

Karakteristik Urea Lepas-Lamban pada Berbagai Kadar Molases dalam Ransum Berbasis Jerami Padi Secara *In Vitro*

D. KARDAYA¹, K.G. WIRYAWAN², A. PARAKKASI² dan H.M. WINUGROHO³

¹Jurusan Peternakan Fakultas Agribisnis dan Teknologi Pangan Universitas Djuanda,
Kotak Pos 35 Bogor 16720

²Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan Fakultas Peternakan IPB
Kampus Dramaga Bogor

³Balai Penelitian Ternak, PO Box 221 Bogor 16002

(Diterima dewan redaksi 5 Agustus 2009)

ABSTRACT

KARDAYA, D., K.G. WIRYAWAN, A. PARAKKASI and H.M. WINUGROHO. 2009. *In vitro* slow-release urea characteristics under different molasses levels contained in rice straw based diets. *JITV* 14(3): 177-191.

Slow-release urea characteristics of zinc-urea, zeolites-urea, and zeolites-zinc-urea were examined using *in vitro* techniques. The objective of this experiment was to study the *in vitro* slow-release urea characteristics of zinc-urea, zeolites-urea, and zeolites-zinc-urea under different molasses concentrations in relation to the ruminal fermentative changes observed in different incubation time. The experimental design employed was randomized block design with a 4 x 3 factorial arrangement plus a control treatment, and conducted in two replications. Factors were various urea sources (urea, zinc-urea, zeolites-urea, and zeolites-zinc-urea) and molasses concentrations (0%, 6%, and 12%) in rice straw based diets. The control treatment was rice straw based diet containing neither urea nor molasses. Diets consisted of 45% rice straw and 55% concentrates (DM basis) were formulated to have similar N and TDN levels. Responses of parameters measured were subjected to MANOVA using the GLM procedure of SPSS 16.00 and differences among mean values, if applicable, were examined using HSD-test. Orthogonal comparisons were used to determine the effects of control treatment vs. various urea sources following significance for the two-factor ANOVA model. Results indicated that zinc-urea, zeolites-urea, and zeolites-zinc-urea under different molasses concentrations contained in rice straw based diets decreased ruminal ammonia up to 48 hours incubation, controlled total VFA level and pH values revealed from lower NH₃:VFA ratio, and improved both *in vitro* dry matter and organic matter degradabilities. The best impact of the *in vitro* slow-release urea characteristics of zinc-urea, zeolites-urea, and zeolites-zinc-urea on the ruminal fermentative changes (NH₃, VFA, pH, DMD, OMD) was well attributed to the diets contained 6% molasses.

Key words: Slow-Release Urea, Molasses, Rice Straw, *In Vitro*

ABSTRAK

KARDAYA, D., K.G. WIRYAWAN, A. PARAKKASI dan H.M. WINUGROHO. 2009. Karakteristik lepas-lamban urea pada berbagai kadar molases dalam ransum berbasis jerami padi secara *in vitro*. *JITV* 14(3): 177-191.

Karakteristik urea lepas-lamban dari urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit dalam ransum berbasis jerami padi yang kadar molasesnya berbeda-beda, telah diuji menggunakan teknik *in vitro*. Tujuannya adalah untuk mengungkap sifat urea lepas-lamban dari urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit dalam ransum berbasis jerami padi yang kadar molasesnya berbeda-beda tersebut terkait dengan perubahan-perubahan fermentatif yang teramati pada periode inkubasi yang berbeda. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok berfaktor 4 x 3 dan satu perlakuan kontrol, dalam dua ulangan. Faktornya terdiri dari beragam jenis urea (urea, urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit) dan kadar molases (0%, 6%, dan 12%). Perlakuan kontrolnya adalah ransum tanpa urea dan tanpa molases. Ransum yang terdiri dari 45% jerami padi dan 55% konsentrat (berdasar bahan kering) disusun secara iso-nitrogen dan iso-energi (TDN). Respon peubah yang diamati dianalisis dengan GLM MANOVA menggunakan alat bantu piranti lunak SPSS 16.0. Analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (HSD) untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan apabila terdapat pengaruh dari perlakuan. Uji kontras orthogonal digunakan untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan tanpa urea (TU) dan perlakuan jenis urea (JU) mengikuti beda nyata ANOVA 2 faktor. Hasil penelitian mengungkapkan bahwa penggunaan urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit dalam ransum berbasis jerami padi sebagai sumber urea lepas-lamban dapat menekan produksi NH₃ sampai periode inkubasi 48 jam, mengendalikan produksi VFA dan nilai pH yang tercermin dari rasio NH₃:VFA (mM/mM) yang lebih rendah, serta memperbaiki kecernaan bahan kering dan bahan organik. Dampak terbaik dari sifat urea lepas-lamban dari urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit terhadap kadar NH₃, VFA, pH, serta kecernaan bahan kering dan bahan organik dicapai pada kadar molases 6%.

Kata kunci: Urea Lepas-Lamban, Molases, Jerami Padi, *In Vitro*

PENDAHULUAN

Urea dengan cepat dihidrolisis menjadi amonia di dalam rumen dan sebagian besar dari amonia rumen tersebut dengan cepat pula diserap memasuki sistem darah dan menimbulkan dampak negatif mulai dari penurunan konsumsi dan performa ternak sampai kematian akibat keracunan urea. HUNTINGTON *et al.* (2006) melaporkan bahwa urea dihidrolisis dengan cepat dalam rumen dan puncak produksi amoniannya dicapai pada 1 jam setelah pemberian urea. Lima menit setelah pemberian, kadar amonia darah meningkat dan mencapai puncaknya setelah 30 menit pemberian urea.

Upaya untuk mengoptimalkan nilai guna dari urea sebagai sumber NPN yang ekonomis bagi ruminansia harus mempertimbangkan dampak negatif dari cepatnya hidrolisis urea menjadi amonia dan cepatnya absorpsi amonia dari rumen. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan cara memperlamban laju hidrolisis urea menjadi amonia. Beberapa sumber NPN lepas-lamban (*slow-release NPN*) telah diteliti, di antaranya biuret (CURRIER *et al.*, 2004; LOEST *et al.*, 2001), penghambat aktivitas enzim urease (*urease inhibitor*) seperti N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (LUDDEN *et al.*, 2000) atau suplementasi seng (KATHIRVELAN dan BALAKRISHNAN, 2006), pelapisan urea dengan polimer (GALO *et al.*, 2003), atau penggunaan bahan kimia seperti kalsium yang dicampur atau direaksikan dengan urea (HUNTINGTON *et al.*, 2006; HOLLADAY, 1998).

Afinitas urea terhadap ion logam memungkinkan pembentukan beragam kompleks logam-urea (BALAREW, *et al.*, 2006). Menurut SADEEK (1993), seng sulfat dapat bereaksi dengan urea membentuk kompleks seng sulfat-urea $[Zn(urea)_4]SO_4$. Pembentukan kompleks urea-seng sulfat ini menurunkan kelarutan urea sehingga dapat memperlamban laju hidrolisis urea menjadi amonia oleh urease mikroba rumen. Selain dapat memperlamban laju hidrolisis urea menjadi amonia, kompleks urea-seng sulfat ini juga diharapkan berperan sebagai sumber mineral sulfur bagi mikroba rumen untuk mensintesis asam-asam amino sulfur seperti metionin.

Penggunaan zeolit sebagai suplemen dalam ransum untuk mengontrol kadar NH_3 rumen juga telah banyak diteliti (MIGLIORATI *et al.*, 2007; BOSI *et al.*, 2002). Kemampuan zeolit mengontrol kadar NH_3 rumen didasarkan atas sifat-sifatnya sebagai penukar kation, katalitik, dehidrasi dan rehidrasi. Sebagai penukar kation, zeolit dengan cepat menukar NH_4^+ yang terbentuk dari dekomposisi senyawa NPN dan menahannya beberapa jam sampai dilepaskan oleh Na^+ saliva yang memasuki rumen. Menurut LOUGHBROUGH (1993), zeolit dapat digunakan sebagai pengikat (*binding agents*) dalam pakan dan bernilai guna terutama sebagai pemacu pertumbuhan dan pengemban

(*carrier*) zat makanan. Walaupun pemanfaatan sifat fisik zeolit (porositas dan kemampuan mengikatnya) sebagai media untuk pembuatan urea lepas-lamban pada pupuk tanaman telah banyak diteliti, namun pemanfaatannya pada ternak ruminansia masih terbatas.

Berdasar uraian di atas, telah dilakukan penelitian *in vitro* berkenaan dengan penggunaan kompleks urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit sebagai sumber NPN lepas-lamban bagi ruminansia. Penelitian bertujuan untuk menguji sifat urea lepas-lamban dari urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit dalam ransum berbasis jerami padi setelah difermentasi oleh mikroba rumen.

MATERI DAN METODE

Media inkubasi dan sumber mikroba

Media inkubasi dan metode *in vitro* yang dilaksanakan mengacu pada metode MENKE dan STEINGASS (1988) yang dimodifikasi oleh MAKKAR *et al.* (1995), yakni menggunakan 0,5 g sampel dan 40 ml cairan rumen berpenyangga. Larutan berpenyangga tersebut tersusun atas: larutan mikromineral 0,02%, larutan penyangga 45,34%, larutan makromineral 45,34%, larutan resazurin 0,23%, dan larutan pereduksi 9,07%.

Sumber mikroba sebagai mikroba fermentor adalah cairan rumen yang berasal dari 2 ekor sapi lokal yang diperoleh dari rumah potong hewan Kota Bogor. Termos, yang sebelumnya telah dihangatkan dengan air hangat, dituangi isi rumen utuh dan cairan rumen hasil perasan dengan rasio sekitar 1:1, lalu segera dibawa ke laboratorium. Di laboratorium cairan rumen tersebut diblender selama 30 detik, lalu disaring melalui 2 lapis kain kasa. Larutan media inkubasi dibuat dengan cara mencampur cairan rumen hasil saringan tersebut dengan larutan berpenyangga dengan rasio 1:3 (1 bagian cairan rumen, 3 bagian larutan berpenyangga). Selanjutnya masing-masing tabung fermentor yang berisi 0,5 g sampel dituangi 40 ml larutan media inkubasi, lalu diinkubasikan pada shaking-water bath bersuhu $39^{\circ}C$ selama 1 (I_1), 2 (I_2), 4 (I_4), 8 (I_8), 12 (I_{12}), 24 (I_{24}), dan 48 (I_{48}) jam. Respon fermentatifnya diamati pada setiap akhir periode inkubasi tersebut.

Sampel ransum

Sampel ransum yang akan diuji terdiri atas jerami padi dan konsentrat yang disusun secara isonitrogen ($12\% \pm 0,09\%$ protein kasar), dengan rasio 45% jerami padi dan 55% konsentrat berdasar bahan kering. Bahan penyusun konsentrat terdiri dari: bungkil kedelai (hanya untuk ransum tanpa urea), jagung giling, dedak halus, bungkil kelapa, dan onggok, 4 jenis urea (U = urea; US = urea-seng sulfat: 60% urea, 40% seng sulfat; UZ =

urea-zeolit: 38% urea, 62% zeolit; USZ = urea-seng sulfat-zeolit: 38% urea, 25% seng sulfat, 37% zeolit), dan 3 taraf molases (M = taraf molases, M₀ = 0% molases, M₆ = 6% molases, dan M₁₂ = 12% molases dari bahan kering ransum). Kadar BK, BO, dan PK sampel ransum yang diuji disajikan pada Tabel 1. Dalam sampel ransum ini, urea-seng (US), urea-zeolit (UZ), dan urea-seng-zeolit (USZ) dijadikan sebagai sumber nitrogen lepas-lamban. Kadar N dari berbagai jenis urea tersebut masing-masing memasok 33,33% dari total N ransum berdasar bahan kering. Sampel ransum dalam kondisi kering jemur, digiling halus dan disaring melalui saringan ± 1 mm sebelum dicampurkan untuk membuat ransum lengkap.

Rancangan percobaan

Fermentasi *in vitro* sampel ransum yang mengandung 4 jenis urea (U, US, UZ, USZ) dan 3 taraf kadar molases (0, 6, dan 12%), dan sampel ransum kontrol (tanpa urea tanpa molases, TU) dijadikan sebagai perlakuan dan dilaksanakan dalam dua kelompok ulangan. Percobaan dirancang dalam rancangan acak kelompok berfaktor 4 x 3 dengan 1 perlakuan kontrol (GOMEZ dan GOMEZ, 1995). Peubah yang diukur adalah: nilai pH, kadar NH₃, total VFA, pencernaan bahan kering (KBK) dan pencernaan bahan organik (KBO).

Pengelolaan sampel

Pada setiap akhir dari periode inkubasi yang telah ditentukan, tabung fermentor dikeluarkan dari inkubator, divortex selama sekitar 5 detik, lalu pH cairan rumennya diukur dengan digital pH meter. Selanjutnya cairan rumen disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit sehingga padatnya mengendap terpisah dari cairannya yang bening (supernatan). Dua ml dari supernatan yang diperoleh, dituangkan ke dalam tabung effendorf untuk disentrifugasi lagi dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan hasil sentrifugasi kedua ini dituangkan ke dalam effendorf lainnya, lalu dibekukan dalam lemari es bersuhu -4°C untuk keperluan analisis NH₃. Sisa supernatan hasil sentrifugasi pertama, dituangkan ke dalam botol sampel dan ditutup rapat lalu dibekukan dalam lemari es bersuhu -4 °C untuk keperluan analisis kadar VFA. Residu atau bagian padatnya dibilas dengan akuades, disaring dengan kertas saring bebas abu (Whatman#40) untuk penentuan kadar bahan kering dan bahan organik.

Analisis laboratorium dan perhitungan

Kadar protein kasar (N x 6,25) sampel ransum, kadar bahan kering dan abu sampel ransum dan residu

Tabel 1. Kadar bahan kering, bahan organik, dan nitrogen sampel ransum yang diuji secara *in vitro*

Ransum ¹⁾	Jenis Urea ²⁾	Molases (%)	BK (%)	BO	Protein kasar
				----- % BK -----	
Urea	U	0	91,03	84,78	12,10
Seng-Urea	US	0	92,81	84,52	11,97
Zeolit-Urea	UZ	0	93,05	83,43	11,93
Zeo-Zn-Urea	USZ	0	91,83	84,49	11,94
Urea	U	6	91,32	85,50	12,16
Seng-Urea	US	6	90,82	84,93	12,00
Zeolit-Urea	UZ	6	91,71	83,34	11,92
Zeo-Zn-Urea	USZ	6	91,35	84,22	11,92
Urea	U	12	88,31	85,33	12,12
Seng-Urea	US	12	89,31	85,72	12,06
Zeolit-Urea	UZ	12	89,43	83,84	11,96
Zeo-Zn-Urea	USZ	12	89,49	84,11	11,97
Tanpa Urea	TU	0	91,89	85,65	12,15

¹⁾Ransum terdiri dari 45% jerami padi dan 55% konsentrat (berdasar BK) konsentrat terdiri dari: bungkil kedelai (hanya untuk ransum TU), bungkil kelapa, jagung kuning, dedak padi halus, onggok, dikalsium fosfat, dan premiks

²⁾Kadar N dari berbagai jenis urea memasok 33,33% dari total N ransum

fermentasi dianalisis menurut metode AOAC (1990). Kadar bahan organik diperoleh dengan cara mengurangkan kadar abu dari kadar bahan kering. Kecernaan bahan kering (KBK) diperoleh dengan cara mengurangkan bahan kering residu fermentasi dari bahan kering sampel, dinyatakan dalam persen. Kecernaan bahan organik (KBO) diperoleh dengan cara mengurangkan bahan organik residu fermentasi dari bahan organik sampel, dinyatakan dalam persen.

Kadar NH_3 cairan rumen diukur secara kolorimetrik, menggunakan spektrofotometer pada 630 nm berdasar metode BRODERICK dan KANG (1980) dan kadarnya dihitung berdasar kurva standar dalam satuan mM. Kadar total VFA diukur dengan metode destilasi uap (AOAC, 1990) menggunakan mikroburet. Kadar total VFA dihitung berdasar persamaan: Total VFA(mM) = (ml titer blanko – ml titer sampel) x N HCl x 1.000/ml sampel.

Analisis data

Respon peubah yang diamati terhadap perlakuan empat jenis urea dan tiga kadar molases dianalisis dengan GLM MANOVA menggunakan alat bantu piranti lunak SPSS 16.0. Analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (HSD) untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan apabila terdapat pengaruh dari perlakuan. Analisis *slope* digunakan untuk mengetahui laju perubahan peubah yang diamati pada jam inkubasi tertentu dan analisis regresi estimasi kurva digunakan untuk mengetahui nilai dugaan laju cerna bahan kering dan bahan organik. Uji kontras orthogonal digunakan untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan tanpa urea (TU) dan perlakuan jenis urea (JU) mengikuti ANOVA dua-faktor (GOMEZ dan GOMEZ, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil NH_3 cairan rumen

Rataan kadar NH_3 cairan rumen *in vitro* semua perlakuan berada dalam kisaran 7,5 mM – 22,45 mM (Gambar 1). Jenis urea (JU), kadar molases (M), atau interaksi antara jenis urea dan kadar molases berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap rata-rata kadar NH_3 cairan rumen.

Kadar NH_3 mencapai maksimum pada I_2 , lalu menurun dan mencapai nilai minimum pada I_8 dan meningkat lagi sampai mencapai nilai maksimum pada inkubasi 48 jam (I_{48}). Data ini mencerminkan hidrolisis nitrogen ransum menjadi NH_3 oleh enzim mikroba rumen mencapai maksimum pada I_2 . Antara I_2 dan I_8 , terjadi penggunaan NH_3 oleh mikroba rumen yang semakin meningkat dan mencapai maksimum pada I_8 sehingga kadar NH_3 -nya semakin menurun dan mencapai nilai minimum pada I_8 . Setelah I_8 ,

penggunaan NH_3 oleh mikroba rumen semakin menurun yang ditandai dengan peningkatan kembali kadar NH_3 sampai pada I_{48} .

Rataan kadar NH_3 tertinggi (puncak) yang dicapai pada I_2 selaras dengan yang diperoleh CASS dan RICHARDSON (1994), GALINA *et al.* (2003), dan CHIZZOTTI *et al.* (2008) yang menggunakan 31% NPN, namun berbeda dari pola produksi NH_3 puncak pada inkubasi 30 menit dengan metode pemberian urea lepas-lamban melalui fistula yang dilakukan oleh HUNTINGTON *et al.* (2006). Perbedaan ini diduga akibat perbedaan sumber karbohidrat. HUNTINGTON *et al.* (2006) menggunakan sumber karbohidrat hanya dari hijauan sehingga produksi NH_3 -nya lebih cepat terakumulasi akibat tidak terjadi sinkronisasi antara penggunaan NH_3 dan energi oleh mikroba rumen. Sementara peneliti lainnya menggunakan sumber karbohidrat dari konsentrat dan hijauan sehingga diduga sejak dini telah terjadi sinkronisasi antara penggunaan energi dan NH_3 oleh mikroba rumen sehingga puncak produksi NH_3 -nya dicapai lebih lamban.

Pada waktu inkubasi 1 – 2 jam (I_1 – I_2), laju produksi atau perubahan kadar NH_3 (d_{NH_3}/d_t) berkisar antara 0 – 5,2 mM/jam. Substitusi urea (U) oleh urea-seng sulfat (US), urea-zeolit (UZ) atau urea-seng sulfat-zeolit (USZ) memperendah ($P < 0,05$) laju produksi amonia dari 4,36 – 5,32 mM/jam menjadi 0 – 2,37 mM/jam. Substitusi U oleh UZ atau USZ yang dikombinasikan dengan molases 6% (M_6) menghasilkan laju produksi NH_3 terendah (UZ = 0 mM/jam, USZ = 0,39 mM/jam; $P < 0,05$). Data ini mencerminkan bahwa sifat lepas-lamban dari US, UZ, atau USZ telah bekerja dengan baik pada 2 jam pertama dari waktu inkubasi (I_1 – I_2).

Pada waktu inkubasi 2 – 8 jam (I_2 – I_8), laju produksi NH_3 menurun (*slope* negatif), berkisar antara -0,73 dan -0,117 mM/jam. Perlakuan U yang dikombinasikan dengan molases berkadar 6% atau 12% memperlihatkan laju penurunan produksi NH_3 yang lebih cepat ($P < 0,05$) daripada perlakuan US, UZ, atau USZ. Data ini mengungkapkan bahwa sifat lepas-lamban dari perlakuan US, UZ, atau USZ dapat bekerja dengan baik pada saat NH_3 digunakan secara maksimum oleh mikroba rumen sehingga tidak terkurus dengan cepat seperti yang terjadi pada perlakuan U.

Pada waktu inkubasi 8 – 24 jam (I_8 – I_{24}), laju produksi NH_3 kembali meningkat (*slope* positif), berkisar antara 0,04 – 0,12 mM/jam. Peningkatan laju produksi NH_3 berlanjut sampai waktu inkubasi 48 jam (I_{24} – I_{48}) dengan laju peningkatan yang semakin menurun (0,02 – 0,07 mM/jam). Pada I_8 – I_{24} , perlakuan U yang dikombinasikan dengan molases 6% atau 12% menghasilkan laju peningkatan produksi NH_3 yang lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada perlakuan US, UZ, atau USZ, namun pada I_{24} – I_{48} , perlakuan U memperlihatkan laju peningkatan produksi NH_3 yang sama dengan perlakuan US, UZ, atau USZ. Data ini mengungkapkan bahwa

ketika tingkat penggunaan NH_3 oleh mikroba semakin menurun pada I_8 – I_{24} , hidrolisis urea dari US, UZ, atau USZ masih berlangsung sehingga laju produksi NH_3 -nya lebih tinggi daripada U.

Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan US, UZ, dan USZ menghasilkan urea lepas-lamban yang ditandai dengan kadar NH_3 yang lebih rendah daripada perlakuan U untuk setiap kadar molases pada hampir setiap periode inkubasi. Urea mengalami hidrolisis yang cepat dalam cairan rumen menjadi amonia (TAYLOR-EDWARD *et al.*, 2009). Sifat urea yang mudah terhidrolisis menjadi amonia tersebut dapat diperbaiki dengan pembentukan kompleks urea-seng, urea-zeolit, atau urea-seng-zeolit yang tercermin dari rendahnya kadar NH_3 cairan rumen dari perlakuan urea-seng, urea-zeolit, atau urea-seng-zeolit.

Rataan kadar NH_3 cairan rumen dari perlakuan berbagai jenis urea (U, US, UZ, USZ) juga lebih tinggi daripada perlakuan tanpa urea (TU) yang sumber nitrogen utamanya berasal dari protein sejati atau protein alami (bungkil kedelai). CHIZZOTI *et al.* (2008) mengungkapkan bahwa kadar NH_3 cairan rumen meningkat jika bungkil kedelai digantikan oleh urea sebagai sumber nitrogen. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengujian keefektifan kadar molases dalam mengontrol kadar NH_3 cairan rumen untuk ransum tanpa urea. Hasil ini selaras dengan hasil BRITO dan BRODERICK (2007) yang menggunakan beragam sumber protein dan karbohidrat non-serat sebagai sumber energinya. BRITO dan BRODERICK (2007) mengungkapkan bahwa keefektifan karbohidrat nonserat dalam mengontrol kadar NH_3 cairan rumen tidak muncul pada ransum yang mengandung protein sejati.

Peningkatan kadar molases menjadi 6 atau 12% pada ransum berbagai jenis urea menurunkan ($P < 0,05$) kadar NH_3 cairan rumen. Penurunan kadar NH_3 akibat penambahan karbohidrat mudah terfermentasi telah dilaporkan oleh LEE *et al.* (2003) yang menggunakan karbohidrat larut air dan oleh HRISTOV *et al.* (2005) yang menggunakan beragam sumber karbohidrat. Walaupun demikian, penurunan kadar NH_3 cairan rumen akibat penambahan karbohidrat mudah terfermentasi tersebut dalam beberapa kasus tidak terjadi, seperti yang dilaporkan oleh MCCORMICK *et al.* (2001) dan oleh GOLOMBESKI *et al.* (2006). Pada penelitian ini, penurunan kadar NH_3 cairan rumen bukan semata-mata disebabkan oleh kadar molases atau oleh jenis urea, melainkan oleh pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases.

Terungkapnya pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases terhadap rata-rata kadar NH_3 cairan rumen mencerminkan bahwa perubahan kadar NH_3 cairan rumen dikontrol oleh jenis urea dan kadar molases. Temuan ini sejalan dengan hasil ROTGER *et al.* (2006) yang mengungkap adanya pengaruh interaksi

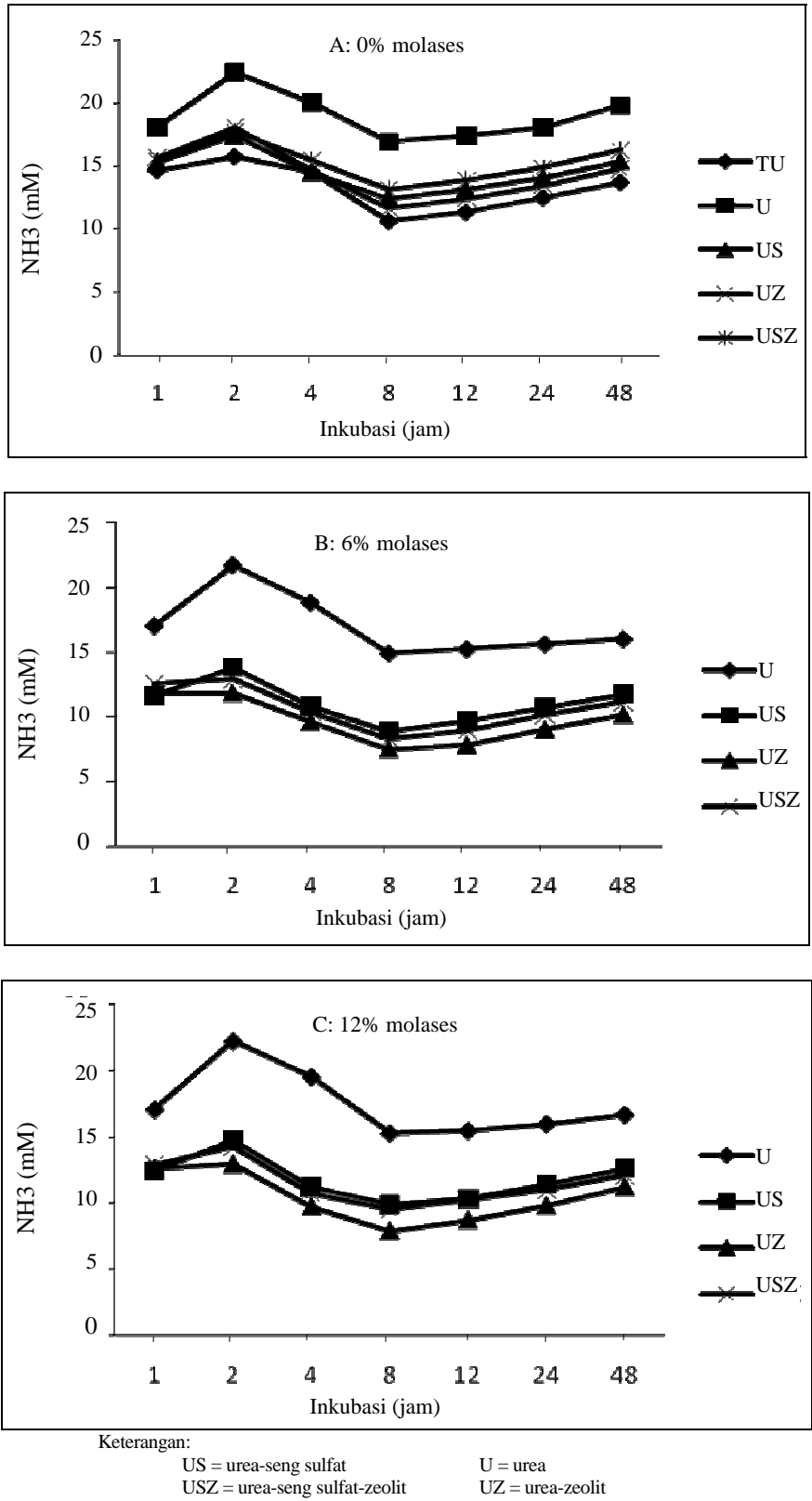
antara sumber protein dan sumber karbohidrat mudah terfermentasi terhadap kadar NH_3 cairan rumen. Sifat lepas-lamban terbaiknya dari US, UZ, dan USZ muncul jika dikombinasikan dengan molases 6%.

Sifat lepas-lamban dari US, UZ, atau USZ ini selaras dengan hasil CASS dan RICHARDSON (1994), HUNTINGTON *et al.* (2006) yang menggunakan urea-kalsium sebagai sumber urea lepas-lambannya dan jagung giling sebagai sumber energi utamanya, dan TAYLOR-EDWARD *et al.* (2009) yang menggunakan urea berlapis polimer (*polymer coated urea*) sebagai sumber urea lepas-lambannya. GOLOMBESKI *et al.* (2006) melaporkan kadar NH_3 yang sama antara ransum tanpa urea dan ransum berurea-kalsium dengan sumber energi utamanya karbohidrat (@RationMate) yang mudah terfermentasi dan menyimpulkan sifat lepas-lamban dari urea-kalsium telah bekerja dengan baik.

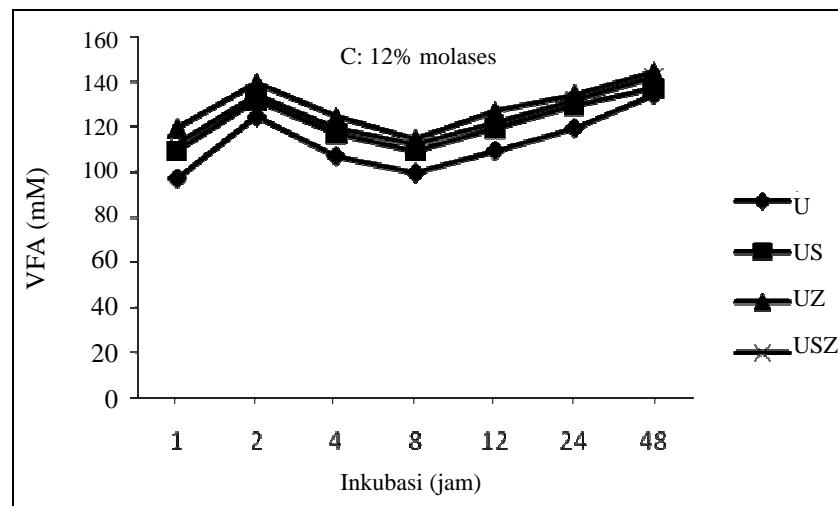
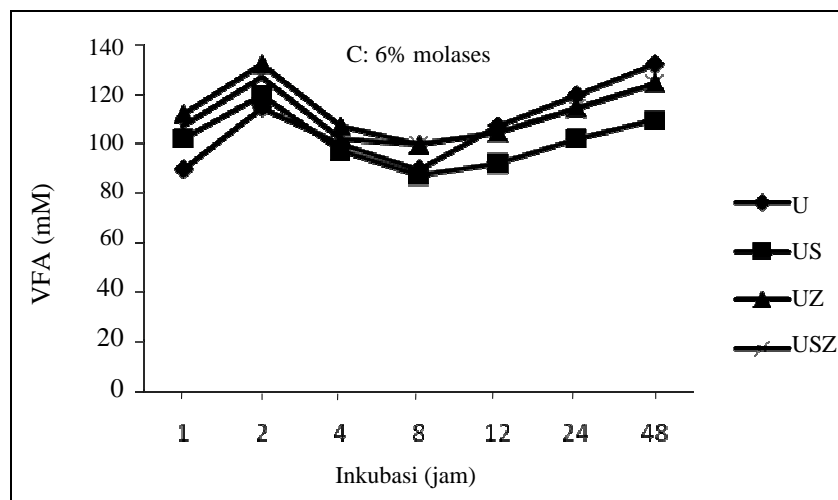
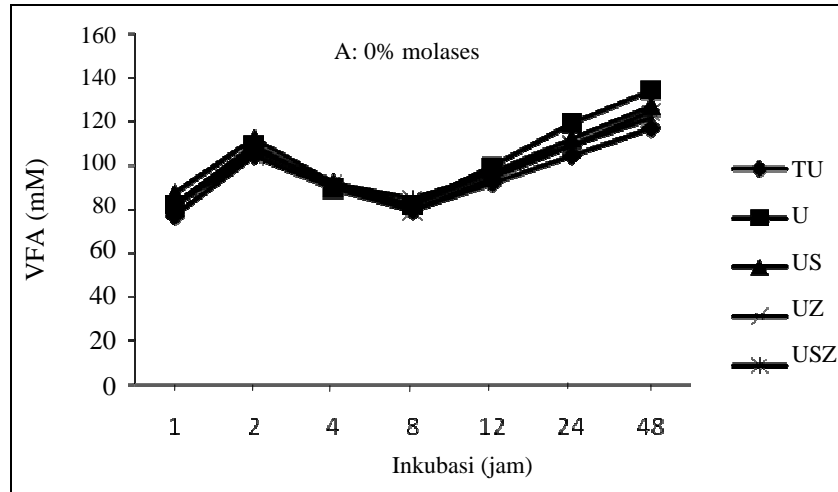
Profil VFA cairan rumen

Produksi VFA cairan rumen *in vitro* sebagai akibat perlakuan berkisar antara 79,5 – 144,5 mM (Gambar 2). Perlakuan berbagai jenis urea (JU) berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap kadar VFA hanya pada I_1 , sedangkan perlakuan kadar molases (M) berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap kadar VFA pada setiap periode inkubasi. Perbedaan kadar VFA cairan rumen pada I_{12} dan I_{24} terjadi akibat pengaruh interaksi antara JU dan M ($P < 0,05$). Produksi VFA dari perlakuan tanpa urea (TU) lebih rendah ($P < 0,05$) daripada perlakuan JU pada setiap periode inkubasi.

Pola produksi atau perubahan kadar VFA selaras dengan pola produksi amonia. Laju peningkatan produksi VFA (d_{VFA}/d_t) sampai 2 jam inkubasi (I_1 – I_2) berkisar antara 17,50 mM – 27,5 mM/jam sedangkan laju penurunannya (*slope* negatif) berkisar antara -3,75mM dan -5,417 mM/jam pada I_2 – I_8 . Dalam hal ini, laju produksi VFA pada kedua titik inkubasi tersebut sama antarperlakuan. Kesamaan produksi VFA antarperlakuan berbagai jenis urea pada penelitian ini selaras dengan hasil GOLOMBESKI *et al.* (2006) dan TAYLOR-EDWARD *et al.* (2009) yang tidak menemukan perbedaan antara produksi VFA yang dihasilkan dari perlakuan urea dan urea lepas-lamban. Namun, hasil ini berbeda dari GALINA *et al.* (2003) yang melaporkan kadar VFA yang lebih rendah pada ransum berurea lepas-lamban berbasis hijauan pucuk tebu dan jagung, namun tidak dijelaskan jam inkubasinya. FIEVEZ *et al.* (2001) yang melakukan pengamatan sampai 16 jam inkubasi, memperoleh puncak produksi VFA pada 2 jam inkubasi. Puncak produksi VFA hasil penelitian ini pun terjadi pada 2 jam inkubasi selaras dengan hasil FIEVEZ *et al.* (2001) yang menggunakan urea yang terikat secara kimiawi pada molases sebagai sumber urea lepas-lambannya dalam bentuk cair (@CRNPN).



Gambar 1. Rataan produksi NH_3 (mM) cairan rumen pada setiap periode inkubasi



Keterangan:
 US = urea-seng sulfat TU = tanpa urea
 USZ = urea-seng sulfat-zeolit UZ = urea-zeolit

Gambar 2. Rataan produksi VFA (mM) cairan rumen pada setiap periode inkubasi

Substitusi U oleh US, UZ, atau USZ yang dikombinasikan dengan molases 6% menurunkan ($P < 0,05$) laju produksi VFA (dari 1,87 mM/jam menjadi 0,94 mM/jam) pada I_8 – I_{24} . Laju produksi VFA tersebut semakin menurun menjadi 0,31 – 0,63 mM/jam pada I_{24} – I_{48} . Data ini mengungkapkan bahwa setelah 8 jam inkubasi, sifat lepas-lamban dari US, UZ, atau USZ yang dikombinasikan dengan molases 6% mulai berdampak positif terhadap penggunaan VFA oleh mikroba rumen.

Produksi VFA cairan rumen dipengaruhi oleh sumber energi (BAMPIDIS dan ROBINSON, 2006). Dalam rumen, karbohidrat hampir sepenuhnya difermentasi menjadi VFA sehingga memasok sumber energi bagi pertumbuhan mikroba rumen (BERGMAN, 1990). Pengaruh karbohidrat mudah terfermentasi terhadap kadar VFA cairan rumen masih beragam antar peneliti. HRISTOV *et al.* (2005) menghasilkan total VFA yang lebih rendah daripada ransum yang mengandung dekstroza jagung dibandingkan dengan sumber karbohidrat lainnya. GOLOBESKI *et al.* (2006) menghasilkan total VFA yang sama antara ransum yang mengandung gula mudah terfermentasi dan ransum tanpa gula. KHOSARANI *et al.* (2001) yang menggunakan barley sebagai sumber karbohidrat nonstrukturalnya, memperoleh total VFA cairan rumen yang lebih tinggi daripada yang menggunakan jagung. Peningkatan total VFA cairan rumen akibat peningkatan kadar molases untuk perlakuan US, UZ, atau USZ pada penelitian ini selaras dengan hasil yang dilaporkan oleh KHOSARANI *et al.* (2001) tersebut dengan laju peningkatan produksi VFA yang lebih rendah daripada perlakuan U.

Nilai pH cairan rumen

Status pH cairan rumen *in vitro* sebagai akibat perlakuan berkisar antara 6,81 dan 7,32 (Gambar 3). Substitusi U oleh US, UZ, atau USZ menurunkan ($P < 0,05$) pH cairan rumen. Begitu pula peningkatan kadar molases menjadi 6 atau 12% pada perlakuan berbagai jenis urea (JU) menurunkan ($P < 0,05$) pH cairan rumen. Namun, perubahan pH yang terjadi pada I_1 – I_{24} disebabkan oleh pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases ($P < 0,05$). Perlakuan tanpa urea (TU) menghasilkan rata-rata pH yang sama dengan perlakuan JU pada I_{48} , namun rata-rata pH-nya menjadi lebih rendah ($P < 0,05$) pada I_2 , I_8 , dan I_{24} .

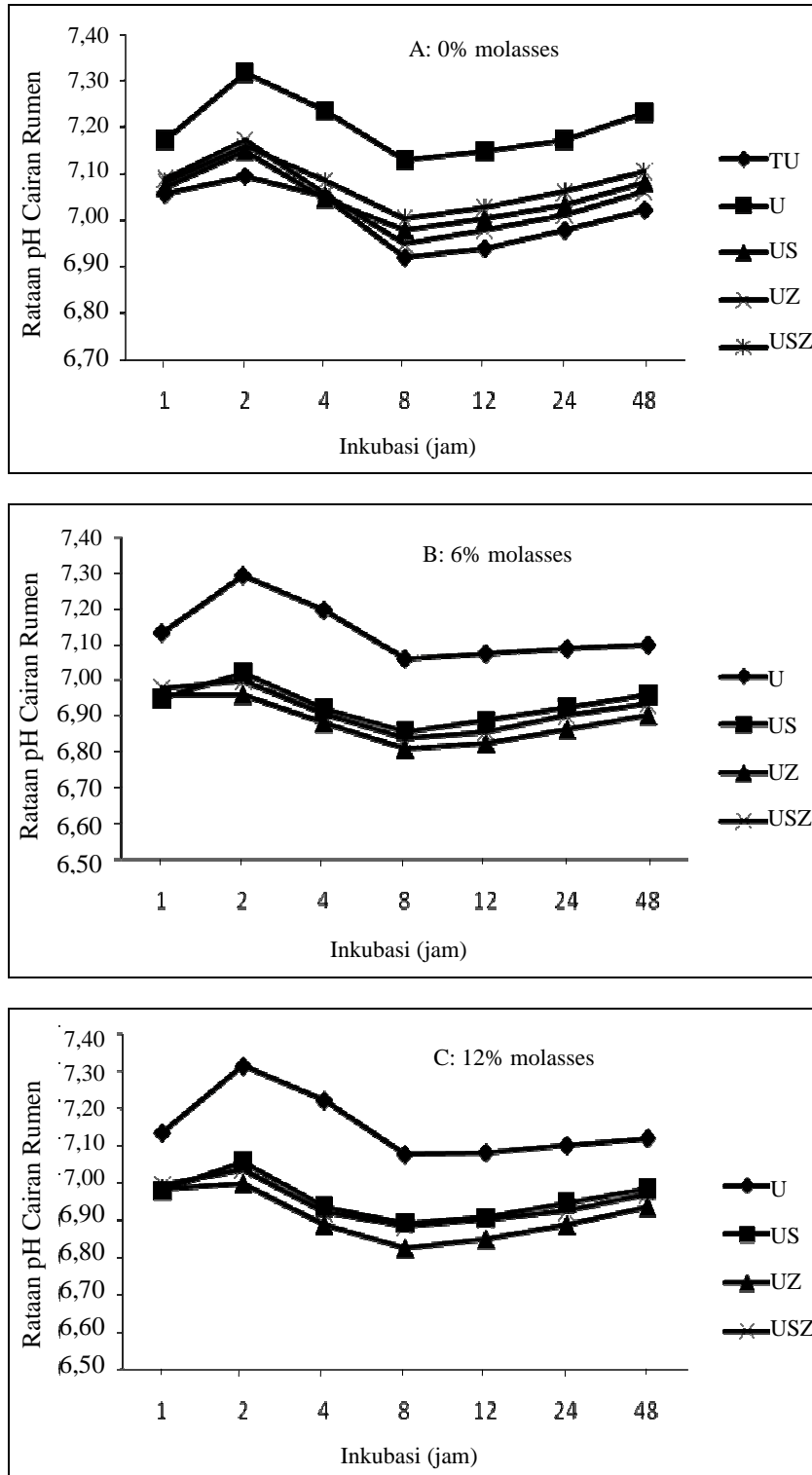
Pola perubahan pH tampak lebih menyerupai pola perubahan NH_3 daripada pola perubahan VFA. Laju peningkatan pH (d_{pH}/d_t) pada I_1 – I_2 berkisar antara 0 – 0,136 unit/jam sedangkan laju penurunannya berkisar antara -0,024 dan -0,035 unit/jam pada I_2 – I_8 . Laju peningkatan pH pada I_8 – I_{24} berkisar antara 0,002 – 0,004 unit/jam dan pada I_{24} – I_{48} laju peningkatannya

semakin menurun (0,001 – 0,002 unit/jam). Hasil ini mirip dengan pola perubahan pH yang diperoleh GALINA *et al.* (2003). Perbedaannya adalah penurunan pH yang diperoleh GALINA *et al.* (2003) berlangsung sampai inkubasi 6 jam, lalu meningkat lagi. Sementara, pada penelitian ini penurunan pH berlangsung sampai inkubasi 8 jam, lalu meningkat lagi. Pergeseran pola penurunan pH sampai inkubasi 8 jam ini selaras dengan pola penurunan NH_3 dan VFA yang terjadi pada penelitian ini. Pergeseran pola tersebut mengungkapkan sifat lepas-lamban dari US, UZ, atau USZ memungkinkan mikroba rumen untuk menggunakan amonia dan VFA (*isoacids*) secara lebih sinambung untuk pertumbuhannya.

Rataan nilai pH cairan rumen yang lebih tinggi pada perlakuan JU dibandingkan dengan TU pada penelitian ini, telah dilaporkan pula oleh banyak peneliti walaupun dalam beberapa kasus hal tersebut tidak terjadi. KIM *et al.* (2007) melaporkan suplementasi urea menghasilkan nilai pH yang lebih alkalis ($P < 0,05$) daripada ransum yang mengandung bungkil kedelai. Namun, MLAY *et al.* (2003) melaporkan rata-rata nilai pH cairan rumen tidak dipengaruhi oleh sumber atau kadar suplementasi nitrogen, tetapi suplementasi urea cenderung menurunkan nilai pH cairan rumen. Dalam kasus ini, MLAY *et al.* (2003) berargumen bahwa pengaruh urea terhadap nilai pH cairan rumen dapat meningkatkan pH berdasar alkalinitasnya, atau menurunkan pH akibat terjadinya perbaikan fermentabilitas dan sebagai dampaknya terhadap perbaikan produksi VFA.

KIM *et al.* (2007) lebih menekankan bahwa peningkatan pH cairan rumen sebagian besar merupakan cerminan dari peningkatan rasio NH_3 terhadap kadar VFA. Rasio NH_3 :VFA yang diperoleh dari hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Kim *et al.* (2007) tersebut. Dalam hal ini, rasio NH_3 :VFA dari perlakuan U lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada perlakuan US, UZ, atau USZ. Begitu pula rasio NH_3 :VFA dari perlakuan tanpa molases (M_0) lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada perlakuan molases 6% (M_6) atau 12% (M_{12}) pada setiap periode inkubasi (Tabel 2).

Hasil di atas mengungkapkan bahwa pada kadar molases yang sama, keberadaan US, UZ, atau USZ dapat menekan sifat alkalis dari U. Dampak terbaik dari US, UZ, atau USZ dalam menekan sifat alkalis dari U tampak apabila dikombinasikan dengan molases 6%. Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan LUDDEN *et al.* (2000) bahwa peningkatan dosis N-(n-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) untuk menghambat aktivitas *urease*, menyebabkan penurunan pH cairan rumen secara linier. Penurunan pH juga dilaporkan oleh KATHIRVELAN dan BALAKRISHNAN (2006) yang menggunakan seng sebagai penghambat hidrolisis urea menjadi amonia.



Keterangan:

US = urea-seng sulfat

TU = tanpa urea

USZ = urea-seng sulfat-zeolit

UZ = urea-zeolit

Gambar 3. Rataan pH cairan rumen pada setiap periode inkubasi

Kecernaan bahan kering

Rataan kecernaan bahan kering (KBK) dalam cairan rumen *in vitro* sebagai akibat perlakuan berkisar antara 6,6 dan 60,2% (Gambar 4). Perlakuan jenis urea dan kadar molases berpengaruh ($P<0,05$) terhadap KBK dan tidak terdapat pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases terhadap KBK. Substitusi U oleh US, UZ, atau USZ meningkatkan rataan KBK ($P<0,05$), namun antarperlakuan US, UZ, dan USZ menghasilkan rataan KBK yang sama. Peningkatan kadar molases menjadi 6 atau 12% juga meningkatkan rataan KBK.

Tingginya rataan KBK sebagai akibat perlakuan US, UZ, atau USZ dibandingkan dengan perlakuan U diduga bahwa sejak awal inkubasi, sifat lepas-lambannya mampu menyelaraskan asupan sumber NPN dan sumber energi bagi mikroba rumen sehingga dapat memperbaiki aktivitas fermentatif mikroba rumen dalam merombak BK ransum. Dugaan ini didukung oleh data rataan pH dan rasio NH_3 :VFA yang lebih rendah pada perlakuan US, UZ, dan USZ dibandingkan dengan perlakuan U. Menurut MLAY *et al.* (2003) penurunan pH pada ransum bersuplemen urea mencerminkan perbaikan fermentabilitas dan sebagai dampaknya terhadap perbaikan produksi total VFA. KIM *et al.* (2007) menjelaskan situasi tersebut dengan angka rasio NH_3 :VFA yang sejalan dengan penelitian ini. Penelitian ini juga sejalan dengan temuan WIDIAWATI dan THALIB (2007) yang melaporkan pada rasio NH_3 :VFA tertinggi diperoleh *biomass* mikroba rumen terendah.

Rataan KBK dari perlakuan US, UZ, dan USZ yang lebih tinggi daripada perlakuan U pada penelitian ini

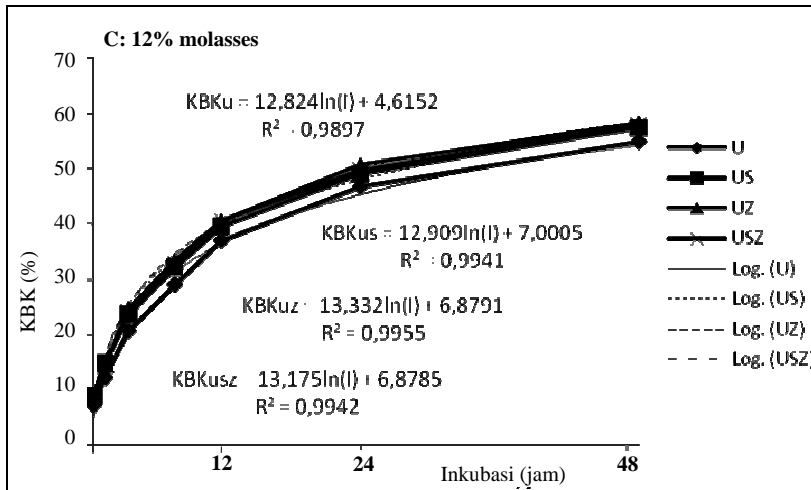
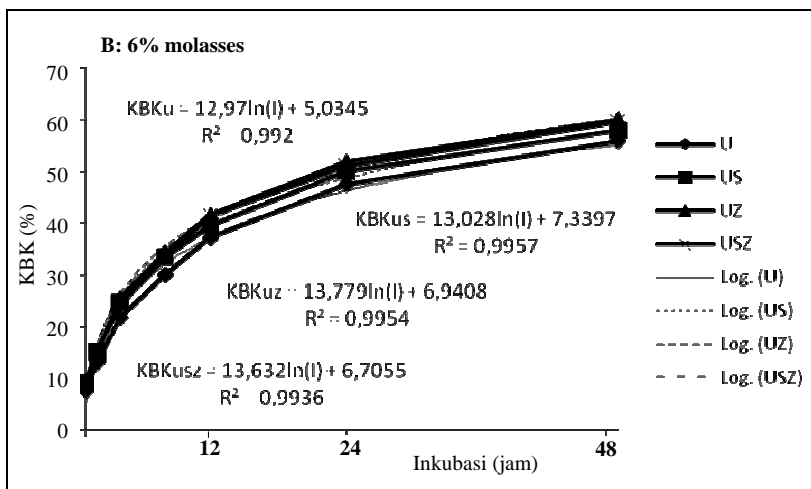
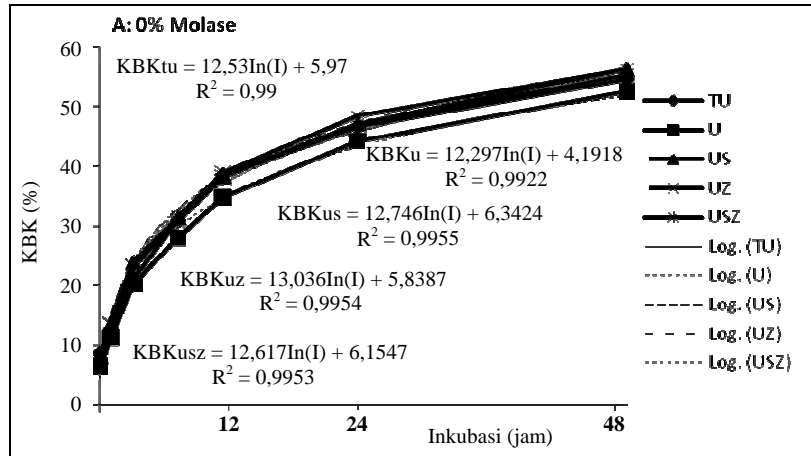
selaras dengan hasil penelitian ALI *et al.* (2008) yang menggunakan biuret, urea, dan bungkil biji kapas sebagai sumber N dan pati sebagai sumber karbohidrat terfermentasinya pada ransum berbasis jerami. ALI *et al.* (2008) melaporkan rataan KBK tertinggi ($P<0,001$) diperoleh dari perlakuan biuret-pati dan terendah ($P<0,001$) dari bungkil biji kapas, sementara rataan KBK dari perlakuan urea-pati, urea, dan biuret berada di antaranya. Hasil ini selaras dengan data KBK yang diperoleh GALINA *et al.* (2003) yang memperlihatkan peningkatan KBK dengan penambahan sumber urea lepas-lambannya. Sebaliknya, KIM *et al.* (2007) melaporkan bahwa sumber nitrogen yang terdiri dari bungkil kedelai (*soyPLUS*), urea, dan ampas jeruk kering (*dried citrus pulp*) tidak berpengaruh terhadap KBK. ARELOVICH *et al.* (2000) yang menggunakan Zn sebagai penghambat ureolisis, melaporkan rataan KBK yang semakin menurun dengan meningkatnya kadar Zn. Begitu pula LUDDEN *et al.* (2000) memperlihatkan penurunan KBK secara linier akibat penambahan NBPT, mulai dari dosis terendahnya (6,5 mg/tabung fermentor).

Peningkatan rataan KBK akibat peningkatan kadar molases menjadi 6% atau 12% pada penelitian ini sejalan dengan temuan HOOVER *et al.* (2006) yang melaporkan bahwa KBK meningkat secara kuadratis dengan peningkatan kadar molases ($P=0,02$) ransum. Data ini menunjukkan bahwa molases memasok sumber energi yang mudah tersedia bagi mikroba rumen sehingga dapat mempercepat peningkatan *biomass* dan aktivitas fermentatif mikroba rumen. Dalam hal ini, kadar molases optimal yang mendukung KBK ransum yang diujicobakan adalah 6%.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap rasio NH_3 :VFA cairan rumen

Perlakuan	Masa inkubasi (Jam)						
	1	2	4	8	12	24	48
Jenis Urea		Rasio NH_3 :VFA cairan rumen (mM/mM)					
U	0,20 ^a	0,19 ^a	0,20 ^a	0,18 ^a	0,15 ^a	0,14 ^a	0,13 ^a
US	0,13 ^b	0,13 ^b	0,12 ^b	0,12 ^b	0,11 ^b	0,11 ^b	0,11 ^b
UZ	0,13 ^b	0,12 ^b	0,11 ^b	0,10 ^c	0,09 ^c	0,09 ^c	0,09 ^c
USZ	0,14 ^b	0,12 ^b	0,12 ^b	0,11 ^{bc}	0,10 ^b	0,10 ^b	0,10 ^b
Molases, %							
0	0,19 ^a	0,17 ^a	0,18 ^a	0,17 ^a	0,15 ^a	0,13 ^a	0,13 ^a
6	0,13 ^b	0,12 ^b	0,12 ^b	0,11 ^b	0,10 ^b	0,10 ^b	0,10 ^b
12	0,13 ^b	0,12 ^b	0,11 ^b	0,10 ^b	0,10 ^b	0,09 ^b	0,09 ^b

Superskrip berbeda pada kolom yang sama untuk masing-masing jenis urea atau kadar molases, berbeda nyata ($P<0,05$)



Keterangan:

I = inkubasi, jam

US = urea-seng sulfat

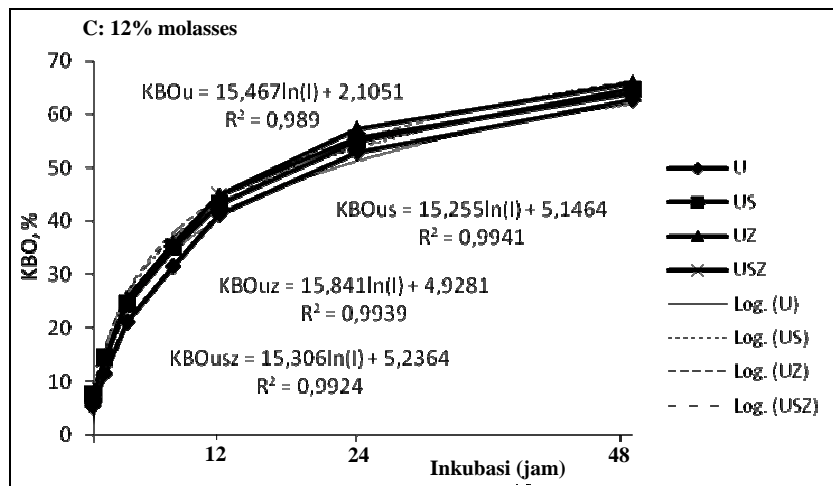
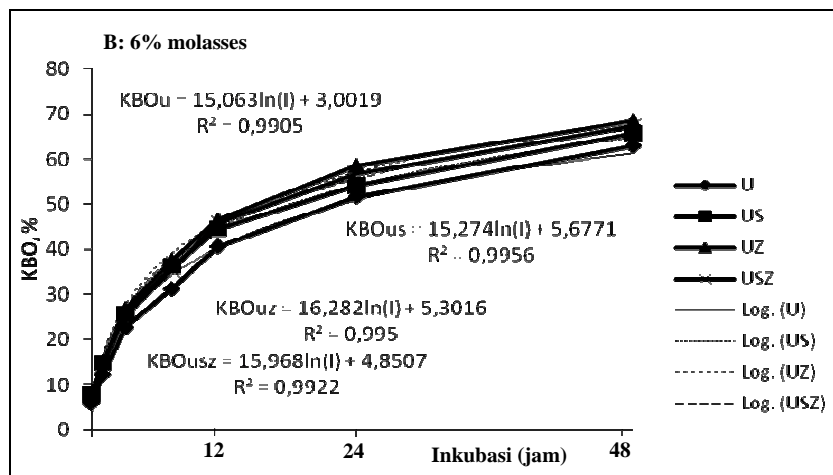
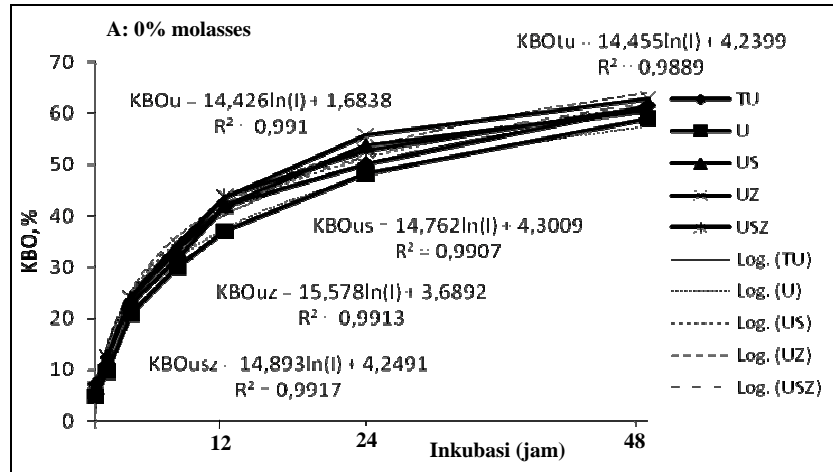
R² = koefisien determinasi

TU = tanpa urea

UZ = urea-zeolit

USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Gambar 4. Rataan pencernaan bahan kering (KBK) dan nilai dugaan KBK *in vitro* berdasar regresi logaritmik



Keterangan:

I = inkubasi, jam

US = urea-seng sulfat

R^2 = koefisien determinasi

U = urea

UZ = urea-zeolit

USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Gambar 5. Grafik rataan pencernaan bahan organik (KBO) dan nilai dugaan KBO *in vitro* berdasar regresi logaritmik

Rataan KBK meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi dengan laju cerna ($slope = d_{KBK}/d_t$) yang semakin menurun (nilai $slope$ positif semakin kecil). Laju cerna BK berkisar antara 4,67 – 8,19%/jam pada I_1 – I_2 , lalu secara bertahap menurun menjadi 2,79 – 3,12%/jam pada I_2 – I_8 , lalu menjadi 0,84 – 1,11%/jam pada I_8 – I_{24} , dan 0,32 – 0,38%/jam pada I_{24} – I_{48} .

Tingginya laju cerna BK pada I_2 terjadi karena pada saat tersebut aktivitas mikroba maksimum, ditandai dengan tingginya kadar amonia dan total VFA (Gambar 1 dan 2) yang merupakan produk fermentatif mikroba rumen. Penurunan laju cerna BK pada I_2 – I_8 terjadi karena pada saat tersebut penggunaan produk fermentatif oleh mikroba rumen meningkat dan mencapai maksimum pada I_8 . Setelah I_8 , penggunaan produk fermentatif oleh mikroba rumen semakin menurun terutama setelah I_{24} , baik akibat penurunan *biomass* mikroba maupun akibat produk fermentatif sekunder yang menghambat aktivitas fermentatif enzim mikroba sehingga laju cerna BK semakin menurun.

Berdasar analisis regresi pendugaan kurva, ternyata persamaan logaritmik natural (\ln) paling sesuai untuk menggambarkan pola cerna BK pada penelitian ini. Pola cerna BK dari rataan perlakuan mengikuti persamaan logaritmik berikut: $KBK (\%) = 6,15 + 12,6 \ln (I)$; ($P < 0,01$; $R^2 = 0,995$; $I =$ waktu inkubasi dalam jam dan $I > 0$). Dengan demikian, nilai dugaan laju cerna BK meningkat sebesar 13% dari setiap penambahan logaritmik satu jam inkubasi. Nilai dugaan KBK untuk setiap ransum percobaan dapat ditentukan berdasarkan persamaan regresi logaritmiknya (Gambar 4).

Kecernaan bahan organik

Rataan kecernaan bahan organik (KBO) dalam cairan rumen *in vitro* sebagai akibat perlakuan berkisar antara 5,42% dan 66,04% (Gambar 5). Jenis urea atau kadar molases berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap KBO. Walaupun demikian, tidak terdapat pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases terhadap KBO. Substitusi U oleh US, UZ, atau USZ meningkatkan ($P < 0,05$) rataan KBO. Pada I_{24} dan I_{48} , perlakuan UZ menghasilkan rataan KBO tertinggi ($P < 0,05$). Peningkatan kadar perlakuan molases 6% dan 12% menghasilkan rataan KBO yang sama, kecuali pada I_{48} perlakuan molases 6% menghasilkan KBO yang lebih tinggi. Rataan KBO dari perlakuan tanpa urea sama dengan rataan KBO dari perlakuan berbagai jenis urea pada I_1 s.d. I_4 , namun pada periode inkubasi berikutnya menjadi lebih rendah ($P < 0,05$). Perbaikan KBO yang diperlihatkan oleh perlakuan US, UZ, dan USZ dibandingkan dengan perlakuan U merupakan cerminan dari perbaikan KBK. Kondisi tersebut merupakan dampak sifat lepas-lamban dari US, UZ, atau USZ

dalam menyelaraskan asupan sumber NPN dan sumber energi bagi mikroba rumen sehingga dapat memperbaiki aktivitas fermentatifnya dalam mencerna BO ransum. Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa substitusi U oleh US, UZ, atau USZ dapat meningkatkan KBO dalam cairan rumen secara *in vitro*. Hasil ini selaras dengan data KBO yang diperoleh GALINA *et al.* (2003) yang memperlihatkan peningkatan KBO dengan penambahan sumber urea lepas-lambannya secara *in situ*.

Pola cerna BO serupa dengan pola cerna BK ransum. Persentase KBO meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi dengan laju cerna ($slope = d_{KBO}/d_t$) yang semakin menurun (nilai $slope$ positif semakin kecil). Laju cerna BO berkisar antara 4,8 – 7,32%/jam pada I_1 – I_2 , lalu secara bertahap menurun menjadi 3,15 – 3,74%/jam pada I_2 – I_8 , lalu menjadi 0,92 – 1,34%/jam pada I_8 – I_{24} , dan akhirnya menjadi 0,29 – 0,48%/jam pada I_{24} – I_{48} . Perubahan yang terjadi pada laju cerna BO ini dapat dijelaskan seperti pada penjelasan sebelumnya untuk perubahan laju cerna BK. Seperti halnya pada pola cerna BK, ternyata persamaan logaritmik natural (\ln) paling sesuai untuk menggambarkan pola cerna BO pada penelitian ini. Pola cerna BO dari rataan ransum percobaan mengikuti persamaan logaritmik berikut: $KBO (\%) = 4,2 + 15,3 \ln (I)$; ($P < 0,01$; $R^2 = 0,98$; $I =$ waktu inkubasi dalam jam, dan $I > 0$). Nilai dugaan KBO untuk setiap perlakuan dapat ditentukan berdasarkan persamaan regresi logaritmiknya (Gambar 5).

KESIMPULAN

Penggunaan urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit dalam ransum berbasis jerami padi sebagai sumber urea lepas-lamban dapat menekan rataan kadar NH_3 sampai periode inkubasi 48 jam, mengendalikan rataan kadar total VFA dan nilai pH yang tercermin dari rasio NH_3 :VFA yang lebih rendah daripada ransum urea, serta memperbaiki kecernaan bahan kering dan bahan organik ransum. Dampak terbaik sifat lepas-lamban dari urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit terhadap kadar NH_3 , VFA, pH, serta kecernaan bahan kering dan bahan organik dicapai ketika dikombinasikan dengan molases 6%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan tinggi disampaikan kepada IPB yang telah mendukung pendanaan untuk penelitian ini melalui program Hibah Penelitian bagi Mahasiswa Program Doktor Sekolah Pascasarjana IPB Tahun Anggaran 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- ALI, C.S., T. KHALIQ, M. SARWAR, A. JAVAID, M.A. SHAHZAD, M. NISA and S. ZAKIR. 2008. Effect of various nonprotein nitrogen sources on *in vitro* dry matter digestibility, ammonia production, microbial growth and pH changes by rumen bacteria. *Pakistan Vet. J.* 28: 25-30.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, Virginia.
- ARELOVICH, H.M., F.N. OWENS, G.W. HORN and J.A. VIZCARRA. 2000. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. *J. Anim. Sci.* 78: 2972-2979.
- BALAREW, C.H.R., S.T. TEPAVITCHAROVA and R. GERGULOVA. 2006. Formation of Anhydrous Compounds in the MX₂ - CO(NH₂)₂ - H₂O (M₂+ = Mg, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd; X- = Cl, Br, I) Systems. 12th International Symposium on Solubility Phenomena and Related Equilibrium Processes. TU Bergakademie. Freiberg, Germany. July, 23th - 28th 2006. Freiberg. pp. 61.
- BAMPIDIS, V.A. and P.H. ROBINSON. 2006. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128: 175-217.
- BERGMAN, E.N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70: 567-590.
- BOSI, P., D. CRESTON and L. CASINI. 2002. Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. *Ital. J. Anim. Sci.* 1: 187-195.
- BRITO, A.F. and G.A. BRODERICK. 2007. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 1816-1827.
- BRODERICK, G.A. and J.H. KANG. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *J. Dairy Sci.* 63:64-75.
- CASS, J.L. and C.R. RICHARDSON. 1994. *In vitro* ammonia release from urea/calcium compounds as compared to urea and cottonseed meal. Technical Report No. T-5-342. Texas Tech University, Lubbock.
- CHIZZOTTI, F.H.M., O.G. PEREIRA, L.O. TEDESCHI, S.C.V. FILHO, M.L. CHIZZOTTI, M.I. LEO and D.H. PEREIRA. 2008. Effects of dietary nonprotein nitrogen on performance, digestibility, ruminal characteristics, and microbial efficiency in crossbred steers. *J. Anim. Sci.* 86: 1173-1181.
- CURRIER, T.A., D.W. BOHNERT, S.J. FALCK, C.S. SCHAUER and S.J. BARTLE. 2004. Daily and alternate-day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: III. Effects on ruminal fermentation characteristics in steers. *J. Anim. Sci.* 82: 1528-1535.
- FIEVEZ, V., K. DE FAUW, K. NOTTEBOOM and D. DEMEYER. 2001. Effect of level and origin of rumen degradable nitrogen on rumen microbial growth and nitrogen utilisation efficiency of animals fed maize silage at maintenance. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 349-364.
- GALINA, M.A., F. PE´REZ-GIL, R.M.A. ORTIZC, J.D. HUMMELE and R.E. ØRSKOV. 2003. Effect of slow-release urea supplementation on fattening of steers fed sugar cane tops (*Saccharum officinarum*) and maize (*Zea mays*): ruminal fermentation, feed intake and digestibility. *Livest. Prod. Sci.* 83: 1-11.
- GALO, E., S.M. EMANUELE, C.J. SNIFFEN, J.H. WHITE and JR. KNAPP. 2003. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 2154-2162.
- GOLOMBESKI, G.L., K.F. KALSCHUR, A.R. HIPPEN and D.J. SCHINGOETHE. 2006. Slow-Release Urea and Highly Fermentable Sugars in Diets Fed to Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 89: 4395-4403.
- GOMEZ, K.A. dan A.A. GOMEZ. 1995. Prosedur Statistik untuk Pertanian. Edisi Kedua. Terjemahan: E. Syamsuddin dan J.S. Baharsyah. Universitas Indonesia (UI- Press), Jakarta.
- HOLLADAY, W. 1998. Slow release non-protein nitrogen source for ruminant feed and process of making. United States Patent 5733590. <http://www.freepatentsonline.com/5733590.html>. [16 September 2006]
- HOOVER, W.H., C. TUCKER, J. HARRIS, C.J. SNIFFEN and M.B. DE ONDARZA. 2006. Effects of nonstructural carbohydrate level and starch: Sugar ratio on microbial metabolism in continuous culture of rumen contents. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128: 307-319.
- HRISTOV, A.N., J.K. ROPP, K.L. GRANDEEN, S. ABEDI, R.P. ETTER, A. MELGAR and A.E. FOLEY. 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. *J Anim Sci.* 83: 408-421.
- HUNTINGTON, G.B., D.L. HARMON, N.B. KRISTENSEN, K.C. HANSON and J.W. SPEARS. 2006. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 130: 225-241.
- KATHIRVELAN, C. and V. BALAKRISHNAN. 2006. Effect of zinc supplementation on urea hydrolysis in an invitro fermentation using rumen liquor. *Mal. J. Nutr* 12: 93-99.
- KHORASANI, G.R., E.K. OKINE and J.J. KENNELLY. 2001. Effects of substituting barley grain with corn on ruminal fermentation characteristics, milk yield, and milk composition of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 84: 2760-2769.
- KIM, S.C., A.T. ADESOGAN and J.D. ARTHINGTON. 2007. Optimizing nitrogen utilization in growing steers fed forage diets supplemented with dried citrus pulp. *J. Anim Sci.* 85: 2548-2555.
- LEE, M.R.F., R.J. MERRY, D.R. DAVIES, J.M. MOORBY, M.O. HUMPHREYS, M.K. THEODOROU, J.C. MACRAE,

- and N.D. SCOLLAN. 2003. Effect on increasing availability of water-soluble carbohydrates on *in vitro* rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 104: 59–70.
- LOEST, C.A., E.C. TITGEMEYER, J.S. DROUILLARD, B.D. LAMBERT and A.M. TRATER. 2001. Urea and biuret as a nonprotein nitrogen sources in cooked molasses blocks for steers fed prairie hay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 94: 115-126.
- LOUGHBROUGH, R. 1993. Minerals for Animal Feed in a Stable Market. *Industrial Minerals*. pp. 19–33.
- LUDDEN, P.A., D.L. HARMON, G.B. HUNTINGTON, B.T. LARSON and D.E. AXE. 2000. Influence of the novel urease inhibitor N-(n-butyl) thiophosphoric triamide on ruminant nitrogen metabolism: II. Ruminant nitrogen metabolism, diet digestibility, and nitrogen balance in lambs. *J. Anim. Sci.* 78: 188–198.
- MAKKAR, H.P.S., M. BLUMMEL and K. BECKER. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implications in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. *Br. J. Nutr.* 73: 897–933.
- MCCORMICK, M.E., D.D. REDFEARN, J.D. WARD and D.C. BLOUIN. 2001. Effect of protein source and soluble carbohydrate addition on rumen fermentation and lactation performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 84: 1686–1697.
- MENKE, K.H. and H. STEINGASS. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7–55.
- MIGLIORATI, L., F. ABENI, M.P. CATTANEO, C. TORNIELLI and G. PIRLO. 2007. Effects of adsorbent in dairy cow diet on milk quality and cheese-making properties. *Ital. J. Anim. Sci.* 6 (Suppl. 1): 460-462.
- MLAY, P.S., A.E. PEREKA, M.R. WEISBJERG, T. HVELPLUND and J. MADSEN. 2003. Digestion and passage kinetics of fibre in mature dairy heifers maintained on poor quality hay as affected by the source and level of nitrogen supplementation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109:19–33.
- ROTGER, A., A. FERRET, S. CALSAMIGLIA and X. MANTECA. 2006. Effects of nonstructural carbohydrates and protein sources on intake, apparent total tract digestibility, and ruminal metabolism *in vivo* and *in vitro* with high-concentrate beef cattle diets. *J Anim Sci.* 84: 1188-1196.
- SADEEK, S.A. 1993. Preparation, infrared spectrum and thermal studies of $[Zn_2(H_2O)_4(SO_4)_2]$ complex formed by the reaction of urea with zinc II sulphate. *J. Phys. Chem. Solids.* 54: 919-922.
- TAYLOR-EDWARDS, C.C., G. HIBBARD, S.E. KITTS, K.R. MCLEOD, D.E. AXE, E.S. VANZANT, N.B. KRISTENSEN and D.L. HARMON. 2009. Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. *J. Anim. Sci.* 87: 200-208.
- WIDIAWATI, Y. and A. THALIB. 2007. Comparison fermentation kinetics (*in vitro*) of grass and shrub legume leaves: The pattern of VFA concentration, estimated CH₄ and microbial biomass production. *JITV* 12: 96-104.