



**PENGARUH PROTEKSI PROTEIN BUNGKIL KELAPA SAWIT
DENGAN TANIN TERHADAP FERMENTABILITASNYA
SECARA *IN VITRO***

*(Impact of Palm Oil Meal Protein Protected Tannin on
Their Fermentability In Vitro)*

A.Y. Bakhtiar, Sutrisno, dan Sunarso
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

ABSTRACT

The study purpose is to evaluate effect of palm oil meal protein protected by tannin level of mangrove leaf on their fermentability in vitro. Completely randomized design (CRD) is used in this study with 4 replication and 4 treatments such as follows: T0 (palm oil meal + without tannin), T1 (palm oil meal + tannin 0.25%), T2 (palm oil meal + tannin 0.50%), T3 (palm oil meal + tannin 0.75%). Data are statistically analyzed using analysis of variance, and to test differences among treatment is used Duncan Multiple Range Test. Result of this study show that level of tannin have significantly effect ($p < 0.05$) on the NH_3 concentration, undegraded dietary protein and total protein in vitro. NH_3 concentration, UDP, and their protein total namely T0, T1, T2 and T3 (3.49; 2.54; 2.39; 2.32 mM), (52.46; 55.74; 56.41; 61.84 %), and (208.98; 213.88; 215.70; 240.51 mg/g). Variance analysis test show that tannin replenishment has real affect ($p < 0.05$) to NH_3 , UDP, and total protein of palm oil meal. The study can be concluded that coconut palm oil meal protein protection with mangrove leaves tannin 0.75% proved decrease ammonia concentration (NH_3), increase total protein and protein percent are not degradation.

Keyword: Palm oil meal, Tannin, Protein Total

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh level penambahan tanin daun mangrove guna memproteksi protein bungkil kelapa sawit terhadap fermentabilitasnya secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Kombinasi perlakuan adalah T0 (bungkil kelapa sawit+tanpa tanin), T1 (bungkil kelapa sawit+tanin 0,25%), T2 (bungkil kelapa sawit+tanin 0,50%), T3 (bungkil kelapa sawit+tanin 0,75%). Hasil penelitian diolah secara statistik dengan analisis sidik ragam dan jika terdapat pengaruh nyata akibat perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan multiple range test* dengan taraf 5% untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil penelitian didapatkan rata-rata pada T0,T1,T2,T3 konsentrasi amonia secara berturut-turut 3,49; 2,54; 2,39; 2,32 mM, persentase UDP berturut-turut 52,46; 55,74; 56,41; 61,84 %, dan produksi protein total berturut-turut 208,98; 213,88; 215,70; 240,51 mg/g. Uji variansi menunjukkan bahwa penambahan aras tanin berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap NH_3 , UDP, dan

protein total bungkil kelapa sawit. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa proteksi bungkil kelapa sawit menggunakan 0,75% tanin daun mangrove terbukti menurunkan nilai konsentrasi amonia (NH_3) serta meningkatkan produksi protein total dan persentase protein tidak terdegradasinya.

Kata kunci: Bungkil kelapa sawit, Tanin, Protein Total

PENDAHULUAN

Berbagai upaya telah dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ternak ruminansia diantaranya dengan melakukan pemuliaan bibit dan perbaikan pakan. Usaha perbaikan pakan dilakukan dengan menyediakan pakan berkualitas tinggi yang mampu menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh ternak. Kebutuhan ternak akan protein dipenuhi dari tiga sumber yaitu protein yang berasal dari mikroba rumen, protein yang berasal dari pencernaan pasca rumen (*abomasum* dan *intestinum*) dan protein yang berasal dari luruhan saluran pencernaan.

Bungkil kelapa sawit merupakan hasil samping pengolahan kelapa sawit yang proporsinya paling banyak dihasilkan 12% dari tandan buah segar (Suparjo, 2000). Ketersediaan produk samping kelapa sawit tidak dipengaruhi oleh musim kemarau, sehingga dapat tersedia sepanjang tahun. Berbagai macam produk samping asal kelapa sawit dapat diformulasikan menjadi ransum komplit yang sesuai dengan kebutuhan ternak ruminansia. Kandungan protein yang terdapat dalam produk samping kelapa sawit secara umum lebih tinggi dibandingkan dengan hijauan rumput gajah. Menurut Hartadi *et al.* (1993), bungkil kelapa sawit dalam bahan keringnya mengandung protein kasar (PK) 16,8%, lemak kasar (LK) 11,9%, serat kasar (SK) 22,6%, abu 4,07%, BETN (bahan ekstrak tanpa nitrogen) 44,63%, dan TDN (total digestible nutrien) 78%. Bungkil kelapa sawit merupakan sumber protein yang mudah terdegradasi di dalam rumen, protein pakan yang masuk ke dalam rumen akan didegradasi oleh mikroba rumen menjadi asam amino kemudian deaminasi menjadi NH_3 dan asam α keto.

Amonia merupakan produk proses pencernaan secara fermentatif dari protein yang dilakukan mikroba rumen. Amonia berperan sebagai sumber N untuk pembentukan protein mikroba. Mikroba rumen memerlukan pasokan N yang berkesinambungan, karena jika pasokan N sedikit atau terbatas maka mikroba rumen tidak bisa berkembang biak dengan baik. Secara normal konsentrasi amonia yang optimal bagi sintesis protein mikroba berkisar antara 3,57 – 7,14 mM (Rahmadi *et al.*, 2010). Protein pakan yang didegradasi semakin banyak oleh mikroba rumen menjadi NH_3 akan berakibat pada kurangnya pasokan protein yang akan dicerna pasca rumen. Perlu adanya upaya untuk menurunkan degradabilitasnya melalui proses proteksi protein dengan menggunakan tanin tanpa menurunkan kecernaan protein pasca rumen, sehingga mampu meningkatkan pasokan asam amino yang diabsorpsi dalam *intestinum*.

Tanin merupakan senyawa yang dapat dipergunakan untuk melindungi protein pakan dari degradasi yang berlebihan di dalam rumen. Tanin mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein sehingga mampu melindungi protein dari degradasi mikroorganisme di dalam rumen. Kompleks tanin dengan

protein ini bersifat stabil pada pH 4 - 7 dan akan terurai kembali pada pH kurang dari 4 atau di atas 7 (Subrata, 2005). Sumber tanin alami bermacam-macam antara lain daun mangrove, daun jambu biji, dan kaliandra. Proteksi protein bungkil kelapa sawit dengan menggunakan tanin akan mengurangi pendegradasian protein pakan oleh mikroba rumen berakibat pada menurunnya konsentrasi NH_3 rumen dan meningkatnya *undegraded protein*.

UDP (*Undegraded Dietary Protein*) adalah protein pakan yang tidak didegradasi oleh mikroba rumen, atau protein pakan yang tahan terhadap serangan mikrobial di dalam rumen. Widyobroto *et al* (2007) berpendapat bahwa UDP merupakan protein asal pakan yang tidak didegradasi di dalam rumen, akibatnya dapat langsung mengalami proses pencernaan enzimatik di dalam *abomasum* dan *intestinum*. Peningkatan Pasokan jumlah protein ransum yang tidak didegradasi ditujukan untuk meningkatkan jumlah protein dan asam amino untuk dapat dicerna dan diserap di dalam *intestinum*.

Protein total merupakan protein yang terdiri dari protein pakan yang tidak didegradasi dalam rumen dan protein mikrobial. Protein yang lolos dari degradasi rumen berkisar antara 20 sampai 80 %, tergantung pada kelarutannya dalam cairan rumen (Sutardi, 1978). faktor-faktor yang mempengaruhi produksi protein total antara lain: produksi amonia, kerangka karbon, dan sumber energi. Pemilihan sumber protein bagi ruminansia sekurang-kurangnya harus didasarkan pada 3 hal, yaitu: protein itu sanggup mendukung perkembangan mikroba yang maksimal, tahan terhadap degradasi dalam rumen dan bernilai hayati tinggi (Buttery dan Lewis, 1974).

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan mengkaji aras tanin daun mangrove untuk proteksi protein bungkil kelapa sawit terhadap konsentrasi amonia (NH_3), UDP dan protein total.

Materi yang digunakan untuk penelitian adalah bungkil kelapa sawit, tanin daun mangrove dan kit reagensia untuk *in vitro*. Peralatan yang digunakan adalah *beaker glass*, tabung fermentor, *waterbath*, labu takar 500 ml, labu destruksi, peralatan titrasi, *stirrer*, kertas saring *Whatmann 41*, kertas saring bebas abu, batang pengaduk, *crusible porcelain*, gelas ukur, timbangan analitis, cawan petri, Erlenmeyer, corong, oven, alat destilasi beserta pendingin *Leibig*, penangas air, cawan *Conway*, pipet 1 ml, pipet 2 ml, pipet 5 ml dan alat tulis.

Metode

Langkah pertama yang dilakukan yaitu menggiling daun mangrove sampai halus kemudian masukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan alkohol 96% dengan perbandingan 1:3 (bobot : volume) (50 g sampel : 150 ml pelarut) dan didiamkan selama 12 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kain bersih. Selanjutnya diuapkan hingga ekstrak lebih pekat kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C untuk memperoleh kristal tanin.

Penentuan kadar tanin terkondensasi ditentukan dengan menggunakan ekstrak kering oven dengan cara memasukkan 5 g ekstrak tanin ke dalam *beacker glass* yang telah berisi 175 ml aquades, kemudian mengaduknya hingga homogen. Menambahkan 28,5 ml HCl (0,28 N) dan 1 ml larutan formaldehid (37%) ke dalam larutan tersebut, lalu mengaduknya selama 5 menit. Kemudian menyaring endapan dengan kertas saring *Whatmann 41* menggunakan pompa vakum, kemudian membilasnya dengan aquades. Mengeringkan endapan dalam oven dan menimbang bobotnya.

Langkah kedua setelah diketahui kadar tanin dari ekstrak daun mangrove selanjutnya tanin digunakan untuk proteksi bungkil kelapa sawit dengan aras yang telah ditentukan. Aras penambahan tanin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 0,25%, 0,50% dan 0,75%. Aras 0% digunakan sebagai kontrol. Kebutuhan sampel untuk aras tanin 0% adalah 53,24 g. Kebutuhan sampel untuk aras tanin 0,25% adalah 53,11 g. Kebutuhan sampel untuk aras tanin 0,5% adalah 52,97 g. Kebutuhan sampel untuk aras tanin 0,75% adalah 52,84 g. Penambahan tanin pada bungkil kelapa sawit dilakukan dengan cara melarutkan tanin dengan aquades 5 ml kemudian larutan tersebut disemprotkan ke sampel menggunakan sprayer sambil diaduk hingga bercampur secara homogen kemudian dikering udarkan.

Tahap ketiga yaitu untuk melihat tingkat proteksi protein bungkil kelapa sawit, dilakukan uji fermentabilitas secara *in vitro*. Parameter yang diukur meliputi konsentrasi NH₃, produksi protein total dan persentase RUDP. Langkah pertama adalah mengambil supernatan setelah fermentasi selama 3 jam kemudian dilakukan analisis NH₃ dan protein total sesuai dengan metode Kjeldahl. Langkah selanjutnya mengambil supernatan setelah fermentasi selama 48 jam kemudian dilakukan analisis RUDP menggunakan metode Tilley dan Terry.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Percobaan terdiri atas empat perlakuan dengan empat ulangan. Aras tanin 0% digunakan sebagai kontrol perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam, apabila terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan *Duncan multiple range test* (DMRT). Perlakuan yang dicobakan adalah:

- T0 = Bungkil kelapa sawit + aras tanin 0%
- T1 = Bungkil kelapa sawit + aras tanin 0,25%
- T2 = Bungkil kelapa sawit + aras tanin 0,50%
- T3 = Bungkil kelapa sawit + aras tanin 0,75%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu konsentrasi amonia (NH₃), protein tidak terdegradasi, dan protein total.

Tabel 1. Konsentrasi NH₃, persentase *Undergraded Dietary Protein* (UDP), dan Produksi Protein Total Bungkil Kelapa Sawit Terproteksi Tanin Daun Mangrove.

| Perlakuan | NH ₃ | UDP | Protein Total |
|-----------|-------------------|--------------------|---------------------|
| | ---mM--- | ---%--- | ---mg/g--- |
| T0 | 3,49 ^a | 52,46 ^b | 208,98 ^b |
| T1 | 2,54 ^b | 55,74 ^b | 213,88 ^b |
| T2 | 2,39 ^b | 56,41 ^b | 215,70 ^b |
| T3 | 2,32 ^b | 61,84 ^a | 240,51 ^a |

Keterangan: Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Konsentrasi NH₃ Bungkil Kelapa Sawit

Konsentrasi amonia yang terdapat di dalam rumen dapat digunakan untuk menunjukkan banyaknya protein dalam pakan yang dirombak oleh mikrobial. Hasil penelitian konsentrasi amonia pada masing-masing perlakuan adalah T0 (3,49), T1 (2,54), T2 (2,39), dan T3 (2,32) mM. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) akibat perlakuan bungkil kelapa sawit yang terproteksi aras tanin daun mangrove terhadap NH₃ (mM) rumen secara *in vitro*.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa konsentrasi amonia pada perlakuan T0 (3,49 mM) nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan T1 (2,54 mM), T2 (2,39 mM) dan T3 (2,32 mM), sedangkan konsentrasi amonia pada perlakuan T1 (2,54), T2 (2,39) dan T3 (2,32) tidak ada perbedaan nyata. Konsentrasi amonia semakin menurun seiring dengan penambahan aras tanin pada setiap perlakuan yang membuktikan bahwa tanin memang benar mampu memproteksi protein bungkil kelapa sawit. Hal tersebut menunjukkan ikatan tanin protein paling banyak adalah pada T3 (2,32) (bungkil kelapa sawit dengan penambahan aras tanin 0,75%) dan menandakan protein sulit didegradasi oleh mikrobial rumen sehingga menurunkan konsentrasi amonia rumennya.

Kisaran konsentrasi NH₃ antara 2,32 – 3,49 mM masih dipandang kurang mencukupi kebutuhan konsentrasi amonia di dalam rumen bagi kebutuhan sintesis mikrobial rumen. Menurut Sutardi (1994) untuk mendukung sintesis protein mikrobial rumen secara optimal dibutuhkan konsentrasi sebesar 4 - 12 mM. Konsentrasi amonia yang rendah akan menghambat proses sintesis protein mikrobial di dalam rumen. Faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi amonia adalah kadar protein pakan, kelarutan protein, sumber dan proporsi karbohidrat terlarut (Ranjhan, 1980). Faktor penambahan tanin daun mangrove dapat menurunkan konsentrasi amonia disebabkan karena tanin membentuk ikatan kompleks tanin-protein dan selanjutnya menekan konsentrasi amonia. Hal ini sependapat dengan pendapat Utomo (2005), adanya senyawa kompleks tanin-

protein di dalam rumen menyebabkan bakteri kesulitan mendegradasi protein menjadi amonia yang dibutuhkan untuk sintesis protein mikroba, sehingga pada akhirnya berpengaruh terhadap pencernaan protein dalam rumen menurun. Dijelaskan lebih lanjut oleh Widyobroto *et al.* (2007), bahwa sintesis protein mikroba sangat dipengaruhi oleh ketersediaan NH_3 dan ketersediaan energi hasil fermentasi degradasi karbohidrat yang harus sesuai dengan kecepatan degradasi proteinnya, sehingga akan mempengaruhi sintesis protein mikroba. Menurut Ørskov (1992) bahwa produksi amonia tergantung pada kelarutan protein ransum, jumlah protein ransum, lamanya pakan berada dalam rumen dan pH rumen. Konsentrasi amonia dibawah kisaran tersebut mikroba rumen tidak dapat mensintesis protein tubuhnya secara optimal sehingga pertumbuhannya terhambat.

Persentase *Undegraded Dietary Protein* (UDP) Bungkil Kelapa Sawit

Hasil penelitian menunjukkan nilai persentase UDP bungkil kelapa sawit pada masing-masing perlakuan adalah T0 (52,46), T1 (52,46), T2 (56,41), dan T3 (61,84) %, jadi nilai UDP yang meningkat menunjukkan bahwa adanya perbedaan nyata dibandingkan dengan kontrol yang tidak mendapatkan perlakuan proteksi. Berdasarkan hasil analisis variansi menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) akibat perlakuan bungkil kelapa sawit yang terproteksi aras tanin daun mangrove. Hal ini mengindikasikan bahwa tanin daun mangrove dapat melindungi bungkil kelapa sawit dari degradasi mikroba rumen sehingga dapat menghasilkan protein bungkil kelapa sawit yang tahan terhadap degradasi dalam rumen. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa persentase UDP pada perlakuan T3 (61,84%) perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan T0 (52,46%), T1 (55,74%), dan T2 (56,41%), tetapi persentase UDP pada T0 (52,46), T1 (55,74), dan T2 (56,41) tidak ada perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa bungkil kelapa sawit yang di proteksi dengan perbedaan aras tanin juga dapat meningkatkan persentase UDP, seiring dengan peningkatan pemberian aras tanin daun mangrove yang digunakan untuk memproteksi. Sesuai dengan pendapat Suhartati (2005) bahwa konsentrasi protein tidak terdegradasi yang semakin tinggi disebabkan oleh adanya ikatan antara tanin-protein membentuk senyawa kompleks yang tidak larut.

Tingginya nilai UDP disebabkan terjadinya ikatan antara tanin-protein membentuk senyawa kompleks yang tidak larut. Widyobroto *et al* (2007) berpendapat bahwa *UDP* merupakan protein asal pakan yang tidak terdegradasi di dalam rumen, akibatnya dapat langsung mengalami proses pencernaan enzimatik di dalam abomasum dan intestinum. Suplementasi protein yang tidak terdegradasi bertujuan untuk meningkatkan jumlah protein atau asam amino yang dapat tersalurkan organ pencernaan pasca rumen untuk dicerna dan diserap di dalam intestinum. Makkar (2003) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa *polyphenolic* yang mampu mengikat protein dan membentuk senyawa kompleks. Akibat senyawa kompleks tersebut menyebabkan ikatan protein tahan pada pH netral dan enzim proteolitik yang dihasilkan oleh mikroba rumen.

Produksi Protein Total Bungkil Kelapa Sawit

Nilai produksi protein total bungkil kelapa sawit terproteksi dihasilkan pada masing-masing perlakuan yaitu T0 (208,98), T1 (213,88), T2 (215,70), dan T3 (240,51) mg/g. Hasil analisis variansi menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) akibat perlakuan bungkil kelapa sawit yang terproteksi aras tanin daun mangrove. Nilai produksi protein total semakin tinggi seiring dengan penambahan aras tanin. Nilai produksi protein total paling rendah ditunjukkan pada perlakuan T0 (208,98) (bungkil kelapa sawit tanpa penambahan aras tanin), sedangkan nilai yang tertinggi terdapat pada perlakuan T3 (240,51) (bungkil kelapa sawit dengan penambahan aras tanin 0,75%). Uji lanjut dengan Duncan menunjukkan bahwa produksi protein total pada perlakuan T3 (240,51 mg/g) berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan T0 (208,98 mg/g), T1 (213,88 mg/g), T2 (215,70 mg/g), tetapi pada perlakuan T0 (208,98), T1 (213,88), dan T2 (215,70) tidak ada perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa penambahan tanin pada setiap perlakuan dapat meningkatkan nilai produksi protein total. Menurut Sutardi (1978) protein total merupakan jumlah dari protein pakan yang tidak didegradasi dalam rumen dan protein mikrobia.

Produksi protein total secara *in vitro* merupakan gabungan antara produksi UDP dengan protein mikrobia rumen. Produksi protein mikrobia rumen ditentukan oleh konsentrasi amonia, karena amonia dan VFA, merupakan bahan utama pembentuk protein tubuh mikrobia rumen. Hal ini sependapat dengan Rahmadi *et al.* (2010) yang menyatakan tingginya produksi protein total dapat dipengaruhi oleh konsentrasi amonia dan protein yang lolos dari degradasi rumen. Produksi protein total semakin meningkat dengan adanya proteksi tanin daun mangrove, di dalam daun mangrove terdapat kandungan tanin yang termasuk dalam kelompok tanin terkondensasi. Tanin terkondensasi ini merupakan kelompok tanin yang mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein dimana ikatannya stabil pada pH 4-7. Menurut Subrata (2005), kompleks yang terjadi antara tanin terkondensasi dengan protein bersifat reversible dan ikatannya stabil pada pH 4 hingga 7, pada kondisi pH kurang dari 4 dan lebih dari 7 maka akan terjadi disosiasi menjadi protein dan tanin bebas kembali. Ikatan kompleks tanin protein akan menurunkan degradabilitasnya dalam rumen. Penurunan nilai konsentrasi amonia meningkatkan protein pakan lolos degradasi yang akhirnya akan meningkatkan produksi protein total pada saluran pencernaan pasca rumen.

KESIMPULAN

Berdasar hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa proteksi bungkil kelapa sawit menggunakan tanin daun mangrove terbukti menurunkan nilai konsentrasi amonia (NH_3) serta meningkatkan produksi protein total dan persentase protein tidak terdegradasinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Buttery, F. J. and D. Lewis. 1974. Nitrogen Metabolism in The Rumen. University of Nottingham, Nottingham.
- Hartadi, H. S. Reksohadiprodjo dan A. D. Tillman. 1993. Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Makkar, H. P. S. 2003. Effect and fate of tanins in ruminant animals, adaptation to tanins, and strategies to overcome detrimental effect of feeding tanin – rich feeds. *Small Ruminant Research*. **49**: 241–256.
- Ørskov, E. R. 1992. Protein Nutrition in Ruminants. Second Edition. Academic Press Inc. London- New York.
- Rahmadi, D. , Sunarso, J. Achmadi, E. Pangestu, A. Muktiani, M. Christiyanto, Surono, dan Surahmanto. 2010. Ruminologi Dasar. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ranjhan, S. K. 1980. Animal Nutrition in Tropic. 2nd Edition. Vikas Publishing House. Pvt. Ltd, New Delhi.
- Subrata, A. 2005. Pemanfaatan Tanin Ampas Teh terhadap Efek Defaunasi, Parameter Fermentasi Rumen dan Sintesis Protein Mikrobial Secara *In Vitro*. Pasca sarjana. UGM. Yogyakarta. (Tesis)
- Suhartati, F. M. 2005. Proteksi protein daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) menggunakan tanin, saponin, minyak dan pengaruhnya terhadap *ruminal undegraded dietary protein* (RUDP) dan sintesis protein mikroba rumen. *Jurnal Animal Production*. **7** (1): 52-58.
- Suparjo. 2000. Peningkatan potensi serat sawit sebagai sumber pakan ternak ruminansia. *Buletin Peternakan Edisi Tambahan : Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*. Hal : 223-236.
- Sutardi, T. 1978. Ikhtisar Ruminologi. Bahan Penataran Kursus Peternakan Sapi Perah. Kayu Ambon, Lembang. Departemen Ilmu Makanan Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Bogor. (Tidak Diterbitkan).
- Sutardi, T. 1994. Peningkatan Produksi Ternak Ruminansia melalui Amoniasi Pakan Serat Bermutu Rendah, Defaunasi dan Suplementasi Sumber Protein Tahan Terhadap Degradasi dalam Rumen. Laporan Penelitian Hibah Bersaing I. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Utomo, N. M. 2005. Pengaruh Tanin Ampas Teh Terhadap Kecernaan Protein Pakan dan Populasi Protozoa Rumen secara *In Vitro*. Universitas Diponegoro, Semarang. (Skripsi)
- Widyobroto B. P., S. P. S. Budhi dan A. Agus. 2007. Pengaruh Aras Undegraded Protein dan Energy Terhadap Kinetik Fermentasi Rumen dan Sintesis Protein Mikrobial pada Sapi. *Journal Indonesian Tropic Animal Agriculture* **32** (3): 194-200.