ini diduga karena selama proses fermentasi bagasse tebu dengan EM-4, sel-sel mikroba yang terdapat di dalam EM-4 berkembang biak dengan baik dengan menggunakan sumber energi dari substrat itu sendiri, dalam perkembangannya sel-sel mikrobia tersebut merupakan unsur-unsur protein sehingga meningkatkan protein kasar dari bagasse tebu itu sendiri Dilaporkan juga[13], bahwa dalam proses pembuatan bokashi terjadi peningkatan protein kasar yang diakibatkan oleh terbentuknya protein sel tunggal pada saat setelah fermentasi.

Semakin banyak pertumbuhan bakteri maka sumbangan asam amino untuk pembentukan protein juga akan semakin meningkat yang berasal dari bakteri tersebut. Hal ini karena EM-4 dapat menyediakan molekul organik sederhana seperti asam amino dan memperbaiki bahan organik dari limbah[9]. Ditambahkan juga, bahwa selama proses fermentasi mikroba akan mengeluarkan enzim dimana enzim tersebut adalah protein dan mikroba itu sendiri juga merupakan sel tunggal[7].

Pemberian level EM-4 pada level 22,5 ml atau pada perlakuan E3 terjadi penurunan kandungan protein kasar apabila dibandingkan dengan perlakuan E2 namun penurunan pada E3 ini berbeda tidak nyata dengan E1. Hal Ini diduga karena pada level 22.5 ml level pemberian EM-4 sudah melewati batas level optimal. Hal ini disebabkan karena jumlah mikroba yang sudah mencukupi sehingga mikroba tidak mampu lagi untuk mendegradasikan protein kasar dengan optimal. Diungkapkan pula, bahwa penurunan protein kasar disebabkan oleh aktivitas proteolitik oleh jamur[14]. Mikrobia tersebut akan memfermentasikan protein pada bagasse tebu sehingga akan menurunkan protein kasar hasil fermentasi dengan hasil samping berupa karbondioksida dan ammonia. Degradasi protein kasar tersebut secara enzimatis oleh mikrobia menghasilkan asam amino yang secara cepat teroksidasi menghasilkan ammonia yang mudah menguap, sehingga menyebabkan penurunan protein kasar hasil fermentasi[15]. Kandungan BETN fermentasi bagasse tebu dengan menggunakan EM-4 di sajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan persentase kandungan BETN pada fermentasi bagasse tebu dengan menggunakan EM-4

Perlakuan	Kandungan BETN (%)
E0	48.143a
E1	48.193a
E2	52.676b
E3	49.207a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan berbeda nyata (P<0.05)

Berdasarkan hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa peningkatan level pemberian EM-4 memberikan pengaruh berbeda nyata (P<0.05) terhadap kandungan BETN hasil fermentasi bagasse tebu dengan menggunakan EM-4. Hasil yang diperoleh setelah dilakukan uji lanjut menunjukkan bahwa peningkatan level pemberian EM-4 memberikan pengaruh berbeda tidak nyata (P>0.05) terhadap kandungan BETN pada perlakuan E0, E1 dan E3, tetapi berbeda nyata (P<0.05) dengan perlakuan E2.

Penambahan EM-4 pada level 7,5 ml belum memberikan pengaruh terhadap perubahan kandungan BETN bagasse tebu terfermentasi meskipun dari Tabel.4 dapat kita lihat terjadi peningkatan BETN hal ini disebabkan karena kondisi dari BETN sangat dipengaruhi oleh kandungan dari serat kasar. Pada penggunaan EM-4 pada level 15 ml yaitu pada perlakuan E2 terjadi peningkatan kadar BETN yang berbeda nyata (P<0.05) terhadap ketiga perlakuan lainnya, ini semua berkaitan dengan penurunan kandungan serat kasar yang disebabkan karena terjadinya proses fermentasi yang di sebabkan oleh EM-4.