PENGARUH PREHIDROLISIS ENZIMATIS DARI Phanerochaete crysosporium DAN PEMBERIAN INOKULAN Lactobacillus plantarum TERHADAP NILAI NUTRISI SILASE RUMPUT GAJAH

(The Effect of Enzymatic Prehydrolyzation from Phanerochaete crysosporium and Lactobacillus plantarum Addition on Nutritive Value of Elephant Grass Silage)

S. Wulandari.¹, R. Hidayat.², Suryahadi dan T. Toharmat³

¹ Jurusan Peternakan Politeknik Negeri Jember, Jember

² Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Bandung

³ Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor

ABSTRAK

Teknologi tepatguna dibutuhkan untuk mengawetkan hijauan yang produksinya melimpah pada musim penghujan, dan kemudian untuk digunakan pada musim kemarau. Proses ensilasi yang baik bisa dilakukan dengan menekan beragam aktivitas enzim endogen tanaman yang tidak diharapkan dan mikroba epifitik yang biasa ditemukan seperti L. plantarum. Phanerochaete crysosporium ditambahkan dalam upaya meningkatkan kecernaan nutrien yaitu untuk mendegradasikan lignin. Pengaruh pelayuan dievaluasi untuk menjelaskan peran kandungan air dalam hijauan segar, dan memungkinkan inokulan P. crysosporium untuk berproliferasi dan menghasilkan enzim. Penelitian ini terdiri atas 3 tahap : 1) preparasi inokulan, 2) pengaruh prehidrolisis rumput gajah dengan menggunakan enzim yang dihasilkan oleh P. crysosporium dan nilai nutrisinya, dan 3) pengaruh prehidrolisis rumput gajah dengan menggunakan P. crysosporium dan inokulasi L. plantarum terhadap kualitas silase rumput gajah. Hasil kajian menunjukkan bahwa: 1) prehidrolisis rumput gajah dewasa oleh P. crysosporium meningkatkan kecernaan bahan kering dan bahan organik silase rumput gajah secara in sacco. Dosis yang dibutuhkan untuk menghasilkan silase rumput gajah bermutu baik adalah 108 spore/kg rumput, 2) Ensilasi dengan penambahan L. plantarum tidak meningkatkan kualitas rumput gajah yang telah mengalami prehidrolisis, tetapi prosedur tersebut dapat diterapkan untuk pengawetan hijauan.

Kata kunci: Phanerochaete crysosporium, Lactobacillus plantarum, pelayuan, silase

ABSTRACT

To overcome the shortage of tropical forages in the dry season, it needs to develop an appropriate technology to preserve forages like ensilage. A good quality of silage is gained by suppressing the activities of various unexpected endogenous plant enzymes and epiphytic microbes commonly found in plant like *L. plantarum*. To increase the nutrient digestibility, *Phanerochaete crysosporium* was added to degrade lignin. The influence of wilting was examined to clarify the influence of water contents of the forage, and to allow *P. crysosporium* inoculant to proliferate and produce enzymes. The research was conducted in three stages: 1). Preparation of inoculants, 2). The influence of prehydrolyzation of Elephant grass using enzyme produced by *P. crysosporium* on its nutritive values and 3). The influence of prehydrolyzation of Elephant grass using enzyme produced by *P. crysosporium* and the inoculation of *L. plantarum* on the quality of Elephant grass silage. Results of the research indicated that: 1). Prehydrolysis of the old of Elephant grass by *P. crysosporium* increased in Saco digestibility of dry matter and organic matter. To meet these quality of grass, the dosage of 10⁸ spore/kg grass was applied.

2). The ensilage and the *L. plantarum* addition did not increase the quality of prehydrolyzed Elephant grass, but the procedure could be applied in the forage preservation.

Keywords: Phanerochaete crysosporium, Lactobacillus plantarum, wilting, silage

PENDAHULUAN

Silase adalah suatu teknologi pengawetan yang sangat dibutuhkan untuk mengatasi kekurangan hijauan pakan pada musim kemarau. Namun pengawetan hijauan disini tidak dapat mempertahankan kualitas bahkan akan menurunkan akan menurunkan kualitas nutrienn dan kecernaan pakan.

Penambahan Lactobacillus plantarum sebagai penghasil asam laktat diharapkan dapat mempercepat proses penurunan pH silase. Rendahnya pH akan meningkatkan kualitas dan daya simpan silase tersebut. Phanerochaete crvsosporium adalah kapang dari kelas Basidiomycetes. Kapang ini mempunyai kemampuan kuat merombak lignin secara efektif (Leisola dan Garcia, 1989), sehingga diharapkan dengan pemanfaatan bubuh aktif dari kapang tersebut akan dapat meningkatkan kecernaan silase rumput gajah. Kualitas silase ditentukan oleh perlakuan pelayuan, karena kondisi basah akan menghasilkan cairan silase yang banyak, sehingga nutrient tercerna banyak yang keluar bersama cairan yang keluar bersama cairan yang dihasilkan. Disamping itu pelayuan rumput gajah sebelum disilase, dapat memberikan kesempatan bagi inokulan P. crysosporium untuk dapat berkembang terlebih dahulu.

Tujuan penelitian ini adalah: I). Membuat inokulan yang mampu sebagai pengawet dan meningkatkan kecemaan serat serta nilai nutrisi rumput gajah: 2). Mengetahui sinergi kombinasi kapang P. crysosporium dan L. plantarum dalam pengawetan rumput gajah dan 3). Mengetahui pengarun perlakuan pelayuan terhadap kualitas silase, serta mengetahui interaksi antara dosis pemberian inokulan dengan pelayuan terhadap kualitas silase yang dihasilkan.

MATERI DAN METODE

Media tumbuh I

Media tumbuh yang digunakan untuk indukan *Phanerochaete crysosporium* adalah Potatos Dextro Agar (PDA). Indukan tersebut diinkubasikan selama tiga hari (pada suhu 30°C), kemudian dikembangkan pada media tumbuh 11

Media tumbuh II

Rumput gajah dicacah kemudian direndam dengan MnSO4 dengan dosis 1000 ppm selama semalam. Setelah itu dikeringkan dan digiling dengan diameter saringan 0,1 ml. Selanjutnya media ditempatkan dalam loyang, dilakukan sterilisasi dengan autoklaf (121°C selama 15 menit).

Tahap Pembuatan Inokulan Phanerochaete crysosporium

Media tumbuh II yang telah diautoklaf didinginkan, diinokulasi dengan *P.crysosporium* (konsentrasi 10⁷ spora/ml), selanjutnya diinkubasii selama 13 hari pada suhu kamar dalam kondisi aerob. Setelah waktu inkubasi dicapai, diperoleh produk inokulan yang akan dipergunakan untuk menginokulasi silase.

Tahap Percobaan I. Prehidrolisis Ensimatis Rumput Gajah oleh. P. crysosporium

Rumput gajah dipotong sekitar 5 cm. Setelah selesai dilakukan pemotongan, ditambahkan tetes sebanyak 3% (dicampur secara merata), kemudian diinokulasikan dengan *P. crysusporium* melalui pencampuran secara merata, dengan dosis sesuai perlakuan yaitu: 10⁷, 10⁸ dan 10⁹ spora/kg berat segar rumput gajah. Kemudian dilayukan dengan lama waktu 0, 2 dan 4 hari.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 4X3. Faktor A adalah dosis inokulan untuk *P. crysosporium*, terdiri dari 4 taraf yaitu: 0 (kontrol), 10⁷, 10⁸ dan 10⁹ spora/kg rumput segar. Faktor B adalah lama pelayuan atau lama kontak *P. crysosporium* dengan substrat sebelum ensilase. Selama pelayuan tersebut diharapkan terjadi proses prehidrolisis enzimatis. Adapun lama pelayuan terdiri dari tiga taraf: yaitu 0, 2 dan 4 hari. Peubah yang diukur kadar lignin (Metode Van Soest), Kecernaan Bahan Kering (KcBK) dan Kecernaan Bahan Organik (KcBO) secara *in sacco*.

Percobaan II. Pengaruh Prehidrolisis Enzimatis P. crysosporium dan Inokulasi L. plantarum terhadap Kualitas Silase Rumput Gajah

Pada percobaan II, proses prehidrolisis pada percobaan I dilanjutkan dengan proses ensilase, diperkuat dengan inokulasi *L. plantarum*. Dengan demikian diharapkan, selain rumput gajah meningkat mutunya melalui prehidrolisis juga dapat diawetkan dalam bentuk silase. Rancangan percobaan sama seperti pada percobaan I, namun diakhir prehidrolisis enzimatis dilanjutkan dengan proses ensilase.

Tabel 1. Kadar Lignin Rumput Gajah yang Difermentasi dengan P. crysosporium

Pelayuan	Dosis	(X 10 ⁶ spora /	kg Rumpu	<u> </u>	Rataan	
(Hari)	0	10		100	0001	
			%	<u> </u>		
0	15,56	11,55	16,63	13,57	13,92ª	
2	15,58	15,00	16,61	15,44	15,68ª	
4	22,23	16,93	16,76	13,84	17,44 ^a	
Rataan	17,79°	14,49°		6,76ª	14,28°	15,81

Huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan (p < 0.05)

Silase rumput gajah dibuat sebanyak satu kg setiap sample. Prosedur pembuatannya yaitu : rumput gajah yang telah mengalami prehidrolisis enzimatis dari kapang *P. crysosporium* dan telah dilayukan (Percobaan I) dimasukkan kedalam mini silo (stoples). Inokulan bakteri *L. plantarum* diberikan dengan cara disemprotkan secara berlapis-lapis sedikit demi sedikit pada saat hijauan dimasukkan dalam mini silo. Untuk mencapai kondisi anaerob dilakukan pemadatan, selanjutnya mini silo ditutup rapat dan dilakukan pemeraman selama 30 hari.

Peubah dan Prosedur pengukuran kualitas silase adalah: pengamatan umum kualitas fisik meliputi: warna bau, tekstur, cairan yang keluar dan pH. Pengukuran kualitas nutrisi meliputi: Bahan Kering (metode Weende), Lignin (Metode Van Soest), Uji Kecernaan (in sacco), asam laktat (Prosedur yang digunakan di Balitbio Bogor).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I. Prehidrolisis Enzimatis Rumput Gajah oeh P. crysosporium Lignin Rumput

Rataan kandungan lignin rumput gajah yang difermentasi dengan *P. crysosporium* disajikan dalam Tabel 1. Dari data tersebut menunjukkan bahwa pengaruh pemberian inokulan *P. crysosporium* (dosis 10⁷, 10⁸ dan 10⁹ spora/kg rumput segar) terhadap kadar lignin rumput gajah menunjukkan hasil yang tidak

berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa dengan lama pelayuan sampai empat hari dan dosis *P. crysosporium* sampai 10⁹ spora/kg rumput, belum cukup waktu bagi P. crysosporium untuk mendegradasi lignin.

Menurut Schlegel (1994) bahwa dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa, lignin dipecah sangat lamban. Lignin sangat sulit dirombak walau oleh mikroba rumen sekalipun, terutama pada pemecahan cincin aromatiknya (Orphin, 1984).

Dalam penelitian ini penambahan waktu pelayuan yang terlalu lama untuk memberikan kesempatan bagi *P. Crysosporium* dalam memproduksi lignase tidak dilakukan, karena disamping mempertimbangkan kualitas hijauan, juga terjadinya perombakan komponen bahan organik rumput yang terlalu besar tidak diharapkan.

Kecernaan Bahan Kering dan Kecernaan Bahan Organik Rumput Gajah

Berdasarkan analisis statistik ternyata ada interaksi yang nyata antara pelayuan dengan dosis inokulan yang diberikan. Terlihat bahwa pada pelayuan empat hari penggunaan inokulan sampai dosis 10⁷ spora/kg berat segar rumput gajah, tidak berpengaruh terhadap kecernaan rumput.

Pada dosis 10⁸ spora/kg berat segar rumput, baru memperlihatkan pengaruh yang signifikan, namun pemberian inokulan pada dosis yang lebih tinggi lagi memberikan hasil yang tidak nyata. Dengan kata lain bahwa perlakuan yang terbaik adalah pada pelayuan 4 (empat) hari

Tabel 2, Kecernaan bahan Kering (KCBK) Rumput Gajah yang difermentasi dengan P. crysosporium

Tabel 2. Recentiant banan Kering (KCBK) Kumput Gajan yang unermentasi dengan 7. Crysosportum								
Pelayuan	Dosis (X	10° spora/	kg Rum	iput)	Rataan			
(Hari)	0	10		100	1000			
_			%		_			
0	25,41bc	30,14 ^{ab}	18,63°	26,84 ^{bc}	25,25			
2	33,17 ^{ab}	31,86 ^{ab}	33,82ªb	$31,27^{ab}$	32.53			
4	26,14 ^{bc}	26,14 ^{bc}	$37,59^{a}$	31,06°c	30,23			
Rataan	28,24	29,38		30,01	29,72	29,34		

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan (p <0.05)

Tabel 3. Kecernaan Bahan Organik (KCBO) Rumput Gajah yang Difermentasi dengan P. crysosporium

Pelayuan	Dosis (X	10° spora/i	kg Rumput))	Rataan	
(Hari)	0		10	100	100	0
			%			
0	20,68 ^{bcd}	26,82 ^{abc}	15,54 ^d	23,47 ^{5cd}	21,63	
2	29.50^{abc}	29,98 ^{abc}	30,83ab	27,03 ^{abc}	29,33	
4	20,39 ^{cd}	22.27 ^{bcd}	32,14ª	24,79abc	24,90	
Rataan	23,52	26,3	6	26,17	25,10	25,29

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan (p <0,05)

signifikan, namun pemberian inokulan pada dosis yang lebih tinggi lagi memberikan hasil yang tidak nyata. Dengan kata lain bahwa perlakuan yang terbaik adalah pada pelayuan 4 (empat) hari dengan dosis pemberian inokulan sebesar 10⁸ spora/kg berat segar rumput.

selulosa tersebut menjadi water souble complex (senyawa komplek yang dapat larut dalam air) yang lebih mudah dicerna.

Hasil penelitian ini dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam pembuatan silase, bahwa rumput perlu dilayukan terlebih dahulu agar

Tabel 4. pH Silase dengan Perlakuan Lama Pelayuan dan Prehidrolisis Enzimatis P. crysosporium

yang Diperkuat dengan L. plantarum

Pelayuan _	Dosis (X	Dosis (X 10 ⁶ spora / kg Rumput)				
(Hari)	0	10	100		1000	
		%-				
0	4,26 ^{def}	4,32 ^{cde}	4,60 ^{abcd} 4,23 ^{def}	4,45 ^{abcde}	4,41	
2	4.14 ^{ef}	4,76 ^{ab}	4,23 ^{def}	3,86 ^f	4,25	
4	4,62 ^{abcd}	4.72abc	4,89 ^a	4,46abcde	4,67	
Rataan	4,34	4,60	4,57	4,	26	4,44

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan (p <0,05)

Tabel 5, Asam Laktat Silase dengan Perlakuan Lama Pelayuan dan Prehidrolisis Enzimatis

P. crysosporium yang Diperkuat dengan L. plantarum Dosis (X 10⁶ spora / kg Rumput) Rataan Pelayuan (Hari) 1000 10 0,22^{de} 0,33bcd 0,37abc 0 0,45 0,34 0,31^{bcd} 0,31^{bcd} 0,41ab 2 0.04^{f} 0.27 0.26^{cd} 0.27^{cd} 0.27^{cd} 0,15° 4 0.240.17 0.26 0,32 0,32 0,28 Rataan

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan (p <0.05)

Hasil pada Tabel I, bahwa tidak terjadi degradasi lignin namun terjadi perubahan KCBK dan KCBO, hal ini mengindikasikan bahwa dengan dilayukan selama 4 (empat) hari, P crysasparium (dosis 108 spora /kg berat segar rumput) tersebut dapat bekerja secara baik dengan memecah ikatan lignin kompleks, memisahkan lignin yang mengikat non selulosa karbohidrat. Menurut Peterson (1986) bahwa ada dua model degradasi lignin selain memecah lignin itu sendiri dengan cara mineralisasi, model lain adalah dengan melepas lignin yang mengikat karbohidrat non selulosa, dimana karbohidrat non

kapang *P.crysosporium* dapat bekerja secara efektif dalam memecah komponen dinding sel tanaman yang sulit dicerna oleh mikroba rumen sekalipun, dengan tidak adanya atau kompetisi dengan mikroba yang tidak diinginkan. Sedangkan dosis pemberian inokulan yang terbaik untuk fermentasi rumput gajah yang telah berbunga adalah sebesar 10⁸ spora /kg berat segar rumput.

Pengaruh Prehidrolisis Enzimatis P. crysosporium dan Inokulasi L. plantarum terhadap Kualitas Silase Rumput Gajah.

Tabel 6. Kadar Lignin Silase dengan Perlakuan Lama Pelayuan dan Prehidrolisis Enzimatis P.

crysosporium yang Diperkuat dengan L. plantarum

Pelayuan	Dosis (X 10 ⁶ spora/kg Rumput)				
(Hari) 	00	10	100	1000	Rataan
			(%)	<u>_</u>	
0	10,14	9,39	7,51	8,81	8,96 ^b
2	8,64	7,71	7,37	8,77	8,12 ^b
4	9,38	9,86	10,53	10,44	10,05
Rataan	9,39°	8,99ª	8.47a	9,348	9,05

Huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan (p<0,05)

Tabel 7. Kecernaan Bahan Kering Sitase dengan Perlakuan Lama Pelayuan dan Prehidrolisis Enzimatis P crysosporium vang Diperkuat dengan L. plantarum

Pelayuan		Rataan			
(Hari) 	0	10	100	1000	. Kataan
			(%)		
0	31,47	26,42	22.94	28,93	27,44ªt
2	29,29	27,76	26,93	30,88	28,72ª
4	22,78	23,46	25,61	24,83	24,17 ^b
Rataan	27,85°	25,88ª	25,16 ^a	28,21ª	26,77

Huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan (p<0,05)

oleh pengaruh positip dari penambahan L. Dari hasil penelitian nampak pula plantarum. bahwa pelayuan mempengaruhi silase. Menurut McDonald et al. (1991) bahwa pembuatan silase dengan kondisi yang sangat basah akan menghasilkan cairan silase yang cukup banyak.

pH dan Kadar Asam Laktat Silase

Nifai pH secara umum cukup baik, yaitu 4,4 (Tabel 4). Secara statistic nampak adanya interaksi antara perlakuan dosis inokulan crysosporium (yang dikombinasikan dengan bakteri asam laktat) dengan perlakuan pelayuan. Jika dihubungkan dengan kandungan asam laktat, nampak adanya variasi dari nilai pH, namun pada taraf tertentu rendahnya nilai pH dikarenakan tingginya kandungan asam laktat, seperti pada taraf dosis 109 spora/kg rumput dan pelayuan dua hari, didapatkan nilai pH terendah.

Kadar Lignin Silase

Rataan umum kadar lignin silase yang berasal dari rumput gajah yang mengalami prehidrolisis enzimatis P. crysosporium dan penambahan bakteni L. plantarum adalah sebesar 9,05% (Tabel 6). Jika dibandingkan dengan kadar lignin rumput gajah terfermentasi sebelum mengalami proses ensilase yaitu 15,81% (rataan umum) (Tabel 1), maka proses ensilase secara umum dapat menurunkan kadar lignin rumput gajah. Namun penambahan dosis inokulan tidak berpengaruh terhadap kadar lignin silase. Kadar lignin silase yang mendapat penambahan inokulan P. crysosporium dengan dosis sebesar 0, 10⁷, 10⁸ dan 10⁹ spora/kg berat segar rumput gajah tidak berbeda nyata, yaitu berturut-turut 9,39%; 8,99%; 8,47% dan 9,34%. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar lignin secara umum tidak disebabkan oleh aktivitas kapang, namun dimungkinkan oleh terlarutnya lignin (bersamasama dengan nutrien lain) dalam larutan asam yang dihasilkan selama proses ensilase. Menurut Woolford (1984) bahwa salah satu penyebab hilangnya komponen silase yaitu melalui cairan yang dihasilkan selama proses ensilase.

Kecernaan Bahan Kering (KcBK) dan Kecernaan Bahan Organik (KcBO) Silase

Nilai kecernaan silase yang dihasilkan diukur menggunakan teknik in sacco dengan lama inkubasi 24 jam. Pengaruh perlakuan terhadap kecernaan bahan kering dan bahan organik disajikan pada Tabel 7 dan Tabel 8.

Kecernaan Bahan Kering (KcBK) dan Kecernaan Bahan Organik (KcBO) Silase

Nilai kecernaan silase yang dihasilkan diukur menggunakan teknik in sacco dengan lama inkubasi 24 jam. Pengaruh perlakuan terhadap kecernaan bahan kering dan bahan organik disajikan pada Tabel 7 dan Tabel 8.

yang sebagian besar terdiri dari selulosa (Prawirokusumo, 1994).

KESIMPULAN

Pemberian biostarter Phanerochaete crysosporium pada rumput gajah yang

Tabel 8. Kecernaan Bahan Organik Silase dengan Perlakuan Lama Pelayua dan Prehidrolisis Enzimatis *P. crysosportum* yang Diperkuat dengan *L. plantarum*

Pelayuan		- Rataan			
(Нагі)	0	10	100	0001	- Kataan
			(%)		
0	27,61	23,07	18,02	24,99	23,42ª
2	23,69	22,27	21,78	25,88	23,40
4	15,55	15,86	19,27	18,70	17,34 ^b
Rataan	21,93*	19,35*	19,98"	21,19	20,61

Huruf yang berbeda pada kolom atau baris yang sama menunjukkan perbedaan (p<0,05)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian inokulan P. crysosporium belum mampu meningkatkan kecernaan bahan kering maupun bahan organik silase. Rataan umum KCBK dan KCBO silase adalah 26.77% dan 20.61%. Jika dibandingkan dengan KCBK dan KCBO rumput, yang mengalami prehidrolisis enzimatis tanpa dilanjutkan proses ensilase, maka nilai KCBK dan KCBO rumput lebih tinggi yaitu sebesar 29,34% dan 25,29% (Tabel 2 dan Tabel 3). Penambahan P. crysosporium akan efektif daya kerjanya jika diberikan langsung pada rumput dan tanpa dibuat silase (Tabel 1, 2 dan 3). Kondisi ini menunjukkan bahwa meskipun P. crysosporium hidup pada pH asam, namun tidak dapat tumbuh ataupun bekerja secara baik pada silase karena ketersediaan oksigen selama proses ensilase tidak mencukupi. Seperti pada kapang lainnya, Panerochaete pendegradasi lignin membutuhkan oksigen untuk melakukan respirasi yang menghasilkan C02 dan H20 (Nandika, 1986). Pelayuan selama empat hari pada suhu kamar, menghasilkan nilai kecernaan bahan kering dan bahan organik silase yang terendah, yaitu 24,17% dan 17,34% (KCBO). Hal (KCBK) dikarenakan pelayuan selama empat mempunyai kandungan lignin tertinggi secara persentase (Tabel 6). Lignin sebenarnya bukan karbohidrat, namun di dalam dinding sel biasanya berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa, sehingga mempengaruhi pencernaan dinding sel

- berumur tua dapat meningkatkan nilai nutrisi ditinjau dari kecernaan bahan kering dan bahan organik (KCBK dan KCBO). Dosis inokulan yang sesuai adalah 10⁸ spora/kg rumput dengan lama pelayuan empat hari.
- Lama pelayuan sampai empat hari dan pemberian biostarter dengan dosis P. crysosporium 10° spora/kg belum dapat mendegradasi lignin. Penambahan waktu pelayuan dan dosis biostarter tidak dilakukan, karena disamping mempertimbangkan kualitas hijauan, juga terjadinya perombakan komponen bahan organik yang terlalu besar tidak diharapkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bolsen K. K., Sapienza. 1993. Teknologi Silase. Penanaman, Pembuatan dan Pemberiannya pada Ternak. Alih Bahasa: Rini B. S. Martoyoeda. Pioneer Seeds.
- Leisola, M. S. A., S. Garcia. 1989. The Mechanism of Lignin Degradation. Finnish Sugar Co. Ltd. Research Centre. Kantvik. Finland.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalg. 1991. The Biochemestry of Silage. Chalcombe Publications, 13 Highwoods

- Paterson, A. 1986. Biodegradation of Lignin and Cellulosic Material. Expert Consultation on Biotechnology for Livestock Production and Health. Rome.
- Prawirokusumo, S. 1994. Ilmu Gizi Komparatif. BPFE. Yogyakarta.
- Schlegel, H. G. 1985. Allgemeine Mikrobiologyie
 6. Uberarbeitete Auflge. Institut fur Mikrobiologie der Universitat Gottingen. Georg Thieme Verlag. Rudigerstr. 14. D-7000 Stuttgart 30.
- Woolford, K. M. 1984. The Silage Fermentation. Marcel Dekker, Inc. New York.