanian. Hidrolisa enzimatik menjanjikan guna mengkonversi biomassa menjadi gula yang selanjutnya dikonversi menjadi bioethanol. Penelitian-penelitian yang berkaitan dengan produksi bioethanol dari berbagai biomassa terus dikembangkan, baik yang berkaitan

dengan enzim yang digunakan maupun sumber bahan baku.

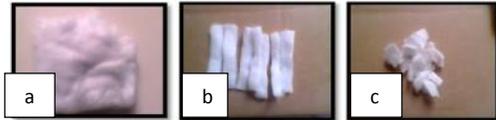
Penelitian ini menggunakan media cairan rumen sapi guna mengetahui adanya degradasi anatomi pada kapas. Kapas merupakan serat selulosa murni, sehingga proses degradasi selulosa tidak sesulit ketika selulosa masih diselubungi oleh hemiselulosa, dan lignin. Selulosa murni kapas dapat terdegradasi dengan sempurna dalam rendaman cairan rumen sapi.

Hasil penelitian penurunan biomassa bila dilihat dari segi berat rata-rata penurunan biomassa maka dapat dikatakan bahwa penurunan biomassa kapas anaerob lebih cepat, dan efektif bila dibandingkan dengan penurunan biomassa kapas secara aerob. Hal ini dapat terjadi kemungkinan dikarenakan pada pengaturan suhu ruangan, dan kelembaban yang disesuaikan dengan keadaan lingkungan di dalam rumen, sehingga untuk proses degradasi dapat secara langsung dengan sempurna.

1.2 Perubahan Struktur Anatomi

Kapas termasuk dalam suatu polimer produk alam yang salah satu komponen penyusunnya adalah selulosa. Selulosa yang merupakan salah satu senyawa organik yang melimpah di bumi. Kapas dinding sekundernya terdiri dari selulosa murni karena 90% komposisi kimianya tersusun atas selulosa. Anggorodi (1979), mengatakan bahwa selulosa adalah suatu polisakarida yang mempunyai formula umum seperti pati $(C_6H_{10}O_5)_n$. Selulosa sebagian besar terdapat dalam dinding sel dan bagian-bagian berkayu dari tumbuh-tumbuhan. Menurut Lehninger (1982), selulosa adalah senyawa seperti serabut, tidak larut dalam air dan ditemukan dalam epidermis, terutama pada tangkai, batang, dahan, dan

semua bagian berkayu dari jaringan tumbuhan. Selulosa adalah bagian terbesar dari komponen lignoselulosa tanaman dan sebagai komponen utama penyusun dinding sel tanaman selain hemiselulosa, dan lignin. Gambar selulosa kapas dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 2 sebagai berikut :



Gambar 2. Serat kapas (a) lembaran, (b) dipotong dengan ukuran 3 cm, (c) dipotong dengan ukuran 0,2-0,5 cm

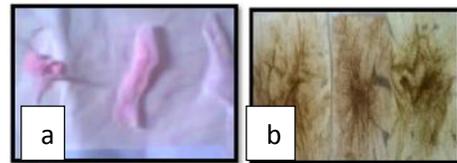
Tujuan pemotongan kapas adalah untuk mempermudah dalam proses perendaman, mempercepat proses degradasi. Semakin kecil suatu bahan maka akan mempermudah proses hidrolisis dengan meningkatkan luas permukaan selulosa, dan ukuran pori selulosa, sehingga memberikan fasilitas masuknya bahan untuk proses hidrolisis (Gong et al., 1999).

Terjadi atau tidaknya perubahan struktur anatomi serat dari kapas ditentukan dengan analisis deskriptif kualitatif gambar yang dilakukan dengan perbandingan antar pengulangan rendaman setiap minggu selama satu bulan. Hasil pengamatan dengan menggunakan beberapa parameter yaitu pengamatan secara makroskopis, dan mikroskopis.

Adanya perubahan struktur anatomi serat maka dapat diketahui dengan melakukan pengamatan sebelum, dan setelah dilakukan perendaman dengan metode deskriptif selama satu bulan. Pengamatan ini dilakukan pada akhir proses perendaman (setelah 4 minggu) karena dalam pengamatan secara langsung setiap minggunya tidak

begitu terlihat jelas perbedaannya. Sifat makroskopis merupakan sifat yang dapat dilihat dengan menggunakan mata telanjang.

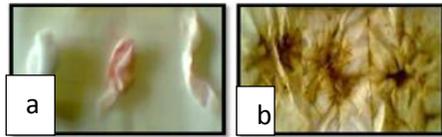
Pengamatan makroskopis adalah sifat yang terlihat tanpa harus menggunakan mikroskop. Bila perlu hanya dibantu dengan lup dengan perbesaran 10-15 kali (Tsoumis, 1991). Mandang dan Pandit (2002), ciri umum bahan yang dapat diamati secara makroskopis diantaranya adalah warna dan corak, tekstur, arah serat, kilap, kesan raba, bau, dan rasa, serta kekerasan.



Gambar 3. Struktur makroskopis kapas aerob setelah perendaman 4 minggu (a) kontrol aquades, (b) cairan rumen sapi.

Gambar 3a menunjukkan bahwa kapas kontrol hasil perendaman dalam aquades yang direndam selama empat minggu, menunjukkan serat kapas secara aerob menyebabkan lunaknya tekstur tetapi untuk warna serat tidak terjadi perubahan. Gambar 3b menunjukkan kapas yang direndam dalam cairan rumen selama empat minggu telah terurai dinding selnya menjadi bagian yang sangat kecil, sehingga tidak dapat dilihat secara langsung oleh mata.

Terurainya dinding sel serat menjadi potongan kecil kemungkinan karena adanya aktivitas penguraian yang dilakukan oleh bakteri selulolitik rumen. Terurainya serat belum terlihat sempurna karena masih ada serat yang berukuran sedikit panjang



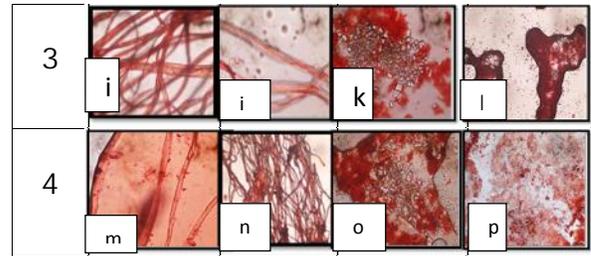
Gambar 4. Struktur makroskopis kapas anaerob setelah perendaman 4 minggu (a) kontrol aquades, (b) cairan rumen sapi.

Hasil pengamatan makroskopis serat kapas setelah perlakuan perendaman empat minggu pada perlakuan secara anaerob pada kapas, menunjukkan bahwa pada kontrol yang direndam dalam aquades seratnya masih utuh, dan seratnya masih panjang-panjang (Gambar 4a). Sedangkan pada perlakuan dengan cairan rumen menunjukkan serat kapas sudah tidak ada lagi bentuk dari serat kapas atau dengan kata lain serat kapas sudah terurai menjadi potongan yang sangat kecil, sehingga tak dapat dilihat dengan mata telanjang (lihat Gambar 4b).

Parameter selanjutnya adalah pengamatan mikroskopis struktur anatomi serat kapas dengan menggunakan fotomikrograf.

Tabel 2. Struktur mikroskopis kapas setelah perendaman dalam aquades dan cairan rumen sapi dengan lama perendaman yang berbeda, dengan perbesaran 40 x 10.

Lama (minggu)	Perlakuan			
	Akuades		Cairan rumen sapi	
	Aerob	Anaerob	Aerob	Anaerob
1				
2				



Tabel 3. Keterangan perubahan struktur mikroskopis kapas setelah perendaman dalam aquades dan cairan rumen sapi dengan lama perendaman yang berbeda, dengan perbesaran 40 x 10.

Lama (minggu)	Perlakuan			
	Akuades		Cairan Rumen Sapi	
	Aerob	Anaerob	Aerob	Anaerob
1	Gambar 2a serat kapas masih solid, torsi masih terlihat jelas	Gambar 2b serat masih solid, dengan beberapa torsi	Gambar 2c serat kapas metipis	Gambar 2d Serat kapas utuh tapi pada bagian lumen pecah
2	Gambar 2e serat masih solid, terjadi sedikit penipisan	Gambar 2f serat masih solid, mengecil ukurannya	Gambar 2g serat masih berukuran panjang, dan solid	Gambar 2h dinding sel serat terurai tapi masih dengan ukuran yang cukup panjang
3	Gambar 2i serat masih solid, penyerapan warna masih kuat	Gambar 2j serat masih solid, dan terjadi penipisan serta penyerapan warna berkurang	Gambar 2k dinding sel serat terurai menjadi potongan kotak kecil	Gambar 2l dinding sel terurai menjadi potongan kotak kecil

4	Gambar 2m serat mengalami penipisan, tapi struktur masih utuh	Gambar 2n serat mengalami penipisan, pemanjangan, dan pengecilan serat	Gambar 2o dinding sel terurai menjadi potongan kecil	Gambar 2p dinding sel terurai dan tersebar pada seluruh permukaan dengan potongan bulat kecil
---	---	--	--	---

Pemecahan selulosa merupakan pemecahan polimer anhidrosa menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Melalui hidrolisis tersebut dihasilkan oligosakarida, trisakarida, dan disakarida seperti selotriosa, selobiosa serta monomer-monomer glukosa atau pemecahan lainnya (alkohol, aldehyd, asam-asam dan keton) dan pada akhirnya menghasilkan CO₂ dan air (Hardjo et al., 1989).

Berdasarkan pengamatan mikroskopis pada kapas secara aerob, dan anaerob dapat ditarik suatu kesimpulan dimana semakin lama waktu yang digunakan untuk proses perendaman dengan menggunakan cairan rumen sapi. Maka akan lebih berpengaruh secara nyata terhadap perubahan struktur anatomi serat kapas.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa cairan rumen dapat digunakan dalam uji lanjut secara enzimatik, dan tidak menutup kemungkinan dapat dilanjutkan pada tahap proses fermentasi. Adanya pengaruh lama waktu perendaman dapat menjadi suatu pertimbangan yang nantinya dapat digunakan sebagai acuan dalam tujuan pembuatan bioethanol berbasis bahan selulosa.

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi jika cairan rumen sapi dengan perbedaan lama waktu perendaman dapat digunakan

sebagai sarana acuan dalam pembuatan bioethanol. Perendaman dengan cairan rumen mampu mempengaruhi penurunan biomassa pada kapas baik dalam perlakuan aerob maupun anaerob, serta perubahan struktur anatomi dengan mendegradasi ikatan selulosa.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian yang dilakukan maka dapat diambil suatu kesimpulan bahwa :

1. Perendaman dalam cairan rumen sapi berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan biomassa kapas (*Gossypium sp*). Penurunan kapas kontrol aerob lebih besar 0,5 % dari kontrol anaerob, sedangkan penurunan biomassa kapas yang direndam dalam cairan rumen secara anaerob lebih besar 3,5% dari kapas dalam perlakuan aerob.
2. Perendaman kapas (*Gossypium sp*) dalam cairan rumen sapi dengan waktu yang berbeda dalam kondisi aerob maupun anaerob, signifikan terhadap perubahan struktur anatomi serat. Perendaman menggunakan cairan rumen sapi mampu merubah struktur anatomi serat kapas yaitu pemanjangan torsi, penipisan serat, serat menjadi kecil-kecil, serta terurainya dinding serat kapas.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M. Z., Manchulur M. A., Anwar M. N. 2004. Isolation Purification, Characterization of Cellulolytic Enzyme Produced by The Isolate *Streptomyces omiyaensis*. *Pakist J Biol Sci* 7(10): 16471653
- Anggorodi. 1979. Ilmu Makanan Ternak Umum. PT Gramedia, Jakarta.

- Anonim^a. 2012. Waskita Cemani. www.google.com di akses 29 Mei 2012
- Gong, C. S. dan G. T. Tsao. 1979. Cellulase and Biosynthesis Regulation. Di dalam D. Perlman (ed.). Annual Report on Fermentation Process. Academic Press. New York.
- Hardjo, S.N, Indrastuti dan T. Barbacut. 1989. Biokonversi: Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Kamra DN. Special section Microbial diversity. Rumen microbial ecosystem. Current Sci 89 (10) : 124-135
- Lehninger. 1982. Dasar-Dasar Biokimia. 2005. Jilid I. PT Gelora Aksara Pratama. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Mandang YI, IKN Pandit. 2002. Pedoman Identifikasi Kayu di Lapangan. Bogor: Yayasan PROSEA Indonesia.
- Perez J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. Int. Microbiol. 5:53-63.
- Rahmadi D., Senarso, Achmadi J., Pangestu E., Muktiani A., Christianto M., dan Suroso. 2003. Ruminologi Dasar. Jurusan Nutrisi, dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan (Untuk Kalangan Sendiri). Universitas Diponegoro. Semarang
- Smith, J.E. and K.E. Aidoo. 1988. Growth of Fungi on Solid Substrates in Physiology of Industrial Fungi. Blackwell Scientific Publ, Oxford
- Trinci, A.P.J., D.R. Davies., K. Gull., M.L Lawrence., B.B. Nielsen., A. Rickers. And M.K. Theodorou. 1994. Anaerobic fungi in herbivorous animals. Myco. Res.98:129-152.
- Wiratmaja, G. Unud. Pendahuluan. Thesis. Unud. www.google.com di akses 31 Mei 2012