

Urea Lepas-Lamban dalam Ransum Berbasis Jerami Padi untuk Meningkatkan Efisiensi Sintesis Protein Mikroba Rumen Secara *In Vitro*

DEDE 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 18 Mei 2010)

ABSTRACT

KARDAYA, D., K.G. WIRYAWAN, A. PARAKKASI and H.M. WINUGROHO. 2010. *In vitro* slow-release urea contained in rice straw-based diets to increase efficiency of rumen microbial protein synthesis. *JITV* 15(2): 105-117.

Effect of slow-release urea on efficiency of rumen microbial protein synthesis (EMPS) was examined using an *in vitro* technique. The objective of this experiment was to reveal the *in vitro* slow-release urea characteristics of zinc-urea, zeolites-urea, and zeolites-zinc-urea in relation to EMPS observed in different incubation time. The experimental design employed was randomized block design with 4 x 3 factorial 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 the rice straw-based diets containing neither urea nor molasses. Diets consisting 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 the control treatment vs. various urea sources. Results indicated that treatment of UZ combined with 6% of molasses showed the highest microbial biomass production (2.71 mg/l) at 24 hours fermentation period with its peak production estimation (3.2 mg/l) reached at 33.5 hours of fermentation period. Moreover, UZ treatment resulted in the highest microbial protein synthesis (1,381.45 ± 77.1 mg/l) at 24 hours fermentation period with its peak microbial protein synthesis estimation (1,756.04 mg/l) reached at 33.7 hours of fermentation period. The highest EMPS (25.98 ± 1.21 mg/100 mg OMD) was achieved when ration contained 6% of molasses.

Key words: Slow-Release Urea, Microbial Protein Synthesis, Microbial Biomass, *In vitro*

ABSTRAK

KARDAYA, D., K.G. WIRYAWAN, A. PARAKKASI dan H.M. WINUGROHO. 2009. Urea lepas-lamban dalam ransum berbasis jerami padi untuk meningkatkan efisiensi sintesis protein mikroba rumen secara *in vitro*. *JITV* 15(2): 105-117.

Dampak lepas-lamban urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit terhadap sintesis dan efisiensi sintesis protein mikroba rumen telah diuji menggunakan teknik *in vitro*. Tujuannya adalah untuk meningkatkan nilai guna urea sebagai sumber nitrogen bukan protein untuk sintesis protein mikroba (SPM). 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). Respons peubah yang diamati dianalisis dengan GLM ANOVA 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). Hasil penelitian mengungkapkan bahwa pada waktu inkubasi 24 jam, produksi biomassa mikroba tertinggi (2,71 mg/l) dicapai ketika perlakuan UZ dikombinasikan dengan molases berkadar 6%, dengan dugaan puncak produksi biomassa mikroba tertinggi (3,20 mg/ml) dicapai pada 33,5 jam periode inkubasi. Pada periode inkubasi 24 jam, perlakuan UZ menghasilkan SPM tertinggi (1.381,45 ± 77,1 mg/l) dengan dugaan puncak SPM tertinggi (1.756,04 mg/ml) pada 33,7 jam periode inkubasi. ESPM tertinggi (25,98 ± 1,21 mg/100 mg BOT) dicapai oleh perlakuan kadar molases 6%. Pada periode inkubasi 24 jam, efisiensi penggunaan amoniak (EPN) tertinggi (162,68 ± 7,71 mg protein mikroba/mmol NH₃) dicapai oleh UZ jika dikombinasikan dengan molases berkadar 6%.

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

PENDAHULUAN

Kebutuhan asam amino ternak ruminansia yang diberi ransum hijauan berkualitas rendah hampir

sebenarnya bergantung pada pasokan protein mikroba karena hampir tidak ada protein sejati yang lolos dari aksi mikroba rumen yang tersedia dari pakan tersebut

(MLAY *et al.*, 2003). Mikroba rumen menghidrolisis urea menjadi amonium (NH_4^+) dan amoniak (NH_3) untuk mensintesis protein selnya (COUTINHO *et al.*, 2004). Namun karena urea dengan cepat dihidrolisis menjadi amoniak dalam rumen maka amoniak yang dilepaskan tidak digunakan secara efisien untuk sintesis protein mikroba (JAIN *et al.*, 2005; HUNTINGTON *et al.*, 2006). Oleh karena itu, upaya optimalisasi sintesis protein mikroba melalui penggunaan urea pada ruminansia yang diberi ransum hijauan berkualitas rendah sangat penting dilakukan.

Upaya optimalisasi sintesis protein mikroba dimaksud dapat dilakukan dengan cara memperlamban laju hidrolisis urea menjadi amoniak agar amoniak tidak cepat terakumulasi sehingga penggunaannya oleh mikroba rumen untuk sintesis protein selnya menjadi lebih efisien. Pada penelitian sebelumnya, terungkap bahwa substitusi urea oleh urea-seng, urea-zeolit, dan urea-seng-zeolit yang dikombinasikan dengan berbagai kadar molases dapat menekan produksi amoniak secara *in vitro* (KARDAYA *et al.*, 2009). Oleh karena itu, ketiga produk yang memperlihatkan sifat lepas-lamban urea tersebut diharapkan dapat meningkatkan efisiensi sintesis protein mikroba sehingga dapat meningkatkan nilai gunanya bagi ternak ruminansia yang mengkonsumsi ransum berbasis hijauan kualitas rendah seperti jerami padi.

MATERI DAN METODE

Makalah ini merupakan studi lanjutan, sehingga secara prinsip materi dan metodenya telah dijelaskan dalam KARDAYA *et al.* (2009).

Sampel ransum, sumber mikroba dan media inkubasi

Sampel ransum, sumber mikroba, dan media inkubasi dipersiapkan sebagaimana dijelaskan dalam KARDAYA *et al.* (2009).

Perlakuan ransum

Ransum yang 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 (KARDAYA *et al.*, 2009). 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, $M_0 = 0\%$ molases, $M_6 = 6\%$ molases, dan $M_{12} = 12\%$ molases dari bahan kering ransum). Dalam

sampel ransum ini, US, UZ, dan 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.

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: produksi biomassa mikroba (PBM), sintesis protein mikroba (SPM), efisiensi sintesis protein mikroba (ESPM), dan efisiensi penggunaan amoniak oleh mikroba rumen (EPN).

Pengelolaan sampel dan analisis laboratorium

Pada setiap akhir dari periode inkubasi yang telah ditentukan, tabung fermentasi dikeluarkan dari inkubator lalu ditempatkan dalam mesin vortex selama sekitar 5 detik untuk membebaskan mikroba dari partikel pakan. Selanjutnya cairan rumen dalam tabung dimaksud ditempatkan dalam mesin sentrifugal berkecepatan 3.000 rpm selama 15 menit sehingga padatannya yang terdiri dari partikel pakan dan sebagian protozoa mengendap terpisah dari supernatannya. Dua ml dari supernatan tersebut, dituangkan ke dalam tabung effendorf lalu diendapkan dengan mesin sentrifugal berkecepatan 15.000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit sehingga terbentuk endapan biomassa mikroba yang melekat kuat pada bagian dasar tabung effendorf dimaksud. Endapan biomassa mikroba yang terbentuk akibat sentrifugasi kedua tersebut dibilas dengan akuades secara seksama, lalu disentrifugasi lagi pada 15.000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan hasil sentrifugasi ketiga ini dibuang dan endapan biomassa mikroba ditiriskan dengan cara menempatkan tabung effendorf secara terbalik selama 24 jam pada suhu kamar. Endapan mikroba hasil penirisan tersebut ditimbang untuk menentukan bobot segar biomassa mikroba, lalu dikeringkan dalam oven bersuhu 65°C selama 48 jam, lalu ditimbang untuk menentukan bobot keringnya.

Selanjutnya, biomassa mikroba kering dalam tabung effendorf tersebut disuspensikan dengan 2 ml NaOH 1 N, dimasukkan ke dalam mesin vortex selama 1 menit, lalu dipanaskan dengan cara merendamnya dalam *water bath* (Model) bersuhu $60 - 70^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit. Selanjutnya, tabung effendorf yang berisi suspensi biomassa mikroba tersebut diangkat dari *water bath* dan dibiarkan dingin dalam suhu kamar. Setelah dingin,

suspensi biomassa mikroba tersebut disentrifugasi lagi pada 15.000 rpm pada suhu 4⁰C selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk analisis protein mikroba.

Produksi biomassa mikroba ditetapkan sebagai mg bobot kering biomassa mikroba per ml cairan rumen. Kadar protein mikroba ditentukan dengan metode LOWRY *et al.* (1951) menggunakan larutan BSA (*bovine serum albumin*) sebagai standar. Efisiensi sintesis protein mikroba rumen dinyatakan dalam satuan mg protein mikroba per 100 mg bahan organik tercerna dalam rumen. Efisiensi penggunaan amoniak oleh mikroba rumen dinyatakan dalam satuan mg protein mikroba per mmol amoniak. Data bahan organik tercerna dalam rumen dan kadar amoniak cairan rumen yang digunakan untuk menghitung efisiensi dimaksud bersumber dari KARDAYA *et al.* (2009).

Analisis data

Respons peubah yang diamati terhadap perlakuan empat jenis urea dan tiga kadar molases dianalisis dengan GLM ANOVA menggunakan alat bantu piranti lunak SPSS 16.0. Analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (HSD) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan apabila terdapat pengaruh dari perlakuan. Analisis *slope* digunakan untuk mengetahui laju perubahan peubah yang diamati pada jam inkubasi tertentu, regresi kuadratik untuk mengetahui nilai dugaan produksi biomassa dan protein mikroba, dan korelasi parsial antara biomassa mikroba atau protein mikroba dan beberapa peubah (pH, NH₃, VFA, rasio

NH₃:VFA) yang diperoleh dari penelitian sebelumnya (KARDAYA *et al.*, 2009). Uji kontras digunakan untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan tanpa urea (TU) dan jenis urea (JU) (GOMEZ dan GOMEZ, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biomassa mikroba cairan rumen

Rataan biomassa mikroba cairan rumen *in vitro* sebagai akibat perlakuan berkisar antara 0,54 – 2,71 mg/ml. Perlakuan ransum tanpa urea (TU) menghasilkan biomassa mikroba yang lebih rendah ($P < 0,01$) daripada semua perlakuan jenis urea pada semua periode inkubasi. Baik perlakuan JU maupun kadar molases berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap biomassa mikroba cairan rumen pada semua periode inkubasi (Tabel 1). Namun pada periode inkubasi 8 dan 24 jam terjadi pengaruh interaksi perlakuan JU dan M terhadap biomassa mikroba (Gambar 1).

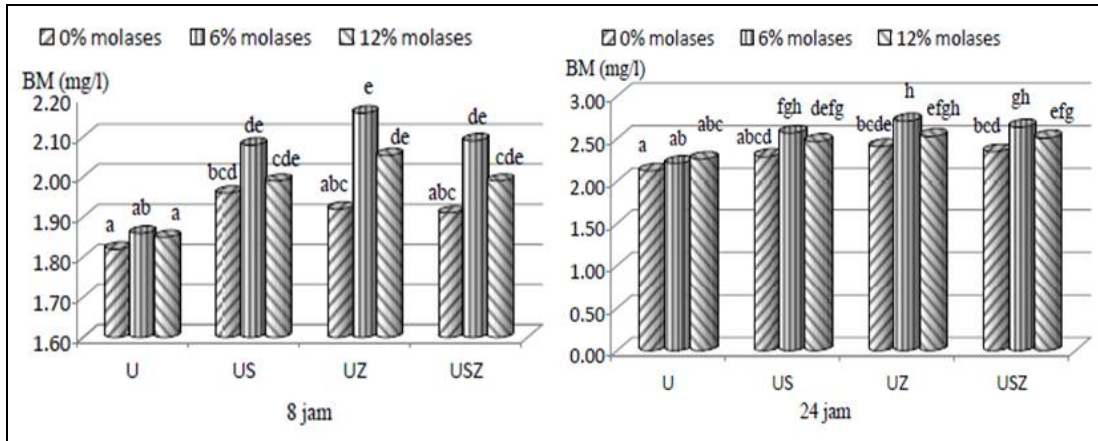
Substitusi urea (U) oleh urea-seng (US), urea-zeolit (UZ), atau urea-seng-zeolit (USZ) meningkatkan ($P < 0,05$) biomassa mikroba cairan rumen. Perlakuan US, UZ, dan USZ menghasilkan biomassa mikroba yang sama pada 1 – 4 jam inkubasi dan mulai berbeda pada inkubasi 8 – 48 jam. Dalam hal ini, biomassa mikroba dari perlakuan UZ menjadi lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada perlakuan US pada inkubasi 12 - 48 jam. Peningkatan kadar molases menjadi 6% atau 12% meningkatkan ($P < 0,05$) biomassa mikroba cairan

Tabel 1. Produksi biomassa mikroba *in vitro* akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases pada berbagai periode inkubasi

Perlakuan	Masa inkubasi (Jam)						
	1	2	4	8	12	24	48
Produksi biomassa mikroba (mg/ml)							
Jenis Urea (JU)							
U	0,54 ^a	0,88 ^a	1,60 ^a	1,84 ^a	2,07 ^a	2,20 ^a	2,32 ^a
US	0,70 ^b	1,12 ^b	1,72 ^b	2,01 ^{bc}	2,25 ^b	2,44 ^b	2,60 ^b
UZ	0,65 ^b	1,09 ^b	1,74 ^b	2,05 ^c	2,32 ^c	2,55 ^c	2,70 ^c
USZ	0,68 ^b	1,12 ^b	1,72 ^b	1,99 ^b	2,27 ^{bc}	2,50 ^{bc}	2,65 ^{bc}
Molases, %							
0	0,57 ^a	1,00 ^a	1,63 ^a	1,90 ^a	2,12 ^a	2,29 ^a	2,40 ^a
6	0,69 ^b	1,07 ^b	1,75 ^b	2,05 ^b	2,33 ^b	2,53 ^b	2,71 ^b
12	0,67 ^b	1,09 ^b	1,69 ^c	1,97 ^c	2,23 ^c	2,44 ^c	2,59 ^c
TU	0,56 ^a	0,93 ^a	1,60 ^a	1,90 ^a	2,11 ^a	2,28 ^a	2,40 ^a
JU	0,64 ^b	1,05 ^b	1,69 ^b	1,97 ^b	2,23 ^b	2,42 ^b	2,57 ^b

Superskrip berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($P < 0,05$)

tn = berbeda tidak nyata. TU = tanpa urea, U = urea, US = urea-seng sulfat, UZ = urea-zeolit, USZ = urea-seng sulfat-zeolit



Superskrip berbeda pada daerah grafik, berbeda nyata ($P < 0,05$)

- TU = tanpa urea
- U = urea
- US = urea-seng sulfat
- UZ = urea-zeolit
- USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Gambar 1. Produksi biomassa mikroba *in vitro* akibat pengaruh interaksi jenis urea dan kadar molases pada periode inkubasi 8 dan 24 jam

rumen. Peningkatan ($P < 0,05$) biomassa mikroba dari 0,412 mg/ml menjadi 0,568 mg/ml sebagai akibat dari suplementasi urea-molases terjadi pula pada kambing muda (JAIN *et al.*, 2005). BRETSCHNEIDERA *et al.* (2007) melaporkan bahwa suplementasi silase jagung pada sapi dara yang digembalakan tidak berpengaruh terhadap biomassa mikroba, yang berkisar antara 1,70 – 1,91 mg/ml cairan rumen.

Peningkatan produksi biomassa mikroba akibat substitusi U oleh US, UZ, atau USZ tersebut, diduga karena keseimbangan ketersediaan antara kadar NH_3 dan energi (VFA) hasil fermentasi bahan organik. Saat rasio NH_3 : VFA mencapai kisaran tertinggi sampai 4 jam inkubasi (KARDAYA *et al.*, 2009), rata-rata biomassa mikroba mencapai kisaran terendah (Tabel 1). Saat rasio NH_3 :VFA mulai menurun pada 8 jam inkubasi dan mulai stabil pada kisaran rasio terendah pada 24 – 48 jam inkubasi (KARDAYA *et al.*, 2009), produksi biomassa mikroba mulai meningkat dan stabil pada kisaran produksi tertinggi pada waktu inkubasi dimaksud. Karena peningkatan rasio NH_3 :VFA juga meningkatkan pH (KIM *et al.*, 2007), maka dilakukan uji korelasi antara produksi biomassa mikroba dan kedua peubah tersebut.

Korelasi tanpa peubah pengontrol (*zero-order correlation*) antara produksi biomassa mikroba dan rasio NH_3 : VFA bernilai negatif dan sangat nyata ($r = -0,81$; $P < 0,01$) pada 4 jam inkubasi dan korelasi negatif tersebut berlanjut sampai 48 jam inkubasi ($r = -0,88$; $P < 0,01$). Namun korelasi parsial yang menggunakan peubah pH sebagai peubah pengontrol, ternyata meniadakan korelasi antara produksi biomassa

mikroba dan rasio NH_3 :VFA dimaksud ($r = -0,2$; $P = 0,34$ pada inkubasi 4 jam dan $r = -0,28$; $P = 0,18$ pada inkubasi 48 jam). Data ini mengungkapkan bahwa hubungan negatif yang terjadi antara produksi biomassa mikroba dan rasio NH_3 :VFA adalah akibat dari hubungan antara masing-masing peubah (produksi biomassa mikroba, rasio NH_3 :VFA) dan status pH cairan rumen.

Pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases terhadap produksi biomassa mikroba cairan rumen terjadi pada inkubasi 8 dan 24 jam (Gambar 1). Pada inkubasi 8 jam tersebut, produksi biomassa mikroba mulai meningkat sementara rasio NH_3 :VFA mulai menurun dalam suasana pH cairan rumen yang berkisar antara 6,81 – 7,13. Produksi biomassa mikroba dan rasio NH_3 : VFA mulai stabil pada inkubasi 24 jam dalam suasana pH cairan rumen yang berkisar antara 6,87 - 7,18. Pada kedua titik inkubasi tersebut, pengaruh interaksi antara perlakuan US, UZ, atau USZ dan kadar molases 6 atau 12%, memperlihatkan produksi biomassa mikroba yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dalam suasana pH yang lebih rendah ($P < 0,05$) daripada yang diperlihatkan oleh pengaruh interaksi antara perlakuan U dan kadar molases 0, 6 atau 12%. Data ini mengungkapkan bahwa substitusi U oleh US, UZ, atau USZ yang dikombinasikan dengan kadar molases 6% menciptakan suasana yang sinergi antara pasokan amoniak dan energi sehingga produksi biomassa mikroba meningkat pada 8 jam inkubasi dan stabil pada 24 jam inkubasi. Pada waktu inkubasi dimaksud, produksi biomassa mikroba tertinggi (2,71 mg/l) dicapai ketika perlakuan UZ dikombinasikan dengan

molases berkadar 6%. Dalam hal ini, terjadi peningkatan biomassa mikroba sampai 28% jika U disubstitusi oleh UZ yang dikombinasikan dengan kadar molases 6%.

Laju produksi biomassa mikroba (dY/dt ; Y = biomassa mikroba, mg/ml; I = waktu inkubasi, jam) memperlihatkan peningkatan yang semakin berkurang. Laju produksi biomassa mikroba mencapai kisaran tertinggi (0,29 – 0,47 mg ml⁻¹ jam⁻¹) sampai periode inkubasi 2 jam, lalu berkurang menjadi 0,14 – 0,18 mg ml⁻¹ jam⁻¹ sampai 8 jam inkubasi, berkurang lagi menjadi 0,02 – 0,03 mg ml⁻¹ jam⁻¹ sampai 24 jam inkubasi, dan akhirnya laju produksi biomassa mikroba tersebut menjadi stabil dan terhenti (0 - 0,01 mg ml⁻¹ jam⁻¹) pada inkubasi 24 - 48 jam (Tabel 2). Laju produksi biomassa mikroba yang semakin berkurang seiring dengan peningkatan waktu inkubasi ini disebabkan oleh semakin berkurangnya substrat yang tersedia. Terhentinya laju produksi biomassa mikroba pada inkubasi 24 – 48 jam mencerminkan keseimbangan antara laju produksi dan laju mortalitasnya sehingga produksinya stabil pada kisaran 2,12 – 2,87 mg/ml.

Produksi biomassa mikroba seiring dengan peningkatan waktu inkubasi untuk setiap perlakuan dapat diduga melalui persamaan regresi kuadratik $BM = a + b_1I + b_2I^2$ dengan keeratan hubungan yang tinggi (R^2

berkisar antara 0,81 dan 0,884; $P = 0,000$; Tabel 3). Produksi biomassa mikroba mencapai maksimum saat $dBM/dI = 0$ sehingga nilai dugaan puncak produksinya dapat diketahui. Nilai dugaan puncak produksi biomassa mikroba untuk setiap perlakuan berkisar 2,33 – 3,2 mg/l yang dicapai saat inkubasi 27 – 33,5 jam. Dalam hal ini, perlakuan UZ yang dikombinasikan dengan kadar molases 6% memperlihatkan puncak produksi biomassa mikroba tertinggi (3,20 mg/ml) pada 33,5 jam periode inkubasi. Sementara itu, perlakuan U yang dikombinasikan dengan kadar molases 0 atau 6% memperlihatkan puncak produksi biomassa mikroba terendah (2,33 mg/ml) pada 28,3 dan 27 jam periode inkubasi.

Sintesis protein mikroba cairan rumen

Rataan sintesis protein mikroba (SPM) cairan rumen *in vitro* sebagai akibat dari perlakuan berkisar antara 248 – 1,570 mg/l pada periode inkubasi 1 dan 48 jam. MAO *et al.* (2007) melaporkan SPM berkisar antara 1,180 – 1,480 mg/l setelah 24 jam inkubasi yang sebanding dengan hasil penelitian ini (1,079 – 1,570 mg/l) untuk waktu inkubasi yang sama. Perlakuan berpengaruh ($P < 0,01$) terhadap SPM pada semua periode inkubasi.

Tabel 2. Laju produksi biomassa mikroba *in vitro* akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases

Perlakuan	Inkubasi (jam)	Laju produksi biomassa mikroba (mg.l ⁻¹ .jam ⁻¹)				
		Jenis Urea	Molases (%)	I ₁₋₂	I ₂₋₈	I ₈₋₂₄
U	0		0,35 ^{ab}	0,17 ^{bc}	0,02 ^a	0,00
	6		0,29 ^a	0,16 ^{abc}	0,02 ^{ab}	0,01
	12		0,37 ^{ab}	0,15 ^{abc}	0,03 ^{abcd}	0,00
US	0		0,44 ^b	0,14 ^{ab}	0,02 ^a	0,01
	6		0,41 ^{ab}	0,16 ^{abc}	0,03 ^{bcd}	0,01
	12		0,41 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,03 ^{bcd}	0,01
UZ	0		0,47 ^b	0,15 ^{abc}	0,03 ^{de}	0,01
	6		0,40 ^{ab}	0,18 ^c	0,03 ^e	0,01
	12		0,45 ^b	0,15 ^{abc}	0,03 ^{bcd}	0,01
USZ	0		0,44 ^b	0,14 ^a	0,03 ^{abcd}	0,00
	6		0,43 ^b	0,16 ^{abc}	0,03 ^e	0,01
	12		0,43 ^b	0,14 ^{ab}	0,03 ^{de}	0,01
TU	0		0,37 ^{ab}	0,16 ^{abc}	0,02 ^{abc}	0,00

Superskrip berbeda pada lajur yang sama berbeda nyata ($P < 0,05$)

TU = tanpa urea, U = urea, US = urea-seng sulfat, UZ = urea-zeolit, USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Tabel 3. Nilai dugaan puncak produksi biomassa mikroba dan waktu inkubasi saat biomassa mikroba maksimum akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases secara *in vitro*

Perlakuan Jenis Urea	Molases (%)	b ₁	b ₂	a	R ²	P	I saat BM maks (jam)	BM maks (mg/ml)
U	0						28,3	2,33
	6	0,108	-0,002	0,874	0,813	0,000	27,0	2,33
	12	0,115	-0,002	0,814	0,841	0,000	28,8	2,47
US	0	0,106	-0,002	0,958	0,821	0,000	26,5	2,36
	6	0,122	-0,002	0,986	0,868	0,000	30,5	2,85
	12	0,114	-0,002	0,973	0,874	0,000	28,5	2,60
UZ	0	0,121	-0,002	0,854	0,857	0,000	30,3	2,68
	6	0,134	-0,002	0,959	0,876	0,000	33,5	3,20
	12	0,119	-0,002	0,983	0,865	0,000	29,8	2,75
USZ	0	0,112	-0,002	0,911	0,849	0,000	28,0	2,48
	6	0,126	-0,002	0,968	0,884	0,000	31,5	2,95
	12	0,117	-0,002	0,971	0,876	0,000	29,3	2,68
TU	0	0,115	-0,002	0,825	0,841	0,000	28,8	2,48

- BM = nilai dugaan sintesis protein mikroba berdasarkan persamaan regresi kuadratik
- BM = $a + b_1I + b_2I^2$
- a = intersep
- b₁ & b₂ = koefisien regresi
- R² = koefisien determinasi
- I = periode inkubasi (jam)
- P = signifikansi persamaan regresi
- JU = jenis urea
- M = kadar molases
- TU = tanpa urea
- U = urea
- US = urea-seng sulfat
- UZ = urea-zeolit
- USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Perlakuan TU memperlihatkan SPM yang berbeda ($P < 0,01$) dari SPM akibat perlakuan jenis urea. Baik perlakuan jenis urea (JU) maupun kadar molases (M) berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap SPM pada setiap periode inkubasi. Pada inkubasi 12 jam, pengaruh tersebut disebabkan oleh pengaruh interaksi antara JU dan M ($P < 0,01$).

Substitusi U oleh US, UZ, atau USZ meningkatkan ($P < 0,05$) SPM namun pada inkubasi 12 – 24 jam, SPM dari perlakuan UZ lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada perlakuan US (Tabel 4). Begitu pula suplementasi molases 6 atau 12% meningkatkan SPM, namun mulai pada 4 jam inkubasi peningkatan kadar molases dari 6 menjadi 12% menurunkan ($P < 0,05$) SPM. Walaupun penggunaan NH₃ untuk SPM bergantung pada ketersediaan energi (REYNOLDS dan KRISTENSEN, 2008), peningkatan kadar molases sampai 12% tampaknya mengganggu keseimbangan antara fermentabilitas karbohidrat dan nitrogen ransum sehingga menciptakan ketersediaan energi dan NH₃ yang tidak sinkron untuk pertumbuhan dan SPM rumen yang optimal. Pada periode inkubasi 24 jam, terjadi

peningkatan SPM sebesar 16,6% jika perlakuan U disubstitusi oleh UZ dan SPM tertinggi ($1.381,45 \pm 77,1$ mg/l) pada periode inkubasi dimaksud dicapai oleh perlakuan UZ.

Seperti halnya biomassa mikroba, SPM pun berkorelasi negatif dengan rasio NH₃ : VFA ($r = -0,81$; $P < 0,01$) dan korelasi negatif tersebut berlanjut sampai 48 jam periode inkubasi ($r = -0,86$; $P < 0,01$). Penggunaan pH cairan rumen sebagai peubah pengontrol analisis korelasi parsial, mengungkapkan bahwa korelasi negatif yang terjadi antara rasio NH₃ : VFA dan SPM adalah akibat dari hubungan antara masing-masing peubah (SPM dan rasio NH₃ : VFA) dan status pH cairan rumen. Hal ini selaras dengan laporan BACH *et al.* (2005) bahwa selain sumber CHO (karbohidrat) dan N, juga salah satu faktor nonnutrisi yakni pH, berperan penting dalam sintesis protein mikroba.

Pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases terhadap SPM ($P < 0,05$) yang terjadi pada waktu inkubasi 12 jam (Gambar 2) mengungkapkan bahwa substitusi U oleh US, UZ, atau USZ yang

dikombinasikan dengan kadar molases 6% meningkatkan SPM ($P < 0,05$), namun jika dikombinasikan dengan kadar molases 12% ternyata menurunkan ($P < 0,05$) SPM. Data ini mengungkapkan bahwa substitusi U oleh US, UZ, atau USZ yang dikombinasikan dengan kadar molases 6% menciptakan suasana sinkron antara pasokan amoniak dan energi sehingga SPM meningkat. Peningkatan kadar molases menjadi 12% dalam kombinasi dimaksud menciptakan suasana yang tidak sinkron antara fermentabilitas karbohidrat dan nitrogen ransum. Hal ini selaras laporan dari REYNOLDS dan KRISTENSEN (2008) bahwa strategi untuk memperbaiki penggunaan NH_3 untuk sintesis protein mikroba mencakup perubahan-perubahan dalam jumlah, tipe, dan degradabilitas karbohidrat dan protein ransum.

Laju SPM mencapai kisaran tertinggi ($158 - 250 \text{ mg l}^{-1} \text{ jam}^{-1}$) sampai 2 jam inkubasi, lalu turun menjadi $76 - 97 \text{ mg l}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ sampai 8 jam inkubasi, turun lagi menjadi $9 - 18 \text{ mg l}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ sampai 24 jam inkubasi, dan akhirnya mencapai kisaran terendah ($1 - 4 \text{ mg l}^{-1} \text{ jam}^{-1}$) pada inkubasi 24 - 48 jam (Tabel 5). Laju SPM yang semakin menurun seiring dengan peningkatan waktu inkubasi ini disebabkan oleh semakin berkurangnya

substrat yang tersedia yang berdampak pada penurunan laju produksi biomassa mikroba.

Pola sintesis protein mikroba dapat diduga melalui persamaan regresi kuadratik $\text{PM} = a + b_1I + b_2I^2$ dengan keeratan hubungan yang tinggi (R^2 berkisar antara 0,81 dan 0,884; $P = 0,000$; Tabel 6). Sintesis protein mikroba mencapai maksimum saat $\text{dPM/dI} = 0$ sehingga nilai dugaan puncak sintesisnya dapat diketahui. Nilai dugaan puncak sintesis protein mikroba untuk setiap perlakuan berkisar $2,33 - 3,2 \text{ mg/l}$ yang dicapai saat inkubasi 27 - 33,5 jam.

Efisiensi sintesis protein mikroba

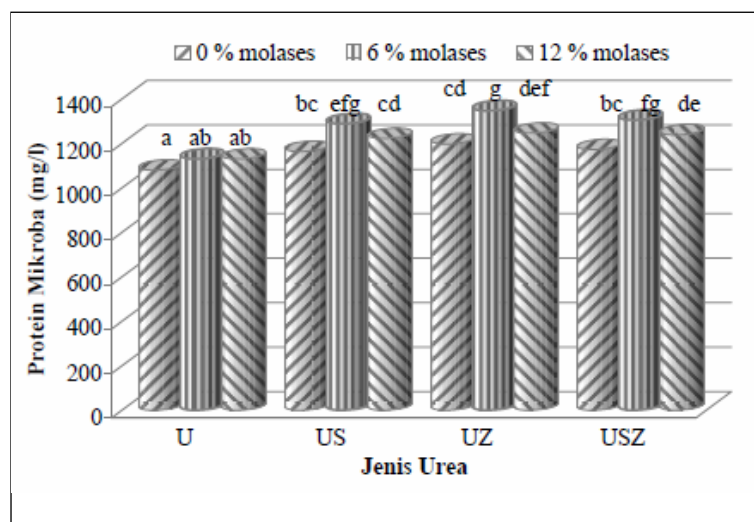
Efisiensi suatu proses dapat diukur dengan cara membandingkan jumlah luaran yang dihasilkan dari jumlah masukan yang digunakan dalam waktu tertentu. Untuk mengukur efisiensi sintesis protein mikroba (ESPM), luarannya adalah protein (nitrogen) mikroba sedangkan masukannya yang sering digunakan antara lain: total zat makanan tercerna (TDN), bahan organik tercerna, dan karbohidrat tercerna (KARSLI dan RUSSELL, 2001). Pada penelitian ini bahan organik tercerna (BOT) digunakan sebagai indikator masukan untuk mengukur ESPM.

Tabel 4. Sintesis protein mikroba cairan rumen *in vitro* akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases pada berbagai periode inkubasi

Perlakuan	Masa inkubasi (jam)						
	1	2	4	8	12	24	48
Jenis urea	Protein mikroba (mg/l)						
U	297,7 ^a	472,3 ^a	865,9 ^a	1.012,8 ^a	1.112,6 ^a	1.184,6 ^a	1.234,5 ^a
US	380,8 ^b	610,9 ^b	937,9 ^b	1.098,7 ^b	1.223,5 ^b	1.331,6 ^b	1.423,0 ^b
UZ	355,9 ^b	599,8 ^b	954,6 ^b	1.118,1 ^b	1.262,3 ^c	1.381,5 ^c	1.475,7 ^b
USZ	375,3 ^b	610,9 ^b	937,9 ^b	1.093,2 ^b	1.237,3 ^{bc}	1.362,1 ^{bc}	1.445,2 ^b
Molases (%)							
0	314,3 ^a	545,0 ^a	890,1 ^a	1.039,8 ^a	1.152,1 ^a	1.243,6 ^a	1.301,8 ^a
6	376,7 ^b	586,6 ^b	962,9 ^b	1.129,2 ^b	1.266,4 ^b	1.380,7 ^b	1.472,2 ^b
12	366,3 ^b	588,7 ^b	919,2 ^c	1.073,1 ^c	1.208,2 ^c	1.320,5 ^c	1.409,9 ^c

Superskrip berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($P < 0,05$)

TU = tanpa urea
 U = urea
 US = urea-seng sulfat
 UZ = urea-zeolit
 USZ = urea-seng sulfat-zeolit



Huruf berbeda pada daerah grafik berbeda nyata ($P < 0,05$)

- U = urea
- US = urea-seng sulfat
- UZ = urea-zeolit
- USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Gambar 2. Sintesis protein mikroba *in vitro* akibat pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases pada inkubasi 12 jam

Tabel 5. Laju sintesis protein mikroba *in vitro* akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases

Jenis Urea	Perlakuan Molases (%)	Inkubasi (jam)			
		I ₁₋₂	I ₂₋₈	I ₈₋₂₄	I ₂₄₋₄₈
Laju SPM (mg l ⁻¹ jam ⁻¹)					
U	0	191,26 ^{abc}	92,86 ^{ab}	9,36 ^a	1,04 ^a
	6	158,00 ^a	90,09 ^{ab}	10,91 ^{ab}	2,77 ^{abc}
	12	174,63 ^{ab}	87,31 ^{ab}	11,95 ^{abc}	2,43 ^{abc}
US	0	241,15 ^{bc}	77,61 ^a	11,43 ^{ab}	3,12 ^{bc}
	6	224,52 ^{abc}	87,31 ^{ab}	16,11 ^{bcd}	4,16 ^c
	12	224,52 ^{abc}	79,00 ^{ab}	16,11 ^{bcd}	4,16 ^c
UZ	0	257,78 ^c	81,77 ^{ab}	15,59 ^{bcd}	3,46 ^{bc}
	6	224,52 ^{abc}	97,01 ^b	17,67 ^{cd}	4,16 ^c
	12	249,47 ^c	80,38 ^{ab}	16,11 ^{bcd}	4,16 ^c
USZ	0	232,84 ^{bc}	77,61 ^a	14,55 ^{abcd}	2,08 ^{ab}
	6	232,84 ^{bc}	87,31 ^{ab}	18,19 ^d	4,16 ^c
	12	241,15 ^{bc}	76,23 ^a	17,67 ^{cd}	4,16 ^c
TU	0	199,57 ^{abc}	88,70 ^{ab}	12,47 ^{abcd}	2,43 ^{abc}

Superskrip berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($P < 0,05$)

TU = tanpa urea, U = urea, US = urea-seng sulfat, UZ = urea-zeolit, USZ = urea-seng sulfat-zeolit

Tabel 6. Nilai dugaan puncak sintesis protein mikroba dan waktu inkubasi saat protein mikroba maksimum akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases secara *in vitro*

JU	M (%)	b ₁	b ₂	a	R ²	P	I saat PM maks (jam)	PM maks (mg/l)
U	0	61,354	-0,942	402,992	0,805	0,000	32,6	1.402,01
	6	59,077	-0,897	478,372	0,811	0,000	32,9	1.451,08
	12	61,142	-0,934	438,049	0,835	0,000	32,7	1.438,68
US	0	57,89	-0,872	519,477	0,825	0,000	33,2	1.480,27
	6	66,431	-0,981	543,539	0,867	0,000	33,9	1.668,18
	12	62,152	-0,91	529,627	0,873	0,000	34,1	1.590,86
UZ	0	64,826	-0,967	472,111	0,850	0,000	33,5	1.558,57
	6	72,791	-1,08	529,525	0,869	0,000	33,7	1.756,04
	12	63,668	-0,936	539,851	0,861	0,000	34,0	1.622,55
USZ	0	61,226	-0,931	497,371	0,848	0,000	32,9	1.503,98
	6	68,909	-1,014	533,712	0,878	0,000	34,0	1.704,43
	12	63,199	-0,922	533,365	0,879	0,000	34,3	1.616,37
TU	0	63,059	-0,961	450,45	0,836	0,000	32,8	1.484,90

PM	=	nilai dugaan sintesis protein mikroba berdasarkan persamaan regresi kuadratik	M	=	kadar molases
PM	=	$a + b_1I + b_2I^2$	TU	=	tanpa urea
a	=	intersep	U	=	urea
b ₁ & b ₂	=	koefisien regresi	US	=	urea-seng sulfat
R ²	=	koefisien determinasi	UZ	=	urea-zeolit
I	=	periode inkubasi (jam)	USZ	=	urea-seng sulfat-zeolit
P	=	signifikansi persamaan regresi			
JU	=	jenis urea			

Efisiensi SPM sebagai akibat perlakuan memperlihatkan pola yang semakin menurun seiring dengan peningkatan waktu inkubasi (Tabel 7). Nilai ESPM yang diperoleh pada inkubasi 24 jam (24,33 – 25,98 mg PM/100 mg BOT) berada dalam kisaran ESPM (9,1 – 27,9 mg/100 mg bahan organik yang benar-benar tercerna dalam rumen) dari ransum campuran hijauan-konsentrat yang dilaporkan oleh KARSILI dan RUSSELL (2001) dan BROUDISCOU *et al.* (2003) (11,25 – 28,75 mg/100 mg BOT) dari substrat jerami padi amoniasi bersuplemen ekstrak legum. Namun ESPM hasil penelitian ini lebih tinggi daripada ESPM *in vivo* (12,23 – 20,88 mg/100 mg BOT) yang dilaporkan oleh VALKENERS *et al.* (2008) dari ransum dengan neraca protein terdegradasi yang berbeda atau ESPM (14,25 mg/100 mg BOT) pada sapi jantan kastrasi yang diberi NPN sebesar 31% dari total N ransum (CHIZZOTTI *et al.*, 2008).

Efisiensi SPM tidak dipengaruhi oleh interaksi antara jenis urea dan kadar molases. Baik substitusi U oleh US, UZ, atau USZ maupun peningkatan kadar molases menjadi 6, atau 12% ternyata tidak mempengaruhi ESPM sampai inkubasi 12 jam (Tabel

7). Pengaruh perlakuan terhadap ESPM mulai tampak pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam. Pada 24 jam inkubasi, substitusi U oleh USZ atau peningkatan kadar molases menjadi 6% meningkatkan ($P < 0,05$) ESPM, walaupun di antara US, UZ, dan USZ, satu sama lain memperlihatkan ESPM yang sama. Pada periode inkubasi 24 jam ini, ESPM tertinggi ($25,98 \pm 1,21$ mg/100 mg BOT) dicapai oleh perlakuan kadar molases 6%. Terjadi peningkatan ESPM sebesar 6% jika ransum disuplementasi molases 6%. Pada 48 jam inkubasi, substitusi U oleh US, UZ, dan USZ, atau peningkatan kadar molases menjadi 6 dan 12% dapat memperbaiki ($P < 0,05$) ESPM. Perbaikan ESPM sebagai akibat substitusi U oleh USZ pada waktu inkubasi 24 jam atau substitusi U oleh US, UZ, dan USZ pada waktu inkubasi 48 jam, diduga sebagai dampak dari perlakuan dimaksud terhadap perbaikan keseimbangan antara pasokan amoniak, VFA, dan energi yang dibangkitkan dari fermentasi bahan organik. Pada kedua waktu inkubasi dan perlakuan dimaksud, rasio $NH_3 : VFA$ mencapai tahap stabil pada kisaran minimum. Sementara BOT, produksi biomassa mikroba, dan SPM mencapai tahap stabil pada kisaran maksimum.

Tabel 7. Efisiensi sintesis protein mikroba (ESPM) *in vitro* akibat perlakuan jenis urea dan kadar molases

Perlakuan	Masa inkubasi (jam)						
	1	2	4	8	12	24	48
Jenis urea ESPM (mg PM/100 mg BOT)						
U	58,21	44,50	42,03	34,19	29,31	24,33 ^a	21,12 ^a
US	53,21	45,74	39,23	32,61	29,22	25,38 ^{ab}	23,10 ^b
UZ	53,59	46,14	39,61	32,76	29,60	25,46 ^{ab}	23,65 ^b
USZ	54,64	46,75	39,65	32,90	28,83	25,87 ^b	23,48 ^b
Molases (%)							
0	53,77	48,59	39,88	32,83	28,68	24,48 ^a	22,18 ^a
6	54,53	43,20	40,00	33,54	29,68	25,98 ^b	23,14 ^b
12	56,44	45,56	40,50	32,98	29,36	25,32 ^{ab}	23,19 ^b
TU	43,11 ^a	41,14	38,64	33,41	28,03	25,08	21,41 ^a
JU	54,91 ^b	45,78	40,13	33,11	29,24	25,25	22,79 ^b

Superskrip berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata (P < 0,05)

TU = tanpa urea, U = urea, US = urea-seng sulfat, UZ = urea-zeolit, USZ = urea-seng sulfat-zeolit, TU = jenis urea

Penggunaan molases 6 dan 12% dan konsentrasi diharapkan dapat menyediakan energi pada tahap awal periode inkubasi, sementara karbohidrat yang sulit difermentasi dari jerami padi diharapkan memasok energi menjelang akhir periode inkubasi. Kombinasi pada level tertentu antara molases dan berbagai jenis urea ternyata belum dapat memperbaiki ESPM sampai 12 jam inkubasi, sebagaimana laporan sebelumnya (KARSLI dan RUSSELL, 2001) bahwa berbagai rasio karbohidrat struktural dan nonstruktural sedikit sekali pengaruhnya terhadap ESPM. Sementara itu, laju produksi biomassa mikroba dan SPM belum mencapai tahap stabil sampai inkubasi 12 jam. Diduga bahwa sampai inkubasi 12 jam, laju cerna bahan organik sebagai akibat peningkatan kadar molases dan substitusi U oleh US, UZ, atau USZ, belum dapat menciptakan keseimbangan antara NH₃ dan VFA yang optimal untuk SPM yang maksimal. Hal ini dapat dipahami karena sampai periode inkubasi 24 jam, baik laju SPM (Tabel 5) maupun laju cerna bahan organik (KARDAYA *et al.*, 2009) masih tergolong tinggi. Artinya, sebelum mencapai periode inkubasi 24 jam, baik SPM maupun BOT belum mencapai kisaran angka maksimal. Pada kisaran waktu inkubasi antara 24 dan 48 jam, laju SPM dan laju cerna bahan organik mencapai kisaran angka terendah yang menunjukkan bahwa SPM dan BOT telah mencapai kisaran angka maksimal. Nilai dugaan SPM tertinggi untuk setiap perlakuan dicapai pada waktu tertentu dalam kisaran waktu inkubasi 24 – 48 jam (Tabel 6), sementara rasio NH₃ : VFA berada dalam

kisaran terendah (KARDAYA *et al.*, 2009) yang merupakan rasio optimal untuk SPM maksimal. Data ini menunjukkan bahwa waktu penentuan ESPM yang secara nutrisi rasional adalah pada kurun waktu inkubasi 24 – 48 jam karena pada kurun waktu inkubasi tersebut nilai SPM dan BOT berada pada kisaran angka maksimal.

Tingginya laju SPM dan laju cerna bahan organik sejak jam pertama periode inkubasi mencerminkan adanya perbaikan aktivitas fermentasi mikroba rumen akibat perlakuan suplementasi molases yang dikombinasikan dengan berbagai jenis urea lepas-lamban dalam ransum berbasis jerami padi. Dengan demikian, suplementasi molases yang dikombinasikan dengan berbagai jenis urea lepas-lamban dalam ransum berbasis jerami padi dapat mempercepat laju SPM dan laju cerna bahan organik sejak awal periode inkubasi, mempercepat masa adaptasi mikroba rumen terhadap ransum berbasis jerami padi (memperpendek *lag phase*), dan mempertahankan produksi biomassa dan protein mikroba tetap tinggi (memperpanjang *stationary phase*) sehingga SPM maksimal baru tercapai pada waktu inkubasi lebih dari 24 jam.

Korelasi tanpa peubah pengontrol (*zero-order correlation*) antara SPM dan BOT ini bernilai positif dan sangat nyata (r = 0,82; P < 0,01) pada 12 jam inkubasi (Tabel 8). Namun berdasar korelasi parsial yang menggunakan peubah pengontrol NH₃, VFA, dan rasio NH₃ : VFA, ternyata meniadakan korelasi antara SPM dan BOT dimaksud (r = -0,33; P=0,14 pada

inkubasi 12 jam tersebut. Data ini mengungkapkan bahwa hubungan positif yang terjadi antara SPM dan BOT pada waktu inkubasi 12 jam adalah akibat dari hubungan antara masing-masing peubah (SPM, BOT) dan NH_3 , VFA, serta rasio NH_3 : VFA cairan rumen.

Sebaliknya, apabila BOT dijadikan sebagai peubah pengontrol untuk menjelaskan korelasi antara SPM dan NH_3 , VFA, serta rasio NH_3 : VFA, maka korelasi antara SPM dan NH_3 , VFA, serta rasio NH_3 : VFA, tidak banyak berubah (Tabel 8). Dengan demikian, korelasi yang terjadi antara SPM dan NH_3 , dan antara SPM dan rasio NH_3 : VFA, terbebas dari akibat korelasi yang terjadi antara SPM dan BOT. Hal ini dapat dipahami karena nilai guna dari BOT yang diambil oleh mikroba sebagai masukan langsung untuk sintesis protein mikroba adalah energi, NH_3 , dan VFA. Data korelasi ini memperkuat dugaan sebelumnya bahwa untuk memperbaiki ESPM memerlukan keseimbangan (rasio) antara NH_3 dan VFA yang optimal untuk SPM yang maksimal.

Efisiensi penggunaan amoniak oleh mikroba rumen

Efisiensi penggunaan NH_3 oleh mikroba rumen untuk sintesis protein mikroba (EPN) sebagai akibat perlakuan secara umum meningkat sampai 12 jam inkubasi mencapai maksimum (172,1 mg PM/mmol NH_3), lalu mulai menurun secara bertahap sampai

inkubasi 48 jam (Tabel 9). BACH *et al.* (2008) yang menggunakan perlakuan sumber N dengan kelarutan berbeda melaporkan efisiensi penggunaan N oleh mikroba rumen berkisar antara 93,1 - 99,9 g N mikroba/100 g N tersedia dalam rumen. Perbedaan EPN yang terjadi pada setiap periode inkubasi disebabkan oleh pengaruh interaksi antara jenis urea dan kadar molases. Dibandingkan dengan ransum tanpa urea (TU), ransum yang mengandung berbagai jenis urea (U, US, UZ, USZ) memperlihatkan EPN yang lebih tinggi ($P < 0,05$) pada setiap periode inkubasi.

Substitusi urea (U) yang dikombinasikan dengan kadar molases 0, 6, atau 12% oleh US, UZ, dan USZ yang dikombinasikan dengan kadar molases dimaksudkan untuk meningkatkan ($P < 0,05$) EPN pada setiap periode inkubasi. Namun demikian, jika kadar molases yang dikombinasikan dengan perlakuan U, US, UZ, atau USZ ditingkatkan dari 6 menjadi 12%, ternyata tidak mengubah atau bahkan menurunkan ($P < 0,05$) EPN.

Data ini mengungkapkan bahwa penggunaan molases 6% yang dikombinasikan dengan perlakuan U, US, UZ, atau USZ, merupakan kombinasi yang optimal dalam memperbaiki EPN. Pada periode inkubasi 24 jam, EPN tertinggi ($162,68 \pm 7,71$ mg PM/mmol NH_3) dicapai jika UZ dikombinasikan dengan molases berkadar 6%. EPN meningkat 110% jika U disubstitusi oleh UZ yang dikombinasikan dengan molases 6%.

Tabel 8. Korelasi parsial antara beberapa peubah rumen dan sintesis protein mikroba pada periode inkubasi 12, 24, dan 48 jam

Peubah kontrol	Korelasi	SPM, pada inkubasi:					
		12 jam		24 jam		48 jam	
		r	p	r	p	r	P
Tanpa	BOT	0,82	0,00	0,80	0,00	0,85	0,00
	NH_3	-0,95	0,00	-0,96	0,00	-0,96	0,00
	VFA	0,15	0,49	0,04	0,87	-0,11	0,60
	NH_3 :VFA	-0,87	0,00	-0,88	0,00	0,92	0,00
NH_3 , VFA, NH_3 : VFA	BOT	-0,33	0,14	-0,11	0,63	-0,11	0,64
BOT	NH_3	-0,85	0,00	-0,88	0,00	-0,85	0,00
	VFA	0,29	0,17	0,07	0,74	-0,25	0,26
	NH_3 :VFA	-0,71	0,00	-0,70	0,00	-0,73	0,00

SPM = sintesis protein mikroba
 BOT = bahan organik tercerna dalam rumen
 r = koefisien korelasi
 p = signifikansi pada taraf 5%
 Data BOT, NH_3 , dan VFA diperoleh dari KARDAYA *et al.* (2009)

Tabel 9. Efisiensi penggunaan amoniak oleh mikroba rumen untuk sintesis protein mikroba *in vitro* akibat perlakuan jenis urea dan kadar molasses

Perlakuan		Inkubasi (jam)						
Jenis urea	Molases (%)	1	2	4	8	12	24	48
U	0	13,70 ^a	19,55 ^a	41,76 ^a	58,86 ^a	61,89 ^a	63,40 ^a	63,40 ^a
	6	19,87 ^{bc}	22,87 ^a	48,43 ^a	69,45 ^{ab}	73,99 ^{ab}	77,48 ^{bc}	77,48 ^{bc}
	12	17,95 ^{ab}	21,59 ^a	43,27 ^a	65,81 ^{ab}	73,07 ^{ab}	74,89 ^{ab}	74,89 ^b
US	0	23,32 ^c	34,23 ^b	63,00 ^b	85,45 ^c	88,44 ^c	88,30 ^{cd}	88,30 ^c
	6	34,06 ^d	44,92 ^{cd}	89,64 ^{cd}	128,69 ^{ef}	132,99 ^{ef}	130,32 ^{fg}	130,32 ^{fg}
	12	31,29 ^d	41,61 ^c	83,26 ^c	110,19 ^d	118,27 ^d	117,89 ^e	117,89 ^e
UZ	0	19,47 ^{bc}	31,17 ^b	61,87 ^b	90,37 ^c	96,15 ^c	96,83 ^d	96,83 ^d
	6	32,10 ^d	51,05 ^e	103,63 ^e	158,39 ^g	172,14 ^g	162,68 ^h	162,68 ⁱ
	12	30,15 ^d	48,67 ^e	99,20 ^e	141,15 ^f	142,89 ^f	139,74 ^g	139,74 ^{gh}
USZ	0	22,49 ^c	32,79 ^b	58,29 ^b	79,59 ^{bc}	84,15 ^{bc}	85,96 ^{bcd}	85,96 ^{bc}
	6	30,97 ^d	48,03 ^{de}	93,53 ^{de}	137,74 ^f	145,47 ^f	141,05 ^g	141,05 ^h
	12	30,24 ^d	44,27 ^c	87,99 ^c	114,66 ^{de}	120,67 ^{de}	124,27 ^{ef}	124,27 ^f
TU		20,82 ^a	32,06 ^a	59,89 ^a	97,54 ^a	101,73 ^a	98,96 ^a	94,47 ^a
JU		25,47 ^b	36,73 ^b	72,82 ^b	103,36 ^b	109,18 ^b	108,57 ^b	105,02 ^b

Superskrip berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($P < 0,05$)

PM = protein mikroba

US = urea-seng sulfat

TU = tanpa urea

UZ = urea-zeolit

U = urea

USZ = urea-seng sulfat-zeolit

JU = jenis urea

Perlakuan UZ yang dikombinasikan dengan kadar molasses 6% mencapai EPN dan SPM tertinggi ($P < 0,05$) di antara perlakuan lainnya pada periode inkubasi 8 – 48 jam. Lebih daripada itu, pada periode inkubasi tersebut, perlakuan US, UZ, dan USZ atau perlakuan kadar molasses 6% menghasilkan SPM yang lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada perlakuan U (Tabel 4). Data ini menegaskan bahwa dampak lepas-lamban dari UZ menghasilkan kadar NH_3 yang sinergi dengan kadar VFA untuk SPM yang maksimal sehingga mencapai EPN yang maksimal pula.

KESIMPULAN

Substitusi urea oleh urea-seng sulfat, urea-zeolit, dan urea-seng sulfat-zeolit sebagai sumber urea lepas-lamban dalam ransum campuran konsentrat (55%) dan jerami padi (45%) memperbaiki efisiensi penggunaan NH_3 (EPN) dan bahan organik tercerna (ESPM) oleh mikroba rumen sehingga meningkatkan produksi biomassa mikroba dan sintesis protein mikroba. Dampak terbaik sifat lepas-lamban dari urea-seng

sulfat, urea-zeolit, dan urea-seng sulfat-zeolit dalam memperbaiki sistem rumen *in vitro* dimaksud, dicapai ketika urea-seng sulfat, urea-zeolit, dan urea-seng sulfat-zeolit tersebut dikombinasikan dengan molasses 6%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan tinggi penulis sampaikan kepada Litbang Pertanian Deptan RI yang telah mendukung pendanaan untuk penelitian ini melalui program Hibah Penelitian KKP3T.

DAFTAR PUSTAKA

- BACH, A., S. CALSAMIGLIA and M.D. STERN. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88 E. Suppl: E9–E21.
- BACH, A., M.R. MORENO, M. THRUNE and M.D. STERN. 2008. Evaluation of the fermentation dynamics of soluble crude protein from three protein sources in

- continuous culture fermenters. *J. Anim. Sci.* 86: 1364-1371.
- BRETSCHNEIDERA, G, M. PERALTA, F.J. SANTINI, J.P. FAY and C. FAVERIN. 2007. Influence of corn silage supplementation before alfalfa grazing on ruminal environment in relation to the occurrence of frothy bloat in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136: 23-37.
- BROUDISCOU, L.P., A. AGBAGLA-DOBNANI, Y. PAPON, A. CORNU, E. GRENET and A.F. BROUDISCOU. 2003. Rice straw degradation and biomass synthesis by rumen microorganisms in continuous culture in response to ammonia treatment and legume extract supplementation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 105: 95-108.
- 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.
- COUTINHO A., ANTONELLI, S.C. MORI, P.C. SOARES, S.S. KITAMURA and E.R. ORTOLANI. 2004. Experimental ammonia poisoning in cattle fed extruded or prilled urea: clinical findings. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 41: 67-74.
- 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.
- 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.
- JAIN, N., SP. TIWARI and P. SINGH. 2005. Effect of urea molasses mineral granules (UMMG) on rumen fermentation pattern and blood biochemical constituents in goat kids fed sola (*Aeschnomene indica* Linn) grass-based diet. *Vet. Arhiv.* 75: 521-530.
- KARDAYA, D., K.G. WIRYAWAN, A. PARAKKASI dan H.M. WINUGROHO. 2009. Karakteristik urea lepas-lamban pada berbagai kadar molases dalam ransum berbasis jerami padi secara *in vitro*. *JITV* 14: 177-191.
- KARSLI, M.A. and J.R. RUSSELL. 2001. Effects of some dietary factors on ruminal microbial protein synthesis. *Turky J. Vet. Anim. Sci.* 25: 681-686.
- 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.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR and R.J. RANDALL. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- 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.
- MAO, S.Y., W. ZHU, Q.J. WANG and W. YAO. 2007. Effect of daidzein on *in vitro* fermentation by microorganisms from the goat rumen. [Short communication]. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136: 154-163.
- 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.
- 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.
- REYNOLDS, C.K. and N.B. KRISTENSEN. 2008. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: An asynchronous symbiosis. *J. Anim. Sci.* 86 E. Suppl: E293-E305.
- VALKENERS, D., A. THEWIS, M. VAN LAERE and Y. BECKERS. 2008. Effect of rumen-degradable protein balance deficit on voluntary intake, microbial protein synthesis, and nitrogen metabolism in growing double-muscléd Belgian Blue bulls fed corn silage-based diet. *J. Anim. Sci.* 86: 680-690.