

**JURNAL SAINS DAN TEKNOLOGI INDUSTRI PETERNAKAN**

**UJI KUALITATIF KEBERADAAN BAKTERI PATOGEN DAN TOTAL BAKTERI PADA BIOKONVERSI MANURE LAYER UNTUK BAHAN BAKU KONSENTRAT KAMBING**

**Farah Fadillah<sup>a</sup>, Sujatmiko<sup>b</sup>, Ramaiyulis<sup>c\*</sup>**

<sup>a</sup>Mahasiswa Program Studi Teknologi Produksi Ternak, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Lima Puluh Kota, Sumatera Barat, 26271.

<sup>b</sup>Dosen Program Studi Paramedik Veteriner, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Lima Puluh Kota, Sumatera Barat, 26271.

<sup>c</sup>Dosen Program Studi Teknologi Produksi Ternak, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Lima Puluh Kota, Sumatera Barat, 26271.

*Article history:*

Received: 11-07-2024

Revised: 21-08-2024

Accepted: 21-08-2024

Corresponding author:

Ramaiyulis

Program Studi Teknologi Produksi Ternak, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh

Email: ramaiyulis@gmail.com

**ABSTRAK:** *Manure layer* memiliki kandungan protein kasar yang tinggi, yang bermanfaat bagi mikroba rumen, namun penggunaannya terbatas oleh risiko kontaminasi patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total bakteri, keberadaan bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*, serta keberadaan telur cacing pada biokonversi *Manure layer* sebagai bahan baku konsentrat pakan kambing. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan: A) *Manure layer* + *T. viride* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml); B) *Manure layer* + *A. niger* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml); C) *Manure layer* + *T. viride* (2 ml) + *A. niger* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml); dan D) *Manure layer* + *A. niger* (2 ml) + *T. viride* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml). Parameter yang diamati meliputi kandungan bahan organik, total bakteri (TPC), uji kualitatif *Salmonella sp.*, uji kualitatif *Escherichia coli*, serta total telur cacing. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi kapang *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* berpengaruh signifikan terhadap bahan organik ( $P < 0,01$ ). Perlakuan B dengan kombinasi *A. niger* dan *S. cerevisiae* menghasilkan total bakteri tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Pada perlakuan ini, tidak ditemukan bakteri *Salmonella sp.*, namun *Escherichia coli* masih ada dalam jumlah kecil. Tidak ditemukan telur cacing pada biokonversi *Manure layer* di semua perlakuan..

Kata kunci: *Manure layer*, Biokonversi, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*.

**ABSTRACT:** *Manure layer* has a high crude protein content, which is beneficial for rumen microbes, but its use is limited by the risk of contamination by pathogens such as *Escherichia coli* and *Salmonella sp.* This study aims to determine the total number of bacteria, the presence of *Salmonella sp.* and *Escherichia coli*, as well as the presence of worm eggs in the bioconversion of *Manure layer* as raw material for goat feed concentrate. This research was design with Completely Randomized Design (CRD) with 4 treatments and 4 replications: A) *Manure layer* + *T. viride* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml); B) *Manure layer* + *A. niger* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml); C) *Manure layer* + *T. viride* (2 ml) + *A. niger* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml); and D) *Manure layer* + *A. niger* (2 ml) + *T. viride* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml). Parameters observed included organic matter content, total bacteria (TPC), *Salmonella sp.* qualitative test, *Escherichia coli* qualitative test, and total worm eggs. The results showed that inoculation of *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, and *Saccharomyces cerevisiae* had a significant effect on organic matter ( $P < 0.01$ ). Treatment B with a combination of *A. niger* and *S. cerevisiae* produced the highest total bacteria compared to other treatments. In this treatment, no *Salmonella sp.* Bacteria were found, but *Escherichia coli* was still present in small quantities. No worm eggs were found in the bioconversion *Manure layer* in all treatments.

Keywords: *Manure layer*, Bioconversion, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*.

## PENDAHULUAN

Penggunaan bahan pakan alternatif untuk mengatasi keterbatasan sumber pakan menjadi strategi penyediaan pakan. Limbah peternakan berupa *Manure layer* dari kandang *closed house* berpotensi digunakan karena relatif murni, tidak banyak dihindangi lalat, dan sistem pengelolaannya lebih baik dibandingkan dengan kandang terbuka. *Manure layer* tertampung pada tempat khusus (berupa ban berjalan) dan dikumpulkan dua kali sehari. *Manure layer* dapat menyebabkan dampak masalah kesehatan lingkungan, seperti meningkatnya polusi udara, air dan tanah serta penyebaran penyakit (Yanuartono *et al.*, 2018).

*Manure layer* mengandung nutrisi sisa pencernaan pakan ayam, berupa protein kasar 9,97%, lemak kasar 2,39%, BETN 27,96%, Ca 7,6%, P 1,97% dan serat kasar 30,63% (Helda dan Sabuna, 2012). *Manure layer* berpotensi digunakan sebagai bahan pakan ternak ruminansia karena kemampuan mikroba rumen dalam memanfaatkan senyawa amonia yang terkandung dalam *manure*. *Manure* unggas dapat menjadi sumber protein yang potensial dalam pakan ternak ruminansia (Unal *et al.*, 2015). Protein kasar dalam *manure*, berupa asam amino, amonia dan amida, dapat digunakan oleh mikroba rumen (protozoa, bakteri, dan jamur) sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan biomassa mikroba. Namun, penggunaan *manure* dibatasi oleh mikroba usus yang dikhawatirkan sebagai mikroba patogen, yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* yang berasal dari usus ayam.

Pemanfaatan nutrisi yang terkandung dalam *manure* ayam perlu pengolahan terlebih dahulu. *Manure* ayam yang baru diangkat dari kandang tidak tepat jika diberikan langsung sebagai bahan pakan ataupun campuran pakan. Pengolahan *Manure layer* dapat dilakukan dengan memanfaatkan teknologi fermentasi untuk merubah dari bentuk *manure* menjadi produk fermentasi atau disebut biokonversi. Biokonversi adalah proses penguraian limbah organik menjadi produk yang bermanfaat dan bernilai gizi tinggi dengan menggunakan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, kapang, dan larva serangga (Latif *et al.*, 2023). Selama proses fermentasi, mikroba fermentor mengubah senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana,

menghilangkan senyawa beracun, dan mengeliminasi mikroba usus yang berbahaya. Produk hasil biokonversi akan memiliki nilai nutrisi lebih tinggi dan palatabilitas lebih baik.

Pada penelitian ini, mikroba fermentor yang digunakan adalah kapang *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentasi dilakukan secara bertingkat, diawali dengan *A. niger* dan *T. viride* yang bertujuan menghasilkan gula reduksi, kemudian dilanjutkan dengan *S. cerevisiae* yang akan memanfaatkan gula reduksi tersebut untuk pertumbuhan yang optimal. Alasan menggunakan ketiga jenis kapang tersebut, dimana Ikhrimah, (2015) melaporkan adanya interaksi positif antara kapang *A. niger* dan *T. viride* dalam menghasilkan gula reduksi untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam proses fermentasi limbah pertanian.

Interaksi antar mikroba dijelaskan oleh Suryani & Taupiqurrahman, (2021) dalam tiga tipe, yaitu interaksi positif, negatif dan tidak berinteraksi. Penggunaan tiga jenis kapang, yaitu *A. niger*, *T. viride* dan *S. cerevisiae*, telah dilaporkan memiliki tipe interaksi positif atau saling menguatkan. Diharapkan, kekuatan ketiga kapang ini juga dapat berinteraksi negatif sehingga dapat mengeliminasi bakteri usus *E. coli* dan *Salmonella* serta keberadaan telur cacing, sehingga biokonversi *Manure layer* yang dihasilkan aman digunakan sebagai bahan pakan baku konsentrat kambing. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total bakteri, keberadaan bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*, serta keberadaan telur cacing pada biokonversi *Manure layer* sebagai bahan baku konsentrat pakan kambing.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk riset ini adalah *Manure layer* segar, alkohol 70%, aluminium foil, aquadest, *Buffered Peptone Water* (BPW) 0,1%, isolat *Aspergillus niger*, isolat *Saccharomyces cerevisiae*, isolat *Trichoderma viride*, kapas, kertas timbang, kertas label, larutan gula jenuh, media *Methylene Blue Agar* (EMB), media *Plate Count Agar* (PCA), media *Potatoes Dextrose Agar* (PDA), media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), NaOH, NaCl dan *tissue*.

Alat yang digunakan untuk riset ini adalah autoklaf, batang pengaduk, beaker *glass*, bunsen, *coloni counter*, cawan porselen, desikator, erlenmeyer, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, jarum ose, korek api, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, mortar dan pestle, nampan, neraca analitik, *object glass*, *cover glass*, oven, cawan petri, pipet tetes, rak tabung reaksi, sendok mikro, spidol penanda, spuit, tabung reaksi, tip mikropipet dan tanur.

#### Metode Riset

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Adapun perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut: A = *Manure layer* (10 gram) + *T. viride* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml), B = *Manure layer* (10 gram) + *A. niger* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml), C = *Manure layer* (10 gram) + *T. viride* (2 ml) + *A. niger* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml), D = *Manure layer* (10 gram) + *A. niger* (2 ml) + *T. viride* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml).

#### Peremajaan Isolat dan Persiapan *Manure layer*

Peremajaan isolat *A. niger* dan *T. viride* dilakukan dengan menginokulasi satu ose isolat ke dalam 5 ml media PDA miring. Isolat *S. cerevisiae* menggunakan media *Yeast Extract Peptone Dextrose* (YEPD). Semua isolat diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam dan siap digunakan sebagai stok isolat. *Manure layer* diperoleh dari kandang *closed house* PT. Talenggak Jaya Farm, Sungai Kamuyang, Kec. Luak, Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. *Manure* tersebut terkumpul selama 12 jam pada ban penampung yang terletak di bawah cage. *Manure layer* dibawa ke laboratorium dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60 °C hingga mencapai kadar air sekitar 13% dan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruang sebelum digunakan.

#### Penentuan Dosis Inokulasi

Pra penelitian ini, bertujuan untuk menentukan dosis yang tepat untuk menginokulasi *T. viride* dan *A. niger* ke dalam *Manure layer* sehingga kapang tersebut dapat tercampur merata tanpa kondisi yang terlalu basah atau terlalu kering. Prosedur yang dilakukan yaitu menimbang 10 g *manure*, lalu memasukkannya ke dalam empat bungkus

plastik (4 sampel). Sampel tersebut kemudian diinokulasikan dengan kapang dan aquades. Sampel diaduk dan diamati untuk menentukan kondisi yang tidak terlalu basah dan tidak terlalu kering (remah). Hasil pra penelitian menunjukkan bahwa sampel terbaik adalah yang diinokulasikan dengan 6 ml kapang.

#### Perlakuan Biokonversi *Manure layer*

Biokonversi *manure* dilakukan dengan memfermentasi 10 g *Manure layer* yang diinokulasi dengan kapang sesuai dengan perlakuan sebagai berikut:

A = *Manure layer* + *T. viride* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml)

B = *Manure layer* + *A. niger* (3 ml) + *S. cerevisiae* (3 ml)

C = *Manure layer* + *T. viride* (2 ml) + *A. niger* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml)

D = *Manure layer* + *A. niger* (2 ml) + *T. viride* (2 ml) + *S. cerevisiae* (2 ml)

Inokulasi dilakukan secara bertahap, dengan setiap mikroba ditumbuhkan selama 3 hari sebelum mikroba berikutnya ditambahkan. Semua perlakuan diinkubasi pada suhu 30°C. Kandungan nutrisi *Manure layer* yang digunakan untuk fermentasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan nutrisi *Manure layer*.

Jenis Nutrisi	Kandungan nutrisi (%)
Bahan kering	93,34
Protein kasar	12,78
Serat kasar	67,43
Lemak	0,95
Bahan organik	64,95

\*) Analisis Laboratorium Nutrisi dan Teknik Pakan Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh (2024).

#### Analisis Kandungan Bahan Organik

Kandungan bahan organik dari biokonversi *Manure layer* diuji dengan metode pembakaran menggunakan tanur sesuai metode AOAC (2000). Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 4 jam. Sampel tersebut kemudian dibakar dalam tanur pada suhu 400°C selama 5 jam. Setelah itu, sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kandungan bahan organik dihitung dengan rumus: Bahan Organik = 100% - Kadar Air (%) - Kadar Abu (%).

### Perhitungan Total Bakteri (*Total Plate Count*)

Media PCA (*Plate Count Agar*) sebanyak 17,5 g dilarutkan dalam 1000 ml aquades, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, dengan tekanan 1,5 bar selama 15 menit. Sebanyak 1 g sampel ditambahkan ke dalam 9 ml BPW 0,1% dan divorteks selama 1 menit dalam tabung reaksi steril (pengenceran 10-1). Selanjutnya, 1 ml suspensi dari pengenceran 10-1 dicampur dengan 9 ml BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10-2, dan proses ini diulangi hingga mencapai pengenceran 10-7. Pengenceran 10-7 dimasukkan ke dalam 3 cawan petri masing-masing sebanyak 1 ml, kemudian diaduk dan dibiarkan hingga mengeras sebelum diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Jumlah koloni yang terbentuk pada cawan petri dihitung setelah masa inkubasi berakhir (SNI : 2897-2008).

$$\text{Jumlah bakteri (CFU/ml)} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengencer}}$$

### Uji Kualitatif Bakteri *Escherichia coli*

Uji bakteri *Escherichia coli* dalam biokonversi *Manure layer* dilakukan mengikuti metode (SNI : 2897-2008). Sebanyak 17,5 g media EMBA dilarutkan dalam 1000 ml aquades, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 bar selama 15 menit. Sebanyak 1 g sampel ditambahkan ke dalam 9 ml larutan BPW 0,1% dalam erlenmeyer steril, lalu divorteks hingga homogen untuk menghasilkan pengenceran 10<sup>-1</sup>. Selanjutnya, 1 ml suspensi dari pengenceran 10<sup>-1</sup> dicampur dengan 9 ml larutan BPW 0,1% untuk membuat pengenceran 10<sup>-2</sup>, dan proses ini diulangi untuk mendapatkan pengenceran 10<sup>-3</sup>. Pengenceran 10<sup>-3</sup> dimasukkan ke dalam 3 cawan petri masing-masing sebanyak 1 ml, kemudian diaduk hingga merata dan dibiarkan mengeras sebelum diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Bakteri *Escherichia coli* pada media ini memperlihatkan koloni berbentuk bulat, berwarna hijau metalik, dengan pusat koloni yang berwarna hitam.

### Uji Bakteri *Salmonella sp*

Uji bakteri *Salmonella sp* dalam biokonversi *Manure layer* dilakukan mengikuti metode (SNI : 2897-2008). Uji ini terdiri dari dua tahap yaitu tahap pertama, 63,02 g media SSA dilarutkan dalam 1000 ml aquades, kemudian

dipanaskan di atas *hot plate stirrer*. Sebanyak 1 g sampel dicampur dengan 45 ml larutan BPW 0,1% dalam erlenmeyer dan vorteks selama 1 menit. Campuran ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Pada tahap kedua, sebanyak 1 ml larutan sampel diinokulasi ke dalam cawan petri dan dituangkan dengan media SSA.

### Pengujian Keberadaan Telur Cacing

Pengujian keberadaan telur cacing dalam biokonversi *manure* dilakukan mengikuti metode Shahid *et al.* (2012) melalui dua metode yaitu metode apung dan metode sedimentasi.

### Analisa Data

Data hasil penelitian bahan organik dan total bakteri dianalisis menggunakan sidik ragam sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perbedaan antar perlakuan diuji menggunakan DMRT pada taraf 5% (Steel dan Torrie, 1993). Data mengenai keberadaan bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, serta total dan keberadaan telur cacing disajikan secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan bahan organik Biokonversi *Manure layer*

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kandungan bahan organik biokonversi *Manure layer* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan kandungan bahan organik biokonversi *Manure layer* (%).

Perlakuan	Rataan kandungan bahan organik(%)
A	77,61 <sup>b</sup> ± 0,007
B	76,47 <sup>b</sup> ± 0,007
C	81,50 <sup>a</sup> ± 0,022
D	77,29 <sup>b</sup> ± 0,012
Nilai <i>Probability</i>	P<0,01
Standar error	0,01

Keterangan: Superskrip menunjukkan perbedaan nilai yang signifikan antar perlakuan (P<0,05); Perlakuan jenis inokulan A = *T. viride* + *S. cerevisiae*; B = *A. niger* + *S. cerevisiae*; C = *T. viride* + *A. niger* + *S. cerevisiae*; D = *A. niger* + *T. viride* + *S. cerevisiae*.

Berdasarkan Tabel 2, Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa inokulasi *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* berpengaruh signifikan (P<0,01) terhadap kandungan bahan organik biokonversi *Manure layer*. Kandungan bahan organik yang

dihasilkan dari biokonversi *Manure layer* berkisar antara 76,47-81,50%, dengan perlakuan C menunjukkan nilai yang lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan perlakuan lainnya.

Perbedaan dalam kandungan bahan organik menunjukkan bahwa inokulasi dengan kapang yang berbeda memberikan respon yang berbeda dalam memanfaatkan nutrisinya. Menurut Pangestu, (2005) laju degradasi bahan organik substrat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis kapang, jenis substrat, dan waktu inkubasi. Kandungan bahan organik yang tinggi pada perlakuan C disebabkan karena rendahnya degradasi bahan organik oleh kombinasi kapang *T. viride*, *A. niger*, dan *S. cerevisiae*. Akibatnya, unsur-unsur penyusun bahan organik substrat masih banyak tersisa. Akibatnya, unsur-unsur penyusun bahan organik substrat masih banyak tersisa. Hal ini berhubungan dengan total bakteri pada Tabel 3 yang menunjukkan bahwa perlakuan C memiliki total bakteri yang rendah. Akibat dari total bakteri yang rendah ini adalah berkurangnya aktivitas perombakan bahan organik pada perlakuan C. Bahan organik dirombak oleh mikroba menjadi sumber energi, menghasilkan CO<sub>2</sub> dan air (Ramachandran, 2008).

Perbedaan jumlah kandungan bahan organik di setiap perlakuan terjadi karena nutrisi yang tersedia telah dirombak dan dimanfaatkan oleh kapang. Pertumbuhan kapang erat kaitannya dengan lama fermentasi, semakin lama fermentasi, pertumbuhan kapang akan semakin optimal sesuai dengan ketersediaan nutrisi pada bahan. Menurut Usman *et al.* (2023) tinggi rendahnya kandungan bahan organik pada perlakuan dipengaruhi oleh aktivitas mikroba selama proses fermentasi. Aktivitas ini menyebabkan pemecahan substrat, yang pada akhirnya memudahkan mikroorganisme dalam mencerna bahan organik. Produk fermentasi bahan organik melepaskan gula, alkohol, dan asam amino, sehingga terjadi perubahan yang mempengaruhi nilai nutrisi hasil fermentasi.

#### Perhitungan Total Bakteri

Hasil penelitian *Total Plate Count* (TPC) pada biokonversi *Manure layer* dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3, Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa inokulasi *Aspergillus niger*,

Tabel 1. Rataan total bakteri biokonversi *Manure layer*.

Perlakuan	Rata-rata total bakteri (Log <sub>10</sub> CFU/ml)
A	2,69 <sup>b</sup> ± 0,21
B	3,04 <sup>a</sup> ± 0,11
C	2,62 <sup>b</sup> ± 0,20
D	2,64 <sup>b</sup> ± 0,09
Nilai Probability	0,03
Standar Error	0,05

Keterangan: Superskrip menunjukkan perbedaan nilai yang signifikan antar perlakuan ( $P < 0,05$ ); Perlakuan jenis inokulan A = *T. viride* + *S. cerevisiae*; B = *A. niger* + *S. cerevisiae*; C = *T. viride* + *A. niger* + *S. cerevisiae*; D = *A. niger* + *T. viride* + *S. cerevisiae*.

*Trichoderma viride*, dan *Saccharomyces cerevisiae* memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap total bakteri dalam biokonversi *Manure layer*. Rataan total bakteri pada biokonversi *Manure layer* berkisar antara 2,616-3,035 Log CFU/ml, dengan perlakuan B yang menggunakan inokulasi kapang *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan hasil total bakteri yang lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil ini menunjukkan bahwa kapang *A. niger* dan *S. cerevisiae* dapat bersimbiosis mutualisme yang saling menguntungkan dalam pertumbuhan populasinya. Menurut Khasanah *et al.* (2022) kombinasi *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* menciptakan kondisi yang kompatibel dalam proses fermentasi. Total bakteri menghasilkan peningkatan protein sel tunggal dalam biokonversi *Manure layer*. Perlakuan B dengan total bakteri tertinggi dapat memberikan kontribusi lebih besar dalam meningkatkan kandungan protein murni selama proses biokonversi (Fajar, 2024 *unpublish*).

Kapang *A. niger* mampu mensekresikan enzim karbohidratase yang dapat bekerja secara optimal dalam merombak karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana (gula reduksi) yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kapang (Nadia, 2024 *unpublish*). Gula sederhana yang dihasilkan kemudian dimanfaatkan oleh *S. cerevisiae* untuk pertumbuhan dan fermentasi yang menghasilkan etanol, CO<sub>2</sub>, dan asam organik, serta menciptakan lingkungan optimal untuk pertumbuhan kedua mikroba (Ramandhani *et al.*,

2018). Menurut Bahtiar *et al.* (2024) awal pertumbuhan khamir *S. cerevisiae* mencapai tahap stasioner saat menggunakan gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa. Namun, ketika jumlah gula sederhana menurun, tersisa gula polisakarida yang sulit dimanfaatkan oleh *S. cerevisiae*, mengganggu metabolisme sel. Akibatnya, pertumbuhan *S. cerevisiae* terhambat dan mengalami fase kematian sel.

Pertumbuhan kapang juga dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi, suhu dan pH substrat (Nurdianto *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, suhu dikontrol dengan inkubasi pada suhu stabil 30°C dalam inkubator dan pH 6,5. Ketersediaan nutrisi dalam *Manure layer* sebagai substrat fermentasi mengandung protein kasar 12,78%, Bahan organik 64,95%. Nutrisi ini menjadi media tumbuh yang cocok untuk pertumbuhan kapang *A niger* terdiri dari karbohidrat yang mudah tersedia (BETN), sumber nitrogen dan unsur mineral.

#### Pengaruh Perlakuan terhadap Keberadaan Bakteri *Salmonella sp.*

Berdasarkan hasil inokulasi sampel biokonversi *Manure layer* pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)*, didapatkan hasil keberadaan bakteri *Salmonella sp* sebanyak 37,5% dapat dilihat pada Tabel 4. Media SSA merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri gram negatif seperti *Salmonella sp* dan *E. coli*. (Supriatin dan Yuslina Thahir, 2017). *Salmonella sp* merupakan mikroba patogen penyebab foodborne diseases, sehingga keberadaannya perlu dieliminasi.

Tabel 2. Keberadaan bakteri *Salmonella sp* pada biokonversi *Manure layer*.

Sampel			
A1.1 (-)	A1.2 (+)	A1.3 (+)	A1.4 (+)
B2.1 (-)	B2.2 (-)	B2.3 (-)	B2.4 (-)
C3.1 (-)	C3.2 (-)	C3.3 (+)	C3.4 (+)
D4.1 (+)	D4.2 (-)	D4.3 (+)	D4.4 (-)

Keterangan: Perlakuan jenis inokulan A = *T. viride* + *S. cerevisiae*; B = *A. niger* + *S. cerevisiae*; C = *T. viride* + *A. niger* + *S. cerevisiae*; D = *A. niger* + *T. viride* + *S. cerevisiae*.

Berdasarkan Tabel 4, hasil uji *Salmonella sp* pada biokonversi *Manure layer* menunjukkan hasil positif pada perlakuan A, C, dan D, sedangkan perlakuan B menunjukkan hasil negatif. Perlakuan inokulasi *A. niger* + *S. cerevisiae* mampu mereduksi pertumbuhan

*Salmonella sp.* Reduksi *Salmonella sp* pada B diduga terjadi karena bakteri ini membutuhkan kondisi tertentu untuk tumbuh dengan baik. Proses fermentasi oleh *A. niger* menghasilkan enzim pengurai karbohidrat menjadi glukosa, yang menjadi sebagai sumber energi utama bagi pertumbuhan *S. cerevisiae*. *S. cerevisiae* kemudian berkompetisi dengan *Salmonella sp* untuk mendapatkan nutrisi. Variam Fas Sabion Bakara *et al.* (2014) menyatakan *Salmonella sp* adalah bakteri yang tidak dapat berkompetisi secara baik dengan bakteri-bakteri yang umum terdapat di dalam makanan.

Kombinasi metabolit dan aktivitas enzim dari kedua mikroorganisme ini dapat memberikan efek sinergis yang kuat dalam menghambat *Salmonella sp.* Kapang *A. niger* dengan enzim hidrolitiknya mampu merombak struktur bahan organik, sedangkan *S. cerevisiae* melalui fermentasinya dapat mengubah lingkungan kimia. Hal ini menciptakan kombinasi penghambatan yang efektif terhadap pertumbuhan *Salmonella sp.* Kombinasi dari kompetisi nutrisi, perubahan pH, dan produksi senyawa antimikroba oleh *A. niger* dan *S. cerevisiae* membuat mereka sangat efektif dalam mengurangi atau menghambat pertumbuhan *Salmonella sp.* Pendekatan ini sering digunakan dalam pengolahan makanan dan bioteknologi untuk memastikan keamanan mikrobiologis produk.

#### Pengaruh Perlakuan terhadap Keberadaan Bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil inokulasi sampel biokonversi *Manure layer* pada media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), diperoleh sebanyak 38% dari 16 sampel. Keberadaan hasil isolasi *Escherichia coli* yang ditampilkan pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil isolasi dari sampel biokonversi *Manure layer* pada media EMBA yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan A dan B terdapat masing-masing 1 sampel positif dan 3 sampel negatif mengandung bakteri *Escherichia coli*. Pada perlakuan C, terdapat 3 sampel positif dan 1 sampel negatif, sedangkan pada perlakuan D ditemukan 2 sampel positif dan 2 sampel negatif mengandung bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 3. Keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada biokonversi *Manure layer*.

Sampel	Replikasi			Keterangan
	1	2	3	
A1.1	-	-	-	Negatif (-)
A1.2	+	+	+	Positif (+)
A1.3	-	-	-	Negatif (-)
A1.4	+	-	-	Negatif (-)
B2.1	-	-	-	Negatif (-)
B2.2	-	-	-	Negatif (-)
B2.3	-	-	-	Negatif (-)
B2.4	+	+	-	Positif (+)
C3.1	+	+	+	Positif (+)
C3.2	+	+	+	Positif (+)
C3.3	-	-	-	Negatif (-)
C3.4	+	+	+	Positif (+)
D4.1	+	+	+	Positif (+)
D4.2	+	+	-	Positif (+)
D4.3	-	-	-	Negatif (-)
D4.4	-	-	-	Negatif (-)

Keterangan: Perlakuan jenis inokulan A = *T. viride* + *S. cerevisiae*; B = *A. niger* + *S. cerevisiae*; C = *T. viride* + *A. niger* + *S. cerevisiae*; D = *A. niger* + *T. viride* + *S. cerevisiae*.

Mikroflora normal seperti *Escherichia coli* harus dipertahankan dalam batasan normal karena berperan penting dalam mencerna makanan di saluran pencernaan. Keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada perlakuan B mengalami penurunan, diduga karena bakteri masih dalam tahap penyesuaian terhadap lingkungan akibat perubahan suhu dan pH pada substrat. Perubahan kondisi lingkungan ini mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri, sehingga bakteri yang tidak mampu beradaptasi dengan kondisi tersebut akan mati karena lingkungan yang tidak mendukung proses metabolisme mereka (Supriatin, 2008). Pada perlakuan C dan D, keberadaan bakteri *Escherichia coli* meningkat. Hal ini disebabkan oleh peningkatan kadar air pada perlakuan tersebut, yang mendukung pertumbuhan bakteri karena air merupakan media yang mendukung pertumbuhan bakteri. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa air merupakan komponen utama dalam sel mikroba dan medium. Air berfungsi sebagai sumber oksigen untuk bahan organik sel dalam respirasi, serta berperan sebagai pelarut dan alat transportasi dalam metabolisme (Moat, dkk 2002).

### Pengaruh Perlakuan terhadap Total Telur Cacing

Telur cacing merupakan jenis endoparasit yang sering ditemukan pada feses ayam petelur. Kandungan telur cacing pada feses ayam biasanya disebabkan oleh manajemen pemeliharaan yang buruk. Kondisi feses ayam yang lembab menjadi tempat berkembangbiaknya telur cacing. Kandungan telur cacing yang tinggi dapat menginfeksi ayam petelur dan akan menurunkan performa produksi ayam petelur. Produktivitas ayam petelur dapat ditingkatkan diantaranya dengan memperbaiki manajemen pemeliharaan, pakan, pencegahan dan penanggulangan penyakit (Budi Kusuma *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil pemeriksaan telur cacing pada *manure* yang belum diberi perlakuan, didapatkan hasil negatif. Setelah diberi perlakuan dan dilakukan pengecekan terhadap 16 sampel biokonversi *Manure layer* dengan menggunakan dua metode, yaitu metode apung dan metode sedimentasi, dinyatakan bahwa seluruh sampel negatif atau tidak terdeteksi adanya telur cacing. Hal ini disebabkan oleh sumber *Manure layer* yang berasal dari kandang *closed house*, pemberian obat cacing yang efektif, serta pemeliharaan yang baik. Pemeliharaan ayam petelur dengan sistem kandang *closed house* menciptakan kondisi lingkungan kandang yang dapat dikendalikan melalui pengaturan suhu, kelembaban, dan sanitasi yang terkontrol (Mappanganro *et al.*, 2019).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, disimpulkan bahwa inokulasi kapang *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* pada biokonversi *Manure layer* memiliki pengaruh signifikan terhadap bahan organik ( $P < 0,01$ ). Kombinasi terbaik diperoleh pada perlakuan B dengan inokulasi *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*, yang menghasilkan total bakteri tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada perlakuan ini, tidak ditemukan bakteri *Salmonella sp.*, namun masih terdapat bakteri *Escherichia coli* dalam jumlah yang relatif kecil. Telur cacing tidak ditemukan pada biokonversi *Manure layer* dalam semua perlakuan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti berterima kasih kepada Simbelmawa DIKTI Kemendikbud yang telah membiayai penelitian ini melalui skim Program Kreativitas Mahasiswa Riset Eksakta (RE) dengan nomor kontrak 088/SPK/D.D4/PPK.02.ATVP/VI/2023.

## DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2000. Official Method of Analysis Association of Official Analytical Chemist. Maryland.
- BSN. 2008. Metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. Badan Standarisasi Nasional, SNI 2897:2008, 36.
- Bahtiar, V. K., P. Patang, & I. Indrayani. 2024. The Effect of molasses concentration on the growth of yeast *saccharomyces cereviceae* in making single cell proteins the effect of the concentrate on of waste molasses on the growth of yeast *saccharomyces cereviceae* in the making of single cell proteins. *Formosa Journal of Applied Sciences*, 3(1), 337–352.  
<https://doi.org/10.55927/fjas.v3i1.7462>.
- Budi Kusuma, S., S. Nusantoro, A. Awaludin, Y. Junaidi, & T. Lusya Aulyani. 2021. Identifikasi Keragaman Jenis Parasit Cacing pada Ternak Ayam Kampung di Kabupaten Jember. *Jurnal Ilmu Peternakan Terapan*, 4(2), 71–77.  
<https://doi.org/10.25047/jipt.v4i2.2495>.
- Helda, & C. Sabuna. 2012. Goat and chicken fecal fermentation with lontar sap as chicken feed. *Partner*, 19(1), 112–120.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.35726/jp.v19i1.119>.
- Ikhriyah, L. 2015. Hidrolisis tandan kosong kelapa sawit oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* sebagai media tumbuh protein sel tunggal *Saccharomyces cereviceae*.
- Khasanah, H., D. C. Widianingrum, L. Purnamasari, A. Wafa, & S. G. Hwang. 2022. Evaluation of coffee bean husk fermented by a combination of *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum*, and *Saccharomyces cerevisiae* as animal feed. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 32(3), 416–426.  
<https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2022.032.03.13>.
- Latif, S., P. Ambar, & S. Heru. 2023. Biokonversi dan bioekonomi limbah kulit ikan: potensi teknologi pengolahan komersialisasi (L. Sahubawa, A. Agus, & U. I (ed.)). Gajah Mada University Press Anggota IKAPI dan APPTI.
- Mappanganro, R., J. Syam, & C. Ali. 2019. Tingkat penerapan biosekuriti pada peternakan ayam petelur di Kecamatan Panca Rijang Kabupaten Sidrap. dan Industri Peternakan (*Journal of Animal Husbandry Science and Industry*), 4(1), 60.  
<https://doi.org/10.24252/jiip.v4i1.9809>.
- Moat. *et al.* 2002. *Microbial Physiology*. New York: Jhon Willey & Sons Ltd
- Nurdianto, M., C. S. Utama, & S. Mukodiningsih. 2015. Total jamur, jenis kapang dan khamir pellet ayam kampung super dengan penambahan berbagai level pollard berprobiotik. *Jurnal Agripet*, 15(2), 79–84.  
<https://doi.org/10.17969/agripet.v15i2.2379>.
- Pangestu, E. 2005. Evaluasi serat dan fermentasi zink dalam ransum berbahan hasil samping industri pertanian pada ternak ruminansia Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor Disertasi.
- Ramachandran, S., P. Fontanille, A. Pandey, & C. Larroche. 2008. Fed-batch production of gluconic acid by terpene-treated *Aspergillus niger* spores. *Applied biochemistry and biotechnology*, 151, 413–423.
- Ramandhani, A., D. W. Harjanti, & A. Muktiyani. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak daun pepaya (*carica papaya linn*) dan kunyit (*curcuma domestica*) terhadap fermentabilitas rumen sapi perah secara in vitro. *Jurnal Ilmu-Ilmu peternakan*, 28(1), 73–83.  
<https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2018.028.01.08>.
- Shahid, S. Bin, A. Chowdhury, S. M. Shamsuzzaman, & K. Z. Mamun. 2012. Identification of hookworm species in stool by harada mori culture. *Bangladesh Journal*

- of Medical Microbiology, 4(2), 3–4.  
<https://doi.org/10.3329/bjmm.v4i2.10821>
- Steel, R. G. D., & Torrie. (1993). Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Supriatin, Yati. 2008. Kajian produksi biogas skala laboratorium dengan inokulum konsorsium alami metanogen dalam substrat bungkil jarak pagar (*Jatropha curcas* L). Tesis. Bioteknologi ITB.
- Supriatin, Y., & B. Yuslina Thahir. 2017. Analisis pertumbuhan *Salmonella typhi* dan shigella dysenteriae pada media *Salmonella Shigella* Agar (SSA) dengan penambahan tepung darah sapi. Jurnal Analisis Biologi Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih, 01(01), 21–27.
- Suryani, Y., & O. Taupiqurrahman. 2021. Mikrobiologi dasar. In LP2M UIN SGD Bandung. Wiley.
- Unal, H. B., Ö. H. Bayraktar, L. Alkan, & R. C. Akdeniz. 2015. Evaluation possibilities of chicken *manure* in Turkey. 2(154), 5–14.  
<https://doi.org/10.14654/ir.2015.154.116>
- Variam Fas Sabion Bakara, Ma'ruf Tafsir, & Hasnudi. 2014. Analisis bakteri *Salmonella sp.* pada daging ayam potong yang dipasarkan pada pasar tradisional dan pasar modern di Kota Medan. Jurnal Peternakan Integratif, 3(1), 71–83.  
<https://doi.org/10.32734/jpi.v3i1.2746>
- Yanuartono, A. Nururrozi, S. Inddarjulianto, N. Haribowo, H. Purnamaningsih, & S. Rahardjo. 2018. *Manure* unggas: suplemen pakan alternatif dan dampak terhadap lingkungan. Bioteknologi dan Biosains Indonesia, 5(2).