

VFA dan N-NH₃ Daun Gamal (*Gliricidia sepium*) pada Ransum Sapi Potong Secara *In Vitro*

Total VFA and N-NH₃ of *Gliricidia sepium* in Beef Cattle Feed *In Vitro*

Merryafinola Ifani, Efka Aris Rimbawanto*, Bambang Hartoyo, Agung Prastyo Nugroho

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman,

Jl. Dr. Soeparno, Kampus Karang Wangkal, Purwokerto 53123, Telp. (0281) 638792

*Email korespondensi: fk.aris.r@gmail.com

(Diterima 28-06-2020; disetujui 18-04-2021)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggantian konsentrat dengan daun gamal (*Gliricidia sepium*) terhadap produksi VFA total dan N-NH₃ secara *in vitro* dengan pakan basal jerami padi dengan rasio konsentrat dan jerami padi 60%:40%. Materi yang digunakan dalam percobaan *in vitro* adalah cairan rumen berasal dari tiga sapi potong di Rumah Potong Hewan Bantarwuni, Kecamatan Kembaran, Kabupaten Banyumas. Ransum yang diuji tersusun dari daun gamal berumur satu tahun dan dipanen umur 60 hari berasal dari Kebumen, jerami padi varietas Umbul-umbul, dan konsentrat. Ransum yang diuji adalah jerami padi dengan konsentrat yang digantikan daun gamal dengan taraf 0; 20; 40; 60% BK. Penelitian menggunakan metode eksperimen secara *in vitro* yang telah dimodifikasi. Variabel yang diukur adalah produksi VFA total dan nitrogen amonia (N-NH₃). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan daun gamal pada ransum ruminansia berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap produksi VFA total dan N-NH₃. Penggantian daun gamal sebanyak 40% BK pada ransum mampu menghasilkan produk VFA dan mengalami penurunan pada taraf penambahan 60% BK, sedangkan penggunaan daun gamal pada taraf 60% BK menghasilkan puncak produksi nitrogen amonia (N-NH₃).

Kata kunci: daun gamal, tanin, VFA total, N-NH₃

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of substituting feed concentrate with gamal leaves (*Gliricidia sepium*) in ruminant feed on total VFAs production and N-NH₃ *in vitro* with rice straw as basal feed with a concentrate and rice straw ratio of 60%:40%. The material used in the experiment was rumen fluid from three beef cattle in the Bantarwuni Animal Slaughterhouse, Kembaran District, Banyumas Regency. The feed was composed of one-year-old gamal leaves harvested at 60 days old from Kebumen, Umbul-umbul rice straw, and concentrates. The feed was rice straw with concentrates replaced by gamal leaves with increasing level of 0; 20; 40; 60% of DM. The study used an experimental design by modified *in vitro* method. The measured variables were the production of total VFAs and ammonia nitrogen (N-NH₃). The results showed that the addition of gamal leaves to the ruminant feed significantly affected ($P < 0.01$) total VFAs and N-NH₃ production. Replacement of gamal leaves by 40% DM on rations was able to produce VFAs and decreased at 60% DM level, while produces the peak production of ammonia nitrogen (N-NH₃).

Keywords: gamal leaves, tannins, total VFAs, N-NH₃



PENDAHULUAN

Bahan pakan yang biasa diberikan pada ternak ruminansia umumnya berupa hijauan, yang dapat ditambah konsentrat dengan protein 11-13%, Harga konsentrat yang tinggi sering tidak terjangkau oleh peternak berskala kecil. Peternak tradisional lebih cenderung memberi bahan pakan sumber protein yang berasal dari tanaman leguminosa. Daun gamal (*Gliricidia sepium*) adalah satu diantara tanaman leguminosa pohon yang sering digunakan oleh peternak untuk pakan ternak.

Gamal mampu tumbuh di tanah yang kering dan mampu bertahan pada musim kemarau, sehingga daun gamal memiliki potensi untuk dijadikan pakan ternak. Kandungan protein pada daun gamal mencapai 18,6% (Marhaeniyanto & Susanti, 2016), sehingga daun gamal dapat dijadikan sebagai sumber protein bagi ternak.

Penggantian konsentrat dengan daun gamal diharapkan mampu memenuhi kebutuhan protein mikroba rumen dan inangnya serta tidak mengganggu aktivitas mikroba rumen berdasarkan produk VFA total dan N-NH₃. Tolak ukur meningkatnya sintesis protein mikroba dapat dilihat dari produk fermentasi rumen yang dihasilkan, yaitu berupa N-NH₃ dan VFA total.

Daun gamal sebagai pengganti konsentrat memiliki kekurangan yaitu mengandung tanin yang cukup tinggi. Tanin yang terdapat dalam daun gamal dapat berupa tanin kondensasi yang berdampak positif dan tanin hidrolisis yang dapat menimbulkan dampak negatif. Tanin kondensasi berpotensi dalam melindungi protein dari degradasi mikroba di dalam rumen (Waghorn 2008) sehingga dapat meningkatkan jumlah ketersediaan protein untuk inang, sedangkan tanin hidrolisis dalam jumlah yang berlebih akan berpotensi untuk meracuni ternak. Total tanin pada daun gamal mencapai 4,296 mg/100 mgBK yang terdiri dari tanin terkondensasi 0,476 mg/100 mgBK dan tanin terhidrolisis 3,821 mg/100 mgBK (Yusiati et al. 2018). Penggantian konsentrat menggunakan daun gamal harus dibatasi karena kandungan tanin hidrolisis dapat menyebabkan ternak keracunan sehingga akan menghambat aktivitas mikroba.

Kapasitas tanin dalam mengikat protein mencapai 33,6 mg BSA/0,476 mg tanin (Yusiati et al. 2018). Pemberian daun gamal sebesar 60% diharapkan tidak mengganggu aktivitas mikroba rumen karena total tanin hanya sebesar 2,57 mg/100 mgBK (2,57%). Total tanin berefek negatif bila dalam ransum mencapai 10% BK

(Rimbawanto et al. 2015). Senyawa tanin yang terdapat dalam tanaman mampu berinteraksi dengan protein membentuk senyawa kompleks yang akan menghambat aktivitas mikroba rumen. Efek samping yang merugikan ini antara lain menurunkan produktivitas, kesehatan hingga dapat menyebabkan kematian pada ternak. Hal tersebut akan merugikan peternak, sehingga perlu dilakukan penelitian taraf pemberian daun gamal pada pakan ternak potong, sehingga peternak dapat mengetahui taraf optimal pemberian daun gamal guna mencegah timbulnya dampak negatif yang dapat menurunkan produktivitas ternak.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam percobaan *in vitro* ini adalah cairan rumen berasal dari tiga sapi potong yang segera diambil setelah pemotongan sapi yang dilakukan di Rumah Potong Hewan Bantaruni, Kecamatan Kembaran, Kabupaten Banyumas. Ransum yang diuji tersusun dari daun gamal berumur satu tahun dan dipanen umur 60 hari berasal dari Kebumen yang ditanam pada tanah berpasir, jerami padi varietas Umbul-umbul dan konsentrat. Ransum yang diuji adalah jerami padi dengan konsentrat rasio 40:60 yang digantikan daun gamal dengan taraf 0; 20; 40; 60% BK.

Alat yang digunakan dalam penelitian penelitian *in vitro* untuk proses fermentasi adalah tabung reaksi, *shaker water batch*, termos, dan pipet ukur. Peralatan yang digunakan untuk pengukuran VFA total adalah destilasi uap, *Erlenmeyer*, pipet ukur, seperangkat alat titrasi dan untuk pengukuran N-NH₃ menggunakan alat cawan Conway, gelas ukur, seperangkat alat titrasi dan pipet ukur. Bahan yang digunakan untuk percobaan *in vitro* yaitu larutan McDougalls, gas CO₂, dan HgCl₂; untuk VFA total membutuhkan aquades, NaOH, H₂SO₄ 0,01 N, indikator phenolphthalein (PP), supernatan; bahan untuk pengukuran N-NH₃ adalah asam borat, Na₂CO₃ jenuh dan HCl 0,5 N.

Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimental, percobaan dilakukan secara *in vitro* menurut Tilley & Terry, (1963) yang telah di modifikasi oleh Sutardi (1979). Peubah respon yang diamati dan diukur dalam penelitian ini adalah produk fermentasi rumen berupa VFA total dan N-NH₃ secara *in vitro*. Rancangan percobaan yang digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap peubah respon dengan rancangan acak lengkap (RAL) dan uji lanjut uji dunnet. Perlakuan yang diuji dalam penelitian ini

adalah dengan substitusi konsentrat dengan daun gamal, 4 macam perlakuan substitusi yang diuji dan setiap perlakuan diulang 4 kali.

Prosedur Penelitian

Inkubasi in vitro, percobaan sampel secara *in vitro* mengacu pada metode Tilley dan Terry (1963) yang telah dimodifikasi oleh Sutardi (1979). Langkah pertama yang dilakukan menimbang jerami padi, konsentrat dan daun gamal yang sudah digiling dengan jumlah yang sesuai dengan kode perlakuan dan dicampur hingga merata. Setiap kode perlakuan ransum ditimbang sebanyak 2 gram sesuai perlakuan yang diuji sebanyak jumlah sampel 20 buah (4 perlakuan dengan 4 kali ulangan) dan membuat larutan tanpa sample bahan pakan atau disebut blangko sebanyak 2 buah, kemudian diperlakukan sama dengan lainnya. Campuran sampel dimasukan ke dalam tabung reaksi 50 ml kemudian ditambahkan 24 ml larutan McDougall dan 16 ml cairan rumen. Tabung reaksi yang berisi campuran sampel dimasukan ke dalam *shaker water batch* diinkubasi selama 4 jam dengan suhu 39°C pada suasana *anaerob* dengan menutup tabung menggunakan katup pentil. Proses selanjutnya setelah proses inkubasi selesai, tabung reaksi diambil dan dibuka untuk kemudian ditambahkan larutan HgCl₂ jumlah sebanyak 1 tetes, tahap terakhir melakukan penyaringan untuk menghasilkan supernatan untuk analisis VFA total dan N-NH₃.

Analisis VFA total, pengukuran VFA total menggunakan metode Krooman *et al.* (1967), langkah pertama memanaskan alat destilasi uap dan memasukan supernatan sebanyak 5 ml dan 1 ml H₂SO₄ 15% ke dalam tempat sampel. Hasil destilat ditampung dalam Erlenmeyer yang sebelumnya diisi 5 ml NaOH 0,5 N hingga volume destilat mencapai 100 ml. Hasil destilasi ditambahkan indikator *phenolphthalein* ke dalam destilat sebanyak 2 tetes. Hasil destilasi dititrasi dengan HCl 0,5 N hingga terjadi perubahan warna. Pembuatan blangko dilakukan dengan cara mencampur 5 ml NaOH 0,5 N dan 2 tetes phenolptialin, kemudian pengukuran dilakukan dengan mentitrasi dengan HCl 0,5 N hingga terjadi perubahan warna. Kadar VFA total dapat dihitung dengan rumus;

$$\text{VFA total} = \left((Y - Z) \times N \text{ HCl} \times \left(\frac{1000}{5} \right) \right) \text{ mM}$$

Keterangan: Y = ml HCl yang dibutuhkan untuk titrasi blangko; Z = ml HCl yang dibutuhkan untuk titrasi destilat; N = Normalitas HCl

Analisis N-NH₃, kadar N-NH₃ ditentukan dengan teknik mikrodifusi Conway (Davis dan Smith, 1958). Langkah pertama bibir cawan Conway dan tutup diolesi dengan vaselin. Supernatan diambil sebanyak 1 ml, kemudian ditempatkan pada salah satu sisi cawan Conway. Larutan Na₂CO₃ jenuh sebanyak 1 ml ditempatkan pada salah satu sisi cawan Conway yang bersebelahan dengan supernatan. Larutan asam borat dengan indikator metil red dan brom kressol green sebanyak 1 ml ditempatkan dalam cawan kecil yang terletak di tengah cawan Conway. Cawan Conway yang sudah diolesi vaselin ditutup rapat hingga kedap udara, larutan Na₂CO₃ dicampur dengan supernatan hingga merata dengan cara menggoyang dan memiringkan cawan tersebut, setelah itu dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar. Proses selanjutnya cawan dibuka, asam borat berindikator dititrasi dengan H₂SO₄ 0,05 N sampai terjadi perubahan warna dari biru menjadi merah muda. Kadar produksi N-NH₃ dalam cairan rumen dihitung dengan rumus:

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

Keterangan: V = Volume H₂SO₄ yang dipakai untuk titrasi; N = Normalitas H₂SO₄

HASIL DAN PEMBAHASAN

Volatile Fatty Acids Total

Produk VFA total rumen dipengaruhi oleh komposisi kimia ransum perlakuan. Komposisi kimia ransum penggantian konsentrat menggunakan daun gamal menunjukkan kadar protein kasar yang meningkat pada setiap perlakuan, hal tersebut terjadi karena kadar protein kasar pada daun gamal (23,63% BK) lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrat (14,65% BK). Kadar serat kasar pada komposisi kimia ransum juga menunjukkan peningkatan pada setiap perlakuan, hal tersebut disebabkan karena kadar serat kasar pada daun gamal (24% BK) lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan serat kasar pada konsentrat (14,44% BK). Kandungan TDN pada komposisi kimia bahan pakan mengalami penurunan pada tiap perlakuan, disebabkan karena kadar TDN konsentrat (77,52% BK) lebih tinggi dari kadar TDN daun gamal (63,40% BK). Hasil penelitian penggantian konsentrat menggunakan daun gamal pada ransum sapi potong disajikan pada Tabel 1.

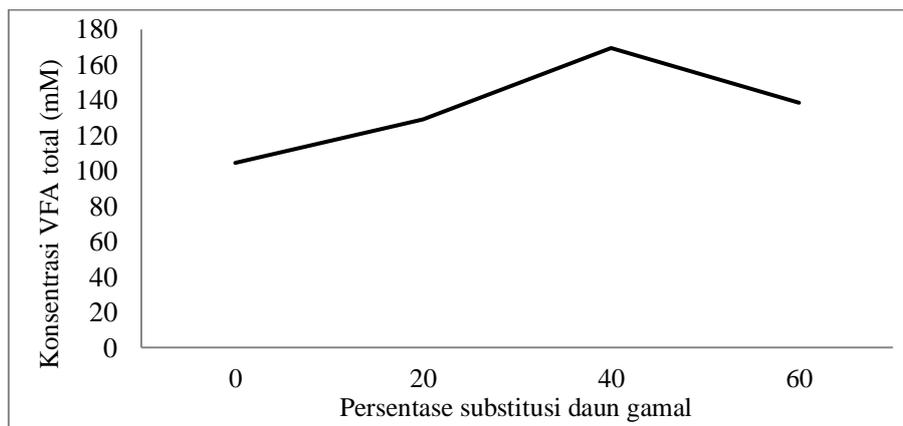
Hasil penelitian yang dilakukan secara *in vitro* mendapatkan hasil bahwa rata-rata VFA total (Tabel 1) dari ransum basal dengan penggantian konsentrat dengan menggunakan daun gamal adalah 104,50 ± 7,19 mM (P0) sampai dengan

138,50 ± 5,00 (P3). Dhia *et al.* (2019) menyatakan bahwa konsentrasi VFA dalam rumen dapat menggambarkan efisiensi proses fermentasi pakan didalam rumen. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan penggantian konsentrat menggunakan daun gamal berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap produksi VFA total. Hal tersebut diduga disebabkan oleh kandungan protein daun gamal yang cukup tinggi dimanfaatkan sebagai sumber protein mikroba rumen, sehingga sintesis protein mikroba didalam rumen meningkat. Meningkatnya populasi mikroba rumen dapat meningkatkan degradasi karbohidrat yang terdapat di dalam ransum sehingga produk VFA total meningkat. Marhaeniyanto & Susanti (2016) melaporkan bahwa daun gamal memiliki protein yang cukup tinggi yang bisa dimanfaatkan oleh mikroba rumen.

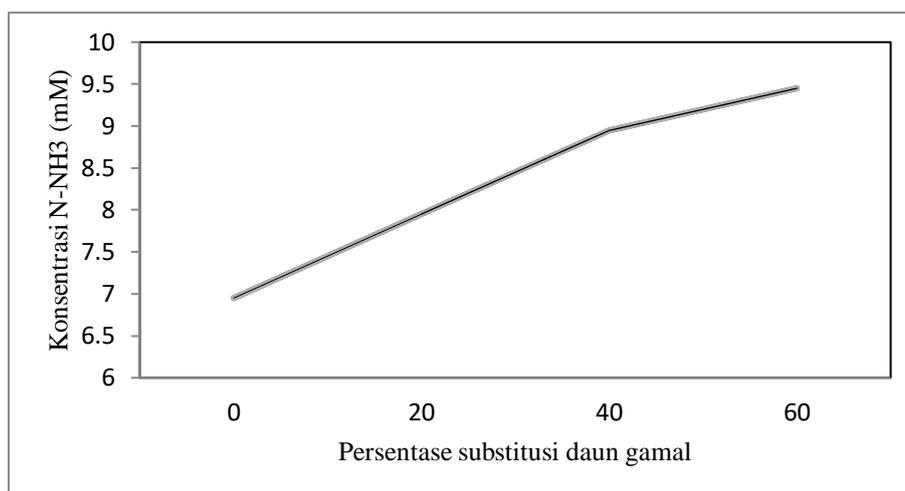
Produksi VFA total dengan konsentrat yang diganti dengan daun gamal 40% BK sebesar 169,50 ± 3,4 mM, kemudian menurun hingga 138,50 ± 5,00 mM pada pemberian 60% BK. Tingginya produksi VFA total disebabkan oleh imbang energi dan protein pakan seimbang dengan perbaikan degradasi karbohidrat di dalam rumen. Rahayu *et al.* (2018) menyatakan bahwa konsentrasi VFA total dipengaruhi oleh jumlah karbohidrat terlarut, fermentabilitas pakan, pH rumen, pencernaan pakan, dan mikroba rumen. Kandungan protein kasar pada tiap perlakuan selalu mengalami peningkatan diimbangi dengan kadar TDN yang cukup untuk proses sintesis protein mikroba, walaupun kadar TDN pada tiap perlakuan mengalami penurunan. Komposisi BK gamal.

kimia ransum juga menunjukkan kadar serat kasar yang meningkat di setiap perlakuan. Serat kasar merupakan sumber karbohidrat yang bisa dimanfaatkan oleh mikroba rumen untuk sintesis protein mikroba.

Sintesis protein mikroba di dalam rumen terjadi bila terdapat sinkronisasi antara protein dan energi yang tersedia di dalam rumen. Perlakuan ketiga memiliki kadar protein kasar tertinggi yaitu 17,75% namun memiliki kadar TDN terendah yaitu 61,55%. Hal tersebut merupakan salah satu penyebab menurunnya kadar VFA total. Waldi *et al.* (2017) menyatakan bahwa sintesis protein mikroba membutuhkan sinkronisasi energi dan N-NH₃ yang tepat. Menurunnya Produksi VFA total (Gambar 1) pada taraf penggantian konsentrat dengan daun gamal sebanyak 60% dari ransum juga disebabkan karena kandungan tanin yang cukup tinggi yang dapat mempengaruhi produksi VFA total. Smith *et al.* (2005) melaporkan bahwa tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroba yang dapat menghambat aktivitas mikroba rumen dan aktivitas enzim. Tanin adalah senyawa anti nutrisi yang bila pemberiannya melebihi batas maksimal akan menyebabkan penurunan produksi ternak. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka pemberian gamal sebanyak 60% yang mengandung tanin sebanyak 5,16 %, sudah berdampak negatif untuk mikroba rumen hal tersebut sesuai dengan pendapat Wie Lawa & Lazarus (2015) bahwa kadar tanin terkondensasi masih dapat di toleransi dalam ransum adalah 3,4% dari bahan kering. Rimbawanto *et al.*, (2015) menambahkan bahwa jumlah maksimal konsumsi tanin sebanyak 10% BK ransum.



Gambar 1. Hubungan substitusi konsentrat dengan daun gamal terhadap VFA total



Gambar 2. Hubungan substitusi konsentrat dengan daun gamal terhadap konsentrasi N-NH₃

Hasil uji lanjut *dunnet* menunjukan bahwa semua perlakuan berbeda nyata dengan kontrol. Hal tersebut terjadi karena bahan pakan tiap perlakuan mendukung untuk aktivitas mikroba rumen untuk menghasilkan produk VFA total. Hasil perhitungan konsentrasi VFA total menunjukan bahwa penggantian konsentrat menggunakan daun gamal mampu memproduksi VFA total yang melebihi kontrol, artinya bahwa daun gamal dapat menggantikan konsentrat dan tidak menimbulkan dampak negatif pada produk VFA total namun pemberian daun gamal sebanyak 60% menyebabkan kadar VFA total menurun, karena kandungan tanin pada daun gamal melebihi batasan maksimum ternak mengkonsumsi tanin.

Nitrogen Amonia (N-NH₃)

Amonia merupakan sumber nitrogen (N) utama bakteri, bakteri mampu memanfaatkan ammonia sebesar 82% sebagai sumber N yang digunakan sebagai bahan utama sintesis protein mikroba (Trisnadewi *et al.*, 2014). Hasil pengukuran N-NH₃ secara invitro terhadap tiap perlakuan terlampir pada Tabel 1. Hasil penelitian menunjukan bahwa rata-rata produksi N-NH₃ terhadap penggantian konsentrat menggunakan daun gamal sebesar 8,21 mM, produksi N-NH₃ tertinggi pada P₃ (9,45 Mm) dan produksi N-NH₃ terendah pada P₀ (6,95 Mm) (Tabel 1). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Prayitno *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa pemberian leguminosa sebagai pakan menghasilkan konsentrasi N-NH₃ berkisar 7,72-8,29 yang diperlukan untuk perkembangan mikroba secara optimal dan untuk sintesis protein mikroba. Berdasarkan hasil analisis variansi, penggantian daun gamal pada ransum ruminansia

menunjukan pengaruh yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap produksi amonia.

Konsentrasi N-NH₃ merupakan salah satu indikator untuk mengetahui fermentabilitas protein pakan, aktivitas mikroba dan populasi mikroba rumen. Konsentrasi N-NH₃ menggambarkan jumlah protein pakan yang dapat difermentasikan didalam rumen dan nilainya sangat dipengaruhi oleh kemampuan mikroba rumen dalam mendegradasi protein pakan dan mudah tidaknya protein pakan didegradasi (Susilo dan Pangestu 2019). Kandungan protein kasar daun gamal (23,62%) yang lebih tinggi dibandingkan konsentrat (14,65) menyebabkan tersedianya nitrogen yang semakin tinggi seiring dengan peningkatan substitusi konsentrat dengan daun gamal. Hal tersebut ditunjukan dengan konsentrasi N-NH₃ yang mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan pemberian daun gamal pada ransum pakan (Gambar 2). Produksi N-NH₃ dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah komposisi pakan yaitu kandungan nitrogen dan energi. Suwandiyastuti, (2013) melaporkan bahwa produksi nitrogen amonia sangat dipengaruhi oleh sifat dan komposisi bahan makanan. Menurut (Suryapratama & Suhartati 2012) produksi amonia di dalam rumen juga dipengaruhi oleh kelarutan bahan pakan, jumlah protein pakan, sumber nitrogen pakan, pH rumen dan waktu setelah pemberian pakan

Komposisi ransum yang diberi daun gamal dengan konsentrasi yang lebih tinggi menghasilkan ransum dengan kandungan protein yang tinggi, hal tersebut yang menyebabkan konsentrasi N-NH₃ yang meningkat secara linier. Usman (2013) menyatakan bahwa pH rumen dan komposisi kimia pakan berpengaruh terhadap mikroba yang ada di dalam rumen dan

berhubungan dengan konsentrasi N-NH₃ yang diproduksi. Konsentrasi N-NH₃ meningkat secara linear disebabkan imbalanced VFA total dan amonia di dalam rumen yang mendukung mikroba rumen untuk melakukan metabolisme. Hal tersebut sesuai dengan Waldi *et al.* (2017) bahwa suplai energi dan amonia yang cukup dengan laju degradabilitas dan fermentabilitas yang seimbang menyebabkan meningkatnya efektifitas sintesis protein mikroba, sehingga produk fermentasi yang dihasilkan semakin optimal.

Tabel 1. Rataan VFA total dan NH₃

Perlakuan	Produk Fermentasi Rumen	
	VFA total (mM)	N-NH ₃ (mM)
P ₀	104,50 ± 7,18	6,95 ± 0,10
P ₁	129,00 ± 5,29	7,95 ± 0,10
P ₂	169,50 ± 3,41	8,50 ± 0,38
P ₃	138,50 ± 5,00	9,45 ± 0,19

Keterangan: P₀ = 60% BK konsentrat + 40% BK jerami; P₁ = 40% BK konsentrat + 40% BK jerami + 20% BK gamal; P₂ = 20% BK konsentrat + 40% BK jerami + 40% BK gamal; P₃ = 40% BK jerami + 60% BK gamal.

KESIMPULAN

Daun gamal dapat menggantikan konsentrat dengan rasio konsentrat dan jerami padi adalah 60:40. Penggantian konsentrat dengan daun gamal sebanyak 60% pada pakan basal jerami dalam ransum sapi potong perlu dilakukan uji lanjut dengan percobaan *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

Dhia, K.S., K.A. Kamil, & H. Tanuwira. 2019. Kecernaan Dan Fermentabilitas Substrat Kombinasi Mineral-Fungi Dalam Rumen. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 7(2): 217-222.

Marhaenyanto, E. & S. Susanti. 2016. Penggunaan konsentrat hijau untuk meningkatkan penampilan domba jantan muda. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. LPPM Unikama. Malang. Hal: 172-179.

Prayitno, R.S., F. Wahyono, & E. Pangestu. 2018. Pengaruh suplementasi sumber protein hijauan leguminosa terhadap produksi amonia dan protein total ruminal secara *in vitro*. *Jurnal Peternakan Indonesia* 20(2):116-123.

Rahayu, R.I., A. Subrata, & J. Achmadi. 2018. Fermentabilitas ruminal *in vitro* pada pakan berbasis jerami padi amoniasi dengan suplementasi tepung bonggol pisang dan molases. *Jurnal Peternakan Indonesia* 20(3):166-174.

Rimbawanto, E.A., L.M. Yusiati, E. Baliarti, & R. Utomo. 2015. Effect of condensed tannin of leucaena and calliandra leaves in protein trash fish silage on *in vitro* ruminal fermentation, microbial protein synthesis and digestibility. *Animal Production* 17(2): 83-91.

Smith, A.H., E. Zoetendal, & R.I. Mackie. 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology* 50(2):197-205. DOI: 10.1007/s00248-004-0180-x.

Suryapratama, W. & F.M. Suhartati. 2012. Increasing rumen microbial protein synthesis with additional dietary substrate of *saccharomyces cerevisiae* and soybean Oil. *Animal Production* 14(3):155-159.

Susilo, E., L.K. Nuswantara, & E. Pangestu. 2019. Evaluasi bahan pakan hasil samping industri pertanian berdasarkan parameter fermentabilitas ruminal secara *in vitro*. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 14(2): 128-136.

Sutardi, T. 1979. Ketahanan protein bahan makanan terhadap degradasi oleh mikroba rumen dan manfaatnya bagi peningkatan produktivitas ternak. Dalam: Prosiding Seminar Penelitian dan Penunjang Peternakan, LPP. Bogor. Buku 2. Hal: 91-103.

Suwandyastuti, S.N.O. 2013. Pengaruh nisbah energi-protein, nitrogen-sulfur dan kalsium-fosfor terhadap produk metabolisme rumen dan pencernaan Substrat. *Jurnal Agripet* 13(2):1-6.

Tilley, J.M.A., & R.A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass and Forage Science* 18(2):104-111.

Trisnadewi, A.A.S., IG.L.O. Cakra, IW. Wirawan, IM. Mudita, & N.L.G. Sumardani et al. 2014. Substitusi gamal (*Gliricidia sepium*) dengan kaliandra (*Kalliandra calothyrsus*) pada ransum terhadap pencernaan *in-vitro*. *Pastura* 3(2):106-109.

- Usman, Y. 2013. Pemberian pakan serat sisa tanaman pertanian (jerami kacang tanah, jerami jagung, pucuk tebu) terhadap evolusi pH, N-NH₃ dan VFA di dalam rumen sapi. *Jurnal Agripet* 13(2):53-58.
- Waghorn, G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology* 147:116-139.
- Waldi, L., W. Suryapratama, & F.M. Suhartati. Pengaruh penggunaan bungkil kedelai dan bungkil kelapa dalam ransum berbasis indeks sinkronisasi energi dan protein terhadap sintesis protein mikroba rumen sapi perah. *Journal of Livestock Science and Production* 1(1):1-12.
- Wie Lawa, E. Dyelim, & E.J.L Lazarus. 2015. Suplementasi tepung ikan terproteksi ekstrak tanin hijauan kabesak kuning, kabesak hitam dan kihujan dalam ransum terhadap pertumbuhan ternak kambing. *Zootec* 35(2):368-378.
- Yusiati, L. M., A. Kurniawati, C. Hanim, & M. A. Anas. 2018. Protein binding capacity of different forages tannin. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ Sci* (119) 012007.