

Penambahan Molases Untuk Meningkatkan Kualitas Amoniasi Jerami Padi dan Pengaruhnya terhadap Produk Fermentasi Rumen Secara *In-Vitro*

Supplementation of molasses to improve the quality of rice straw ammonization and its effect on fermentation product in-vitro

Muhamad Bata¹ dan Nur Hidayat¹

¹Fakultas Peternakan, Unsoed
Purwokerto, Jawa Tengah

ABSTRACT Aimed of this research was to find out the optimal level of molasses addition at straw rice ammonization process to N-NH₃ production, VFA and microbe protein synthesis. Material used was rumen fluid of fistula cattle, rice straw, water, urea and molasses. Treatment tried was level of molasses addition 0%, 15% and 30% on rice straw which given urea. Research was carried out by experimental method as *in vitro*, was conducted use completely randomized design. Variable measured were N-NH₃, VFA and microbe protein synthesis. Intake data entered in data tabulation and analyzed variance then continued by orthogonal polynomial test. Research result after ammonization indicated that acidity level and concentration of released NH₃ decrease parallel with addition of molasses level, and also increase the nutrient content which was crude protein increase and crude fiber decrease. Variance analysis and Test of orthogonal polynomial result indicated that treatment of molasses addition have highly significant effect (P<0.01) and linier respond to concentration of

released NH₃ after ammonization. Research result as *in vitro* indicated concentration N-NH₃ and VFA total decrease while microbe protein synthesis increase. Variance analysis result indicated that molasses addition treatment at straw rice ammonization process have highly significant (P < 0.01) on concentration of N-NH₃, VFA total and Microbe Protein Synthesis. Test of orthogonal polynomial for molasses addition at straw rice ammonization process indicated linier respond on concentration of NH₃ N-NH₃ and VFA total, but microbe protein synthesis quadratic had respond (P < 0,01) white regression equation $Y = 52.187 - 1.089222X + 0.11X^2$ (r^2) 87.27 and (r) 0.9341. Research result could conclude that molasses addition up to level 30% able to improve quality of straw rice ammonization process by NH₃ fixation so that increase nutrient ingredient, decrease NH₃ that lost to atmosphere, improve utilization of N-NH₃ and VFA and also increase microbe protein synthesis.

Key words: rice straw, ammoniation, rumen microbes, VFA, NH₃

2010 Agripet : Vol (10) No. 2: 27-33

PENDAHULUAN

Teknik pengolahan untuk meningkatkan kualitas jerami padi yang dapat dilakukan antara lain dengan amoniasi menggunakan urea. Amoniasi jerami padi menggunakan urea dapat meningkatkan palatabilitas, konsumsi, pencernaan pakan dan meningkatkan non protein nitrogen (NPN). Namun demikian, proses amoniasi tersebut melepaskan 60 – 70% nitrogen (N) ke lingkungan dalam bentuk amoniak (NH₃) (Taiwo *et al.* 1995 dan Dass *et al.* 2003) dan efisiensi penggunaan N dalam rumen rendah

sehingga banyak N yang terbuang baik melalui urin dan feces yang juga dapat meningkatkan NH₃. Semua ini dapat berkontribusi pada pemanasan global (Sarwar dan Ali, 2000). Selain itu, pada konsentrasi tinggi dan waktu lama, NH₃ dapat menyebabkan kebutaan bahkan kematian ternak (Khan *et al.* 2004). Di Eropa, teknik amoniasi jerami secara konvensional dengan urea tidak dianjurkan karena dianggap tidak ramah lingkungan (ter Meulen 2007, *komunikasi pribadi*). Hal ini disebabkan oleh tingginya pH selama proses amoniasi karena rendahnya karbohidrat fermentable yang terkandung dalam jerami padi. Oleh karena itu penurunan pH mutlak

Corresponding author: muhamadbata@yahoo.com

dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut. Upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut bisa dilakukan dengan penambahan asam organik maupun anorganik, namun demikian tidak menguntungkan karena asam mahal. Alternatif lain adalah menggunakan bahan pakan sumber karbohidrat *fermentable* yang berasal dari limbah pertanian atau perkebunan dan salah satu diantaranya adalah molasses. Molases merupakan media fermentasi yang baik, karena masih mengandung kadar gula sekitar 48 – 58 persen (Migo, 1993) sehingga diharapkan sebagai media atau sumber energi bagi mikroba asam laktat. Mikroba memanfaatkan NH₃ dan juga memproduksi asam laktat yang dapat bereaksi dengan NH₃, sehingga penggunaan NH₃ yang optimal dapat meningkatkan kandungan nutrisi (protein kasar), selain itu dengan kondisi asam juga membantu melonggarkan ikatan selulosa dan lignohemiselulosa yang pada akhirnya berdampak positif pada aktifitas mikroba rumen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui taraf yang optimal penambahan molases pada amoniasi jerami padi terhadap kualitas produk jerami padi amoniasi dan efisiensi penggunaannya dalam rumen.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Materi dan Metode Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah cairan rumen yang diambil dari 1 ekor sapi Peranakan FH (PFH) laktasi kedua berfistula di Experimental Farm Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman sebagai sumber inokulum. Jerami padi dengan kadar bahan kering 65% digiling dan ditimbang sebanyak 0,5 kg yang dimasukkan kedalam poliback. Urea sebanyak 5% dari berat jerami dan dilarutkan dalam air sehingga konsentrasinya menjadi 10%. Molases ditambahkan dalam larutan urea sesuai dengan perlakuan yaitu 0, 15 dan 30% dari berat jerami padi, kemudian dicampur dengan jerami giling dalam kantong plastik. Kantong plastik yang dipasang selang plastik dan diikat rapat supaya kondisinya dalam keadaan anaerob dan diinkubasi selama 15 hari. Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimental secara *in vitro* menggunakan metode Tilley dan Terry (1963) yang dirancang menggunakan

Rancangan Acak Lengkap (Steel dan Torrie, 1993) dengan 3 perlakuan dan setiap perlakuan diulang 6 kali. Peubah yang diamati adalah produksi VFA total dengan menggunakan metode destilasi uap, N-NH₃ baik hasil amoniasi maupun N-NH₃ rumen dianalisis menggunakan metode Difusi Conway (Departement of Dairy Science Universitas of Wisconsin, 1966), dan sintesis protein mikroba yang dianalisis menggunakan metode Analisis Purin menurut (Zinn dan Owens, 1986).

Analisis Kimia

Analisis proksimat terhadap substrat maupun residu dilakukan menurut petunjuk AOAC (1990), produksi VFA total dengan menggunakan metode destilasi uap (Departement of Dairy Science, 1966), konsentrasi N-NH₃ dengan menggunakan metode difusi Conway (Departement of Dairy Science Universitas of Wisconsin, 1966), dan sintesis protein mikroba rumen dengan menggunakan metode analisis Purin menurut Zinn dan Owens (1986).

Analisis Statistik

Data dianalisis menggunakan analisis variansi kemudian dilanjutkan dengan uji orthogonal polinomial (Stell dan Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Produk Jerami Amoniasi

Hasil analisis kandungan nutrisi pada Tabel 1, menunjukkan bahwa kandungan serat kasar mengalami penurunan dibandingkan dengan control (amoniasi yang hanya menggunakan urea saja). Penurunan serat kasar karena ammonia maupun aktifitas mikroba dan asam laktat yang dihasilkan pada teknik ini dapat menghancurkan ikatan-ikatan lingo-selulosa, lingo-hemiselulosa dan silika yang merupakan faktor penyebab rendahnya daya cerna jerami padi bagi ternak (Cheeke, 1999).

Tabel 1. Kandungan Nutrien Hasil Amoniasi dengan Penambahan Molases

No	Perlakuan	Air	BK (%)	% BK		
				PK (%)	SK (%)	Abu (%)
1.	R ₀	33,07	66,93	8,105	33,96	24,22
2.	R ₁	33,47	66,53	10,122	30,65	22,77
3.	R ₂	33,20	66,80	9,345	24,25	21,71

Penambahan molases pada amoniasi juga menyebabkan peningkatan protein (tabel 1). Hasil yang sama juga ditemukan melalui penggunaan onggok basah sebagai sumber karbohidrat *fermentable* pada proses amoniasi jerami padi dapat meningkatkan penggunaan NH_3 (Kartika, 2007; Krisma, 2007; Elkafi, 2007). Penggunaan NH_3 yang optimal dapat meningkatkan kandungan nutrisi (protein kasar) jerami padi, selain itu dilihat dari karakteristik setelah amoniasi (Tabel 2) juga dapat menurunkan bau amonia, pH dan NH_3 yang lepas ke atmosfer. Hasil sidik ragam (Lampiran 1) menunjukkan bahwa penambahan molases pada amoniasi jerami padi memberikan pengaruh sangat nyata terhadap NH_3 yang lepas setelah amoniasi dan menunjukkan respon linier sejalan dengan penambahan level molases. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Masuda *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa penambahan bahan yang kaya akan karbohidrat *fermentable* dapat mempercepat penurunan pH, karena karbohidrat *fermentable* merupakan energi bagi pertumbuhan bakteri pembentuk asam laktat dan asam laktat yang dihasilkan bereaksi dengan NH_3 . Selain itu bakteri juga dapat memfiksasi NH_3 sebagai sumber N untuk perkembangbiakannya, sehingga mengurangi jumlah amonia (NH_3) yang terlepas ke atmosfer. Dass *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa penambahan asam pada amoniasi jerami padi terbukti dapat menangkap amonia yang terlepas sebesar 30%.

Tabel 2. Karakteristik fisik dan kimia hasil amoniasi

Perlakuan	Karakteristik Pasca Amoniasi		
	Bau	Produksi NH_3	pH
R ₀	Menyengat	12,2	7
R ₁	Agak menyengat	7,8	6
R ₂	Tidak menyengat	5,2	5,5

Konsentrasi N-NH₃ dan VFA

Hasil penelitian (Tabel 3) menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi N-NH₃ berkisar antara $34,96 \pm 0,87$ (perlakuan R₂) sampai $45,3 \pm 1,23$ (perlakuan R₀). Sementara itu rata-rata konsentrasi Volatile Fatty Acid (VFA) yang dihasilkan (Tabel 3) berkisar antara $302 \pm 13,83$ mM (perlakuan R₂), sampai $343,33 \pm 17,46$ mM (perlakuan R₀). Hasil penelitian

ini lebih tinggi dari yang dibutuhkan untuk perkembangan mikroba rumen yang optimal. Mc Donald *et al.* (1987) yang menyatakan bahwa kisaran konsentrasi amonia yang cukup untuk pertumbuhan mikroba yang maksimal adalah 85-300 mg/L atau setara dengan 2,7 – 14,3 mM/L dan konsentrasi VFA pada kisaran 70 sampai 130 mM/L (Wanapat dan khampa, 2006). Hal ini membuktikan bahwa molases memiliki tingkat fermentabilitas yang tinggi. Bata *et al.* (1996) menyatakan bahwa tinggi rendahnya konsentrasi VFA menggambarkan mudah tidaknya karbohidrat difermentasi, makin tinggi VFA makin mudah karbohidrat tersebut untuk difermentasi.

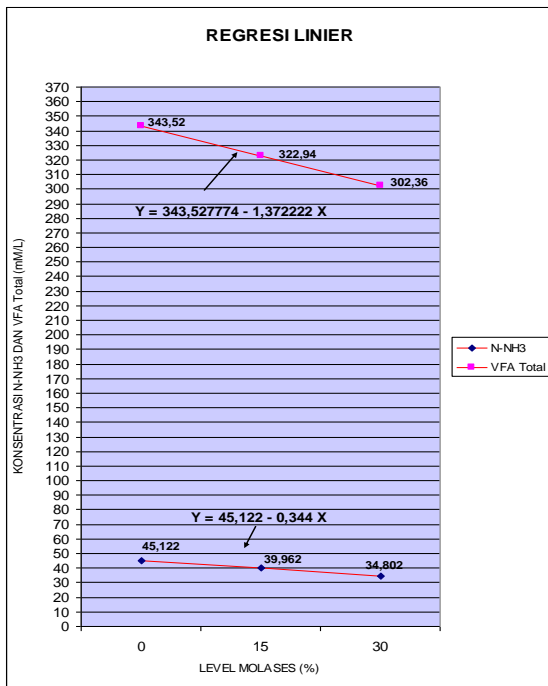
Tabel 3. Rataan Konsentrasi N-NH₃ dan VFA Total (mM/L)

Perlakuan	Rataan Konsentrasi N-NH ₃	Rataan Konsentrasi VFA Total
R ₀	$45,30 \pm 1,23$	$343,33 \pm 17,46$
R ₁	$39,60 \pm 0,56$	$323,33 \pm 15,78$
R ₂	$34,96 \pm 0,87$	$302,16 \pm 13,83$

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan molases pada amoniasi jerami padi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap konsentrasi N-NH₃ dan Volatile Fatty Acid (VFA) total. Uji Orthogonal Polynomial menunjukkan menunjukkan respon linier (Gambar 1) terhadap konsentrasi N-NH₃ dan VFA dengan persamaan garis berturut-turut $Y = 45,122 - 0,344 X$ dengan koefisien determinasi (r^2) = 96,12 persen dan koefisien korelasi (r) = 0,98 serta $Y = 343,527774 - 1,372222 X$ dengan koefisien determinasi (r^2) = 57,68 persen dan koefisien korelasi (r) = 0,75.

Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi N-NH₃ dan VFA semakin menurun sejalan dengan penambahan molases (dalam hal ini sampai level 30%). Hal ini disebabkan karena molases mengandung karbohidrat *fermentable*, sehingga penambahan dari molases menyebabkan peningkatan aktifitas mikroba rumen. Ranjhan (2001) menyatakan bahwa bila jumlah karbohidrat yang mudah difermentasi meningkat, produksi amonia akan turun, karena terjadi peningkatan penggunaan amonia untuk sintesis protein mikroba. Peningkatan aktifitas mikroba tersebut menyebabkan penggunaan N-NH₃ dan VFA

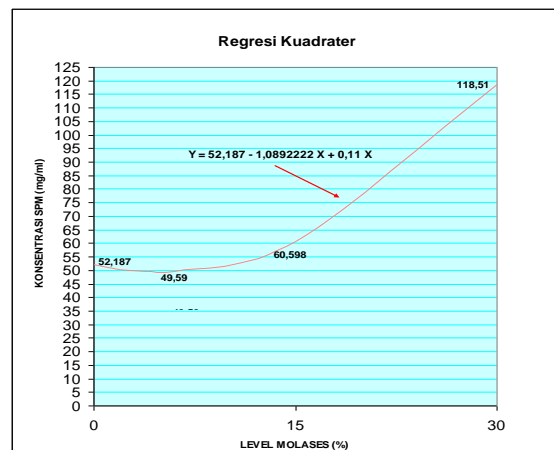
meningkat pula, sehingga terjadi penurunan konsentrasi $N-NH_3$ dan VFA sejalan peningkatan level molases. Hal ini sesuai dengan pendapat Kalbande dan Thomas (2001) yang menyatakan bahwa ammonia akan digunakan oleh mikroba rumen untuk dikonversi menjadi protein mikroba dan VFA digunakan sebagai sumber energi dalam melakukan sintesis asam amino atau protein mikroba tersebut (Xia dan Kerley, 2000). Menurunnya konsentrasi $N-NH_3$ mungkin juga disebabkan karena sumber protein ransum perlakuan tahan degradasi rumen sejalan penambahan level molasses karena menurunnya pH (Table 2). Arora (1995) menyatakan bahwa faktor-faktor yang menyebabkan rendahnya konsentrasi $N-NH_3$ antara lain: (1) sumber protein ransum sangat tahan degradasi mikroba rumen, (2) tingginya sintesis protein mikroba sehingga sisa $N-NH_3$ yang tidak dimanfaatkan akan semakin kecil, (3) rendahnya taraf energi pakan, (4) nisbah C dan N serta (5) rendahnya pertumbuhan mikroba.



Gambar 1. Konsentrasi $N-NH_3$ dan VFA Total pada Berbagai Level Penambahan Molases

Sintesis Protein Mikroba (SPM) Serta Hubungannya dengan $N-NH_3$ dan Volatile Fatty Acid (VFA)

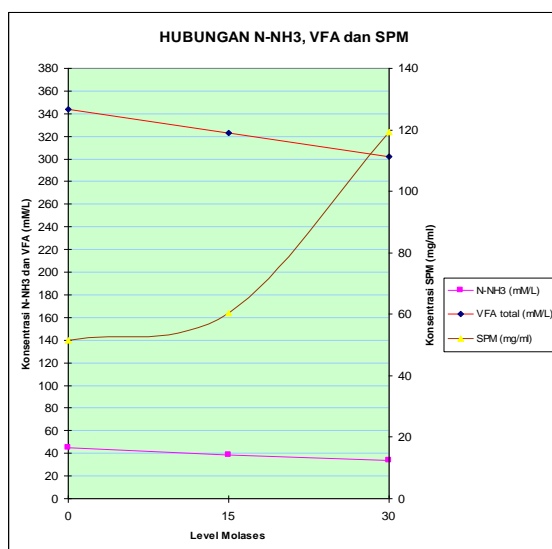
Rataan konsentrasi sintesis protein mikroba hasil penelitian berkisar $51,57 \pm 3,69$ (perlakuan R_0), $60,35 \pm 1,32$ (perlakuan R_1) dan $119,36 \pm 19,4$ (perlakuan R_2). Hasil sidik ragam (Lampiran 4) menunjukkan bahwa penambahan molases pada amoniasi jerami padi memberikan pengaruh yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap sintesis protein mikroba cairan rumen. Uji orthogonal polinomial menunjukkan adanya respon regresi kuadrater dengan persamaan $Y = 52,187 - 1,0892222 X + 0,11 X^2$ dengan koefisien determinasi (r^2) = 75,46% dan koefisien korelasi (r) = 0,86. Hubungan antara penambahan molases dengan sintesis protein mikroba tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Sintesis Protein Mikroba pada Berbagai Level Penambahan Molases

Gambar 2 menunjukkan bahwa penambahan molases pada amoniasi jerami padi mula-mula menurunkan SPM sebesar 49,49 mg/ml yaitu pada level penambahan molases 4,95%. Setelah itu sintesis protein mikroba mengalami peningkatan sejalan dengan penambahan molases sampai level 30% sebesar 118,51 mg/ml. Pada level penambahan molases yang rendah, produksi sintesis protein mikroba sedikit. Hal ini disebabkan mikroba rumen masih adaptasi dan belum tercukupinya kebutuhan energi mikroba untuk metabolisme sehingga produksi protein mikroba rendah atau dengan kata lain ketersediaan N yang tidak diimbangi

dengan ketersediaan energy. Nuswantara *et al.* (2001) yang menyatakan apabila ketersediaan amonia lebih cepat dari fermentasi karbohidrat maka amonia untuk pembentukan protein mikroba tidak efisien. Peningkatan level molases dapat meningkatkan sintesis protein mikroba, hal ini disebabkan peningkatan ketersediaan energy dari molasses untuk mengimbangi ketersediaan N atau dengan kata lain terjadi sinkronisasi antara ketersediaan energy dan N. Fenomena tersebut terjadi karena mikroba mampu memanfaatkan sumber N dari Non Protein Nitrogen (NPN) yang berasal dari amoniasi jerami padi yang diimbangi dengan ketersediaan energi fermentabel dalam bentuk VFA, selain itu juga kandungan protein perlakuan mengalami peningkatan sehingga dapat memenuhi kebutuhan mikroba. Faktor utama yang mempengaruhi sintesis protein mikroba dalam rumen adalah ketersediaan dan konsentrasi dari prekursor seperti glukosa, asam nukleat, asam amino, NH_3 , mineral dalam cairan rumen, kebutuhan hidup pokok mikroba rumen, penghancuran atau perusakan bakteri oleh protozoa predator (Leng *et al.*, 1998),



Gambar 3. Hubungan Konsentrasi N-NH₃, VFA dan Sintesis Protein Mikroba

sedangkan menurut Arora (1995) menyatakan bahwa sintesis protein mikroba tergantung pada kecepatan pemecahan nitrogen pakan, kecepatan absorpsi amonia dan asam-asam amonia, kecepatan alir dari bahan keluar dari rumen.

Gambar 3 menunjukkan hubungan antara VFA, N-NH₃ dengan SPM. Semakin tinggi penambahan molases maka konsentrasi N-NH₃ dan VFA menurun, akan tetapi sintesis protein mikroba meningkat walaupun mula-mula SPM cenderung menurun sampai pada level molasses 4,95%. Hal ini menunjukkan bahwa N-NH₃ dan VFA digunakan untuk sintesis protein mikroba. Penggunaan N-NH₃ dan VFA meningkat maka konsentrasinya menurun sejalan dengan peningkatan sintesis protein mikroba. Seperti yang telah diuraikan sebelumnya bahwa produksi sintesis protein mikroba dapat optimal apabila antara N-NH₃ dan energi fermentabel harus seimbang. Hal ini sesuai dengan pendapat Kalbande dan Thomas (2001) yang menyatakan bahwa ammonia akan digunakan oleh mikroba rumen untuk dikonversi menjadi protein mikroba dan VFA digunakan sebagai sumber energi dalam melakukan sintesis asam amino atau protein mikroba tersebut (Meng, Xia dan Kerley, 2000). Selain itu hasil analisis *Rumen Degradable Intake Protein* (RDIP) dan *Undegradable Intake Protein* (UIP) juga menunjukkan peningkatan sejalan dengan penambahan level molases (Fitri, 2008), sehingga mendukung untuk produksi sintesis protein mikroba. Hal ini sesuai dengan pendapat Broster dan Swan (1979) yang menyatakan bahwa laju dan jumlah sintesis protein mikroba rumen berkaitan erat dengan ketersediaan N-NH₃ yang berasal dari degradasi protein atau nitrogen pakan oleh mikroba.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penambahan molases sampai dengan level 30% mampu meningkatkan kualitas proses amoniasi jerami padi melalui fiksasi NH_3 sehingga meningkatkan kandungan nutrisi, pengurangan NH_3 yang terbuang ke atmosfer, meningkatkan pemanfaatan N-NH₃ dan VFA serta dapat meningkatkan sintesis protein mikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Arora, S.P., 1995. Pencernaan Mikroba pada Ruminansia. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta. Hal : 25-26, 43-53.
- Bata, M., Irawan, I., Rahayu, S. dan Pangestu, M., 1996. Pengaruh Suplementasi Ampas Tahu pada Onggok terhadap Produk Fermentasi Rumen, Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik Secara In Vitro. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Peternakan Unsoed. Purwokerto. (tidak dipublikasikan).
- Broster, W.H. and Swan, H., 1979. Feeding Strategy for Yielding Dairy Cows. Published By Dranada Publishing. London. Pp. 92-93 Dalam Bata, M., Suwandastuti dan N. Hidayat. 1999. Pengaruh Penambahan Urea dan Belerang pada Campuran Tape Onggok dan Ampas Tahu Terhadap Kecernan Protein dan Darah Domba Jantan. *Journal Animal Production*. 1 (2) : 75-91
- Cheeke, Peter. R., 1999. Applied Animal Nutrition; Feed and Feeding. Third Edition. Prentice-Hall, Inc : New Jersey.
- Dass, R. S., Verma, A. K., Mehra, U. R. and Sahu, D. S., 2001. Nutrient Utilisation and Rumen Fermentation Pattern in Murrah Buffaloes Fed Urea and Urea Plus Hydrochloric Acid Treated Wheat Straw. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 14 (11):1542-1548.
- Departement of Dairy Science. 1966. General Laboratory Procedures. University of Wisconsin.USA. Pp : 142-157.
- Kalbande, V.H. and Thomas, C. T., 2001. Effect of Feeding By Pass Protein on Rumen Fermentation Profile of Crossbred Cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 14 (7) : 974-978.
- Kartika, C.D.P., 2007. Penambahan Onggok Segar pada Pembuatan Amoniasi Jerami Padi dan Pengaruhnya terhadap Kecernaan Bahan Kering dan Kecernaan Bahan Organik Secara In Vitro. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto. Hal : 1-2.
- Khampa, S., Wanapat, M., Wachirapakorn, C., Nontaso, N. and Wattiaux, M., 2006. Effects of Urea Level and Sodium dl-Malate in Concentrate Containing High Cassava Chip on Ruminant Fermentation Efficiency, Microbial Protein Synthesis in Lactating Dairy Cows Raised Under Tropical Condition. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19 : 837-844.
- Krisma, A., 2007. Penambahan Onggok Segar pada Pembuatan Amoniasi Jerami Padi dan Pengaruhnya Terhadap Kecernaan Serat Kasar dan Produksi VFA Secara In Vitro. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto. Hal : 30,35.
- Leng, R. A. and J. Kanjanapruthipong. 1998. The Effects of Daitary Urea on Microbial Populations in The Rumen of Sheep. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 11 : 661-672
- Mc. Donald, P., Edwards R. A. and Greenhalg, J.P.D., 2002. *Animal Nurtition*, sixth Ed. Prentice Hall. Gosport. London. Pp. 42-153
- Masuda, Y., Yunus, M., Onba, N., Shimojo, M., and Furuse, M., 2000. Effect of Urea Molasses on Napiergrass Silage Quality. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13 (11) : 1542-1547.
- Meng, Q.X., Xia, Z.G. and Kerley, M.S., 2000. The Requirement of ruminal Degradable Protein for Non-Structural Carbohydrate-fermenting Microbes and Its Reaction with Dilution Rate in Continuous Culture. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 13 (1) : 1399-1406.
- Migo, V.P., Matsumura, M., Rosariodan, E.J.D., Kataoka, H., 1993. Decolorization of Molasses Wastewater Using Inorganic Flocculant. *J. Of Fermentation Bioengineering* 75(6), 438-442.
- Nuswantara, L.K., Soejono, M. dan Widyobroto, B.P., 2001. Sintesis Protein Mikroba Pada Sapi Peranakan Ongole dan Kerbau Yang Diberi Pakan Tunggal Glirisida, Jerami Jagung dan Kaliandra. *Agrosains*. 14: 165-176.

- Ranjhan, S.K., 1980. Animal Nutrition in Tropic. Vikas Publishing How. New Delhi. Pp. 121-138.
- Stell, R.G.D. and Torrie, J.H., 1980. Principles and Procedures of Statitics. Terjemahan oleh B. Sumantri. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika suatu Pendekatan Biometrik. Edisi Kedua. PT. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta. Hal 237-267.
- Taiwo, A.A., Adebawale, E.A., Greenhalgh, J.F.D. and Akinsoyinu, A.O., 1995. Technique For Trapping Ammonia Generated from Urea Treatment of Barley Sraws. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 56 : 133.
- Tilley, J. M. A., and Terry. 1963. A Two Stage Technique for The In Vitro Digestion of Forage Crops. *Journal of The British Grassland Society.* (18) : 104.
- Zinn, R.A and Owens, F.V., 1986. *Rapid Procedure Purine Measurement and Its Use for Estimating Net Ruminant Protein Syntesis.* *Can. J. Anim. Sci.* 66:157-166.