



# **ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ANAEROB RUMEN KERBAU PENDEGRADASI SERAT**

**SINTA AGUSTINA**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2020**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Fungi Anaerob Rumen Kerbau Pendegradasi Serat” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, November 2020

*Sinta Agustina*  
NIM D251180158

## RINGKASAN

SINTA AGUSTINA. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Fungi Anaerob Rumen Kerbau Pendegradasi Serat. Dibimbing oleh I KOMANG GEDE WIRYAWAN dan SRI SUHARTI.

Hijauan merupakan salah satu sumber pakan bagi ternak ruminansia. Pada umumnya kualitas hijauan pada musim kemarau sudah melampaui fase berbunga sehingga memiliki kandungan serat yang sangat tinggi dan berpengaruh terhadap produktivitas ternak. Mikroba rumen merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap kinerja ternak dalam mencerna serat terutama keberadaan mikroorganisme selulolitik seperti bakteri dan fungi rumen. Salah satu mikroba yang memiliki aktivitas selulolitik tinggi adalah fungi anaerob rumen. Fungi anaerob rumen sangat diperlukan di dalam rumen karena fungi dapat memproduksi enzim yang sangat aktif untuk mendegradasi lignoselulosa serta memiliki kemampuan untuk memecah dan menembus partikel serat pakan dengan miselium sehingga menyediakan lebih banyak permukaan yang tersedia untuk aksi mikroba lainnya. Namun di Indonesia penelitian mengenai potensi fungi anaerob rumen belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh lamanya waktu inkubasi terhadap populasi zoospora, nilai pH media, konsentrasi amonia (NH<sub>3</sub>) dan proporsi *Volatile Fatty Acid* (VFA) parsial serta bertujuan untuk mengisolasi, identifikasi dan karakterisasi morfologi fungi anaerob yang berasal dari rumen kerbau.

Proses pengayaan fungi anaerob rumen kerbau dilakukan dengan menggunakan metode Hungate dengan lamanya waktu inkubasi nol hari, satu hari, tiga hari dan lima hari. Media yang digunakan dalam penelitian ini merupakan media Orpin yang diberi selobiosa dan antibiotik (Streptomycin dan chloramphenicol). Isolasi fungi anaerob rumen dilakukan dengan menggunakan metode titik dan isolat fungi diidentifikasi morfologinya untuk menentukan genus dari fungi tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lamanya waktu inkubasi sangat nyata ( $P < 0.01$ ) meningkatkan populasi zoospora, konsentrasi NH<sub>3</sub>, proporsi asetat, dan VFA total serta menurunkan nilai pH pada media, proporsi propionat dan proporsi butirat. Namun lamanya waktu inkubasi tidak berpengaruh terhadap proporsi valerat. Berdasarkan karakteristik morfologis, lima isolat fungi yang diisolasi dari cairan rumen kerbau diidentifikasi sebagai genus *Piromyces* (F1 dan F3), *Caecomycetes* (F2 dan F5) serta *Neocallimastix*. Dapat disimpulkan bahwa waktu inkubasi fungi anaerob menurunkan nilai pH media, proporsi propionat dan proporsi butirat serta meningkatkan populasi zoospora, konsentrasi NH<sub>3</sub>, proporsi asetat dan konsentrasi VFA total dengan waktu inkubasi optimal untuk fungi anaerob rumen kerbau adalah tiga hari (*log phase*). Fungi yang diisolasi dari cairan rumen kerbau merupakan genus *Piromyces* (F1 dan F3), *Caecomycetes* (F2 dan F5) dan *Neocallimastix* (F4) dengan morfologi yang berbeda – beda.

**Kata Kunci:** *Caecomycetes*, Fungi anaerob, *Neocallimastix*, *Piromyces*, waktu inkubasi.



## SUMMARY

SINTA AGUSTINA. Isolation, Identification, and Characterization of Anaerobic Fiber-Degrading Fungi in Buffalo Rumen. Supervised by I KOMANG GEDE WIRYAWAN and SRI SUHARTI.

Forage is a source of feed for ruminants. In general, the quality of forage in dry season has exceeded the flowering phase, so it has a very high fiber content and affects the livestock productivity. Rumen microbes greatly affect the performance of livestock in digesting fiber content, especially the presence of cellulolytic microorganisms such as bacteria and fungi. One of the microbes that has high cellulolytic activity is rumen anaerobic fungi. Rumen anaerobic fungi are indispensable in the rumen because it can produce highly active enzymes to degrade lignocellulose and it also has the ability to break down and penetrate the feed fiber particles with mycelium. However, in Indonesia there has not been much research to evaluate the potential of rumen anaerobic fungi. The aim of this study was to evaluate the effect of incubation time on the zoospore populations, pH value of media, ammonia (NH<sub>3</sub>) concentration, and *Volatile Fatty Acid* (VFA) proportion. This study also aims to isolate, identify and characterize the morphology of rumen anaerobic fungi in buffalo rumen fluid.

The enrichment process of rumen anaerobic fungi was done using Hungate method with four incubation time ( zero, one, three, and five days). The media used to grow anaerobic fungi were Orpin Media containing cellobiose and antibiotics (Streptomycin and chloramphenicol). Isolation of the rumen anaerobic fungi was carried out using dot method and the fungi isolates were identified based on the morphology of rumen anaerobic fungi to determine the genus.

The results showed that the duration of incubation time significantly increased ( $P < 0.01$ ) the zoospore population, NH<sub>3</sub> concentration, the proportion of acetate, total VFA concentration and decreased the pH value of media, propionate proportion and butyrate proportion. However, the duration of incubation time had no effect on the proportion of valerate. Based on the morphological characteristics five fungi isolates which were isolated from buffalo rumen fluid were identified as *Piromyces* (F1 and F3), *Caecomyces* (F2 and F5), and *Neocallimastix* (F4). In conclusion, the duration of incubation time reduces the pH of media, proportion of propionate, proportion of butyrate and increases the zoospore population, NH<sub>3</sub> concentration, acetate proportion and total VFA concentration with the optimal incubation time is three days (log phase). The fungi were isolated from buffalo rumen fluid are characterized as *Piromyces*, *Caecomyces*, and *Neocallimastix* with different morphologies in each type of anaerobic fungi.

**Keyword:** anaerobic fungi, *Caecomyces*, incubation time, *Neocallimastix*, *Piromyces*.



© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2020  
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



# **ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ANAEROB RUMEN KERBAU PENDEGRADASI SERAT**

**SINTA AGUSTINA**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Sains  
pada  
Program Studi Ilmu Nutrisi dan Pakan

**SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2020**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



**@Hak cipta milik IPB University**

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Penelitian  
Nama  
NIM

: Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Fungi Anaerob  
Rumen Kerbau Pendegradasi Serat  
: Sinta Agustina  
: D251180158

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:  
Prof. Dr. Ir. I Komang Gede Wiryawan

Pembimbing 2:  
Dr. Sri Suharti, S.Pt, M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi  
Ilmu Nutrisi dan Pakan :  
Dr. Anuraga Jayanegara, S.Pt, M.Sc  
NIP 198306022005011001



Dekan Pascasarjana:  
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng  
NIP 196004191985031002

Tanggal Ujian : 10 September 2020

Tanggal Lulus : 16 NOV 2020

## PRAKATA

*Bismillahirrohmanirrohim* Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadhirot Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini. Shalawat serta salam senantiasa dilimpahkan kepada junjungan kita, Baginda RosullullaH, NabiyullaH Muhammad SAW sebagai panutan dan tauladan bagi seluruh umat serta sumber pengetahuan yang barokahnya semoga selalu memberikan manfaat kebaikan kepada kita semua, khususnya kepada saya pribadi yang semoga tesis saya pun selalu bermanfaat dalam dan untuk segala kebaikan. Topik yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 sampai Februari 2020 ini adalah Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Fungi Anaerob Rumen Pendegradasi Serat.

Terima kasih penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Ir. I Komang Gede Wiryawan sebagai ketua komisi pembimbing serta Dr. Sri Suharti, S.Pt, M.Si sebagai anggota komisi pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian hingga penulisan tesis ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Etty Riani, M.S yang telah bersedia menjadi moderator seminar hasil penelitian penulis pada tanggal 23 Juli 2020. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Ir. Asep Sudarman, M.Rur.Sc selaku penguji luar komisi serta Dr. Anuraga Jayanegara, S.Pt, M.Sc selaku moderator pada ujian sidang penulis yang dilaksanakan pada tanggal 10 September 2020.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada ayahanda Dede Koswara, Ibunda Tati Kurnia, adikku Rama Dwi Nugraha dan keluarga besar serta Bapak dan Ibu mertua, Alm. Abi Raden Asikin, Umi Raden Suyatmi dan seluruh keluarga mertua yang telah memberikan dukungan selama ini sehingga saya dapat menyelesaikan studi saya dengan baik. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada suami tercinta Raden Hamdani, S.Pi lulusan FPIK IPB University yang selalu membimbing kebaikan dalam berbagai aspek kehidupan. Penulis juga menyampaikan rasa terimakasih kepada Ibu Andriani, S.Si, Ibu Dian Anggraeni dan Alm. Bapak Darmawan selaku petugas dan teknisi Laboratorium. Terimakasih juga saya ucapkan kepada Kasubbag Layanan dan Pembinaan Kearsipan, Unit Arsip IPB University yaitu Bapak Ir. Setyo Edy Susanto, S.Th.I, M.Pd. dan kepada Bapak Ade Rusdiana, S.Kom, Staf Direktorat Sistem Informasi dan Transformasi Digital (DSITD) IPB University, atas segala dukungannya dalam perjalanan saya menyelesaikan studi ini. Disamping itu, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia melalui hibah penelitian “Penelitian Pendidikan Magister Doktor untuk Sarjana Unggul”, tahun 2019.

Akhir kata, besar harapan penulis agar tesis ini menjadi sebuah karya yang bermanfaat bagi semua pihak dan dapat digunakan pada masa yang akan datang.

Bogor, November 2020

*Sinta Agustina*

## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	iv
1 PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	1
Tujuan Penelitian	2
Manfaat Penelitian	2
Ruang Lingkup Penelitian	2
Hipotesis	2
2 METODE	3
Waktu dan Tempat	3
Bahan Penelitian	3
Prosedur Penelitian	3
Rancangan Percobaan dan Analisis Data	6
3 HASIL DAN PEMBAHASAN	6
Populasi Zoospora Fungi Anaerob Rumen Kerbau	6
Nilai pH Media	8
Konsentrasi NH <sub>3</sub>	9
Proporsi VFA Parsial	10
Morfologi Fungi Anaerob Rumen Kerbau	12
4 SIMPULAN DAN SARAN	15
Simpulan	15
Saran	15
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN	22
Riwayat Hidup	23



## DAFTAR TABEL

1	Pengaruh waktu inkubasi terhadap produksi total VFA dan proporsi VFA parsial	11
	Hasil identifikasi morfologi fungi anaerob rumen kerbau	12

## DAFTAR GAMBAR

	Koloni fungi yang terbentuk setelah inkubasi	5
2	Pengaruh waktu inkubasi terhadap populasi zoospora fungi	7
3	Pengaruh waktu inkubasi terhadap pH media	9
4	Pengaruh waktu inkubasi terhadap konsentrasi $\text{NH}_3$	10
5	Morfologi fungi anarob rumen kerbau 40x	14

## DAFTAR LAMPIRAN

1	Riwayat Hidup	23
---	---------------	----

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

# 1 PENDAHULUAN

## Latar Belakang

Hijauan merupakan salah satu sumber pakan bagi ternak ruminansia. Salah satu permasalahan dalam pengembangan usaha peternakan ruminansia adalah kualitas pakan yang rendah terutama pada musim kemarau. Menurut Lado dan Aoetpah (2016) pada umumnya kualitas hijauan pada musim kemarau sudah melampaui fase berbunga sehingga memiliki kandungan serat yang sangat tinggi. Kandungan serat kasar yang tinggi pada pakan dapat menurunkan pencernaan sehingga berpengaruh terhadap produktivitas ternak. Krisnan *et al.* (2009) menyatakan bahwa produktivitas ternak ruminansia sangat ditentukan oleh kinerja sistem rumen dalam mencerna bahan pakan sumber serat. Mikroba rumen merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap kinerja ternak dalam mencerna serat terutama keberadaan mikroorganisme selulolitik seperti bakteri dan fungi rumen.

Pamungkas dan Anggraeny (2006) menyatakan bahwa mikroorganisme selulolitik sangat berperan dalam pencernaan pakan berserat tinggi sehingga ruminansia lepas sapih memerlukan probiotik untuk membantu perkembangan ekosistem rumen. Probiotik merupakan pakan aditif berupa mikroba hidup yang dapat meningkatkan fungsi pencernaan hewan inang dengan memanipulasi mikroflora saluran pencernaan untuk meningkatkan produktivitas ternak (Fuller 1989). Salah satu mikroba yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik adalah fungi anaerob rumen. Gordon dan Phillips (1998) menyatakan bahwa fungi anaerob rumen sangat diperlukan di dalam rumen karena fungi dapat memproduksi enzim yang sangat aktif untuk mendegradasi lignoselulosa. Selain itu fungi juga memiliki kemampuan untuk memecah dan menembus partikel serat pakan dengan miselium sehingga menyediakan lebih banyak permukaan yang tersedia untuk aksi mikroba lainnya (Grenet *et al.* 1989). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wood *et al.* (1986) melaporkan bahwa *Neocallimastix frontalis* yang di isolasi dari rumen domba memiliki aktivitas enzim selulase yang tinggi dalam melarutkan dan merusak ikatan hidrogen pada serat pakan. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.* (2000) juga melaporkan bahwa fungi anaerob rumen yang diisolasi dari rumen domba mampu meningkatkan konsumsi lignoselulosa pakan.

Lee *et al.* (2000) menyatakan bahwa perbedaan jenis ternak dan jenis pakan yang diberikan kepada ternak dapat menyebabkan keberagaman jenis fungi, profil enzim dan kemampuan mereka dalam mencerna serat sehingga perlu dilakukan pengisolasian strain jamur yang efisien dan memiliki kemampuan yang tinggi dalam mencerna serat. Namun di Indonesia penelitian mengenai potensi fungi anaerob rumen belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu evaluasi potensi fungi anaerob rumen kerbau perlu dilakukan.

## Perumusan Masalah

Hijauan merupakan sumber makanan untuk ternak ruminansia, namun salah satu faktor pembatas dari hijauan adalah tingginya kandungan serat terutama pada hijauan yang sudah tua. Kandungan serat pada pakan hanya bisa didegradasi oleh

mikroba rumen pendegradasi serat, sehingga hasil pemecahan serat bisa dimanfaatkan oleh inangnya dan berpengaruh terhadap produktivitas ternak. Salah satu mikroba rumen yang memiliki aktivitas mencerna serat adalah fungi anaerob rumen yang dapat memproduksi enzim sangat aktif untuk mendegradasi lignoselulosa. Namun di Indonesia penelitian untuk mengevaluasi potensi fungi anaerob belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu proses isolasi fungi anaerob rumen perlu dilakukan.

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh lamanya waktu inkubasi fungi anaerob rumen kerbau terhadap populasi zoospora, pH media, konsentrasi NH<sub>3</sub> dan proporsi VFA parsial. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengisolasi, identifikasi dan karakterisasi morfologi fungi anaerob yang berasal dari rumen kerbau.

### **Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai informasi waktu inkubasi yang optimal untuk fungi anaerob pada rumen kerbau serta memberikan informasi mengenai jenis dan morfologi fungi anaerob yang terdapat pada cairan rumen kerbau.

### **Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian yang dilakukan terdiri atas tiga tahap yaitu tahap pertama mengevaluasi pengaruh lamanya waktu inkubasi terhadap populasi zoospora, konsentrasi NH<sub>3</sub> dan proporsi VFA parsial yang dihasilkan oleh fungi. Tahap kedua adalah mengisolasi fungi anaerob rumen dari kerbau. Tahap ketiga, fungi yang telah diisolasi diidentifikasi dan diklasifikasi secara morfologi.

### **Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah nilai pH media, populasi zoospora, konsentrasi NH<sub>3</sub>, dan proporsi VFA parsial dipengaruhi oleh lamanya waktu inkubasi. Penelitian ini juga diharapkan dapat mengisolasi beberapa jenis fungi anaerob rumen kerbau yang memiliki morfologi berbeda – beda.

## 2 METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 sampai Februari 2020. Pengukuran nilai pH media serta konsentrasi  $\text{NH}_3$  dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ternak Perah, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Pengukuran konsentrasi VFA Parsial dilakukan di Laboratorium Analisis Pakan Ternak dan Produk Pangan, Balai Penelitian Ternak Ciawi. Perhitungan populasi zoospora fungi serta proses isolasi, identifikasi dan karakterisasi fungi anaerob rumen kerbau dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fisiologi dan Mikrobiologi Nutrisi, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan.

### Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah cairan rumen sapi yang digunakan sebagai media diambil dari RPH Bubulak, sedangkan cairan rumen kerbau didapatkan dari ternak kerbau di Kelurahan Situ Gede, Kecamatan Bogor Barat, Kota Bogor dengan menggunakan metode *stomach tube*. Proses pengayaan dan isolasi fungi anaerob rumen dilakukan dengan menggunakan media orpin yang mengandung selobiosa dan antibiotik (streptomycin dan chloramphenicol).

### Prosedur Penelitian

Penelitian yang dilakukan terdiri atas tiga tahap yaitu tahap pertama mengevaluasi pengaruh waktu inkubasi fungi anaerob rumen kerbau terhadap populasi zoospora, konsentrasi  $\text{NH}_3$  dan proporsi VFA parsial yang dihasilkan oleh fungi. Tahap kedua adalah mengisolasi fungi anaerob rumen dari kerbau, serta tahap ketiga fungi yang telah diisolasi diidentifikasi dan diklasifikasi secara morfologi.

#### 1. Tahap I Pengamatan Pengaruh Lamanya Waktu Inkubasi

Pengamatan pengaruh waktu inkubasi fungi anaerob rumen kerbau dilakukan dengan metode Hungate (1969) yaitu memasukkan 10 mL cairan rumen kerbau ke dalam tabung yang telah berisikan 90 mL media orpin cair yang mengandung selobiosa dan antibiotik. Tabung kemudian diinkubasi dengan waktu yang berbeda yaitu nol hari, satu hari, tiga hari dan lima hari pada suhu  $39^\circ\text{C}$ . Setelah tabung diinkubasi dengan waktu yang berbeda kemudian setiap tabung diukur pH, populasi zoospora, konsentrasi  $\text{NH}_3$  serta konsentrasi VFA.

## a) Pengukuran nilai pH Media

Pengukuran pH isolat dilakukan dengan menggunakan pH meter digital tipe pHep HI98107 (Hanna Instrumen Indotama, Jakarta Utara). pH meter terlebih dahulu dikalibrasi dengan menggunakan cairan buffer pH empat dan pH tujuh. pH meter kemudian dicelupkan ke dalam media yang telah diinkubasi dengan waktu berbeda dan ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka yang stabil.

b) Penghitungan Jumlah Spora (Sanjaya *et al.* 2010)

Perhitungan jumlah spora dilakukan secara aseptik dengan meneteskan 0.5 ml fungi dari masing – masing tabung yang diinkubasi dengan waktu berbeda ke dalam *haemocytometer Nebaeur* untuk dihitung jumlah sporanya dengan bantuan mikroskop dan *hand counter*.

c) Analisis Konsentrasi NH<sub>3</sub>

Konsentrasi NH<sub>3</sub> pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode mikrodifusi Conway (GLP 1966). Cawan Conway terlebih dahulu disiapkan kemudian bibir cawan diolesi dengan menggunakan vaselin dan diposisikan miring agar sampel dan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh tidak bercampur. Sisi sebelah kiri cawan diisi dengan satu ml supernatan sampel, pada sisi sebelah kanan diisi dengan satu ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh dan pada bagian tengah diisi dengan satu ml asam borat. Sampel dan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh dihomogenkan dengan menggerakkan cawan ke sebelah kiri dan kanan secara perlahan. Supernatan sampel yang dihomogenkan dengan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh akan melepaskan gas amonia yang akan ditangkap oleh asam borat pada bagian tengah cawan. Cawan ditutup dengan rapat dan didiamkan selama 24 jam agar proses pelepasan amonia sempurna. Setelah 24 jam, asam borat dititrisi dengan menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.05 M hingga terjadi perubahan warna yang semula berwarna biru berubah menjadi merah muda. Konsentrasi NH<sub>3</sub> yang dihasilkan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{NH}_3 \text{ (mM)} = \text{ml H}_2\text{SO}_4 \times \text{N H}_2\text{SO}_4 \times 1000 \text{ g}$$

## d) Analisis Konsentrasi VFA Parsial

Analisis VFA (*Volatile Fatty Acids*) parsial yang dilakukan pada penelitian ini meliputi asetat, propionat, butirrat, valerat, isobutirat dan isovalerat dengan menggunakan substrat selobiosa. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC) (Kristensen *et al.* 1996) dengan menggunakan alat *Bruker Scion 436 GC* di Laboratorium Analisis Pakan Ternak dan Produk Pangan, Balai Penelitian Ternak Ciawi dengan kolom kapiler BG-Wax yang mengandung leburan silika WCOT dengan panjang kolom 30 mm x 0.32 mm. Gas *carrier* yang digunakan pada alat ini adalah 25 ml Nitrogen dan gas pembakar 30 ml Hidrogen dengan suhu injektor 250°C dan gradien temperatur kolom 70 – 150°C dalam waktu 11 menit (Saenab *et al.* 2018). Isolat yang telah di inkubasi selama nol, satu, tiga, dan lima hari kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan. Sebanyak 1.5 ml supernatan dari masing – masing isolat dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* yang berisikan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan dihomogenkan. Kemudian empat µL supernatan sampel diinjeksikan ke dalam GC. Kuantifikasi

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

VFA parsial dihitung dengan membandingkan kurva sampel dengan kurva standar dengan satuan  $\mu\text{mol/ml}$  atau  $\text{mM}$  (Astuti *et al.* 2018). Perhitungan jumlah VFA parsial rumen dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

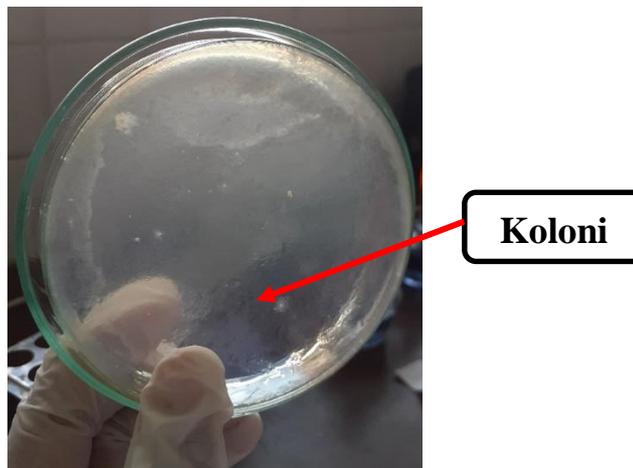
$$\text{VFA Parsial (mM)} = \left( \frac{\text{Area sampel} \times \text{Konsentrasi standar} \times \text{FP}}{\text{Area standar}} \right)$$

Keterangan :

FP = Faktor Pengencer

## 2. Tahap II Pemurnian dan Isolasi Fungi Anaerob Rumen Kerbau

Proses pemurnian fungi anaerob rumen dilakukan dengan menggunakan metode titik (Ed-har *et al.* 2017). Metode ini dilakukan secara aseptik dengan memasukkan satu ml cairan rumen kerbau ke dalam cawan petri. Sebanyak 20 mL media orpin agar steril yang terbuat dari 150 mL/ L cairan rumen sapi basal, 10 g/L ekstrak yeast, 10 g/L trypticase pepton, dua ml/L hemin, 20 g/L agar, satu g/L cystein, dua g/L selobiosa dan antibiotik (50  $\mu\text{g/ml}$  streptomycin dan 50  $\mu\text{g/ml}$  chloramphenicol) dimasukkan ke dalam cawan petri dan dihomogenkan. Cawan yang telah diisi cairan rumen kerbau dan media orpin agar dimasukkan ke dalam anaerobic jar dan di inkubasi pada suhu 39°C hingga pada cawan terlihat koloni fungi yang terbentuk. Masing – masing koloni fungi (Gambar 1) yang terbentuk diambil secara perlahan dengan menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan dan dimasukkan ke dalam media orpin cair. Tabung kemudian dimasukkan ke dalam anaerobic jar dan diinkubasi pada suhu 39°C. Isolat fungi yang ditumbuhkan pada media Orpin cair diuji kemurniaannya secara mikroskopik. Isolat fungi anaerob rumen yang murni memiliki zoospora dan koloni yang seragam.



Gambar 1 Koloni fungi yang terbentuk setelah inkubasi.

## 3. Tahap III Pengamatan Morfologi Fungi Anaerob Rumen Kerbau

Pengamatan isolat murni dilakukan dengan melihat tingkat pertumbuhan (sangat lambat, lambat, cepat atau sangat cepat), warna koloni, diameter koloni, keadaan hifa (percabangan dan ada tidak adanya sekat) (Sanjaya *et al.* 2010). Selain

itu, identifikasi secara morfologis juga dilakukan dengan mengamati sifat pertumbuhan rhizoid (eksogen dan endogen) serta mengamati jumlah flagella pada zoospora, bentuk zoospora, morfologi thallus (monosentris atau polisentris) dan tipe rhizoid (sel filamen atau vegetatif) secara mikroskopik untuk menentukan genus fungi (Ho dan Barr 1995). Masing – masing isolat pada tabung ditetaskan pada gelas objek steril dan ditutup dengan kaca penutup untuk diamati dibawah mikroskop olympus CX31 dengan perbesaran 40x (Joblin 1981). Ciri setiap isolat dibandingkan berdasarkan determinasinya.

### Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Hasil pengamatan morfologi fungi anaerob rumen kerbau dianalisis secara deskriptif dan hasil pengujian pengaruh waktu inkubasi terhadap pH media, populasi zoospora, konsentrasi NH<sub>3</sub> dan konsentrasi VFA dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan (inkubasi 0 hari, 1 hari, 3 hari dan 5 hari) dan empat ulangan. Data pengaruh waktu inkubasi fungi anaerob rumen kerbau dianalisis dengan dengan *Analisis of Variance* (ANOVA), bila hasil yang didapat berbeda nyata (nilai P<0.05 dan P<0.01) maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Model matematis yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan Steel and Torrie (1993):

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

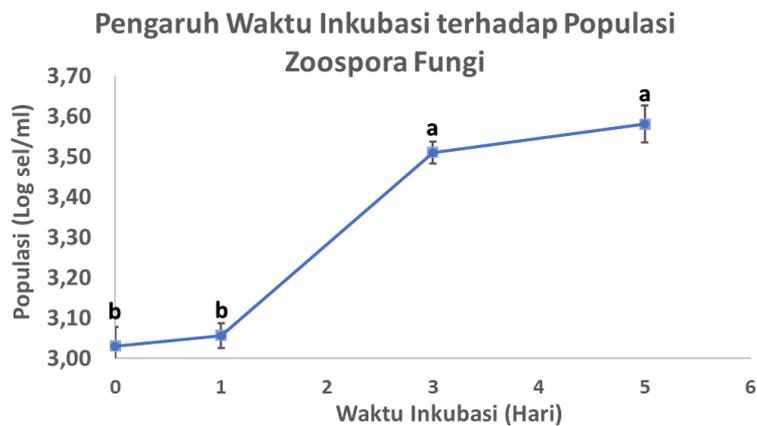
#### Keterangan

- Y<sub>ij</sub> : Hasil akibat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
- μ : Nilai tengah semua perlakuan
- α<sub>i</sub> : Pengaruh perlakuan ke-i
- ε<sub>ij</sub> : Galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
- i : 1, 2, 3, 4
- j : 1, 2, 3, 4

## 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

### Populasi Zoospora Fungi Anaerob Rumen Kerbau

Hasil pada Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi yang dilakukan maka semakin tinggi populasi zoospora di dalam media. Populasi zoospora tertinggi terjadi pada media yang diinkubasi selama lima hari yaitu 3.580 ± 0.046 log sel/mL media, lalu waktu inkubasi selama tiga hari (3.510 ± 0.026 log sel/mL) dan populasi zoospora terendah terjadi pada waktu inkubasi selama satu hari (3.057 ± 0.031 log sel/mL) dan nol hari (3.030 ± 0.048 log sel/mL).



Gambar 2 Pengaruh waktu inkubasi terhadap populasi zoospora fungi.

Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan hari ke-0 hingga hari pertama merupakan fase lag, hari pertama sampai hari ke tiga merupakan fase log dan hari ke-3 sampai hari ke-5 merupakan fase perlambatan (*deceleration phase*) karena pertumbuhan zoospora sudah mulai melambat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Teunissen *et al.* (1991) menyatakan bahwa fase lag pada fungi anaerob rumen terjadi pada waktu 6 – 38 jam waktu inkubasi sedangkan fase log pertumbuhan fungi bervariasi mulai dari waktu inkubasi 34 – 148 jam sedangkan menurut Phillips dan Gordon (1989) populasi fungi anaerob rumen meningkat dengan cepat pada waktu inkubasi 18 – 52 jam dan mencapai pertumbuhan maksimal pada waktu inkubasi 67 jam. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ho *et al.* (1996) bahwa fase lag fungi anaerob rumen adalah 0 – 24 jam dan pertumbuhannya akan mencapai maksimal pada waktu 72 jam. Waktu 0 – 24 jam merupakan fase lag fungi anaerob rumen karena fungi memerlukan waktu 24 jam untuk memproduksi zoospora yang motil. Orpin (1975) menyatakan bahwa awal siklus hidup fungi anaerob rumen di mulai ketika zoospora yang motil dilepaskan dari sporangium, setelah itu menurut Haitjema *et al.* (2014) zoospora akan bergerak mencari sumber substrat dan membentuk koloni. Menurut Bauchop (1989) koloni fungi dapat terbentuk dalam 15 menit setelah fungi menempel pada substrat lalu setelah 2 – 3 jam fungi akan membentuk rhizoid yang lebih besar lagi. Pertumbuhan rhizoid dan sporangium akan terus berkembang hingga 24 jam, lalu setelah itu sporangium akan mencapai ukuran maksimal dan pecah sehingga zoospora motil akan terlepas (Bauchop 1989).

Hasil pada Gambar 2 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan populasi zoospora yang signifikan dari hari pertama sampai hari ke-3. Fase ini dinamakan dengan fase log pada fungi anaerob rumen. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Theodorou *et al.* (1995) yang menunjukkan bahwa fase log atau fase eksponensial zoospora fungi anaerob dimulai dari 23 jam setelah waktu inkubasi. Tingginya populasi zoospora pada fase ini disebabkan karena setelah 24 jam sporangium matang akan melepaskan zoospora motil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Trinci *et al.* (1988) bahwa rata – rata setiap sporangium memproduksi 88 zoospora dan menurut Meletiadis *et al.* (2001) pada fase ini kandungan nutrisi di dalam media merupakan faktor yang sangat penting karena dibutuhkan untuk menunjang pertumbuhan zoospora fungi. Phillips dan Gordon (1989) menyatakan bahwa



setelah zoospora lepas dari sporangium, zoospora memerlukan sumber energi yang banyak untuk bergerak dan menunjang pertumbuhannya pada tahap berikutnya.

Hasil pada Gambar 2 juga menunjukkan bahwa setelah waktu inkubasi 72 jam kecepatan pertumbuhan zoospora mulai menurun. Menurut Stanbury *et al.* (2017) fase ini dinamakan dengan fase perlambatan (*deceleration phase*) karena pada fase ini ketersediaan nutrisi esensial terutama sumber energi di dalam media menurun. Selain itu, Stanbury *et al.* (2017) juga menyatakan bahwa pada fase ini terjadi akumulasi produk fermentasi yang bersifat toksik bagi mikroorganisme sehingga mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Teunissen *et al.* (1991) menyatakan bahwa produk akhir dari fungi anaerob adalah asam format, asetat, laktat, etanol dan hidrogen. Theodorou *et al.* (1988) menyatakan bahwa akumulasi produk asam format pada media dapat menghambat pertumbuhan dan pemanfaatan substrat oleh fungi anaerob rumen. Menurut Joblin dan Naylor (1993) selain format produk fermentasi yang sangat menghambat pertumbuhan adalah  $H_2$ . Hasil penelitian yang dilakukan oleh Joblin *et al.* (1993) menunjukkan bahwa keberadaan  $H_2$  menghambat 80% pertumbuhan fungi anaerob rumen. Gordon dan Phillips (1998) menyatakan bahwa konsentrasi  $H_2$  dilingkungan dapat mengganggu aliran  $H_2$  melalui hidrogenosom sehingga proses pembentukan energi di dalam sel akan terganggu. Menurut Li *et al.* (2016) hidrogenosom merupakan organel yang sangat penting bagi fungi anaerob karena organel ini berperan dalam metabolisme glukosa untuk menghasilkan energi di dalam sel tanpa memerlukan oksigen. Marvin-Sikkema *et al.* (1993) juga menyatakan bahwa konsentrasi  $H_2$  akan mengganggu proses reduksi NADP serta mengganggu aktivitas enzim NAD(P)H : ferredoksin oksidoreduktase.

### Nilai pH Media

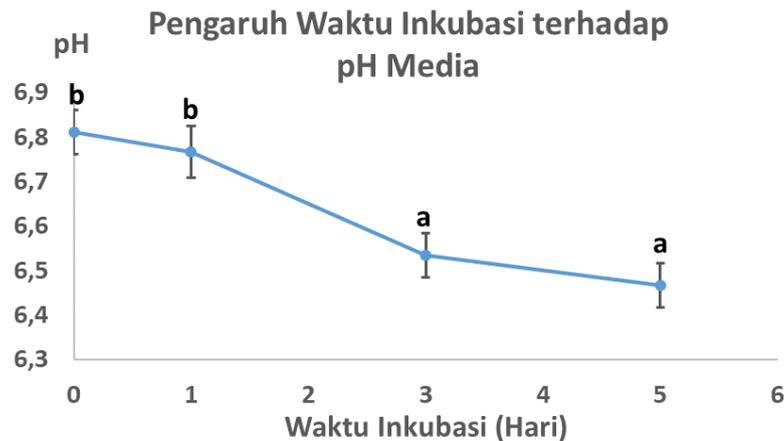
Pengaruh waktu inkubasi fungi anaerob terhadap pH media menunjukkan bahwa lamanya inkubasi nyata ( $P < 0.01$ ) menurunkan nilai pH media dimana semakin lama waktu inkubasi dilakukan maka nilai pH pada media akan semakin menurun (Gambar 3). Nilai pH terendah terjadi pada waktu inkubasi selama lima hari yaitu  $6.47 \pm 0.06$  lalu waktu inkubasi selama tiga hari ( $6.53 \pm 0.06$ ), waktu inkubasi satu hari ( $6.77 \pm 0.06$ ) dan nilai pH tertinggi pada kontrol (nol hari) yaitu ( $6.81 \pm 0.05$ ). Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak produk fermentasi yang terbentuk seperti asam organik sehingga berpengaruh terhadap pH. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Briggs *et al.* (1957) menunjukkan bahwa proporsi asam organik dalam suatu media berkorelasi negatif dengan nilai pH sehingga semakin tinggi asam organik pada suatu media maka pH media tersebut akan semakin rendah. Theodorou *et al.* (1988) dan Teunissen *et al.* (1991) menyatakan bahwa fungi anaerob menghasilkan asam format, asetat dan laktat yang dapat berpengaruh terhadap pH media. Briggs *et al.* (1957) juga mengatakan bahwa asam format, laktat dan asetat merupakan jenis asam organik sehingga menyebabkan penurunan pH pada media. Hasil pada Gambar 3 menunjukkan bahwa perubahan pH selama waktu inkubasi masih berada pada kisaran normal fungi dapat tumbuh karena menurut Lee *et al.* (2015) bahwa fungi anaerob rumen dapat tumbuh pada lingkungan dengan pH berada pada kisaran 6-7 dan populasinya akan cepat menurun apabila pH lingkungan berada diluar range tersebut.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

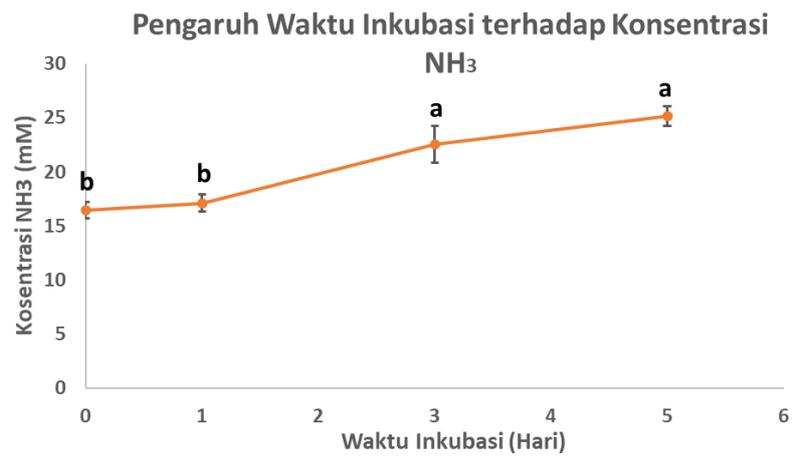


Gambar 3 Pengaruh waktu inkubasi terhadap nilai pH media.

Rendahnya penurunan pH pada media ini disebabkan karena produk fermentasi yang diproduksi oleh fungi anaerob lebih banyak asetat dibandingkan dengan laktat. Muchsiri *et al.* (2016) menyatakan bahwa asetat memiliki nilai konstanta lebih tinggi yaitu 4.78 pKa dibandingkan dengan asam laktat (3.89 pKa) sehingga asam asetat melepaskan ion  $H^+$  ke media lebih rendah dibandingkan dengan asam laktat. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Cheng *et al.* (2013) yang menunjukkan bahwa fungi anaerob rumen menghasilkan 204.2 ppm asam asetat dan menghasilkan 186.2 ppm asam laktat sebagai produk akhirnya. Gordon dan Phillips (1998) juga menyatakan bahwa pada umumnya fungi anaerob polysentri hanya menghasilkan laktat dalam jumlah sedikit, bahkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Ho *et al.* (1996) menunjukkan bahwa fungi anaerob jenis *Piromyces* yang diisolasi dari rumen tidak memproduksi asam laktat.

### Konsentrasi $NH_3$

Hasil yang disajikan pada Gambar 4 menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh nyata ( $P < 0.01$ ) meningkatkan konsentrasi  $NH_3$  yang diproduksi oleh fungi anaerob di dalam media. Kandungan  $NH_3$  terendah terjadi pada saat waktu inkubasi selama satu hari dan nol hari yaitu  $17.11 \pm 0.80$  mM dan  $16.47 \pm 0.75$  mM sedangkan konsentrasi  $NH_3$  tertinggi terjadi pada isolat fungi yang di inkubasi selama lima hari yaitu  $25.15 \pm 0.92$  mM dan diikuti oleh isolat fungi yang diinkubasi selama tiga hari yaitu  $22.55 \pm 1.69$  mM. Hal ini disebabkan karena tingginya perombakan protein sel bakteri mati menjadi amonia di dalam media. Menurut Ji *et al.* (2018) penambahan antibiotik pada media akan menghambat pertumbuhan bakteri rumen dan menyebabkan sel bakteri mati. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Dehority dan Tirabasso (2000) juga menunjukkan bahwa pada media yang mengandung antibiotik populasi bakteri rumen menurun drastis setelah 24 jam waktu inkubasi. Bakteri yang telah mati akan didegradasi oleh enzim protease yang diproduksi oleh fungi anaerob rumen dan menghasilkan amonia ( $NH_3$ ) (Hartinger *et al.* 2018). Grant *et al.* (1986) menyatakan bahwa fungi memiliki kemampuan untuk menggunakan sel bakteri yang telah mati sebagai sumber nutrisi.



Gambar 4 Pengaruh waktu inkubasi terhadap konsentrasi NH<sub>3</sub>.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wallace dan Joblin (1985) bahwa aktivitas protease fungi anaerob *Neocallimastix frontalis* strain PNK2 sangat tinggi peningkatannya dari hari pertama hingga hari ketiga dan mulai menurun kecepatan aktivitas proteasenya dari hari keempat hingga hari ke delapan. Hartinger *et al.* (2018) menyatakan bahwa fungi memberikan kontribusi terhadap jumlah NH<sub>3</sub> yang terbentuk karena fungi anaerob rumen memiliki enzim untuk memecah protein dan ikatan peptida. Lee *et al.* (2015) menyatakan bahwa fungi anaerob rumen dapat memproduksi enzim protease sehingga memiliki kemampuan untuk mendegradasi protein dan menghasilkan NH<sub>3</sub>. Hartinger *et al.* (2018) juga menyatakan bahwa fungi anaerob rumen jenis *Neocallimastix frontalis* yang diisolasi dari rumen domba memiliki aktivitas proteolitik ekstarseluler yang tinggi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Yanke *et al.* (1993) menunjukkan bahwa fungi anaerob rumen jenis *N. patriciarum*, *O. joyonii*, dan *P. communis* memiliki aktivitas proteolitik yang berbeda – beda yaitu 103 µg h<sup>-1</sup> mg protein<sup>-1</sup>, 208 µg h<sup>-1</sup> mg protein<sup>-1</sup>, dan 70.9 µg h<sup>-1</sup> mg protein<sup>-1</sup>. Wallace dan Joblin (1985) menyatakan bahwa protease ekstraseluler pada fungi anaerob rumen kemungkinan memiliki beberapa fungsi yaitu pertama menyediakan asam amino untuk pertumbuhannya, kedua untuk merubah aktivitas enzim lainnya seperti selulase, xylanase dan pektinase dan yang terakhir adalah untuk menghidrolisis protein struktural pada serat tanaman untuk pertumbuhan rizoid fungi.

### Proporsi VFA Parsial

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh nyata (P<0.01) meningkatkan jumlah VFA total dan proporsi asam asetat, namun waktu inkubasi juga nyata (P<0.01) menurunkan proporsi propionat dan butirir yang terkandung di dalam media. Penurunan proporsi propionat dan butirir disebabkan karena kenaikan produksi asetat di dalam media tanpa diikuti kenaikan produksi propionat dan butirir. Marvin-Sikkema *et al.* (1993) menyatakan bahwa fungi anaerob rumen tidak memiliki enzim untuk memproduksi propionat dan butirir. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Wallace dan Joblin (1985) bahwa fungi anaerob rumen memproduksi asam asetat sebagai produk fermentasi utama dan tidak memproduksi propionat dan butirir sebagai produk akhir fermentasinya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel 1 Pengaruh waktu inkubasi terhadap produksi total VFA dan proporsi VFA parsial.

Peubah	Waktu Inkubasi (Hari)				Sig.
	0	1	3	5	
Total VFA (mM)	46.42±1.84d	51.52±2.08c	86.15±2.64b	105.80±0.62a	0.000
Proporsi VFA (mM/100 mM)					
Asetat (C2)	26.86±0.81b	32.35±6.33b	57.31±0.57a	63.35 ± 2.46a	0.000
Propionat (C3)	48.01±3.15a	45.00±1.95a	27.08±0.62b	22.21±1.36c	0.000
Iso Butirat + Butirat (C4)	20.82±3.61b	18.52±3.80b	13.01±1.95a	11.59±2.07a	0.009
Iso Valerat + Valerat (C5)	4.31±1.00	4.13±1.95	2.85±1.07	2.59±0.76	0.313

Semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak asam asetat yang diproduksi. Kenaikan Proporsi asam asetat terjadi pada hari ke-5 yaitu 6.04 mM/100 mM VFA Total, lalu hari ke-3 24.96 mM/100 mM VFA Total dan hari pertama 5.49 mM/100 mM VFA Total. Rendahnya asam asetat yang dihasilkan pada hari ke-0 dan ke-1 disebabkan karena jumlah populasi fungi anaerob yang masih rendah. Lee *et al.* (2000) menyatakan bahwa aktivitas fermentasi karbohidrat dipengaruhi oleh populasi fungi di dalam media, semakin tinggi jumlah populasi maka semakin banyak produk fermentasi yang dihasilkan dan begitupun sebaliknya. Hasil pada Tabel 1 juga menunjukkan bahwa produk VFA utama yang dihasilkan oleh fungi anaerob rumen adalah asam asetat. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Gordon dan Phillips (1998) yang menyatakan bahwa produk akhir fermentasi yang paling banyak diproduksi oleh fungi anaerob adalah asam asetat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Marvin-Sikkema *et al.* (1993) menunjukkan bahwa 10 mM glukosa yang difermentasi oleh fungi anaerob rumen jenis *Neocallimastix* sp. strain L2 akan dirubah menjadi 6.9 mM asam asetat (69%). Marvin-Sikkema *et al.* (1990) menyatakan bahwa perombakan glukosa menjadi asetat akan menghasilkan ATP yang lebih banyak dibandingkan dengan laktat karena dalam proses perombakan menjadi asetat terdapat proses hidrogenase yang mereduksi piridine nukleotida dan menghasilkan ATP. Reeves *et al.* (1977) menyatakan bahwa piruvat akan dirubah terlebih dahulu menjadi Asetil KoA dan terakhir berubah menjadi asetat dimana setiap perombakan Asetil KoA menjadi asetat oleh enzim ASCT (*Acetate: Succinate CoA Transferase*) akan menghasilkan ATP.

Ha *et al.* (2011) menyatakan bahwa sumber karbohidrat di dalam media yaitu sellobiosa akan dirubah menjadi glukosa dengan menggunakan enzim  $\beta$ -glukosidase dan kemudian glukosa tersebut akan dirubah menjadi beberapa produk fermentasinya. Setelah itu, fungi anaerob rumen akan mengkatabolisme glukosa dengan melakukan proses glikolisis (Embden-Meyerhof-Parnas pathway) untuk menghasilkan phosphoenolpiruvat dan piruvat (Gordon dan Phillips 1998). Marvin-Sikkema (1993) menyatakan bahwa dalam pembentukan asam asetat terdapat 2 jalur yaitu melalui phosphoenolpiruvat (PEP) yang direduksi menjadi oksaloasetat atau melalui jalur PEP yang direduksi langsung menjadi piruvat. Jalur pembentukan pertama, phosphoenolpiruvat akan dirubah menjadi oksaloasetat dengan menggunakan enzim PEP karboksilase atau karbokinase (Marvin-Sikkema 1993). Setelah itu menurut (Yarlet *et al.* 1986) dan Marvin-Sikkema *et al.* (1993) oksaloasetat akan direduksi oleh enzim malat dehidrogenase menjadi malat dan setelah itu malat akan ditransport ke dalam hidrogenosom. Di dalam hidrogenosom malat akan didekarboksilasi oleh enzim malic yang kemudian piruvat tersebut akan

direduksi menjadi AsetilKoA dan pada akhirnya akan dibentuk menjadi asam asetat (O'Fallon *et al.* 1991; Hackstein *et al.* 2019). Marvin-Sikkema (1993) menyatakan bahwa reduksi piruvat menjadi Asetil-KoA di dalam hidrogenosom dilakukan oleh enzim Piruvat: Ferredoxin Oxireduktase (PFO). Enzim PFO akan mengkatalisasi proses dekarboksilasi piruvat membentuk asetil KoA dan karbon dioksida, dimana elektron yang hilang dari piruvat akan diterima oleh ferredoksin (Simpson dan Cepicka 2009).

Jalur pembentukan asetat yang kedua, PEP dirombak menjadi piruvat dengan menggunakan enzim piruvat kinase (Marvin-Sikkema *et al.* 1993). Setelah itu piruvat akan dirubah menjadi Asetil-KoA sama seperti dalam pembentukan asetat pada jalur pertama, namun enzim yang digunakan untuk mereduksinya berbeda yaitu enzim piruvat format lyase (Marvin-Sikkema *et al.* 1993). Asetil-KoA yang terbentuk ditransfer ke dalam hidrogenosom untuk direduksi menjadi asam asetat. (Yarlet *et al.* 1986; O'Fallon *et al.* 1991; Marvin-Sikkema *et al.* 1993). Tahapan terakhir dalam pembentukan asam asetat baik pada jalur pertama atau pada jalur kedua, Asetil-KoA akan direduksi menjadi asam asetat yang melibatkan enzim ASCT (*Acetate: Succinate CoA Transferase*) (Marvin-Sikkema *et al.* 1993).

### Morfologi Fungi Anaerob Rumen Kerbau

Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa setiap fungi yang berhasil diisolasi memiliki kecepatan tumbuh sangat lambat dengan koloni yang berwarna putih dan memiliki ukuran diameter yang berbeda – beda. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Joshi *et al.* (2018) fungi anaerob rumen memiliki kecepatan pertumbuhan yang sangat lambat yaitu lebih dari 15 hari.

Tabel 2 Hasil identifikasi morfologi fungi anaerob rumen kerbau.

Parameter	Isolat Fungi Anaerob Rumen				
	F1	F2	F3	F4	F5
Pertumbuhan	SL	SL	SL	SL	SL
Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
Diameter (mm)	2.63±0.75	2.02±1.32	2.57±0.92	10.91 ± 1.67	2.09±0.80
Keadaan Hifa	B & BG	ST	B & BG	SB & TBG	ST
Rhizoid	Endo & Ekso	Endo	Endo & Ekso	Ekso	Endo
Tipe rhizoid	Filamentous	Vegetatif	Filamentous	Filamentous	Vegetatif
Thallus	Monosentri	Monosentri	Monosentri	Monosentri	Monosentri
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Zoospora	(Globose)	(Globose)	(Globose)	(Globose)	(Globose)
Jumlah flagel	Monoflagel	Monoflagel	Monoflagel	Poliflagel	Monoflagel
Genus	<i>Piromyces</i>	<i>Caecomyces</i>	<i>Piromyces</i>	<i>Neocallimastix</i>	<i>Caecomyces</i>

SL = sangat lambat B = bercabang, SB = sangat bercabang, BG = bersegmen, TBG = tidak bersegmen, ST = sperikal tunggal

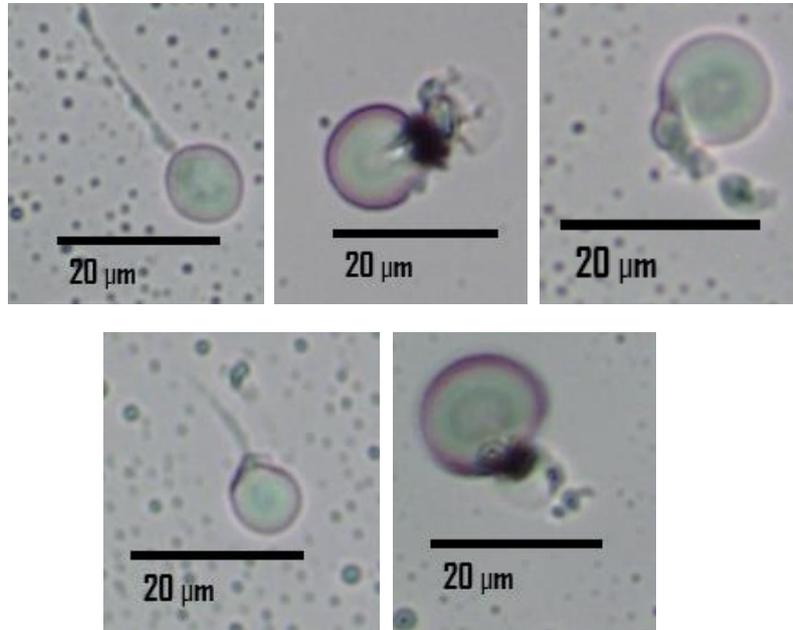
Hasil pengukuran diameter koloni menunjukkan bahwa setiap jenis fungi memiliki diameter yang berbeda – beda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Breton *et al.* (1991) bahwa fungi anaerob pada media agar akan membentuk koloni yang berwarna putih berbentuk sirkular dengan ukuran yang berbeda – beda. Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa jenis fungi yang memiliki diameter terbesar adalah *Neocallimastix* yaitu  $10.91 \pm 1.67$  mm lalu diikuti *Piromyces* ( $2.63 \pm 0.75$  dan

2.57±0.92 mm) dan terakhir *Caocomyces* yang memiliki diameter koloni terkecil yaitu 2.02±1.32 mm dan 2.09±0.80 mm. Hal ini disebabkan karena menurut Mountfort dan Orpin (1994) fungi anaerob jenis *Caecomyces* memiliki laju pertumbuhan yang lebih rendah dibandingkan dengan fungi jenis *Neocallimastix* dan *Piromyces*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Paul *et al.* (2011) menunjukkan bahwa fungi anaerob jenis *Neocallimastix* membentuk koloni dengan diameter yang besar pada media agar yang mengandung selobiosa yaitu 12 mm. Sedangkan sebaliknya hasil penelitian yang dilakukan oleh Paul *et al.* (2010) menunjukkan bahwa fungi anaerob jenis *Piromyces* hanya memiliki ukuran koloni dengan diameter yang kecil yaitu 2 mm. Mountfort dan Orpin (1994) menyatakan bahwa fungi anaerob rumen jenis *Piromyces* memiliki ukuran koloni yang lebih kecil dibandingkan dengan fungi anaerob jenis *Neocallimastix*. Hal ini disebabkan karena fungi anaerob jenis *Neocallimastix* memiliki ukuran zoospora dan sporangia yang lebih besar (Antasova-Pancevska dan Kungulovski 2008) dan rhizoid yang sangat bercabang sehingga menghasilkan ukuran koloni yang lebih besar dibandingkan dengan fungi jenis lainnya (Gordon dan Phillips 1998).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari lima jenis fungi yang terisolasi memiliki morfologi yang berbeda – beda (Tabel 2 dan Gambar 7). Perbedaan morfologi ini menunjukkan bahwa setiap genus fungi yang terisolasi berbeda. Fungi yang teridentifikasi dari rumen kerbau ada 3 jenis yaitu *Piromyces* (F1 dan F3), *Caecomyces* (F2 dan F5) dan *Neocallimastix* (F5). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Jin *et al.* (2011) bahwa fungi anaerob jenis *Piromyces* dapat diisolasi dari feses kerbau. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ho *et al.* (1995) juga menunjukkan bahwa *Neocallimastix*, *Piromyces* dan *Caecomyces* merupakan fungi yang diisolasi dari rumen kerbau. Berdasarkan hasil identifikasi pada Tabel 2 dan Gambar 7 (A,D). menunjukkan bahwa isolat fungi F1 dan F3 merupakan jenis fungi anaerob rumen dengan genus *Piromyces*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tripathi *et al.* (2007), Paul *et al.* (2010), Nagpal *et al.* (2011), dan Wang *et al.* (2017) bahwa *Piromyces* merupakan jenis fungi anaerob rumen yang memiliki thallus dengan satu pusat (monosentri) dan memiliki zoospora dengan 1 flagel (monoflagel). Barr *et al.* (1989) menyatakan bahwa *Piromyces* memiliki zoospora dengan bentuk globus hingga tidak beraturan dengan ukuran diameter yang berbeda – beda yaitu 4.5 µm hingga 9.5 µm, sedangkan menurut Breton *et al.* (1991) ukuran zoospora pada fungi jenis *Piromyces* berkisar dari 6.5 hingga 8.5 µm. Breton *et al.* (1991) menyatakan bahwa setelah 24 jam diinkubasi, fungi anaerob jenis *Piromyces* akan membentuk thallus dan sporangia yang berbentuk globular dengan ukuran sporangia berkisar dari 40 hingga 90 µm. Menurut Paul *et al.* (2010) *Piromyces* memiliki ukuran sporangia yang sangat bervariasi, dimana ukuran sporangia terkecil adalah 15 µm dan ukuran sporangia terbesar adalah 100 µm. *Piromyces* memiliki sporangium tunggal dengan rhizoid yang bercabang pada satu cabang utama selama tahap vegetatif (Paul *et al.* 2010). Morgavi *et al.* (1994) menyatakan bahwa perkembangan sporangia dari fungi *Piromyces* utamanya adalah perkembangan secara eksogen namun ada beberapa sporangia yang memiliki perkembangan endogen juga. Barr *et al.* (1989) menyatakan bahwa *Piromyces* merupakan fungi yang memiliki dua tahap perkembangan yaitu pada tahap pertama rhizoid akan berkembang secara endogen dan pada akhir perkembangan rhizoid akan berkembang secara eksogen karena



bagian tubular fungi akan keluar sebagai sporangiophore serta nukleus primer keluar dari zoospora.



Gambar 7 Morfologi fungi anaerob rumen kerbau 40x. (A,D) Zoospora fungi *Piromyces* (F1, F3). (B) Zoospora fungi *Neocallimastix* (F4). (C,E) sporangium *Caecomyces* (F2, F5).

Hasil pada Tabel 2, Gambar 7C dan Gambar 7E menunjukkan bahwa fungi anaerob F2 dan F5 memiliki morfologi yang berbeda dengan F1, F3 dan F4. Fungi anaerob F2 dan F5 merupakan jenis fungi dengan genus *Caecomyces*. Hal yang membedakan isolat fungi F2 dan F5 dengan jenis fungi lainnya adalah tipe rhizoid yang berbentuk bulat (bulbous). Hal ini sesuai dengan pernyataan Wang *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa *Caecomyces* merupakan genera fungi anaerob rumen yang memproduksi thalli yang terdiri dari sel vegetatif bulat (bulbous) dan sporangia. Hasil pada Tabel 2. juga menunjukkan bahwa isolat fungi F2 dan F5 memiliki zoospora dengan bentuk bulat (*Sperichal*) dan memiliki 1 flagel (monoflagel). Hal ini sesuai dengan pernyataan Wubah *et al.* (1991b) yang menyatakan bahwa *Caecomyces* merupakan fungi anaerob rumen yang memiliki zoospora berbentuk bulat hingga ovoid yang berdiameter 3.2 – 9.7 µm dengan satu flagel. Cheng *et al.* (2007) juga menyatakan bahwa *Caecomyces* memiliki zoospora berbentuk bulat dan ovoid dengan zoospora yang miliki 1 flagel dan berdiameter  $5.0 \pm 1.1$  µm. Cheng *et al.* (2007) menyatakan bahwa setelah zoospora menempel pada substrat, zoospora akan bersifat inaktif dan membentuk holdflas. Setelah itu, satu atau dua rhizoid yang berbentuk bulat (bulbous) akan meluas dari holdflas yang terbentuk dan berkembang menjadi vegetatif thallus dengan diameter rata – rata sporangia muda  $6.8 \pm 1.3$  µm, rhizoid  $7.7 \pm 1.4$  µm dan holdflash  $14.1 \pm 3.7$  µm (Chen *et al.* 2007). Wubah *et al.* (1991b) menyatakan bahwa setelah 10 jam dinkubasi *Caecomyces* akan memiliki sporangium yang berukuran 17.3 µm dan sel vegetatif yang berukuran lebih besar dari sporangium yaitu 36.8 µm.

Jenis fungi terakhir yang berhasil diisolasi dari rumen kerbau adalah isolat fungi F4. Hasil pada Tabel 2 dan Gambar 7B menunjukkan bahwa fungi F4 memiliki morfologi thallus monosentri, memiliki multiflagel pada zoospora yang berbentuk ovoid dan perkembangan myceliumnya berkembang secara ekstensif. Menurut Comlekcioglu *et al.* (2010) fungi yang memiliki perkembangan reproduksi secara monosentri, sporangia yang berukuran besar dengan ekstensif rhizomycelium dan memiliki multiflagel pada zoosporanya merupakan ciri dari fungi anaerob jenis *Neocallimastix* sp. Menurut Wubah *et al.* (1991a) menyatakan bahwa zoospora pada *Neocallimastix* memiliki 9 – 14 flagella, sedangkan menurut Dagar *et al.* (2015) menyatakan *Neocallimastix* merupakan jenis fungi anaerob rumen yang memiliki jumlah flagella yang sangat bervariasi yaitu 7 – 30 flagella. Wang *et al.* (2017) menyatakan bahwa *Neocallimastix* sp. memiliki zoospora berbentuk ovoid hingga globose dengan ukuran diameter zoospora berkisar dari 7 – 22  $\mu\text{m}$ . Hasil penelitian yang dilakukan oleh Antasova-Pancevska dan Kungulovski (2008) menunjukkan bahwa fungi anaerob jenis *Neocallimastix* memiliki zoospora yang lebih besar dibandingkan dengan fungi jenis *Piromyces* yaitu berukuran 8 - 25  $\mu\text{m}$ . Marvin-Sikkema *et al.* (1992) menyatakan bahwa *Neocallimastix* memproduksi koloni yang monosentri dan memiliki sporangium dengan rhizoid ekstensif. Gordon dan Phillips (1998) juga menyatakan bahwa *Neocallimastix* merupakan fungi anaerob yang memiliki perkembangan rhizoid eksogen yang sangat bercabang. Menurut Ho dan Barr (1995) *Neocallimastix* memiliki sporangia dengan bentuk elipsoidal, ovoid, globose dan bentuk yang tidak menentu dengan ukuran sporangia yang bervariasi dari 8.5  $\mu\text{m}$  hingga 170  $\mu\text{m}$ .

## 4 SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Waktu inkubasi fungi anaerob menurunkan nilai pH media, proporsi propionat dan proporsi butirat serta meningkatkan populasi zoospora, konsentrasi  $\text{NH}_3$ , proporsi asetat dan konsentrasi VFA total dengan waktu inkubasi optimal untuk fungi anaerob rumen kerbau adalah tiga hari (*log phase*). Fungi yang diisolasi dari cairan rumen kerbau merupakan genus *Piromyces* (F1 dan F3), *Caecomyces* (F2 dan F5) dan *Neocallimastix* (F4) dengan morfologi yang berbeda – beda.

### Saran

Perlu dilakukannya identifikasi molekuler untuk mengetahui spesies dari fungi anaerob rumen kerbau dan perlu dilakukannya pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* untuk mengevaluasi kemampuan fungi anaerob rumen sebagai kandidat probiotik untuk ternak ruminansia.



## DAFTAR PUSTAKA

- Antanasova-Pancevska N, Kungulovski D. 2008. Comparison on morphological and enzyme characteristics of anaerobic fungi isolated from *Cervus dama*. *Central European Journal of Biology* 3(1): 69-74. doi: <https://doi.org/10.2478/s11535-007-0046-6>.
- Astuti WD, Wiryawan KG, Wina E, Midyastuti Y, Suharti S, Ridwan R. 2018. Effect of selected *Lactobacillus plantarum* as probiotic on in vitro ruminal fermentation and microbial population. *Pakistan Journal of Nutrition* 17(3): 131-139. doi: <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2018.131.139>.
- Barr DJS, Kudo H, Jakober KD, Cheng KJ. 1989. Morphology and development of rumen fungi: *Neocallimastix* sp., *Piromyces communis* and *Orpinomyces bovis* gen. nov., sp. nov. *Canadian Journal of Botany* 67(9): 2815-2824. doi: <https://doi.org/10.1139/b89-361>.
- Bauchop T. 1989. Biology of gut anaerobic fungi. *Biosystems* 23(1): 53-64. doi: [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(89\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0303-2647(89)90008-7).
- Belanche A, Doreau M, Edwards JE, Moorby JM, Pinloche E, Newbold CJ. 2012. Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. *The Journal of Nutrition* 142(9): 1684-1692. doi: <https://doi.org/10.3945/jn.112.159574>.
- Bergman EN. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70(2): 567-590. doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.567>.
- Breton A, Dusser M, Gaillard-Martinie B, Guillot J, Millet L, Prensier G. 1991. *Piromyces rhizinflata* nov. sp., a strictly anaerobic fungus from faeces of the Saharian ass: a morphological, metabolic and ultrastructural study. *FEMS Microbiol. Letters* 66(1): 1-8. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1991.tb04830.x>.
- Briggs PK, Hogan JP, Reid RL. 1957. Effect of volatile fatty acids, lactic acid and ammonia on rumen pH in sheep. *Australian J. of Agric. Research* 8(6): 674-690. doi: <https://doi.org/10.1071/AR9570674>.
- Chen YC, Tsai SD, Cheng HL, Chien CY, Hu CY, Cheng TY. 2007. *Caecomyces sympodialis* sp. nov., a new rumen fungus isolated from *Bos Indicus*. *Mycologia* 99(1): 125-130. doi: <https://doi.org/10.3852/mycologia.99.1.125>.
- Cheng YF, Jin W, Mao, Zhu WY. 2013. Production of citrate by anaerobic fungi in the presence of co-culture methanogens as revealed by <sup>1</sup>H NMR spectrometry. *AJAS.* 26(10): 1416-1423. doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13134>.
- Comlekcioglu U, Ozkose E, Tutus A, Akyol I, Ekinci MS. 2010. Cloning and characterization of cellulose and xylanase coding genes from anaerobic fungus *Neocallimastix* sp. GMLF1. *Int. J. Agric. Biol.* 12(5): 691-696.
- Dagar SS, Kumar S, Griffith GW, Edwards JE, Callaghan TM, Singh R, Nagpal AK, Puniya AK. 2015. A new anaerobic fungus (*Oontomyces anksri* gen. nov., sp. nov.) from the digestive tract of the Indian camel (*Camelus dromedarius*). *Fungal Biology* 119(8): 731-737. doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.04.005>.

- Dehority BA, Tirabassa PA. 2000. Antibiosis between ruminal bacteria and ruminal fungi. *Appl. and Environment. Microbiol.* 66(7): 2921-2927. doi: <https://dx.doi.org/10.1128%2Faem.66.7.2921-2927.2000>.
- Ed-har AA, Widyastuti R, Djajakirana G. 2017. Isolasi dan identifikasi mikroba tanah pendegradasi selulosa dan pektin dari rhizosfer *aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah dan Lahan* 1(1): 58-64.
- Fliegerova K, Kaerger K, Kirk P, Voight K. 2015. Rumen fungi. Di dalam: Puniya A, Singh R, Kamra D. (eds) *Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution*. New Delhi (IN): Springer. pp. 97-122. doi: [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2401-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2401-3_7).
- Franzolin R, Dehority BA. 2010. The role of pH on the survival of rumen protozoa in steers. *R. Bras. Zootec.* 39(10): 2262-2267. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010001000023>.
- Fuller A. 1989. A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365-378.
- [GLP] General Laboratory Procedure. 1966. *Departemen of Dairy Science*. Madison (US): University of Wisconsin.
- Gordon GLR, Phillips MW. 1998. The role of anaerobic gut fungi in ruminants. *Nutrition Research Reviews* 11(1): 133-168. doi: <https://doi.org/10.1079/nrr19980009>.
- Grant WD, Rhodes LL, Prosser BA, Asher RA. 1986. Production of bacteriolytic enzymes and degradation of bacteria by filamentous fungi. *J. of General Microbiol.* 132(8): 2353-2358. doi: <https://doi.org/10.1099/00221287-132-8-2353>.
- Grenet E, Breton A, Barry P, Fonty G. 1989. Rumen anaerobic fungi and plant substrate colonization as affected by diet composition. *Animal Feed Science and Technology* 26(1-2): 55-70. doi: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(89\)90006-0](https://doi.org/10.1016/0377-8401(89)90006-0).
- Ha SJ, Galazka JM, Kim SR, Choi JH, Yang X, Seo JH, Glass NL, Cate JHD, Jin YS. 2011. Engineered *Saccharomyces cerevisiae* capable of simultaneous cellobiose and xylose fermentation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108(2): 504-509. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1010456108>.
- Hackstein JHP, Baker SE, Heelemond VJJ, Tielens AGM. 2019. Hydrogenosomes of Anaerobic Fungi: An Alternative Way to Adapt to Anaerobic Environments. Di dalam: Tachezy J. (eds) *Hydrogenosomes and Mitosomes: Mitochondria of Anaerobic Eukaryotes*. Microbiology Monographs, Vol 9. Switzerland (CH): Springer, Cham. pp. 159-175. doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-17941-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-17941-0_7).
- Haitjema CH, Solomon KV, Henske JK, Theodorou MK, O'Malley MA. 2014. Anaerobic gut fungi: advances in solution, culture, and cellulolytic enzyme discovery for biofuel production. *Biotechnol. and Bioengineering* 9999(XXX):1471-1481. doi: <https://doi.org/10.1002/bit.25264>.
- Hartinger T, Gresner N, Sudekum KH. 2018. Does intra-ruminal nitrogen recycling waste valuable resources ? A review of major players and their manipulation. *J. anim. Biotechnol.* 9(33): 1-21. doi: <https://dx.doi.org/10.1186%2Fs40104-018-0249-x>.



- Ho YW, Barr DJS. 1995. Classification of anaerobic gut fungi from herbivores with emphasis on rumen fungi from Malaysia. *Mycologia* 87(5): 655-677. doi: <https://doi.org/10.1080/00275514.1995.12026582>.
- Ho YW, Wong MVL, Abdullan N, Kudo H, Jalaludin S. 1996. Fermentation activities of some new species of anaerobic rumen fungi from Malaysia. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 42(1): 51-59. doi: <https://doi.org/10.2323/jgam.42.51>.
- Huhtanen CN, Naghski J. 1972. Effect of type of enrichment and duration of incubation on Salmonella recovery from meat-and-bone meal. *Appl. Microbiol.* 23(3): 578-585.
- Hungate RE. 1969. A roll-tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods Microbiol* 3B: 117-132.
- Li S, Jiang T, Yan H, Guo C, Liu J, Su H, Alugongo GM, Shi H, Wang Y, Cao Z, Li S. 2018. Ecological restoration of antibiotic-disturbed gastrointestinal microbiota in foregut and hindgut of cows. *Front Cell Infect Microbiol.* 13(8): 79-91. doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00079>.
- Jin W, Cheng YF, Mao SY, Zhu WY. 2011. Isolation of natural cultures of anaerobic fungi and indigenously associated methanogens from herbivores and their bioconversion of lignocellulosic materials to methane. *Bioresour. Technol.* 102(17): 7925-7931. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.026>.
- Joblin KN, Naylor GE. 1993. Inhibition of the rumen anaerobic fungus *Necallimastix frontalis* by fermentation products. *Letters in Appl. Microbiol.* 16(5): 254-256. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1993.tb01412.x>.
- Joblin KN. 1981. Isolation, enumeration, and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. *Appl. And Enviromental Microbiol.* 42(6): 1119-1122.
- Joshi A, Lanjekar VB, Dhakephalkar PK, Callaghan TM, Griffith GW, Dagar SS. 2018. *Liebetanzomyces polymorphus* gen. et sp. nov., a new anaerobic fungus (*Neocallimastigomycota*) isolated from the rumen of a goat. *MycoKeys* 40(1): 89-110. doi: <https://doi.org/10.3897/mycokeys.40.28337>.
- Kamagata Y. 2015. Keys to cultivating uncultured microbes: elaborate enrichment strategies and resuscitation of dormant cells. *Microbes Environ*, 30(4): 289-290. doi: <https://dx.doi.org/10.1264%2Fjsme2.ME3004rh>.
- Krisnan R, Haryanto B, Wiryawan KG. 2009. Pengaruh kombinasi penggunaan probiotik mikroba rumen dengan suplemen katalitik dalam pakan terhadap pencernaan dan karakteristik rumen domba. *JITV* 14(4): 262-269.
- Kristensen NB, Danfaer A, Tetens V, Agergaard N. 1996. Portal recovery of intraruminally infused short-chain fatty acids in sheep. *Animal Sci.* 46 (1): 26-38. doi: <https://doi.org/10.1080/09064709609410921>.
- Lado LJMCK, Aoetpah A. 2016. Kualitas gizi dan pencernaan bahan organik secara *in vitro* hay rumput untuk sapi antar pulau di Stasiun Karantina Tenau Kupang. *PARTNER* 2: 57-62.
- Lee SM, Guan LL, Eun JS, Kim CH, Lee SJ, Kim ET, Lee SS. 2015. The effect of anaerobic fungal inoculation on the fermentation characteristics of rice straw silages. *J. App. Microbiol.* 118 (3): 565-573. doi: <https://doi.org/10.1111/jam.12724>.
- Lee SS, Ha JK, Cheng KJ. 2000. Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Anim.*

*Feed Sci. Technol.* 88 (3): 201-217. doi: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(00\)00216-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00216-9).

- Li Y, Jin W, Cheng Y, Zhu W. 2016. Effect of the associated methanogen *Methanobrevibacter thaueri* on the dynamic profile of end and intermediate metabolites of anaerobic fungus *Piromyces* sp. F1. *Curr. Microbiol.* 73(3): 434-441. doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1078-9>.
- Lowe SE, Theodorou MK, Trinci APJ, Hespell RB. 1985. Growth of anaerobic rumen fungi on defined and semi-defined media lacking rumen fluid. *J. Gen Microbiol.* 131(9): 2225-2229. doi: <https://doi.org/10.1099/00221287-131-9-2225>.
- Marvin-Sikkema FD, Gomes TMP, Grivet JP, Gottschal JC, Prins RA. 1993. Characterization of hydrogenosomes and their role in glucose metabolism of *Neocallimastix* sp. L2. *Arcives of Microbiol.* 160(5): 388-396. doi: <https://doi.org/10.1007/bf00252226>.
- Marvin-Sikkema FD, Lahpor GA, Kraak MN, Gottschal JC, Prins RA. 1992. Characterization of anaerobic fungus from ilama faeces. *J. of General Microbiol.* 138(10): 2235-2241. doi: <https://doi.org/10.1099/00221287-138-10-2235>.
- Marvin-Sikkema FD, Richardson AJJ, Stewart CS, Gottschal JC, Prins RA. 1990. Influence of hydrogen-consuming bacteria on cellulose degradation by anaerobic fungi. *Appl. and Environ. Microbiol.* 56(12): 3793-3797.
- Meletiadis J, Meis JFGM, Mouton JW, Verweij PE. 2001. Analysis of growth characteristics of filamentous fungi in different nutrient media. *J. Clin. Microbiol.* 39(2): 478-484. doi: <https://dx.doi.org/10.1128%2FJCM.39.2.478-484.2001>.
- Morgavi DP, Sakurada M, Mizokami M, Tomita Y, Onodera R. 1994. Effects of ruminal protozoa on cellulose degradation and the growth of an anaerobic ruminal fungus, *Piromyces* sp. strain OTS1, in vitro. *Appl. and Environ. Microbiol.* 60(10): 3718-3723.
- Mountfort DO, Orpin CG. 1994. *Anaerobic Fungi: Biology, Ecology, and Function*. New York (USA): Marcel Dekker, Inc.
- Muchsiri M, Hamzah B, Wijaya A, Pambayun R. 2016. Pengaruh jenis dan konsentrasi asam terhadap cuko pempek. *AGRITECH* 36(4): 404-409. doi: <http://dx.doi.org/10.22146/agritech.16763>.
- Nagpal R, Puniya AK, Sehgal JP, Singh K. 2011. In vitro fibrolytic potential of anaerobic rumen fungi from ruminants and non-ruminants herbivores. *Mycoscience* 52: 31-38. doi: <https://doi.org/10.1007/s10267-010-0071-6>.
- O'Fallon JV, Wright RW, Calza RE. 1991. Glucose metabolic pathways in the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. *Biochem. J.* 274(2): 595-599. doi: <https://dx.doi.org/10.1042%2Fbj2740595>.
- Orpin CG. 1975. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. *Journal of General Microbiology* 94: 249-262.
- Pamungkas D, Anggraeny YN. 2006. Probiotik dalam pakan ternak ruminansia. *WARTAZOA* 16(2): 82-91.
- Paul SS, Deb SM, Punia BS, Singh D, Kumar R. 2010. Fibrolytic potential of anaerobic fungi (*Piromyces* sp.) isolated from wild cattle and blue bulls in pure culture and effect of their addition on *in vitro* fermentation of wheat



straw and methane emission by rumen fluid buffaloes. *J. Sci. Food Agric.* 90(7): 1218-1226. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3952>.

Paul SS, Deb SM, Punia BS, Singh G, Ashar MN, Kumar R. 2011. Effect of feeding isolates of anaerobic fungus *Neocallimastix* sp. CF 17 on growth rate and fibre digestion in buffalo calves. *Archives of Animal Nutrition* 65(3): 215-228. doi: <https://doi.org/10.1080/1745039X.2011.559722>.

Phillips MW, Gordon GLR. 1989. Growth characteristics on cellobiose an three different anaerobic fungi isolated from the Ovine rumen. *Appl. and Environment. Microbiol.* 55(7): 1695-1702.

Reeves RE, Warren LG, Susskind B, Lo H. 1977. An energy-conserving pyruvate-to-acetate pathway in *Entamoeba histolytica*. Pyruvate synthase and a new acetate thiokinase. *J. Biol. Chem.* 252(2): 726-731.

Russell JB. 1998. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production in vitro. *J. of Dairy Science* 81(12): 3222-3230. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75886-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75886-2).

Saenab A, Wiryawan KG, Retnani Y, Wina E. 2018. Manipulation of rumen fermentation by bioindustrial product of cashew nut shell (*Anacardium occidentale*) to reduce methane production. *JITV* 23(2): 61-70. doi: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v23i2.1821>.

Sanjaya Y, Nurhaeni H, Halima M. 2010. Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi jamur entomopatogen dari larva *Spodoptera litura* (Fabricius). *Bionatura-J. Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik* 12(3): 136-141.

Simpson AGB, Cepicka I. 2009. Amitochondriate protists (Diplomonads, parabasalids and oxymonads). Di dalam: Schaechter M. *Encyclopedia of Microbiology* (Third Edition). San Diego (USA): Academic Press. pp. 545-557. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00246-7>.

Stanbury P, Whitaker A, Hall SJ. 2017. Microbial growth kinetics. Di dalam: Convey M. *Principles of Fermentation Technology* 3<sup>rd</sup> Edition. Oxford (UK): Butterworth-Heinemann. pp. 21-74. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-099953-1.00002-8>.

Steel RGD, Torrie JH. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika (diterjemahkan dari: Principles and Procedures of Statistic, penerjemah: B. Sumantri). Jakarta (ID): Gramedia.

Tan Z, Murphy MR. 2004. Ammonia production, ammonia absorption, and urea recycling in ruminants. A review. *J. Anim. Feed Sci.* 13(3): 389-404. doi: <https://doi.org/10.22358/jafs/67425/2004>.

Teunissen MJ, Camp HJM, Orpin CG, Veld JH, Vogels GD. 1991. Comparison of growth characteristics of anaerobic fungi isolated from ruminant and non-ruminant herbivores during cultivation in a defined medium. *J. of General Microbiol.* 137 (6): 1401-1408. doi: <https://doi.org/10.1099/00221287-137-6-1401>.

Thalib AB, Haryanto H, Suherman D, Mulyani. 2001. Pengaruh kombinasi defaunator dan probiotik terhadap ekosistem rumen dan performan ternak domba. *JITV* 6: 83-88.

Thareja A, Puniya AK, Goel G, Nagpal R, Sehgal JP, Singh PK, Singh K. In vitro degradation of wheat straw by anaerobic fungi from small ruminants. *Archives of Anim. Nutrition* 60(5): 412-417. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/17450390600884443>.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Theodorou MK, Davies DR, Nielsen BB, Lawrence MIG, Trinci APJ. 1995. Determination of growth of anaerobic fungi on soluble and cellulosic substrates using a pressure transducer. *Microbiol.* 141(3): 671-678. doi: <https://doi.org/10.1099/13500872-141-3-671>.
- Theodorou MK, Lowe SE, Trinci APJ. 1988. The fermentative characteristics of anaerobic rumen fungi. *BioSystems* 21 (3-4): 371-376. doi: [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(88\)90035-4](https://doi.org/10.1016/0303-2647(88)90035-4).
- Trinci APJ, Lowe SE, Milne A, Theodorou MK. 1988. Growth and survival of rumen fungi. *BioSystems* 21 (3-4): 357-363. doi: [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(88\)90033-0](https://doi.org/10.1016/0303-2647(88)90033-0).
- Tripathi VK, Sehgal JP, Puniya AK, Singh K. 2007. Hydrolytic activities of anaerobic fungi from wild blue bull (*Boselaphus tragocamelus*). *Anaerobe* 13: 36-39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.11.001>.
- Wallace RJ, Joblin KN. 1985. Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus. *FEMS Microbiol Letters.* 29(1-2): 19-25. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1985.tb00828.x>.
- Wallace RJ, Munro CA. 1986. Influence of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* on the proteolytic activity of a defined mixture of rumen bacteria growing on a solid substrate. *Letters in Appl. Microbiol.* 3(2): 23-26. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1986.tb01539.x>.
- Wang X, Liu X, Groenewald JZ. 2017. Phylogeny of anaerobic fungi (phylum *Neocallimastigomycota*), with contributions from yak in China. *Antonie Van Leeuwenhoek* 110(1): 87-103. doi: <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs10482-016-0779-1>.
- Wood T, Catriona A, Sheila IW, McCrae, Joblin KN. 1986. A highly active extracellular cellulase from the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis*. *FEMS Microbiol. Letters* 34(1): 37-40. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01344.x>.
- Wubah DA, Fuller MS, Akin DE. 1991a. *Neocallimastix*: a comparative morphological study. *Canadian Journal of Botany* 69(4): 835-843. doi: <http://dx.doi.org/10.1139/b91-109>.
- Wubah DA, Fuller MS, Akin DE. 1991b. Studies on *Caecomyces communis*: morphology and development. *Mycologia* 83(3): 303-310. doi: 10.2307/3759990.
- Yanke LJ, Dong Y, McAllister TA, Bae HD, Cheng KJ. 1993. Comparison of amylolytic and proteolytic activities of ruminal fungi grown on cereal grains. *Canadian J. of Microb.* 39(8): 817-820. doi: <https://doi.org/10.1139/m93-121>.
- Yarlet N, Orpin CG, Munn EA, Yarlet NC, Greenwood. 1986. Hydrogenosomes in the rumen fungus *Neocallimastix patricium*. *Biochem. J.* 236(3): 729-739. doi: <https://doi.org/10.1042/bj2360729>.
- Youssef NH, Couger MB, Struchtemeyer CG, Liggenstoffer AS, Prade RA, Najjar FZ, Atiyeh HK, Wilkins MR, Elshashed MS. 2013. The genome of the anaerobic fungus *Orpinomyces* sp. Strain C1A reveals the unique evolutionary history of a remarkable plant biomass degrader. *Appl. Environ. Microbiol.* 79(15): 4620-4634. doi: <https://dx.doi.org/10.1128%2FAEM.00821-13>.

**@Hak cipta milik IPB University**

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## LAMPIRAN

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 17 Agustus 1995 di Bandung, Jawa Barat. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Dede Koswara dan Ibu Tati Kurnia. Penulis merupakan istri dari R. Hamdani, S.Pi yang merupakan alumni FPIK IPB dan menikah pada tanggal 22 Juli 2017. Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri 1 Nagrak pada tahun 2001-2007. Penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Lembang pada tahun 2007-2010 dan pendidikan lanjutan menengah atas di SMA Negeri 1 Lembang pada tahun 2010-2013. Penulis menempuh pendidikan sarjana pada Program Studi Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor pada tahun 2013 dan lulus pada Tahun 2017. Pada Tahun 2018 penulis diterima sebagai mahasiswa program magister (S-2) pada Program Studi Ilmu Nutrisi dan Pakan melalui program beasiswa Pendidikan Magister Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) *batch* IV.

Karya ilmiah yang telah ditulis oleh penulis| selama menempuh program Magister adalah jurnal yang berjudul “ The Importance of Rumen Anaerobic Fungi on Fiber Degradation in Ruminants: Review ” yang dimuat pada Jurnal Berita Biologi yang merupakan Jurnal Ilmiah Nasional Terakreditasi KemenristekDikti dengan **SINTA peringkat 2**.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.