

---

**KADAR VFA DAN N-NH<sub>3</sub> DOMBA LOKAL YANG DIBERI PAKAN  
MENGANDUNG EKSTRAK BUNGA WARU (*Hibiscus tiliaceus*)  
DENGAN BAHAN PEMBAWA YANG BERBEDA SECARA *IN  
VITRO*  
*VFA AND N-NH<sub>3</sub> LEVELS OF SHEEP FED DIET CONTAINING OF  
WARU FLOWERS (*Hibiscus tiliaceus*) EXTRACT WITH  
DIFFERENT CARRIERS IN VITRO***

**Tono Purwanto, Muhammad Bata dan Sri Rahayu**  
Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Email : almasasyifa09@gmail.com

**ABSTRAK**

**Latar Belakang.** Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh dari bahan pembawa dan dosis ekstrak bunga waru (*Hibiscus tiliaceus*) terhadap kadar VFA dan N-NH<sub>3</sub> rumen domba lokal. **Materi dan Metode.** Bahan pakan yang digunakan adalah jerami padi amoniasi dan konsentrat dengan perbandingan bahan kering (BK) 40:60. Metode yang digunakan adalah eksperimental yang dirancang sesuai Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 2x3. Terdapat dua faktor yang digunakan pada penelitian ini. Faktor pertama adalah bahan pembawa berupa dedak padi (DP) dan ampas tahu (AT). Faktor kedua adalah 3 (tiga) dosis ekstrak bunga waru, sehingga menghasilkan kombinasi 6 kombinasi perlakuan. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan terdapat kecenderungan interaksi (P=0,057) antara ekstrak bunga waru dan bahan pembawa terhadap kadar VFA rumen, akan tetapi tidak nyata (P>0,05) terhadap N-NH<sub>3</sub>. Baik bahan pembawa maupun dosis ekstrak bunga waru berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap kadar VFA, namun demikian tidak berpengaruh nyata (P>0,05) terhadap kadar N-NH<sub>3</sub>. Hasil uji ortogonal polinomial menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak bunga waru menyebabkan peningkatan VFA secara kuadratik dengan terbaik adalah 60 ppm dengan pembawa adalah dedak padi. **Simpulan.** Dosis ekstrak bunga waru 60 ppm dengan bahan pembawa dedak padi mampu meningkatkan produksi VFA rumen.

**Kata kunci:** bahan pembawa, dosis, bunga waru, N-NH<sub>3</sub>, VFA

**ABSTRACT**

**Background.** The purpose of the research was to study the effect of carrier and Hibiscus tiliaceus flower extract on VFA and N-NH<sub>3</sub> rumen production of local sheep. **Materials and Methods.** The feed ingredients used were rice straw ammoniation and concentrate with dry matter ratio of 40:60. The method used experiment designed according to completely randomized design (CRD) of Factorial pattern of 2x3. There were two factors used in this research. The first factor was the carrier of rice bran (DP) and tofu byproduct (AT). The second factor were the three dosage of extract. Therefore, there were six combination used as treatments. **Results.** The results showed that there was an interaction tendency (P<0,057) between Hibiscus tiliaceus flower extract and carrier on VFA production. However it was not significant effect (P>0,05) on N-NH<sub>3</sub> production. Both carrier and dosage had significant effect (P<0,05) on VFA levels, while, N-NH<sub>3</sub> did not effect (P>0,05). Orthogonal polynomial test showed that increasing of Hibiscus tiliaceus extract caused enhancing of VFA

production quadratically and the highest VFA production achieved at 60 ppm with rice bran as carrier. **Conclusion.** The dosage of 60 ppm of *Hibiscus tiliaceus* extract with rice bran carrier produced highest of VFA production.

**Keywords:** dosage, carrier, *Hibiscus tiliaceus* flower, N-NH<sub>3</sub>, VFA

## PENDAHULUAN

Domba adalah hewan ruminansia yang memiliki sistem pencernaan unik karena terdapat rumen didalamnya. Rumen memiliki sistem pencernaan yang dibantu oleh mikroorganisme dalam mencerna pakan seperti serat kasar. Serat kasar merupakan makanan utama hewan ruminansia karena di dalam saluran pencernaanya terjadi proses pencernaan fermentatif selain terdapat proses pencernaan enzimatis. Peningkatan produktivitas ternak ruminansia dapat dilakukan dengan cara memanipulasi pakan yang masuk terutama serat kasar dengan mengoptimalkan mikroorganisme rumen untuk mencerna serat kasar.

Salah satu cara memanipulasi pakan adalah dengan cara defaunasi dan penambahan DFM (*Direct feed microbials*). Defaunasi pada ternak ruminansia bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme merugikan yaitu protozoa. Protozoa merupakan predator utama dari bakteri rumen. Bakteri rumen sangat dibutuhkan oleh ternak ruminansia untuk mencerna serat kasar yang nantinya akan menghasilkan produk fermentasi rumen berupa VFA dan N-NH<sub>3</sub> untuk produktivitas ternak. Cara defaunasi dapat dilakukan dengan penambahan pakan additif yaitu penambahan saponin pada pakan untuk menurunkan populasi protozoa. Penambahan DFM dapat menyeimbangkan komposisi mikroba di dalam rumen. Jenis mikroba yang biasa digunakan sebagai DFM adalah bakteri penghasil laktat, bakteri pengguna laktat, *yeast*, *S cerevisiae* dan *Aspergillus sp* (Seo et al., 2010).

Saponin akan mengikat sterol yang merupakan membran sel pembentuk protozoa, sehingga protozoa akan hancur sehingga populasi protozoa akan berkurang (Sukmawati, 2011). Saponin banyak terdapat pada tumbuhan seperti daun dan bunga waru, namun kandungan saponin pada bunga waru lebih tinggi dibandingkan dengan daun waru yaitu 14% dan 3% (Bata dan Rahayu, 2017). Pohon waru banyak terdapat di daerah pesisir pantai, yaitu di daerah Cilacap lebih tepatnya lagi adalah di daerah pantai Teluk Peny, karena pohon waru mampu hidup pada kondisi lingkungan yang panas dan berpasir, sehingga bunga waru dapat diproduksi setiap saat dalam kondisi tersebut, oleh karena itu ketersediaannya sangat berlimpah. Permasalahan yang sering terjadi adalah kandungan saponin dan bahan bioaktif lain pada bunga waru berbeda - beda diakibatkan umur bunga waru sehingga perlu dibuat ekstrak bunga waru agar dosis saponin yang diberikan homogen dan mudah untuk diukur. Hasil ekstraksi bunga waru sangat sedikit sekali jumlahnya, sehingga perlu adanya bahan pembawa seperti dedak dan ampas tahu agar jumlah dan pemberian ke ternak menjadi lebih mudah dan homogen.

Bahan pembawa yang digunakan merupakan bahan yang biasa digunakan sebagai pakan ternak yang nantinya akan dicampurkan dengan ekstrak bunga waru. Dedak dan ampas tahu dipilih karena merupakan bahan pakan konvensional, selain

itu bahan tersebut memiliki tekstur yang mudah untuk dicampurkan dengan ekstrak bunga waru, harapannya saponin yang berasal dari ekstrak bunga waru dapat dikonsumsi ternak dengan lebih baik, Diharapkan pakan yang mengandung ekstrak bunga waru menghasilkan produk fermentasi rumen berupa VFA dan N-NH<sub>3</sub> yang optimal.

Pemberian pakan aditif berupa saponin dari bunga waru mampu menimbulkan efek defaunasi pada rumen. Efek defaunasi menyebabkan degradasi pakan menjadi lebih lebih optimal, sehingga produktivitas ternak menjadi meningkat. Penelitian ini dilakukan untuk mengkajia kadar VFA dan N-NH<sub>3</sub> domba lokal pada berbagai dosis dan bahan pembawa ekstrak bunga waru. Kajian tersebut diharapkan dapat menjadi referensi untuk mengatasi permasalahan peternak dengan memanfaatkan pakan alternatif yang belum dioptimalkan.

### **MATERI DAN METODE**

Materi yang digunakan adalah cairan rumen yang berasal dari domba lokal dewasa umur  $\geq 1$  tahun sebanyak 3 ekor yang diambil cairan rumennya di Rumah Potong Hewan (RPH) Sokaraja, setelah domba dipotong. Alat yang digunakan adalah seperangkat pengujian *in vitro* (VFA dan N-NH<sub>3</sub>). Bahan penelitian yang digunakan adalah ekstrak bunga waru, dedak padi dan tepung ampas tahu sebagai bahan pembawa, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, NaOH 0,5 N sebanyak 5ml, indikator PP, HCL 0,5%, 0,0066 BCD (*brom cresol green*), 0,0033 g MR (*metilred*), 10 ml alkohol, 4 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 78 ml aquades, NaCO<sub>3</sub>, jerami padi amoniasi serta konsentrat. Dosis ekstrak bunga waru yang digunakan adalah 50 ppm dan 100 ppm. Rasio jerami padi amoniasi : konsentrat adalah 40 : 60% (Bahan Kering) Komposisi konsentrat tersusun (berdasarkan 100% BK) atas onggok 47,8%, pollard 25%, bungkil sawit 11%, bungkil kelapa 7,8%, bungkil kedelai 1%, garam 1%, dolomit 1%, urea 1%, garam 1%, mineral 0,3%, tetes 4% dan 0,5% DFM (*direct feed microbials*).

Peubah yang diukur adalah produk fermentasi rumen (VFA dan N-NH<sub>3</sub>) pada domba lokal yang diberi jenis bahan pembawa ekstrak bunga waru dengan dosis berturut-turut 50 ppm dan 100 ppm. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial. Faktor A adalah jenis bahan pembawa ekstrak bunga waru dedak padi (DP) dan ampas tahu (AT). Faktor B adalah dosis ekstrak bunga waru (0 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm), sehingga disebut 2x3 faktorial dengan 5 kali ulangan pada setiap perlakuan. Perlakuan yang diuji adalah W0AT = Taraf ekstrak bunga waru 0 ppm dengan bahan pembawa ampas tahu, W1AT = Taraf ekstrak bunga waru 50 ppm dengan bahan pembawa ampas tahu, W2AT = Taraf ekstrak bunga waru 100 ppm dengan bahan pembawa ampas tahu, W0DP = Taraf ekstrak bunga waru 0 ppm dengan bahan pembawa dedak padi, W1DP = Taraf ekstrak bunga waru 50 ppm dengan bahan pembawa dedak padi.

### **Tahap In Vitro**

Penelitian secara *in vitro* dilakukan dengan metode Tilley and Terry (1963). Pengambilan cairan rumen dilakukan dengan menggunakan termos yang diisi air panas. Cairan rumen diambil dari domba lokal dewasa yang dipotong di Rumah

Pemotongan Hewan. Cairan rumen diperas dan disaring menggunakan kain, dimasukkan ke dalam termos hangat setelah air panas dibuang, kemudian segera dibawa ke laboratorium. *In vitro* dilakukan dengan menggunakan tabung fermentor yang telah diisi 2 g sampel perlakuan ditambahkan 24 ml larutan *Mc Dougalls* dan 16 ml cairan rumen dimasukkan ke dalam *shaker waterbath* dengan suhu 39° C dan dialiri gas CO<sub>2</sub> diawal inkubasi dan ditutup dengan karet berventilasi dan difermentasi selama 4 jam (Sutardi, 1979). Hasil fermentasi ditetesi 2-3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk membunuh mikroba. Pakan di dalam tabung fermentor disaring dengan kertas saring. Residu digunakan untuk menganalisis Sintesis Protein Mikroba, sedangkan supernatan akan digunakan untuk menganalisis VFA dan N-NH<sub>3</sub>.

#### **Pengukuran VFA**

Pengukuran VFA total dilakukan dengan metode penyulingan uap (Krooman *et al.*, 1967). Supernatan dimasukan ke dalam tempat sampel sebanyak 5 ml dan kemudian ditambah 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%. Destilat ditampung dalam labu erlenmeyer 250 ml yang telah diisi dengan NaOH 0,5 N hingga volume destilat mencapai 100 ml. Destilat tersebut ditambah 2 tetes phenolphthalein (PP) 1% dan dititrasi dengan HCl 0,5 N sampai terjadi perubahan warna. Blangko dibuat sebagai kontrol, dengan cara 5 ml NaOH 0,5 N dititrasi dengan HCl 0,5 N. Setelah data sampel dan blangko didapat, dihitung kadar VFA total.

#### **Pengukuran N-NH<sub>3</sub>**

Pengukuran kadar N-NH<sub>3</sub> menggunakan teknik mikrodifusi conway (*General Laboratory Procedures*, 1966). Tahap pertama dalam pengukuran N-NH<sub>3</sub> adalah mempersiapkan cawan conway dengan mengolesi vaselin pada cawan dan penutupnya. Asam Borat berindikator diambil 1 ml dan ditetaskan di tengah cawan, supernatan 1 ml ditetaskan pada bagian kanan dan 1 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ditetaskan pada cawan bagian kiri. Cawan ditutup lalu digerakan secara perlahan agar seluruh cairan tercampur dan diinkubasi selama 24 jam di suhu ruang. Setelah 24 jam, larutan dititrasi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda dan dihitung kadar N-NH<sub>3</sub>.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan interaksi (P=0,057) antara dosis ekstrak bunga waru dengan bahan pembawa terhadap kadar VFA rumen. Gambar 1. menunjukkan bahwa peningkatan level ekstrak bunga waru sampai pada level 50 ppm bahan pembawa ampas tahu dan dedak padi menghasilkan peningkatan kadar VFA, dan setelah dosis tersebut, (50 ppm sampai dengan 100 ppm) selanjutnya mengalami penurunan, namun demikian peningkatan kadar VFA pada bahan pembawa dedak padi cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan bahan pembawa ampas tahu. Peningkatan kadar VFA rumen menunjukkan adanya efek yang ditimbulkan oleh ekstrak bunga waru yang ditambahkan dalam pakan. Tanaman waru memiliki kandungan senyawa bioaktif yaitu saponin dan asam furamat. Bata dan Rahayu (2017) menyatakan bahwa bunga waru ketika dilarutkan menggunakan etanol memiliki kandungan saponin 14%, lebih tinggi

dibandingkan daun waru yang hanya memiliki kandungan saponin 4%. Oleh karena itu penggunaan bunga waru diduga memiliki efek defaunasi yang lebih baik dibandingkan dengan daun waru.

Hasil penelitian menunjukkan respon kuadrat. Penambahan ekstrak bunga waru dengan level 50 ppm meningkatkan kadar VFA rumen dan mengalami penurunan kadar VFA pada level 100 ppm. Hal tersebut diduga karena ekstrak bunga waru memiliki kandungan zat antibakteri dan zat antinutrisi yang dapat mengganggu stabilitas bakteri dalam rumen (Afriyanti, 2008) sehingga menurunkan kadar VFA rumen. Ditambahkan oleh Patra dan Sexana (2009) menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi efektifitas saponin menekan populasi protozoa adalah dosis saponin. Selain itu penurunan kadar VFA juga disebabkan karena di dalam ekstrak daun waru mengandung senyawa *quinolone*, yaitu sejenis antibiotik yang dapat mengganggu aktivitas bakteri selain saponin yang berfungsi menekan populasi protozoa (Bata dan Rahayu, 2017).

Hasil uji lanjut dosis ekstrak bunga waru menunjukkan kadar VFA yang diberi ekstrak bunga waru terbaik di dapatkan pada dosis 60 ppm yaitu 160 mM dan selanjutnya mengalami penurunan. Penurunan kadar VFA diakibatkan karena peningkatan dosis saponin berdampak negatif terhadap aktivitas bakteri rumen selain menurunkan populasi protozoa. (Bata dan Rahayu (2016) menyatakan bahwa kadar VFA rumen yang diberi ekstrak bunga waru pada dosis 200 ppm adalah  $149,33 \pm 8,33$  mM. Perbedaan tersebut menunjukkan dosis ekstrak bunga waru 60 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan 200 ppm, oleh karena itu dosis ekstrak bunga waru 60 ppm sudah cukup untuk menghasilkan efek defaunasi yang optimal. Namun perlu diingat bahwa pemberian ekstrak bunga waru yang dilakukan secara terus menerus dapat mengakibatkan ketidakefektifan saponin dalam proses defaunasi karena protozoa telah beradaptasi dengan saponin Patra dan Sexana (2009).

Ekstrak bunga waru yang diberikan sebelumnya ditambahkan bahan pembawa terlebih dahulu agar ekstrak bunga waru dapat masuk secara optimal kedalam rumen ternak. Bahan pembawa yang digunakan adalah dedak padi dan ampas tahu. Dedak padi dan ampas tahu dipilih karena keduanya merupakan bahan pakan yang biasa digunakan sebagai bahan pakan ternak ruminansia. Rata-rata kadar VFA ekstrak bunga waru dengan bahan pembawa dedak padi menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan ampas tahu. Ampas tahu merupakan sumber protein sehingga memiliki kemampuan mengikat zat bioaktif karena memiliki rantai samping pada struktur asam aminonya (Tifani, *et.al.* 2015) sehingga saponin yang ada pada ekstrak bunga waru akan membentuk ikatan kompleks sehingga lebih susah untuk dilepaskan dalam rumen. Sedangkan dedak padi memiliki kemampuan untuk memerangkap karena ikatan lignin mengalami perenggangan karena proses fisik yaitu penggilingan sehingga lebih mudah melepaskan saponin didalam rumen. Oleh karena itu dedak padi memiliki efek yang lebih baik sebagai bahan pembawa dibandingkan dengan ampas tahu. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Bata dan Rahayu (2017) menyatakan bahwa penambahan dedak padi sebagai bahan

pembawa cenderung meningkatkan produk fermentasi rumen (VFA) yaitu dari 118 – 142,67mM. Sehingga dedak padi lebih direkomendasikan sebagai bahan pembawa dibandingkan ampas tahu (Bata dan Rahayu, 2016).

Pemberian ekstrak bunga waru pada level 50 dan 100 ppm tidak menyebabkan perubahan terhadap konsentrasi N-NH<sub>3</sub>, namun konsentrasinya relatif rendah. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara bahan pembawa dengan dosis ekstrak bunga waru ( $P>0.05$ ) terhadap kadar N-NH<sub>3</sub> pada pakan domba lokal. Pakan dengan penambahan ekstrak bunga waru cenderung meningkatkan kadar N-NH<sub>3</sub> rumen dibandingkan pakan control. Kadar N-NH<sub>3</sub> tertinggi dengan bahan pembawa dedak padi pada dosis 100 ppm, namun pada bahan pembawa ampas tahu diperoleh kadar N-NH<sub>3</sub> tertinggi pada dosis 50 ppm. Pakan yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan yang sama, selain itu penambahan ekstrak bunga waru dengan bahan pembawa juga tidak mempengaruhi komposisi pakan karena jumlahnya yang sangat sedikit sehingga diduga menyebabkan konsentrasi N-NH<sub>3</sub> tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan pemberian ekstrak bunga waru dengan bahan pembawa. Bata dan Rahayu (2017) menyatakan bahwa penambahan ekstrak bunga waru dengan bahan pembawa dedak padi tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) namun dapat meningkatkan kadar N-NH<sub>3</sub> sampai 9,33 mM dari kontrol yaitu 9,130 mM.

Penambahan ekstrak bunga waru dengan bahan pembawa dedak padi menghasilkan produksi N-NH<sub>3</sub> yang lebih tinggi dibandingkan dengan bahan pembawa ampas tahu, diduga karena dedak padi lebih mudah untuk melepaskan saponin dibandingkan dengan ampas tahu karena dedak padi hanya bersifat memerangkap, sementara itu ampas tahu bersifat mengikat sehingga lebih sulit untuk melepaskan saponin yang terdapat dalam pakan sebagai agen defaunasi. Bahan pembawa ampas tahu diduga menyebabkan protozoa menjadi resisten karena keberadaan saponin yang terlalu lama di dalam rumen karena sifat dari ampas tahu yang mengikat saponin (Hayuningtyas, *et.,al.* 2017) . Fungsi defaunasi adalah mengurangi populasi protozoa dalam rumen. Untuk meningkatkan ketersediaan N dalam rumen dapat dilakukan dengan defaunasi (Herdian, *et.,al.* 2011). Defaunasi juga dapat meningkatkan pemanfaatan nitrogen oleh ruminansia (Wahyuni, *et.,al.* 2014).

Produksi N-NH<sub>3</sub> dalam penelitian cukup rendah namun masih dapat memenuhi kebutuhan untuk sistesis protein. Rahmadi, *et al.* (2010) menyatakan bahwa konsentrasi N-NH<sub>3</sub> yang dibutuhkan untuk mendukung sintesis mikroba berkisar antara 3,75 sampai dengan 7,14. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar N-NH<sub>3</sub> pada penelitian masih dapat untuk terjadinya sintesis mikroba, 35% mikroba rumen adalah bakteri proteolitik yang mampu mendegradasi protein pakan menjadi N-NH<sub>3</sub> yang akan dimanfaatkan mikroba untuk pertumbuhan. N-NH<sub>3</sub> (amonia) merupakan produk utama fermentasi protein pakan oleh mikroba rumen. semakin tinggi kadar N-NH<sub>3</sub> dalam rumen menunjukkan semakin tinggi protein pakan yang mengalami fermentasi (Hartono, *et.,al.* 2015). Beberapa faktor yang mempengaruhi konsentrasi N-NH<sub>3</sub> antara lain adalah kandungan protein pakan dan tingkat degradasi protein

(Arum, *et.al*, 2013). Selain itu juga N-NH<sub>3</sub> juga digunakan untuk untuk sistetis tubuh mikroba yang ada di dalam rumen (Hartono, *et.al*. 2015). Dilanjutkan oleh Rahmadi, *et.,al.*, (2010) yang menyatakan bahwa protein pakan di ubah menjadi oligopeptida oleh bakteri proteolitik yang dihasilkan oleh mikroba rumen dan selanjutnya oligopeptida yang mudah terfermentasi dimanfaatkan oleh mikroorganisme rumen untuk membentuk tubuhnya dan sebagian dihidrolisis lagi menjadi asam amino, oleh karena itu hasil dari produksi N-NH<sub>3</sub> pada penelitian ini tidak signifikan.

#### **KESIMPULAN**

Produksi VFA rumen tergantung dosis dan bahan pembawa ekstrak bunga waru. Penambahan dosis ekstrak bunga waru sebanyak 60 ppm dengan bahan pembawa dedak padi menghasilkan kadar VFA rumen domba lokal tertinggi.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Afriyanti, M., 2008. Fermentabilitas dan pencernaan in vitro ransum yang diberi kursin bungkil biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L) pada ternak sapi dan kerbau. Skripsi. Fakultas Peternakan, Institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Arum, I., S. Rahayu dan M. Bata. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) pada Pakan Sapi Potong Lokal Terhadap Produksi VFA Total dan NH<sub>3</sub> Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 1(1): 21-38.
- Bata, M., dan S. Rahayu. 2017. Evaluation of Bioactive Substances in *Hibiscus tiliaceus* and its Potential as a Ruminant Feed Additive. *Bentham Science Publisher*. 13:157-164.
- Bata, M., and S. Rahayu. 2016. Study of *Hibiscus tiliaceus* Leaf Extract Carrier as Additive in the Diets for Fattening of Local Cattle (In Vitro). *Pak. J. Nurt.* 15 (111).
- General Laboratory Procedures. 1966. Department Of Dairy Science. University of Wisconsin. Madison.
- Hartono, R., Y. Fenita dan E. Sulistyowati. 2015. Uji In Vitro Kecernaan Bahan Kering, Bahan Organik dan Produksi N-NH<sub>3</sub> pada Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus*) yang Difermentasi Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) dengan Perbedaan Waktu Inkubasi. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 10(2): 87-94.
- Hayuningtyas, I., M. Bata dan S. Rahayu. 2017. Kajian Bahan Pembawa Ekstrak Daun Waru terhadap Kecernaan Serat Kasar dan Protein Kasar Pakan Domba. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.
- Herdian, H., L. Istiqomah., A. Febrisiantosa., dan D. Setiabudi. 2011. Pengaruh Penambahan Daun *Morinda Citrifolia* sebagai Sumber Saponin terhadap Karakteristik Fermentasi, Defaunasi Protozoa, Produksi Gas dan Metana Cairan Rumen secara In Vitro. *JITV* 16(2): 88-104.
- Rahmadi, D., Sunarso., J. Achmadi., E. Pangestu, A. Muktiani, M. Cristiyanto, Surono dan Surahmanto. 2010. *Ruminologi Dasar*. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Seo, J. K., Kim. J. S., Kim. M. H., Uphadaya S. D., Kam. D. K., Ha J. K. 2010. Direct feed microbials for ruminant animals. *Asian- Australian journal of animal Science* 23:1657-1667.

- Patra, A. K., dan J. Saxena. 2009. The Effect and Mode of Action of Saponins on The Microbial Populations and Fermentation in The Rumen and Ruminant Production. *Nutrition Research Review*. 22(2): 204-219.
- Tifani, M. A., S. Kumalaningsih, A. F. Mulyadi. 2015. Produksi Bahan Pakandengan Fermentasi Menggunakan EM4 (Kajian pH Awal dan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Tilley, J. M. A., dan R. A. Terry. 1963 A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops *Current Contents/Journal of the British Grassland Society* 18:104-111.
- Wahyuni, I. M. D., A. Muktiani dan Christanto. 2014. Penentuan Dosis Tanin dan Saponin Untuk Desaunasi dan Peningkatan Fermentabilitas Pakan. *JTTP* 3(3):54-60.