

**PENGARUH PENAMBAHAN TANIN DAUN NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*)
TERHADAP NILAI BIOLOGIS DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DAN JERAMI KACANG
HIJAU (*Vigna radiata*) SECARA *IN VITRO***

THE EFFECTS OF TANNIN ADDITION FROM *Artocarpus heterophyllus* LEAVES ON *IN VITRO* BIOLOGICAL VALUE OF KELOR (*Moringa oleifera*) LEAVE AND GREEN MUNG BEAN (*Vigna radiata*) STRAW

Teguh Wahyono^{1*}, Wahidin Teguh Sasongko¹, Mar'atus Sholihah², dan Megga Ratnasari Pikoli²

¹Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta Selatan, 12070

²Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah, Banten, 15412

Submitted: 8 September 2016, Accepted: 6 December 2016

INTISARI

Nutrien daun kelor (*Moringa oleifera*) dan jerami kacang hijau (*Vigna radiata*) sebagai hijauan pakan ternak cukup berkualitas sehingga perlu diproteksi untuk meningkatkan efektivitas penggunaannya di dalam rumen. Daun nangka mengandung total tanin sebesar 7,08%, sehingga potensial digunakan sebagai bahan untuk memproteksi bahan pakan sumber protein. Studi *in vitro* perlu dilakukan untuk mengevaluasi penggunaan tepung daun nangka untuk meningkatkan efektivitas penggunaan hijauan berupa daun kelor dan jerami kacang hijau. Tujuan dari studi yang dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan tepung daun nangka terhadap nilai biologis daun kelor dan jerami kacang hijau. Evaluasi produksi metana juga dilakukan untuk mengetahui efisiensi proses fermentasi. Perlakuan penelitian adalah: 1) jerami kacang hijau; 2) jerami kacang hijau + 0,7% daun nangka; 3) jerami kacang hijau + 1,4% daun nangka; 4) daun kelor; 5) daun kelor + 0,7% daun nangka; 6) daun kelor + 1,4% daun nangka. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Pengamatan dilakukan terhadap produksi gas total (inkubasi ke-0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 24 jam), konsentrasi gas metana (%), karakteristik produksi gas dan karakteristik produk fermentasi rumen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan tepung daun nangka tidak berpengaruh terhadap produksi gas total, produksi gas maksimum dan laju degradasi kedua jenis hijauan pakan. Penambahan 0,7 dan 1,4% tepung daun nangka dapat menurunkan konsentrasi gas metana daun kelor berturut-turut sebesar 4,93% dan 3,19%. Penambahan tepung daun nangka juga mampu meningkatkan rasio CO₂:CH₄ substrat jerami kacang hijau masing-masing sebesar 4,42 dan 6,49%. Tepung daun nangka juga tidak memberikan efek negatif terhadap produk fermentasi rumen (pH, NH₃, VFA total, dan degradasi bahan organik).

(Kata kunci: *In vitro*, Daun kelor, Produksi gas total, Tepung daun nangka, Jerami kacang hijau)

ABSTRACT

Previous studies indicated kelor (*Moringa oleifera*) leaves and green mung beans (*Vigna radiata*) straws can provide good nutrient sources for ruminant. Protection of high quality nutrients from rumen microbe degradation might improve nutrient utilization for ruminants. Nutrient protection using tannins is applicable methods to formulate rumen undegradable feed. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) leave contain 7.08% tannins, therefore it is potential to be used as tannin source to protect nutrient of feed, especially protein, in the rumen. The purpose of this study was to investigate the effects of tannin addition from jackfruit leaves on biological values of kelor leaves and green mung bean straws by *in vitro* trial. Methane production was also observed to determine the effects of jackfruit leaves addition on kelor leave and green mung bean straw. The treatments were: 1) green mung bean straw; 2) green mung bean straw + 0.7% jackfruit leaves meal; 3) green mung bean straws + 1.4% jackfruit leaves meal; 4) kelor leaves; 5) kelor leaves + 0.7% jackfruit leaves meal; and 6) kelor leaves + 1.4% jackfruit leaves meal. Experimental design was a completely randomized design with six treatments and three replications. Total gas production (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 24h of incubation), methane concentration (%), the characteristics of gas production and rumen fermentation products were measured. Results showed that there was no significant different among treatments on total gas production, maximum gas production and degradation rate. Additions of either 0.7 and 1.4% jackfruit leaves meal significantly reduced ($P < 0.05$) methane

* Korespondensi (corresponding author):

Telp. + 62 856 4342 0641, E-mail: teguhwahyono@batan.go.id

concentration (%) of *M. oleifera* leaves fermentation by 4.93 and 3.19%, respectively. Addition of either 0.7 and 1.4% jackfruit leaves meal also improved ($P < 0.05$) $CO_2:CH_4$ ratio of green mung bean straws by 4.42 and 6.49, respectively. There was no negative effect for rumen fermentation product (pH, NH_3 , total VFA and organic matter degradability) after jackfruit leaves meal addition.

(Key words: *In vitro*, Jackfruit leaves, Kelor leaves, Total gas production, Green mung bean straw)

Pendahuluan

Indonesia adalah negara tropis yang menyimpan berbagai potensi sumber daya pakan lokal. Bahan pakan lokal tersebut sebenarnya memiliki potensi sebagai sumber pakan berkualitas. Permasalahan yang ada adalah perlu kajian dan penerapan yang tepat dalam aplikasi pada ternak khususnya ternak ruminansia. Sebagai contoh, bahan pakan yang mengandung sumber protein tinggi belum tentu efisien penggunaannya karena pengaruh fermentasi mikroba rumen. Dua bahan pakan yang potensial digunakan sebagai sumber protein adalah daun kelor (*Moringa oleifera*) dan jerami kacang hijau (*Vigna radiata*). Kedua bahan tersebut memiliki ketersediaan melimpah di daerah tropis dan mengandung nilai nutrisi yang baik. Daun *Moringa oleifera* dan jerami *Vigna radiata* mengandung protein kasar berturut turut sebesar 25,10% (Makkar and Becker, 1996) dan 15,32% (Sudrajad dan Sarjana, 2011).

M. oleifera adalah sumber suplemen protein yang potensial bagi ruminansia. *M. Oleifera* mendukung sintesis protein mikroba karena dapat menyediakan sumber N yang siap difermentasi (Soliva et al., 2005). Kholif et al. (2015) melaporkan bahwa *M. Oleifera* dapat digunakan sebagai sumber protein dalam ransum kambing *Anglo-Nubian*. Tepung daun *M. Oleifera* dapat meningkatkan konsumsi pakan, fermentasi rumen, pencernaan pakan dan produksi susu. Sudrajad dan Sarjana (2011) melaporkan bahwa brangkasan kacang hijau berpotensi digunakan sebagai pakan ternak kambing dan domba. Hal tersebut karena ketersediaannya yang cukup melimpah dan dapat disimpan untuk digunakan dalam bentuk silase. Berbagai daerah di Indonesia sudah memanfaatkan jerami *V. radiata* sebagai pakan ternak ruminansia. Limbah pertanian ini merupakan hijauan pakan potensial yang mudah didapat (Pomolango et al., 2016; Samadi et al., 2010).

Sebagai hijauan pakan ternak yang berfungsi untuk suplai protein, daun *M. oleifera* dan jerami *V. radiata* perlu diproteksi

dari degradasi di dalam rumen. Soliva et al. (2005) melaporkan bahwa daun *M. oleifera* tidak disarankan untuk sumber protein, jika tidak terproteksi dari fermentasi rumen. Kedua hijauan pakan ternak ini cukup potensial dan mudah didapat sehingga perlu diproteksi untuk meningkatkan efektifitas penggunaannya di dalam rumen. Protein yang melewati rumen akan didegradasi oleh mikroba rumen menjadi molekul yang lebih kecil berupa peptida, asam amino dan ammonia. Produk degradasi protein di dalam rumen ini akan digunakan untuk sintesis protein mikroba. Suplai protein yang hanya berasal dari mikroba belum dapat memenuhi kebutuhan nutrisi pada ruminansia. Hal tersebut menjadi dasar diperlukannya proteksi terhadap pakan sumber protein yang bersifat *undegradable* agar sampai pada usus halus (Ali et al., 2009). Berbagai perlakuan proteksi protein dapat dilakukan dengan menggunakan formaldehid (Dutta dan Agrawal, 2000), ikatan *chelate* dengan mineral (Haryanto, 2012) dan bahan organik berupa senyawa metabolit sekunder (tanin) (Bunglavan dan Dutta, 2013). Penggunaan formaldehid dan bahan kimia lain untuk proteksi protein tidak disarankan karena kurang ramah lingkungan bagi pertanian organik (Bunglavan dan Dutta, 2013). Alternatif terbaik adalah penggunaan tanin sebagai senyawa metabolit sekunder untuk melindungi hijauan pakan sumber protein dari degradasi rumen.

Daun nangka adalah sumber tanin yang potensial digunakan sebagai proteksi protein. Hal tersebut karena pohon nangka tumbuh subur di daerah tropis dan cukup familiar bagi para petani peternak. Sasongko et al. (2010) melaporkan bahwa kandungan total tanin dan tanin terkondensasi pada daun nangka adalah 7,08 dan 5,57%. Kongmanila dan Ledin (2009) melaporkan bahwa daun nangka (daun + *petiole*) mengandung 130 g/kg tanin terkondensasi. Studi *in vitro* perlu dilakukan untuk mengevaluasi penggunaan tepung daun nangka untuk meningkatkan efektifitas penggunaan hijauan berupa daun *M. oleifera* dan jerami *V. radiata*. Metode *in vitro gas test*

digunakan untuk menguji pakan tunggal dan memiliki korelasi yang tinggi dengan uji *in vivo* (Menke *et al.*, 1979; Getachew *et al.*, 2000; Hamid *et al.*, 2007). Tujuan dari studi yang dilakukan adalah untuk mengevaluasi penambahan tepung daun nangka terhadap proses fermentasi dan degradasi daun *M. oleifera* dan jerami *V. radiata*. Evaluasi produksi metana juga dilakukan untuk mengetahui efektifitas fermentasi pada kedua hijauan pakan tersebut.

Materi dan Metode

Persiapan bahan

Daun *M. oleifera* sp, jerami *vigna radiata* dan daun nangka dikeringkan pada suhu 60°C selama tiga hari kemudian digiling sampai halus. Sampel pakan dianalisis untuk mengetahui kadar bahan kering (BK), abu, protein kasar (PK), serat kasar (SK) dan lemak kasar (LK) (AOAC, 2010). *Neutral detergent fiber* (NDF) dan *acid detergent fiber* (ADF) juga dianalisis menggunakan prosedur dalam Goering dan Van Soest (1970). Cairan rumen yang digunakan selama penelitian berasal dari kerbau rawa berfistula.

Prosedur evaluasi *in vitro*

Sampel sebanyak 380 mg ditimbang dan dimasukkan ke dalam *syringe* kaca volume 100 ml (model Fortuna, Jerman). Koleksi cairan rumen diambil dari kerbau rawa berfistula sebelum pemberian pakan pada pagi hari. Ransum kerbau yang digunakan adalah kombinasi hijauan dan konsentrat (50:50). Cairan rumen disaring menggunakan kain kassa empat lipatan. *Syringe* kaca yang telah berisi sampel, diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 39°C sebelum diisi cairan rumen-buffer. Prosedur inkubasi *in vitro* menggunakan metode Menke *et al.* (1979) yang dimodifikasi Blümmel *et al.* (1997). Inkubasi dilakukan pada suhu 39°C selama 24 jam. Replikasi sampel sebanyak tiga ulangan. Pengamatan produksi gas total dilakukan pada jam ke- 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 24. Pengukuran pH, NH₃, VFA total, populasi protozoa dan degradasi bahan organik (DBO) juga dilakukan pada sampel beserta cairan rumen-buffer yang telah diinkubasi selama 24 jam.

Metode eksperimen dan analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap. Setiap perlakuan dilakukan

pengulangan sebanyak tiga kali. Perlakuan penelitian adalah: jerami *V. radiata*, jerami *V. radiata* + 0.7% daun nangka, jerami *V. radiata* + 1.4% daun nangka, daun *M. Oleifera*, daun *M. oleifera* + 0.7% daun nangka, dan daun *M. oleifera* + 1.4% daun nangka.

Pengaruh perlakuan dianalisa menggunakan bantuan perangkat SPSS 16.00 dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Steel dan Torrie, 1980) untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Koleksi gas total, pengukuran konsentrasi gas metana, CO₂, dan analisis inokulum sampel dilakukan setelah 24 jam inkubasi. Pengukuran konsentrasi metana dan CO₂ menggunakan MRU gas analyzer. Pengukuran pH menggunakan pH meter *Hanna instrument*, pengukuran NH₃ menggunakan metode mikrodifusi *Conway* (Conway, 1950), pengukuran VFA total berdasar metode AOAC (2010) sedangkan pengukuran protozoa menggunakan metode Ogimoto dan Imai (1981). Degradasi bahan organik diperoleh berdasarkan persamaan hasil eksperimen Menke *et al.* (1979) (Jayanegara dan Sofyan, 2009):

$$\text{DBO (\%)} = 4.88 + 0.889 \text{ GP} + 0.45 \text{ CP} + 0.0651 \text{ Ash}$$

Di mana DBO: degradasi bahan organik; GP: produksi gas total selama 24 jam; PK: kandungan protein kasar sampel dan Ash adalah kandungan abu sampel.

Kinetika gas juga diukur menggunakan model eksponensial Orskov dan McDonald (1979) $p=a+b(1-e^{-ct})$. Konstanta a dan b berturut turut adalah fraksi mudah larut dan fraksi tidak larut tetapi dapat terdegradasi. Konstanta c adalah laju kelarutan fraksi secara konstan per t satuan waktu. Kalkulasi fraksi a, b dan c menggunakan perangkat lunak *fitcurve Neway*®.

Hasil dan Pembahasan

Produksi gas total

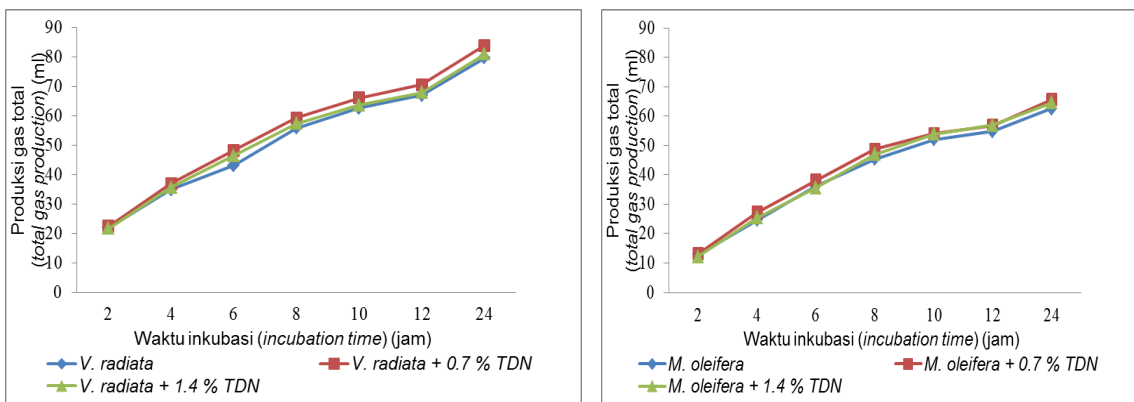
Pola kenaikan produksi gas total dari kedua jenis hijauan yang difermentasi selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 1. Laju produksi gas total pada semua perlakuan semakin menurun antar titik pengukuran atau waktu inkubasi. Penurunan ini disebabkan oleh berkurangnya ketersediaan substrat seiring meningkatnya waktu inkubasi. Berkurangnya jumlah substrat yang dapat difermentasi akan berakibat pada penurunan produksi gas yang

merupakan hasil fermentasi (Jayanegara dan Sofyan, 2008). Pada Gambar 1 juga terlihat produksi gas total sampel jerami *V. radiata* selalu menghasilkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan daun *M. oleifera*. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan tepung daun nangka tidak memberikan pengaruh yang nyata pada produksi gas total kedua sampel hijauan.

Produksi gas total ketiga perlakuan jerami *V. radiata* selalu lebih tinggi dibandingkan ketiga perlakuan daun *M. oleifera*. Hal tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan karakteristik kecepatan degradasi dari kedua sumber hijauan. Perbedaan ini berpengaruh pada adaptasi mikroba rumen dalam mendegradasi substrat pakan. Sofyan et al. (2015) melaporkan bahwa mikroba rumen membutuhkan waktu adaptasi (*lag phase*) sebelum mendegradasi substrat pakan yang tidak mudah larut. Tingginya produksi gas pada substrat pakan jerami *V. radiata* juga dapat disebabkan oleh kandungan fraksi NDF yang lebih rendah dibandingkan daun *M. oleifera* (Tabel 1). Fraksi NDF terdiri dari golongan lignin,

selulosa dan hemiselulosa yang cenderung sulit untuk didegradasi. Suprpto et al. (2013) dan Wahyuni et al. (2014) melaporkan bahwa tingginya komponen serat kasar berupa selulosa dan lignin dapat mempengaruhi rendahnya kecepatan degradasi pakan yang direpresentasikan pada rendahnya produksi gas.

Pemberian 0,7 dan 1,4% tepung daun nangka tidak berpengaruh terhadap produksi gas perlakuan jerami *V. radiata* maupun daun *M. oleifera*. Hal tersebut berbeda dengan penelitian Serensinhe et al. (2012) yang menjelaskan bahwa suplementasi tanin terkondensasi dapat menurunkan laju fermentasi hijauan yang diindikasikan oleh rendahnya produksi gas total. Jayanegara et al. (2009a) juga menjelaskan bahwa penambahan tannin dari ekstrak mimosa dan *quebracho* pada konsentrasi rendah (0,5 mg/ml cairan rumen-buffer) dapat menurunkan produksi gas total pada substrat ransum berbasis hay. Kedua referensi tersebut menjelaskan bahwa penurunan produksi gas total disebabkan oleh pengaruh tanin dalam menghambat aktifitas/kinerja



Gambar 1. Produksi gas total hasil fermentasi rumen secara *in vitro* pada jerami *V. radiata* dan daun *M. oleifera* yang ditambahkan tepung daun nangka (*total gas production after in vitro rumen fermentation of V. radiata straws and M. oleifera leaves with jackfruit leaves addition*). Keterangan: tepung daun nangka (*jackfruit leaves meal*) (TDN).

Tabel 1. Kandungan nutrisi jerami *V. radiata*, daun *M. oleifera* dan tepung daun nangka (*nutrient composition of V. radiata straw, M. oleifera leave and Jackfruit leaf meal*)

Bahan pakan (<i>feed materials</i>)	Kandungan nutrisi (%) (<i>nutrient composition (%)</i>)					
	Bahan kering (<i>dry matter</i>)	Abu (<i>ash</i>)	Protein kasar (<i>crude protein</i>)	Lemak kasar (<i>ether extract</i>)	NDF	ADF
Jerami <i>V. radiata</i> (<i>V. radiata straws</i>)	89,21	12,37	14,08	5,07	31,15	11,84
Daun <i>M. oleifera</i> (<i>M. oleifera leaves</i>)	88,56	13,11	29,36	4,15	39,54	10,26
Tepung daun nangka (<i>Jackfruit leaves meal</i>)	92,10	7,19	12,92	2,23	64,03	47,46

NDF: *neutral detergent fiber*, ADF: *acid detergent fiber*.

enzim yang dihasilkan mikroba. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini berbeda dengan referensi di atas. Perbedaan hasil ini disebabkan oleh perbedaan sumber tanin yang digunakan, di mana pada penelitian ini menggunakan tepung daun nangka yang belum diekstrak taninnya. Penggunaan tanin yang masih terikat dalam fraksi lain di dalam sumber hijauan belum mampu menghambat kinerja mikroba dalam mendegradasi pakan yang direpresentasikan dalam produksi gas total. Adapaun faktor lain yang perlu dipertimbangkan adalah konsentrasi masing-masing gas hasil fermentasi substrat pakan. Peubah tersebut dikaji pada bahasan selanjutnya pada konsentrasi gas metana (gambar 2) dan karakteristik produksi gas (Tabel 2).

Konsentrasi gas metana (%)

Hasil pengukuran konsentrasi metana pada inkubasi sampel selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 2. Semakin tinggi produksi gas total maka semakin tinggi pula produksi gas metana di dalamnya. Atas dasar hal tersebut maka untuk mengukur produksi gas metana, maka perlu diketahui konsentrasi gas metana dalam setiap produksi gas total. Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa penambahan tepung daun nangka tidak berpengaruh terhadap konsentrasi gas metana pada jerami *V. radiata*. Hasil yang berbeda ditampilkan pada konsentrasi gas metana daun *M. oleifera*. Penambahan tepung daun nangka dapat menurunkan konsentrasi gas metana sebesar 4,93% dan 3,19% berturut-turut pada dosis tepung daun nangka 0,7 dan 1,4% ($P < 0,05$). Widiawati *et al.* (2010) melaporkan bahwa penurunan produksi gas

metana dapat mengurangi kehilangan energi pakan yang terbuang, sehingga efisiensi penggunaan pakan akan semakin meningkat.

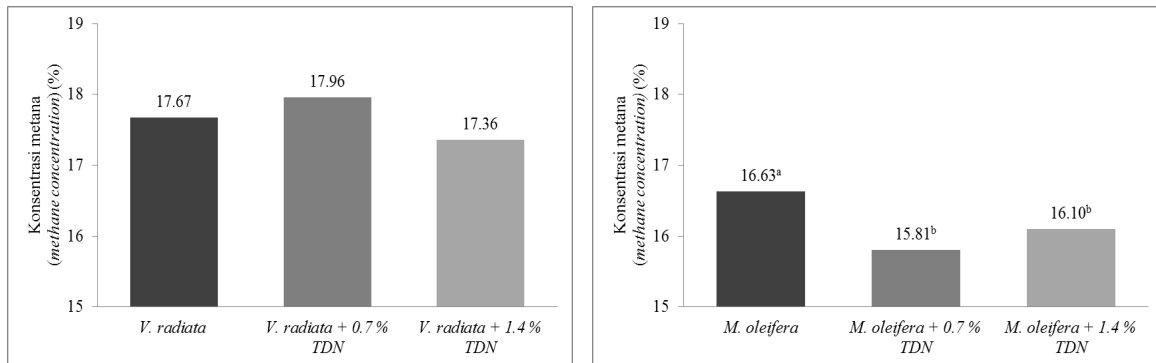
Konsentrasi gas metana pada substrat pakan jerami *V. radiata* terlihat lebih tinggi dibandingkan perlakuan daun *M. oleifera*. Hal tersebut sebanding dengan karakteristik produksi gas total yang ditampilkan pada Gambar 1. Tingginya kecepatan degradasi pakan juga berpengaruh terhadap proses pembentukan gas metana. Faktor lain yang berpengaruh adalah kandungan ADF jerami *V. radiata* lebih tinggi dibandingkan daun *M. oleifera* (Tabel 1). pada fraksi ADF terdapat golongan karbohidrat struktural berupa selulosa yang merupakan sumber energi utama bagi mikroba rumen. Widiawati *et al.* (2010) menjelaskan bahwa selulosa merupakan karbohidrat struktural yang terdapat pada dinding sel, fraksi tersebut merupakan sumber C bagi mikroba rumen yang mengarah pada pembentukan VFA parsial berupa asam asetat. Dalam pembentukan asetat akan melepaskan fraksi H₂ yang berafiliasi dengan CO₂ sehingga berperan dalam pembentukan metana. Suharyono dan Widiawati (2007) juga menjelaskan bahwa tingginya produksi dan konsentrasi gas metana mengindikasikan besarnya energi pakan yang terbuang sehingga menurunkan efisiensi pakan. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Widiawati *et al.* (2010) yang melaporkan bahwa tanaman berkualitas baik dan mengandung protein yang lebih tinggi akan lebih sedikit menghasilkan gas metana dibandingkan pakan yang banyak mengandung serat atau sulit dicerna.

Tabel 2. Karakteristik gas hasil fermentasi rumen secara *in vitro* pada jerami *V. radiata* dan daun *M. oleifera* yang ditambahkan tepung daun nangka (gas characteristics after *in vitro* rumen fermentation of *V. radiata* straw and *M. oleifera* leave with jackfruit leave addition)

Sampel (sample)	Tepung daun nangka (%) (Jackfruit leaves meal (%))	a+b	c	CO ₂ (ml/100mg DBO)	CH ₄ (ml/100mg DBO)	Rasio (ratio) CO ₂ :CH ₄
<i>V. radiata</i>	0	84,72 ^a	0,127 ^b	18,53 ^{bc}	5,46 ^a	3,39 ^d
<i>V. radiata</i>	0,7	87,60 ^a	0,136 ^b	19,55 ^a	5,53 ^a	3,54 ^c
<i>V. radiata</i>	1,4	84,41 ^a	0,136 ^b	18,91 ^{ab}	5,28 ^a	3,61 ^{bc}
<i>M. oleifera</i>	0	64,75 ^b	0,164 ^a	17,63 ^{cd}	4,77 ^b	3,70 ^{ab}
<i>M. oleifera</i>	0,7	67,38 ^b	0,170 ^a	17,11 ^d	4,49 ^b	3,82 ^{ab}
<i>M. oleifera</i>	1,4	67,14 ^b	0,166 ^a	17,40 ^d	4,43 ^b	3,93 ^a
SEM		2,041	0,004	0,212	0,102	0,054

a+b (produksi gas maksimum); c (laju kelarutan fraksi per t satuan waktu); CO₂ (karbon dioksida); CH₄ (metana); SEM (standard error mean).

^{a,b,c,d} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) (different superscripts at the same row indicate significant differences ($P < 0.05$)).



Gambar 2. Konsentrasi gas metana hasil fermentasi rumen secara *in vitro* pada jerami *V. radiata* dan daun *M. oleifera* yang ditambahkan tepung daun nangka (*methane concentration after in vitro rumen fermentation of V. radiata straws and M. oleifera leaves with jackfruit leaves addition*. Keterangan: tepung daun nangka (*jackfruit leaves meal*) (TDN).

Penambahan tepung daun nangka terhadap konsentrasi gas metana memberikan pengaruh yang berbeda antara kedua perlakuan substrat pakan. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh perbedaan interaksi senyawa tanin yang terkandung dalam tepung daun nangka dengan kedua substrat. Interaksi yang dimaksud adalah interaksi dengan protein pakan serta mikroba rumen terutama protozoa. Tavendale *et al.* (2005) *cit.* Jayanegara *et al.* (2009b) menjelaskan bahwa terdapat dua mekanisme penghambatan produksi gas metana yaitu: 1) penghambatan pencernaan serat sehingga mengurangi produksi H₂ dan 2) penghambatan pertumbuhan dan aktifitas metanogen. Karakteristik tanin tertinggi yang terdapat dalam daun nangka adalah jenis tanin terkondensasi (5,57%) (Sasongko *et al.*, 2010) yang menurunkan produksi gas metana dengan mekanisme yang pertama. Perbedaan interaksi tanin pada daun nangka diduga disebabkan oleh perbedaan karakteristik serat dalam substrat pakan. Kandungan serat yang sulit terdegradasi banyak terdapat pada jerami *V. radiata* dibandingkan daun *M. oleifera*. Hal tersebut direpresentasikan pada kandungan ADF (Tabel 1) sehingga penurunan gas metana akibat pemberian tepung daun nangka lebih nyata terlihat pada substrat daun *M. oleifera*.

Kadar total tanin pada daun nangka adalah 7,08% sehingga tetap ada proses mekanisme yang kedua dalam penurunan produksi gas metana. Jayanegara *et al.* (2015) dan Animut *et al.* (2008) menjelaskan bahwa senyawa tanin dapat menurunkan populasi aktor utama dalam proses metanogenesis di dalam rumen yaitu protozoa. Produksi gas metana memiliki

relasi kuat dengan populasi protozoa. Gas metana diproduksi oleh bakteri *archaea* yang mengkonsumsi hidrogen. Bakteri ini bersimbiosis dengan protozoa. Namun demikian, mekanisme tannin terkondensasi dalam proses pembentukan metana belum dijelaskan secara rinci. Tanin secara langsung akan menurunkan pertumbuhan populasi mikroba metanogen atau secara tidak langsung menurunkan ketersediaan nutrisi bagi mikroba rumen (Bhatta *et al.*, 2015). Data penurunan populasi protozoa pada penelitian ini akibat pemberian tepung daun nangka dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sasongko *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa pemberian 0,7% tepung daun nangka dapat menurunkan produksi gas metana pada substrat kacang hijau afkir. Pemberian 1,4% tepung daun nangka juga dapat menurunkan konsentrasi gas metana namun tidak berbeda nyata dengan pemberian pada taraf 0,7% (Gambar 2). Hal tersebut dapat disebabkan oleh tingkat kejenuhan penambahan tanin dalam mengikat protein pakan. Sasongko *et al.* (2010) menjelaskan bahwa penambahan tanin yang terlalu banyak akan menimbulkan kejenuhan, sehingga kemampuan untuk mengikat protein menjadi lebih sedikit.

Karakteristik produksi gas

Karakteristik produksi gas kedua hijauan pakan yang diberi tambahan tepung daun nangka dapat dilihat pada Tabel 2. Produksi gas maksimum (a+b) pada semua perlakuan jerami *V. radiata* lebih tinggi dibandingkan daun *M. oleifera* ($P < 0.05$), sedangkan penambahan tepung daun nangka tidak berpengaruh pada masing-

masing substrat hijauan. Pola yang sama terjadi pada peubah laju kelarutan (c) dan produksi metana (ml/100 mg DBO). Penambahan 0,7% tepung daun angka dapat meningkatkan produksi gas CO₂ jerami *V. radiata* sebesar 5,50% (P<0,05), sedangkan penambahan 1,4% tidak memberikan pengaruh nyata. Pemberian 0,7 dan 1,4% tepung daun angka juga mampu meningkatkan rasio CO₂:CH₄ substrat jerami *V. radiata* masing-masing sebesar 4,42 dan 6,49% (P<0,05). Pola berbeda ditunjukkan pada substrat daun *M. oleifera*, dimana penambahan tepung daun angka tidak berpengaruh nyata terhadap produksi gas CO₂ dan rasio CO₂:CH₄.

Parameter karakteristik produksi gas merupakan indikator evaluasi fermentabilitas dari pengujian pakan secara *in vitro* (Sofyan *et al.*, 2015). Produksi gas total maksimum adalah total produksi gas yang dihasilkan dari gabungan fraksi a dan b yaitu fraksi bahan yang mudah larut serta fraksi bahan yang dapat didegradasi mikroba rumen. Produksi gas total maksimum (a+b) pada perlakuan jerami *V. radiata* lebih tinggi dibandingkan perlakuan daun *M. oleifera*. Penjelasan akan hal ini telah dibahas pada parameter produksi gas total, dimana kandungan fraksi NDF jerami *V. radiata* yang lebih rendah dibandingkan daun *M. oleifera* (Tabel 1). Kandungan NDF rendah berpengaruh pada degradasi substrat yang semakin cepat sehingga produksi gas maksimum akan lebih tinggi selama 24 jam inkubasi. Hal tersebut diperkuat dengan nilai laju degradasi (c) yang semakin cepat pada ketiga perlakuan jerami *V. radiata*. tepung daun angka terbukti tidak berpengaruh terhadap produksi gas maksimum dan laju degradasi namun pengaruhnya terlihat pada komposisi gas total di dalamnya.

Pola menarik diperlihatkan pada peubah produksi gas CO₂, metana dan rasio kedua gas tersebut. Penambahan tepung daun angka tidak mempengaruhi produksi gas metana (ml/100 mg DBO) kedua substrat bahan pakan. Hal tersebut berbeda dengan pembahasan pada peubah konsentrasi gas metana (Gambar 2) dimana penambahan tepung daun angka berpengaruh terhadap penurunan konsentrasi gas metana. Hal tersebut karena adanya perhitungan efisiensi fermentasi substrat setelah dikalkulasikan dengan nilai DBO (Tabel 3). Pola berbeda ditunjukkan pada peubah produksi gas CO₂ (ml/100 mg DBO), di mana penambahan tepung daun angka dapat meningkatkan

produksi gas CO₂ pada substrat jerami *V. radiata*. Hal tersebut menyebabkan kenaikan rasio gas CO₂:CH₄ yang merepresentasikan peningkatan efisiensi substrat pakan. Peningkatan efisiensi substrat pakan ini berasal dari mekanisme efek tanin pada tepung daun angka dalam mempengaruhi kinerja protozoa dan bakteri metanogen. Penurunan populasi keduanya dapat menurunkan pemakaian gas CO₂ yang digunakan sebagai komponen pembentukan gas metana. Bhatta *et al.* (2007) menjelaskan bahwa komponen utama proses metanogenesis pada ruminansia adalah ion hidrogen dan CO₂.

Penambahan tepung daun angka tidak berpengaruh terhadap produksi gas CO₂ maupun rasio CO₂:metana pada substrat daun *M. oleifera*. Hal tersebut dapat disebabkan oleh belum munculnya pengaruh tanin dalam mereduksi produksi gas metana/DBO. Kemungkinan ini dapat dijelaskan oleh pernyataan Jayanegara *et al.* (2009b) berupa kurangnya konsentrasi tanin yang ditambahkan dalam substrat atau tanin yang digunakan dalam penelitian belum melalui proses purifikasi. Kedua kemungkinan tersebut menggambarkan tanin yang digunakan belum mencapai limit konsentrasi yang dibutuhkan untuk meningkatkan efisiensi pakan berupa penurunan gas metana. Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Sasongko *et al.* (2016) di mana dalam dosis yang sama dengan penelitian ini, penambahan tepung daun angka dapat menurunkan produksi gas metana dan meningkatkan rasio CO₂:metana pada substrat kacang hijau afkir. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh perbedaan karakter serat substrat pakan, dimana tanin lebih mudah mereduksi gas metana pada pakan biji-bijian yang mengandung serat kasar rendah.

Karakteristik produk fermentasi rumen

Peubah hasil fermentasi rumen berupa pH, NH₃, VFA total, populasi protozoa dan DBO dapat dilihat pada Tabel 3. Penambahan tepung daun angka tidak berpengaruh terhadap konsentrasi NH₃ pada kedua hijauan pakan. Penambahan tepung daun angka tidak berpengaruh terhadap nilai pH substrat jerami *V. radiata*. Hal berbeda ditunjukkan pada pemberian 1,4% tepung daun angka pada substrat daun *M. oleifera* yang dapat meningkatkan nilai pH sebesar 6% (P<0,05). Penambahan tepung daun angka juga tidak berpengaruh

terhadap produksi VFA total jerami *V. radiata*, sedangkan produksi VFA total substrat daun *M.oleifera* dapat menurun 32,11% akibat penambahan tepung daun nangka pada taraf 0,7% ($P<0,05$). Pada peubah populasi protozoa, penambahan tepung daun nangka dapat menurunkan populasi protozoa pada kedua substrat hijauan pakan ($P<0,05$). Penambahan 0,7% tepung daun nangka juga dapat meningkatkan DBO sebesar 4,46% (*V. radiata*) dan 3,73% (*M. oleifera*) ($P<0,05$), sedangkan penambahan tepung daun nangka pada taraf 1,4% tidak berpengaruh terhadap nilai DBO.

Nilai pH keenaam perlakuan pada kondisi optimal untuk proses fermentasi dalam rumen yaitu $>6,00$. Mould *et al.* (1984) menjelaskan bahwa proses pencernaan selulosa dalam rumen oleh mikroba akan terhambat pada kondisi pH $<6,00$. Hal tersebut membuktikan bahwa penambahan tepung daun nangka tidak mengganggu proses degradasi pakan secara keseluruhan. Proses degradasi pakan yang tidak terganggu dibuktikan pada nilai peubah DBO yang justru meningkat pada penambahan 0,7% tepung daun nangka. Penambahan tepung daun nangka hanya berdampak pada populasi protozoa yang bersimbiosis langsung dengan bakteri metanogen. Populasi protozoa yang berkurang akan memberikan kesempatan pada bakteri selulolitik untuk berkembang. Konsentrasi NH_3 ketiga perlakuan juga dalam kondisi optimal untuk sistem fermentasi *in vitro* secara tertutup. Wanapat *et al.* (2013) melaporkan bahwa konsentrasi NH_3 yang optimal untuk proses fermentasi pada sistem kultur *in vitro* secara tertutup adalah 5 mg/100 ml, namun tergantung pada laju

fermentabilitas substrat pakan. Konsentrasi NH_3 pada ketiga perlakuan substrat daun *M. oleifera* sedikit lebih tinggi dibandingkan perlakuan jerami *V. radiata*. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan PK pakan daun *M. oleifera* yang lebih tinggi. NH_3 merupakan representasi degradasi protein oleh mikroba rumen menjadi asam amino yang kemudian mengalami deaminasi dan menjadi NH_3 sebagai komponen penting sintesis protein mikroba.

Perubahan produksi VFA total hanya terjadi pada substrat pakan daun *M. oleifera* yang ditambahkan 0,7% tepung daun nangka. Penurunan produksi VFA total dapat disebabkan oleh proses inhibisi pencernaan serat oleh tanin yang terkandung dalam tepung daun nangka. Produksi VFA total yang menurun merupakan refleksi dari perubahan populasi mikroba rumen. El-Waziry *et al.* (2007) melaporkan bahwa penambahan 0,5 mg/ml tanin murni ke dalam substrat pakan jerami dapat menurunkan produksi VFA total sebesar 5,7-11,7%. Namun demikian, penurunan produksi VFA total ternyata tidak berpengaruh terhadap peubah DBO. Penjelasan dari hal ini adalah produksi VFA yang ada masih pada taraf optimal dalam ekosistem mikroba rumen. Rumen kerbau yang diberi pakan jerami padi, jerami padi fermentasi dan konsentrat menghasilkan produksi VFA total berturut-turut 44,8; 48,9 dan 55,9 mM (Chanthakhoun dan Wanapat 2012). Penurunan populasi protozoa akibat penambahan tepung daun nangka dapat disebabkan oleh adanya senyawa tanin dapat menurunkan populasi aktor utama dalam proses metanogenesis di dalam rumen yaitu protozoa (Animut *et al.*, 2008). Hal tersebut berdampak pada populasi bakteri metanogen yang

Tabel 3. Karakteristik produk fermentasi rumen secara *in vitro* pada jerami *V. radiata* dan daun *M. oleifera* yang ditambahkan tepung daun nangka
(characteristics of *in vitro* rumen fermentation product on *V. radiata* straws and *M. oleifera* leaves with jackfruit leave addition)

Sampel (sample)	Tepung daun nangka (%) (Jackfruit leaves meal (%))	pH	NH_3 (mg/100 ml)	VFA total (mM)	Protozoa (x 10 ⁶ sel/ml)	DBO (%)
<i>V. radiata</i>	0	6,70 ^a	4,93	74,25 ^{ab}	2,5 ^b	86,97 ^b
<i>V. radiata</i>	0,7	6,70 ^a	5,16	85,80 ^{ab}	1,7 ^c	90,85 ^a
<i>V. radiata</i>	1,4	6,50 ^{ab}	5,61	80,52 ^{ab}	2,2 ^{bc}	88,23 ^b
<i>M. oleifera</i>	0	6,33 ^b	6,12	92,40 ^a	3,7 ^a	74,50 ^d
<i>M. oleifera</i>	0,7	6,49 ^{ab}	6,46	64,02 ^b	2,2 ^{bc}	77,28 ^c
<i>M. oleifera</i>	1,4	6,71 ^a	6,63	77,88 ^{ab}	1,8 ^{bc}	76,45 ^{cd}
SEM		0,061	0,093	3,027	0,026	1,383

NH_3 : konsentrasi ammonia (ammonia concentration); VFA: volatile fatty acid; DBO: degradasi bahan organik (organic matter degradability); SEM: standard error mean.

^{a,b,c,d} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) (different superscripts at the same row indicate significant differences ($P<0.05$)).

bersimbiosis dengan protozoa. Representasi dari mekanisme tersebut dapat dilihat pada penurunan konsentrasi gas metana (%) substrat daun *M. oleifera* serta kenaikan efisiensi pakan (rasio CO₂:CH₄) pada substrat jerami *V. radiata*. Populasi protozoa yang menurun memiliki relasi dekat terhadap emisi metana (Sofyan *et al.*, 2015).

Kesimpulan

Penambahan tepung daun nangka tidak berpengaruh terhadap produksi gas total, produksi gas maksimum dan laju degradasi substrat pakan jerami *V. radiata* serta daun *M. oleifera*. Produksi gas maksimum dan laju degradasi jerami *V. radiata* lebih tinggi dibandingkan daun *M. oleifera*. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan karakter serat yang mempengaruhi kecepatan degradasi. Penambahan 0,7 dan 1,4% tepung daun nangka dapat menurunkan konsentrasi gas metana substrat daun *M. oleifera* berturut turut sebesar 4,93% dan 3,19%. Pada taraf pemberian yang sama, tepung daun nangka juga mampu meningkatkan rasio CO₂:CH₄ substrat jerami *V. radiata* masing-masing sebesar 4,42 dan 6,49%. Tepung daun nangka juga tidak memberikan efek negatif terhadap performa produk fermentasi rumen (pH, NH₃, VFA total dan DBO).

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ir. Suharyono, M.Rur.Sci, Dr. Irawan Sugoro, Ir. Firsoni, MP, Shintia Nugrahini Wahyu Hardani, AMd dan seluruh staf Laboratorium Produksi Ternak. Penulis juga mengucapkan terima kasih pada bapak Dedi Ansori, saudara Khurin'in dan tenaga lapangan yang membantu kegiatan teknis penelitian .

Daftar pustaka

- Ali, C. S., I. U. Din, M. Sharif, M. Nisa, A. Javaid, N. Hashmi and M. Sarwar. 2009. Supplementation of ruminally protected proteins and amino acids: feed consumption, digestion and performance of cattle and sheep. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 477-482.
- Animut, G., R. Puchala, A. L. Goetsch, A. K. Patra, T. Sahlu, V. H. Varel and J. Wells. 2008. Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. *Anim. Feed. Sci. and Technol.* 144: 228-241.
- AOAC. 2010. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th edn. Revision 3. Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.
- Bhatta, R., M. M. Saravanan, L. Baruah and C. S. Prasad. 2015. Effect of graded level of tannin-containing tropical tree leaves on *in vitro* rumen fermentation, total protozoa and methane production. *J Appl Microbiol.* 118: 557-564.
- Bhatta, R., O. Enishi and M. Kurihara. 2007. Measurement of methane production from ruminants. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20: 1305-1318.
- Blümmel, M., H. Steingass and K. Becker. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporated and its implication for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Br. J. Nutr.* 77: 911-921.
- Bunglavan S. J. and N. Dutta. 2013. Use of tannins as organic protectants of proteins in digestion of ruminants. *J. Livest. Sci.* 4: 67-77.
- Chanthakhoun, V. and M. Wanapat. 2012. The *in vitro* gas production and ruminal fermentation of various feeds using rumen liquor from swamp buffalo and cattle. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 7: 54-60.
- Conway, E. J. 1950. Micro-diffusion Analysis and Volumetric Error. Lockwood. London.
- Dutta, N. dan I. S. Agrawal. 2000. Effects of formaldehyde and heat treatment on protein degradability. *Ind Vet J.* 77: 36-39.
- El-Waziry, A. M., M. E. A. Nasser, S. M. A. Sallam, A. L. Abdallah and I. C. S. Bueno. 2007. Processing methods of soybean meal, 2. Effect of autoclaving and Qucbraho tannin treated soybean meal on gas production and rumen fermentation *in vitro*. *J. Appl. Sci.* 3: 17-24.
- Getachew, G., H. P. S. Makkar and K. Becker. 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *B. J. Nutr.* 84: 73-83.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fibre Analysis (apparatus, reagents, procedures, and some

- application). Agric. handbook 379, ARS., USDA., Washington, DC. USA.
- Hamid, P., T. Akbar, J. Hossein and M. G. Ali. 2007. Nutrient digestibility and gas production of some tropical feeds used in ruminant diets estimated by the *in vivo* and *in vitro* gas production techniques. Am. J. Anim. Vet. Sci. 2: 108-113.
- Haryanto, B. 2012. Perkembangan penelitian nutrisi ruminansia. Wartazoa. 22: 169-177.
- Jayanegara, A. and A. Sofyan. 2008. Penentuan aktivitas biologis tanin beberapa hijauan secara *in vitro* menggunakan "Hohenheim gas test" dengan polietilen glikol sebagai determinan. Media Peternakan 31: 44-52.
- Jayanegara, A. A. Sofyan, H. P. S. Makkar and K. Becker. 2009b. Kinetika produksi gas, pencernaan bahan organik dan produksi gas metana *in vitro* pada hay dan jerami yang disuplementasi hijauan mengandung tanin. Media Peternakan 32: 120-129.
- Jayanegara, A., G. Goel, H. P. S. Makkar and K. Becker. 2015. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population *in vitro*. Anim Feed Sci Tech. 209: 60-68.
- Jayanegara, A., H. P. S. Makkar and K. Becker. 2009a. Emisi metana dan fermentasi rumen *in vitro* ransum hay yang mengandung tanin murni pada konsentrasi rendah. Media Peternakan 32: 185-195.
- Kholif, A. E., G. A. Gouda, T. A. Morsy, A. Z. M. Salem, S. Lopez and A. M. Kholif. 2015. Moringa oleifera leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids profile. Small ruminant Res. 129: 129-137.
- Kongmanila, D. and I. Ledin. 2009. Chemical composition of some tropical foliage species and their intake and digestibility by goats. Asian-Aust J Anim Sci. 22: 803-811.
- Makkar, H. P. S. and K. Becker. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted Moringa oleifera leaves. Anim. Feed Sci. Technol. 63: 211-228.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. J. Agric. Sci. 93: 217-222.
- Mould, F. L., F. R. Orskov and S. O. Mann. 1984. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughage. Anim. Feed Sci. Technol. 10: 15.
- Ogimoto, K. and S. Imai. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Ørskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. J. Agric. Sci. Camb 92: 499-503.
- Pomolango, R., Ch. L. Kaunang dan F. H. Elly. 2016. Analisis Produksi Limbah Tanaman Pangan Sebagai Pakan Ternak Sapi di Kabupaten Bolang Mongondow Utara. Jurnal Zootek 36: 302-311.
- Samadi, Y. Usman dan M. Delima. 2010. Kajian Potensi Limbah Pertanian Sebagai Pakan Ternak Ruminansia di Kabupaten Aceh Besar. Agripet 10: 45-53.
- Sasongko, W. T., Khurin'in and T. Wahyono. 2016. Total gas and methane evaluation of rejected mungbean meal (*Vigna radiata*) with jackfruit leaves addition. Proceeding of International Seminar on Livestock Production and Veterinary Technology. (*in press*).
- Sasongko, W. T., L. M. Yusiati, Z. Bachruddin, dan Mugiono. 2010. Optimalisasi Pengikatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumin. Buletin Peternakan 34: 154-158.
- Serensinhe, T., S. A. C. Madushika, Y. Serensinhe, P. K. Lal and E. R. Ørskov. 2012. Effects of tropical tannin non legume and low tannin legume browse mixtures on fermentation parameters and methanogenesis using gas production technique. Asian-Aust J Anim Sci. 25: 1404-1410.

- Sofyan, A., A. A. Sakti, M. F. Karimy, H. Julendra, L. Istiqomah, H. Herdian, E. Damayanti, and A. E. Suryani. 2015. Effectivity of probiotic, micromineral enriched yeast and their combination with *Azadirachta indica* leaves containing tannin on fermentability and digestibility of *Pennisetum hybrid*. *JITV*. 20: 95-104.
- Soliva, C. R., M. Kreuzer, N. Foidl, G. Foidl, A. Machmüller and H. D. Hess. 2005. Feeding value of whole and extracted *Moringa oleifera* leaves for ruminants and their effects on ruminal fermentation *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 118: 47–62.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*, 2nd ed., McGraw-Hill., New York.
- Sudrajat, P. dan Sarjana. 2011. Pemanfaatan Brangkasan Kacang Hijau sebagai Pakan Alternatif Kambing dan Domba Saat Musim Penghujan di Grobogan. Prosiding Semiloka Nasional Dukungan Agro-Inovasi untuk Pemberdayaan Petani. 14 Juli 2011. Semarang, Jawa Tengah.
- Suharyono dan Y. Widiawati. 2007. Ekosistem rumen sapi PO yang diberi pakan suplemen multi-nutrien (SPM) atau legor. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 71-76.
- Suprpto H., F. M. Suhartati dan T. Widiyastuti. 2013. Kecernaan serat kasar dan lemak kasar complete feed limbah rami dengan sumber protein berbeda pada kambing peranakan etawa lepas sapih. *Jurnal Ilmiah Peternakan* 1: 938-946.
- Wahyuni, I. M. D., A. Muktiani dan M. Christiyanto. 2014. Kecernaan bahan kering dan bahan organik dan degradabilitas serat pada pakan yang disuplementasi tannin dan saponin. *Agripet* 2: 115-125.
- Wanapat, M., S. Kang and K. Phesatcha. 2013. Enhancing buffalo production efficiency through rumen manipulation and nutrition. *Buffalo Bull.* 32 (1): 258-275.
- Widiawati, Y., M. Winugroho, dan P. Mahyuddin. 2010. Estimasi produksi gas metana dari rumput dan tanaman leguminosa yang diukur secara *in vitro*. Prosiding seminar nasional teknologi peternakan dan veteriner 3-4 Agustus 2010. Bogor: 131-136.