

KELAYAKAN MIKROBIOLOGI EKSTRAK PADAT LIMBAH SAYUR FERMENTASI YANG DISIMPAN DENGAN *CARRIER* BERBEDA DILIHAT DARI KANDUNGAN TOTAL *Coliform* DAN *Salmonella sp.*

Renata Dewiana Auliasari, Bambang Sulistiyanto* dan Sri Sumarsih

Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi email: bambangsulistiyanto@lecturer.undip.ac.id

Abstrak. Penelitian untuk mengkaji pengaruh penggunaan macam *carrier* selama penyimpanan EPLSF terhadap total *Coliform* dan *Salmonella sp.* dilakukan di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Ilmu Peternakan, Universitas Diponegoro. Penggunaan *carrier* onggok dan bungkil kedelai selama penyimpanan diharapkan mampu menjaga kualitas mikrobiologis EPLSF dan melindungi keberadaan BAL agar tetap hidup. Percobaan dilakukan dengan RAK pola faktorial. Faktor-faktor tersebut adalah macam ekstrak yaitu: (EPLSF-1 dan EPLSF-2), dan macam *carrier* yaitu: T0 (tanpa *carrier*), T1 (*carrier* onggok), T2 (*carrier* bungkil kedelai), T3 (*carrier* onggok + bungkil kedelai dalam rasio 7:4) dan T4 (*carrier* onggok + bungkil kedelai dalam rasio 4:7) dengan masing-masing 3 ulangan. Data dianalisis secara statistik dengan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh signifikan antara interaksi macam ekstrak dan macam *carrier* terhadap parameter yang diamati ($P>0,05$). Penggunaan macam *carrier* tidak mempengaruhi jumlah *Coliform* dari ekstrak padat limbah sayur fermentasi ($P>0,05$). Namun demikian secara nyata, bawang putih yang ada dalam macam ekstrak berpengaruh terhadap keberadaan bakteri *Coliform. Salmonella sp.* tidak terdeteksi dalam sampel setelah penyimpanan 4 minggu. Jumlah rata-rata bakteri *Coliform* dalam kategori kritis dari standar keamanan pangan, yaitu 10^5 CFU/g. Dapat dipahami bahwa tidak ada efek dari penggunaan macam *carrier* terhadap kandungan *Coliform* dan *Salmonella sp.* selama penyimpanan. Disimpulkan bahwa onggok dan bungkil kedelai aman digunakan sebagai *carrier* pada penyimpanan EPLSF.

Kata kunci: Ekstrak limbah sayur fermentasi, onggok, bungkil kedelai, *Coliform*, *Salmonella sp.*

Abstract. An experiment to evaluate the effect different types of carriers in the preservation of EPLSF to the number of *Coliform* and *Salmonella sp.* was conducted at the Laboratory of Feed Technology, Faculty of Animal Agriculture Sciences, Diponegoro University. The *carrier* of cassava meal and soybean meal during storage was expected able to maintain the microbiological quality of EPLSF and protecting the presence of LABs to stay alive. The experiment was conducted by factorial design. The factors were the type of extracts i.e: (EPLSF-1 dan EPLSF-2), and the carrier types i.e: T0 (without carrier), T1 (carrier cassava meal), T2 (carrier soybean meal), T3 (carrier cassava meal + soybean meal within ratio 7:4) and T4 (carrier cassava meal + soybean meal within ratio 4:7) with 3 replications each. Data were statistically analyzed with ANOVA. The results showed that there was no significant effect of the interaction between types of extract and carriers to the parameters observed ($P>0,05$). The carrier types did not significantly affect the amount of *Coliform* from the extracts fermented vegetables ($P>0,05$). However, the garlic which is added in the type of extract significantly affects the presence of *Coliform* and *Salmonella sp.* There was not *Salmonella sp.* detected in the sample after storing 4 weeks. The average number of *Coliform* bacteria is in the critical category of a food safety standard that is 10^5 CFU/g. It was understood that there was no effect of the different carrier on the content of *Coliform* and *Salmonella sp.* during storage. It could be concluded that cassava meal and soybean meal can be used as a carrier in EPLSF storage.

Keywords: Fermented vegetable waste extract, cassava meal, soybean meal, *Coliform*, *Salmonella sp.*

PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi penampilan produksi ternak. Penampilan produksi ternak dapat optimal apabila diberi pakan tambahan atau *feed additive*. *Feed additive* yang biasa digunakan untuk memacu dan mempercepat pertumbuhan, yaitu *Antibiotic Growth Promotor* (AGP). Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 14/PERMENTAN/PK.350/5/2017 tentang Klasifikasi Obat Hewan penggunaan AGP sejak tanggal 1 Januari 2018 telah dilarang, sehingga perlu upaya mencari pengganti AGP bebas antibiotik yang difokuskan pada bahan-bahan alami seperti probiotik, prebiotik, sinbiotik dan fitobiotik.

Ekstrak limbah sayur fermentasi (ELSF) berpotensi cukup baik sebagai probiotik, sebab mengandung bakteri asam laktat (BAL) dalam jumlah yang cukup. ELSF memenuhi standar sebagai probiotik karena mengandung BAL sebesar $10^6 - 10^9$ CFU/g dan aman digunakan. Upaya untuk mempertahankan kualitas EPLSF dapat dilakukan dengan penggunaan *carrier* dari onggok dan bungkil kedelai selama penyimpanan. *Carrier* berperan sebagai pelindung BAL karena mengandung serat pangan. Onggok memiliki kandungan karbohidrat kompleks polisakarida yang tinggi (Zhang *et al.*, 2016), sementara bungkil kedelai mengandung oligosakarida jenis *soybean oligosaccharides* (SBOs) yang dapat digunakan sebagai sumber prebiotik untuk BAL (Krismaputri *et al.*, 2016). *Carrier* memiliki pengaruh positif dan negatif, pengaruh positif *carrier* yaitu untuk melindungi kandungan BAL dalam bahan pakan, sedangkan pengaruh negatif *carrier* yaitu dapat menjadi pembawa bakteri patogen *Coliform* dan *Salmonella sp.* Penggunaan *carrier* diharapkan dapat menjaga kualitas EPLSF selama penyimpanan, melindungi keberadaan BAL untuk tetap hidup akibat dikendalikan dengan adanya alisin dari bawang putih, serta menghasilkan produk metabolit yang menyebabkan efek negatif dari *carrier* tidak muncul.

Penelitian dilakukan untuk mengetahui kelayakan produk selama penyimpanan dengan melihat parameter mikrobiologis, yaitu total cemaran bakteri *Coliform* dan *Salmonella sp.* Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji pengaruh penggunaan macam *carrier* pada penyimpanan EPLSF dalam penyimpanan terhadap total *Coliform* dan *Salmonella sp.*, sehingga dapat memberikan informasi tentang *carrier* yang baik untuk digunakan pada penyimpanan ekstrak padat limbah sayur fermentasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober – November 2019 di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Materi yang digunakan yaitu ekstrak padat limbah sayur fermentasi, onggok dan bungkil kedelai. Peralatan yang digunakan yaitu alat pencacah, aluminium foil, *beaker glass*, blender, botol susu, gelas ukur, *oven dryer*, pH meter digital, saringan, selang infus, timbangan analitik, tabung fermentasi, *thermometer* dan peralatan analisis mikroba (tabung reaksi, cawan petri, pipet ukur, bunsen, *spinball*, inkubator). Pembuatan EPLSF mengacu pada Sulistiyanto *et al.* (2019) yaitu 750 g limbah sayuran (60% kubis dan 40% sawi) dicampur dengan 22,5 g garam, 52,5 g molases dan macam ekstrak bawang putih EPLSF-1 (75 g) dan EPLSF-2 (150 g). Campuran dihomogenisasi kemudian dimasukkan ke dalam botol fermentor untuk dilakukan fermentasi anaerob selama 5 hari. Pemisahan bentuk padat ELSF dilakukan dengan pemerasan, bentuk padat ELSF diambil dan ditambah penggunaan *carrier*. Penggunaan macam *carrier* yaitu T0 (tanpa *carrier*), T1 (onggok, 7 g per 200 g), T2 (bungkil kedelai 7 g per 200 g), T3 (onggok dan bungkil kedelai 7 g per 200 g : 4 g per 200 g) dan T4 (onggok dan bungkil kedelai 4 g per 200 g : 7 g per 200 g) kemudian disimpan selama 4 minggu.

Tahap pengambilan data dilakukan dengan analisis mikrobiologis total *Coliform* dan *Salmonella sp.* Uji bakteri *Coliform* pada EPLSF dilakukan dengan 4 tabung reaksi steril disiapkan dan diberi tanda 10^{-1} – 10^{-4} pada masing-masing tabung. Secara aseptis masing-masing tabung diisi dengan 9 cc NaCl 0,85 steril, sampel EPLSF dihaluskan dan ditimbang seberat 1 g, kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi dengan label 10^{-1} dan dihomogenkan. Setelah homogen, ambil 1 cc dari tabung reaksi 10^{-1} , dimasukan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} dan dihomogenkan. Dari tabung 10^{-2} diambil 1 cc, kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi 10^{-3} dan dihomogenkan. Dari tabung 10^{-3} diambil 1 cc, kemudian dimasukan pada tabung reaksi 10^{-4} dan dihomogenkan. Disiapkan 5 media dan masing-masing diberi label tanda 10^{-1} – 10^{-4} dan blangko. Pada blangko dimasukan 0,1 cc NaCl 0,85 secara steril. Pada masing-masing pengenceran dari tabung reaksi diambil dan dimasukan 0,1 cc ke dalam cawan petri sesuai dengan label. *Chromocul Coliform Agar (CCA)* dengan suhu 40-42°C sebanyak \pm 15 cc ditambahkan dan dihomogenkan. Kemudian didiamkan sampai agar membeku. Inkubasi media dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada setiap pengenceran dengan mengikuti *Standard Plate Count (SPC)*. Uji *Salmonella* diawali dengan sampel EPLSF dihaluskan dan ditimbang seberat 1 g, kemudian dilarutkan ke dalam media BHIB sampai larut sempurna. Sampel diinokulasikan menggunakan jarum OSE yang sudah dilarutkan pada media MacConkey. Media *MacConkey* diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dalam inkubator. Koloni yang tumbuh pada

media kemudian diamati. Koloni *Salmonella* pada media MacConkey memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, tepi berlobang, berwarna putih, cembung dan konsistensi lunak. Koloni dengan ciri tersebut diambil dengan jarum OSE dan diinokulasikan pada media uji biokimia. Media uji biokimia diinkubasi selama 17 – 24 jam dalam inkubator. Hasil uji biokimia dibaca dengan menambahkan 5 tetes Kovack's pada media indol, *alfa naphthol* 5% dan KOH keratin 40% masing-masing 5 tetes pada media *Voges-Proskauer* (VP) dan 5 tetes reagen *Methyl Red* (MR) pada media MR. *Salmonella* dinyatakan positif apabila pada media uji indol tidak terbentuk cincin merah, motil terbentuk dan tumbuh menyebar di sekitar bekas tusukan, glukosa terbentuk warna kuning dan pada tabung Durham terbentuk gelembung udara, laktosa tetap merah, maltosa terbentuk warna kuning, manitol terbentuk warna kuning dan pada tabung Durham terbentuk gelembung udara, urea berwarna kuning dan MR terbentuk warna merah. Analisis data menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) pola faktorial 2×5 , faktor pertama macam EPLSF (EPLSF-1 dan EPLSF-2) dan faktor kedua macam *carrier* T0 (tanpa *carrier*), T1 (*carrier* onggok), T2 (*carrier* bungkil kedelai), T3 (*carrier* onggok dan bungkil kedelai rasio 7:4) dan T4 (*carrier* onggok dan bungkil kedelai rasio 4:7) dengan 3 ulangan. Analisis data menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5% dan membandingkan F hitung dengan F tabel untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Coliform

Kandungan bakteri *Coliform* ekstrak padat limbah sayur fermentasi pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi kandungan bakteri *Coliform* ekstrak padat limbah sayur fermentasi pasca penyimpanan

Macam Ekstrak	Macam <i>Carrier</i>					Rata-rata
	T0	T1	T2	T3	T4	
	----- (CFU/g) -----					
EPLSF-1	$0,6 \times 10^4$	$0,3 \times 10^4$	$1,246 \times 10^6$	$1,517 \times 10^6$	$2,856 \times 10^6$	$5,627 \times 10^{6a}$
EPLSF-2	0	0	0	0	0	0 ^a
Rata-rata	$0,3 \times 10^4$	$0,15 \times 10^4$	$0,623 \times 10^6$	$0,759 \times 10^6$	$1,428 \times 10^6$	$2,814 \times 10^6$

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$). T0 (tanpa *carrier*), T1 (*carrier* onggok), T2 (*carrier* bungkil kedelai), T3 (*carrier* onggok + bungkil kedelai rasio 7:4) dan T4 (*carrier* onggok + bungkil kedelai rasio 4:7).

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan antara interaksi macam ekstrak dan macam *carrier* terhadap parameter yang diamati ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa antara penggunaan macam ekstrak dengan penggunaan macam *carrier* tidak berpengaruh terhadap kandungan bakteri *Coliform* ekstrak padat limbah sayur fermentasi setelah penyimpanan 4 minggu.

Pada penggunaan EPLSF-1 rata-rata bakteri T0 sebesar $0,6 \times 10^4$ CFU/g, T1 sebesar $0,3 \times 10^4$ CFU/g, T2 sebesar $1,246 \times 10^6$ CFU/g, T3 sebesar $1,517 \times 10^6$ CFU/g dan T4 sebesar $5,627 \times 10^6$ CFU/g, sedangkan pada penggunaan EPLSF-2 tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Coliform* setelah penyimpanan. Demikian secara nyata ($P < 0,05$), bawang putih yang ada dalam macam ekstrak berpengaruh terhadap keberadaan bakteri *Coliform*. Mekala *et al.* (2013) menyatakan bahwa efek antibakteri dari ekstrak bawang putih efektif melawan bakteri *Coliform* (jenis *E. coli* dan *Klebsiella*), efek antibakteri terhadap bakteri *Coliform* semakin meningkat sesuai dengan jumlah bawang putih yang diberikan. Alisin mempengaruhi kandungan *Coliform* karena memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri patogen. Ghosh *et al.* (2010) menyatakan bahwa ekstrak bawang putih memiliki efek penghambatan yang signifikan terhadap *Coliform* seperti *E. Coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* dan *Klebsiella pneumonia*, namun keberadaan alisin tidak menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat.

Penggunaan macam *carrier* tidak mempengaruhi jumlah *Coliform* dari ekstrak padat limbah sayur fermentasi ($P > 0,05$). EPLSF berpotensi tercemar *Coliform* karena *carrier* dapat menjadi pembawa ataupun pencemar pada bahan pakan. Namun, keberadaan *carrier* juga dapat menjadi pelindung bagi bakteri asam laktat (BAL) karena mengandung serat pangan. Onggok mengandung karbohidrat tinggi jenis polisakarida sehingga mampu menurunkan populasi bakteri *Coliform* dalam pakan. Polisakarida dimanfaatkan sebagai substrat untuk pertumbuhan mikroba menguntungkan dengan menghasilkan asam organik. Osundahunsi *et al.* (2012) menyatakan bahwa keberadaan polisakarida dalam onggok mampu merangsang pertumbuhan bakteri jenis *Lactobacillus* dengan menghasilkan berbagai nutrisi untuk bertahan hidup seperti asam lemak rantai pendek (SCFA) yang mengakibatkan pertumbuhan bakteri patogen *E. Coli* dapat terhambat. Bungkil kedelai mengandung oligosakarida jenis *soybean oligosaccharides* (SBOs). Namun, penggunaan SBOs tidak mempengaruhi populasi bakteri *Coliform*. Hal tersebut menandakan jika keberadaan SBOs hanya menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri menguntungkan, sedangkan tidak untuk *Coliform*. Wongputtisin *et al.* (2015) menyatakan bahwa SBOs dapat merangsang pertumbuhan probiotik namun tidak dapat merangsang pertumbuhan bakteri patogen *E. Coli*, hal tersebut disebabkan probiotik dapat menghasilkan α -galactosidase untuk menghidrolisis α -galactoside seperti raffinose, stachyose dan verbascose, sementara di *E. Coli* tidak ada aktivitas α -galactosidase, sel-sel *E. Coli* tidak memiliki aktivitas α -galactosidase dan sistem pengiriman raffinose ke dalam sel, hal tersebut dimungkinkan menjadi alasan mengapa pertumbuhan *E. coli* tidak bisa distimulasi oleh SBOs. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak padat limbah sayur fermentasi yang disimpan dengan penggunaan

carrier belum cukup layak digunakan sebagai pakan ternak karena berada pada ambang batas aman yaitu pada kisaran 10^5 CFU/g. Wardana *et al.* (2016) menyatakan bahwa pakan yang berasal dari limbah pangan dengan kandungan total bakteri 10^5 CFU/g masih layak untuk dipertimbangkan namun negara Uni Eropa dan China merekomendasikan batasan kandungan *Coliform* pada pakan adalah $0-10^1$ CFU/g.

Kandungan *Salmonella sp.*

Kandungan bakteri *Salmonella sp.* ekstrak padat limbah sayur fermentasi pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 2. Hasil identifikasi kandungan *Salmonella sp.* ekstrak padat limbah sayur fermentasi menunjukkan hasil negatif.

Tabel 2. Identifikasi kandungan bakteri *Salmonella sp.* ekstrak padat limbah sayur fermentasi pasca penyimpanan

Macam Ekstrak	Macam <i>Carrier</i>				
	T0	T1	T2	T3	T4
	----- (CFU/g) -----				
EPLSF-1	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
EPLSF-2	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Keterangan: T0 (tanpa *carrier*), T1 (*carrier* onggok), T2 (*carrier* bungkil kedelai), T3 (*carrier* onggok + bungkil kedelai rasio 7:4) dan T4 (*carrier* onggok + bungkil kedelai rasio 4:7).

Pada ekstrak padat limbah sayur fermentasi dan *carrier* memiliki potensi tercemar *Salmonella sp.*, namun dalam penelitian ini terbukti aman karena tidak ditemukan adanya cemaran *Salmonella sp.* Kandungan alisin dari bawang putih yang ada dalam macam ekstrak mampu menekan populasi *Salmonella sp.* dan tidak mengganggu perkembangan bakteri asam laktat (BAL). Sulistiyanto *et al.* (2019) menyatakan bahwa kombinasi ekstrak limbah sayur fermentasi dan fitobiotik alisin dari bawang putih mampu memberikan efek sinergis probiotik dari BAL untuk tetap hidup, serta mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen dengan cara menghambat proses metabolisme dan pertumbuhan. Wiryawan *et al.* (2005) menyatakan bahwa bawang putih dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella typhimurium*, karena antibakteri alisin bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik).

Penggunaan macam *carrier* dari onggok dan bungkil kedelai selama penyimpanan 4 minggu menunjukkan hasil negatif. Kandungan serat pangan oligosakarida atau polisakarida pada *carrier* adalah jenis karbohidrat yang dapat dimanfaatkan oleh BAL sebagai sumber energi untuk menghasilkan asam laktat. Penurunan pH akibat produksi asam laktat mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella sp.* Hanna dan Ratnawati (2005) menyatakan bahwa *Salmonella typhi* tidak dapat hidup optimal pada suasana asam. Onggok mengandung polisakarida yang dapat digunakan sebagai sumber energi oleh bakteri asam laktat. Okrathok and Khempaka (2019)

menyatakan bahwa serat pangan dari onggok memberikan efek menguntungkan, karena menyebabkan peningkatan SCFA dan konsentrasi asam laktat sehingga suasana menjadi asam. Bungkil kedelai mampu bertindak sebagai prebiotik karena kandungan oligosakarida jenis *soybean oligosaccharides* (SBOs). Penambahan SBOs dalam pakan dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypimurium*. Kheravii *et al.* (2018) menyatakan bahwa selain meningkatkan bakteri menguntungkan, oligosakarida memiliki kemampuan untuk menghambat kolonisasi bakteri patogen terutama bakteri *Salmonella typhimurium*. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak padat limbah sayur fermentasi yang disimpan dengan penggunaan *carrier* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan *Salmonella sp.*, hal tersebut menunjukkan bahwa potensi pencemar yang dimiliki onggok maupun bungkil kedelai tidak muncul. Apabila dilihat dari standar keamanan pakan menurut SNI (2014) pakan yang aman adalah pakan bebas kandungan bakteri *Salmonella sp*, dengan demikian ekstrak padat limbah sayur fermentasi yang disimpan dengan penggunaan macam *carrier* aman digunakan sebagai pakan aditif ternak.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa onggok dan bungkil kedelai aman digunakan sebagai *carrier* pada penyimpanan EPLSF, dan kualitas EPLSF-2 pasca penyimpanan lebih baik dibanding EPLSF-1.

REFERENSI

- Ghosh, S., R. K. Mehla, S. K. Sirohi and B. Roy. 2009. The Effect of Dietary Garlic Supplementation on Body Weight Gain, Feed Intake, Feed Conversion Efficiency, Faecal Score, Faecal Coliform Count and Feeding Cost in Crossbred Dairy Calves. *Tropical Animal Health and Production*. 42 (5): 961-968.
- Hanna, E. Tyasrini dan H. Ratnawati. 2005. Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* *In Vitro*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 5 (1): 1-7.
- Kheravii, S. K., N. K. Morgan, R. A. Swick, M. Choct and S. B. Wu. 2018. Roles of Dietary Fibre and Ingredient Particle Size in Broiler Nutrition. *World's Poultry Science Journal*. 74 (02): 301-316.
- Krismaputri, M. E., N. Suthama dan Y. B. Pramono. 2016. Pemberian *Soybean Oligosaccharides* dari Ekstrak Bungkil dan Kulit Kedelai terhadap pH Usus, Populasi *E. Coli*, dan PBBH pada Broiler. *Jurnal Mediagro*. 12 (2): 20-25.
- Mekala, P., Senthilkumar, A. Jagadeeswaran and A. Arivuchelvan. 2013. Evaluation of In Vitro Antibacterial Effect of Garlic Against Poultry Pathogens. *Shanlax International Journal Veterinary Science*. 1 (1): 11-14.
- Okmathok, S. and S. Khempaka. 2019. Modified-Dietary Fiber from Cassava Pulp Reduces Abdominal Fat and Meat Cholesterol Contents Without Affecting Growth Performance of Broiler Chickens. *Journal Applied Poultry Research*. 29 (1): 229-239.

- Osundahunsi, O. F., A. O. Williams and I. B. Oluwalana. 2012. Prebiotic Effects of Cassava Fibre as an Ingredient in Cracker-Like Products. *Food Funct.* 3 (2): 159-163.
- SNI. 2014. Standar Nasional Indonesia 7991. Tepung hasil ikutan unggas (poultry byproduct meal) - Bahan pakan ternak. Jakarta (Indonesia): Badan Standardisasi Nasional.
- Sulistiyanto, B., S. Sumarsih dan I. Mangisah. 2019. Physic-Organoleptic Characteristics of Fermented Vegetable Juice in Different Level of Garlic. IOP Con. Ser.: Earth Environ. Sci. 292: 1 – 5. Semarang: 28 – 29 November 2018.
- Wardana, B. A., B. Sulistiyanto dan S. Sumarsih. 2016. Pengaruh Penambahan Zeolit pada Proses Pelletizing Limbah Penetasan terhadap Kandungan Coliform dan Salmonella Produk Pelet. *Jurnal Agripet.* 16 (1): 42-48.
- Wiryanan, K.G., S. Suharti dan M. Bintang. 2005. Kajian Antibakteri Temulawak, Jahe dan Bawang Putih terhadap *Salmonella typhimurium* serta Pengaruh Bawang Putih terhadap Performans dan Respons Imun Ayam Pedaging. *Jurnal Media Peternakan.* 28 (2): 52-62.
- Wongputtisin, P., R. Ramaraj, Y. Unpaprom, R. Kawaree and N. Pongtrakul. 2015. Raffinose Family Oligosaccharides in Seed of Glycine Maxcv. Chiang Mai60 and Potential Source of Prebiotic Substances. *International Journal of Food Science and Technology.* 50 (8): 1750-1756.
- Zhang, M., L. Xie, Z. Yin, S. K. Khanal and Q. Zhou. 2016. Biorefinery Approach for Cassava-Based Industrial Wastes: Current Status and Opportunities. *Bioresource Technology.* 215: 50-62.