

VOLATILE FATTY ACIDS (VFA) DAN AMONIA (NH₃) LITTER AYAM FERMENTASI DENGAN LAMA PERAM YANG BERBEDA SECARA *IN VITRO*

(*In Vitro* Volatile Fatty Acids (VFA) And Ammonia (NH₃) Litter Chicken Fermentation with Different Period)

Marry Christiyanto, Surono, Fathiyatul Ilmi Munarifdah, dan Cahya Setya Utama

Program Studi S1 Peternakan Fakultas Peternakan dan Pertanian,
Universitas Diponegoro, Semarang
Jl. Prof. H. Soedarto, S.H, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275
*Email: marrychristiyanto@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the effect of different periods of fermentation of chicken litter on *in vitro* volatile fatty acids (VFA) and ammonia (NH₃) concentrations. This study used a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 4 replications. The treatments tested were T0 = fermentation 0 weeks, T1 = fermentation 3 weeks, T2 = fermentation 6 weeks and T3 = fermentation 9 weeks. The parameters observed in the study were the concentration of VFA and NH₃ fermentation litter. The results showed that the concentration of VFA and NH₃ was not significantly affected by the length of ripening, with the average value concentration of VFA total fermented litter ranging from 70 - 85 mM while the concentration of NH₃ in the fermented litter was 18,84 - 23,28 mg/100 ml. The conclusion of the study was that different fermentation times did not affect the concentration of total VFA and NH₃ concentrations.

Keywords: Fermentation, *in vitro*, Litter, NH₃, VFA.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh lama peram yang berbeda pada fermentasi litter terhadap konsentrasi *volatile fatty acids* (VFA) total dan amonia (NH₃) secara *in vitro*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diuji adalah T0= lama peram litter ayam fermentasi 0 minggu, T1= lama peram litter ayam fermentasi 3 minggu, T2= lama peram litter ayam fermentasi 6 minggu dan T3= lama peram litter ayam fermentasi 9 minggu. Parameter yang diamati dalam penelitian adalah konsentrasi VFA dan NH₃ litter fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi VFA total litter dan NH₃ tidak dipengaruhi secara nyata ($P>0,05$) oleh lama pemeraman, dengan nilai rata-rata konsentrasi VFA total litter fermentasi berkisar antara 70 - 85 mM sedangkan konsentrasi NH₃ litter fermentasi yaitu 18,84 - 23,28 mg/100 ml. Kesimpulan penelitian adalah lama fermentasi yang berbeda tidak memberikan pengaruh terhadap konsentrasi VFA total dan NH₃ litter ayam.

Kata Kunci : Fermentasi, *in vitro*, Litter, NH₃, VFA.

PENDAHULUAN

Ruminansia merupakan salah satu komoditas penghasil protein hewani yang potensial melalui produknya berupa daging dan susu. Salah satu hambatan yang sering terjadi pada usaha peternakan ruminansia adalah ketersediaan hijauan pakan yang terbatas (Lestari *et al.*, 2015). Hal ini disebabkan semakin sedikitnya lahan penanaman rumput dan meluasnya area pemukiman penduduk serta cuaca yang tidak menentu menyebabkan

produksi hijauan tidak optimal. Oleh karena itu, perlu pakan tambahan seperti bahan pakan sumber protein untuk menunjang produktivitas ruminansia. Bahan pakan sumber protein relatif mahal dan harganya meningkat setiap tahun, sehingga untuk memenuhi kebutuhan pakan ruminansia perlu alternatif pengganti pakan sumber protein dengan harga yang relatif murah. Salah satu alternatifnya yaitu pemanfaatan litter ayam broiler. Litter ayam broiler merupakan limbah dari peternakan ayam broiler yang terdiri dari ekskreta (urin dan feses), bahan

alas tidur (sekam), bulu, pakan yang tercecer dan biomassa bakteri (Chaudhry *et al.*, 2012). *Litter* broiler digunakan sebagai bahan pakan untuk ruminansia didasarkan pada kandungan nutriennya sebagai sumber nitrogen non protein (NPN) yang cukup tinggi dengan kadar bahan kering (BK) sebesar 61 – 95% dan serat 11 – 52% (Lanyasanya *et al.*, 2006). *Litter* ayam broiler memiliki jumlah NPN seperti asam urat, purin, dan allantoin yang dapat digunakan oleh mikroba rumen, sehingga cocok digunakan sebagai bahan pakan alternatif ruminansia (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2012). Kandungan nutrisi *litter* broiler yaitu protein kasar (PK) 25 – 50%, *total digestible nutrients* (TDN) 55 – 60% (Rahimi *et al.*, 2018). *Litter* broiler mengandung Ca sebesar 2,4%, P 1,8%, K 1,8% (Roothaert dan Matthewman, 1992). Pemanfaatan *litter* sebagai pakan alternatif ruminansia perlu ditingkatkan kualitasnya melalui proses pengolahan, antara lain dengan proses fermentasi.

Fermentasi adalah proses pemecahan komponen kompleks menjadi lebih sederhana (Suningsih *et al.*, 2019). Manfaat fermentasi yaitu untuk meningkatkan nutrisi pakan, meningkatkan nitrogen, palatabilitas, konsumsi dan pencernaan pakan (Hidraningrum *et al.*, 2011). Pengolahan fermentasi pada *litter* bertujuan meningkatkan pencernaan serat kasar sehingga produksi VFA meningkat, kandungan nitrogen (N) juga meningkat dengan adanya tambahan berupa NBP selama masa fermentasi. Mikroba rumen akan menghidrolisis protein dan NBP menjadi peptide dan asam amino yang selanjutnya didegradasi menjadi NH_3 dalam rumen, sehingga produksi NH_3 juga akan semakin tinggi. NH_3 yang meningkat berfungsi untuk mengurangi atau menghilangkan patogen seperti salmonella atau zat beracun pada *litter* (Joan *et al.*, 1998). Fermentasi dapat menurunkan serat kasar sehingga degradasi dalam rumen meningkat akibatnya pencernaan bahan organik meningkat. Peningkatan pencernaan bahan organik mengakibatkan produksi VFA meningkat (Rahman *et al.*, 2019). Hasil penelitian Azizi-Shotorkhoft *et al.* (2013) menunjukkan bahwa konsentrasi VFA pada olahan *litter* ayam broiler dengan tingkat kandungan *molasses* yang berbeda sebesar 90,1 – 93,3 mmol/l sedangkan konsentrasi NH_3 sebesar 19,9 – 23,3 mg/dl. Penelitian Negesse *et al.* (2007) menunjukkan bahwa *performance* dari Spansish and Boer \times Spanish Doeling yang mengkonsumsi pakan dengan level *litter* broiler yang berbeda menghasilkan konsentrasi VFA

sebesar 74,8 – 88,9 Mm dan NH_3 sebesar 7,6 – 16,1 mg/dl.

Tujuan penelitian adalah mengkaji pengaruh *litter* ayam yang difermentasi pada lama peram yang berbeda terhadap kadar VFA dan NH_3 dalam rumen sapi secara *in vitro*. Manfaat penelitian adalah mendapatkan informasi mengenai pemberian pakan *litter* terhadap konsentrasi VFA dan NH_3 di dalam rumen sapi. Hipotesis dari penelitian ini adalah lama fermentasi dapat mempengaruhi tingkat konsentrasi VFA dan NH_3 .

MATERI DAN METODE

Materi

Materi penelitian adalah *litter* ayam fermentasi pada lama peram yang berbeda. Bahan yang digunakan yaitu *litter* ayam, urea, *starter*, mineral, tetes, garam, *litter* fermentasi, aquades, larutan Mc Dougall, cairan rumen sapi segar, larutan pepsin HCl 0,2%, es batu, larutan H_2SO_4 15%, larutan NaOH 0,5 N, larutan HCl 0,5 N, larutan indikator PP (Phenol Phtalein 0,1%), larutan natrium nitroprusida, larutan fenol, larutan pengoksidasi. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, tabung fermentor, pipet, waterbath Memmert dengan suhu 39 – 40°C, sentrifuge Hettich Universal 320 R, enlenmeyer Duran 250 ml, kompor listrik, tabung suling khusus, labu destilasi, tabung leibag dan spektrofotometer UV Vis 640 nm.

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian terdiri dari 4 tahap utama yang meliputi rancangan penelitian, tahap fermentasi, tahap pengambilan data dan analisis data.

Rancangan penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan yaitu T0 = Lama peram *litter* ayam fermentasi 0 minggu, T1 = Lama peram *litter* ayam fermentasi 3 minggu, T2 = Lama peram *litter* ayam fermentasi 6 minggu, T3 = Lama peram *litter* ayam fermentasi 9 minggu.

Tahap fermentasi

Fermentasi *litter* dilaksanakan sesuai prosedur Natsir *et al.* (2019). Penelitian diawali dengan cara *litter* yang sudah dikumpulkan

dari 16 kandang kemudian digabungkan dan dijemur untuk mendapatkan kadar air kurang dari 14%. Sampel kemudian dibagi menjadi 16 bagian dengan berat masing-masing sebanyak 1 kg dan dihaluskan. *Litter* yang sudah ditimbang sebanyak 1 kg dituang pada nampan. *Molasses* ditimbang sebanyak 60 g dan dicampur dalam air sebanyak 100 ml dan selanjutnya dituang di atas *litter*. Garam, *starter mix culture* (bakteri selulolitik, amilolitik, lipolitik dan bakteri asam laktat), mineral mix dan urea masing-masing ditimbang sebanyak 60 g serta dicampurkan dan dihomogenkan.

Tahap pengambilan data

Pengambilan data dilakukan dengan teknik *in vitro* dilakukan dengan menyerupai kondisi rumen yang sebenarnya, percobaan ini dilakukan dengan metode Tilley dan Terry (1963). Cairan rumen sapi segar diperoleh dari Rumah Potong Hewan sebagai inokulum. Masing-masing sampel dimasukkan sebanyak 0,56 gram ke dalam tabung fermentor yang sudah disterilisasi kemudian sampel diberi larutan Mc Dougall sebanyak 40 ml dan cairan rumen sapi sebanyak 10 ml, selanjutnya ditambahkan gas CO₂ selama 10-20 detik untuk menciptakan kondisi *anaerob* dan ditutup dengan tutup karet. Kemudian tabung diinkubasi dalam waterbath selama 3 jam dan dihentikan fermentasinya dengan cara diletakkan dindalam air es. Larutan kemudian disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dan supernatan dapat diambil untuk analisis VFA dan NH₃.

Analisa VFA total dilakukan dengan metode destilasi uap (General Laboratory Procedure, 1966). Produksi VFA total dapat dihitung dengan rumus menurut Rahayu *et al.*, (2018). Analisis Amonia (NH₃) dilakukan dengan metode spektrofotometer (Azizah dan Humairoh, 2015).

Analisis data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis dengan analisis varians (ANOVA), dan diuji

lanjut dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1990).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian tentang VFA Total dan NH₃ *litter* yang difermentasi pada lama peram yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1.

Konsentrasi VFA Total

Tabel 1. menunjukkan bahwa lama peram yang berbeda berpengaruh tidak nyata (P>0,05) terhadap konsentrasi VFA total *litter* ayam fermentasi. Konsentrasi VFA total *litter* ayam fermentasi secara berturut-turut T0, T1, T2 dan T3 adalah 75; 82,5; 85 dan 70 mM. *Volatile fatty acids* merupakan produk akhir fermentasi karbohidrat dalam rumen. Hasil konsentrasi VFA total *litter* ayam fermentasi tersebut sudah cukup baik. Sari *et al.* (2019) menyatakan bahwa konsentrasi VFA yang optimum dalam mendukung perkembangan mikrobia rumen yaitu sekitar 70 - 150 mM. Lama fermentasi *litter* tidak berbeda nyata pada kadar serat kasar (SK) *litter* perlakuan, sehingga konsentrasi VFA total yang dihasilkan dari perombakan SK oleh mikroba rumen relatif sama. Lama fermentasi *litter* tidak berpengaruh nyata pada konsentrasi VFA total diduga disebabkan karena mikroba selulolitik yang ada dalam *starter* kurang dominan, sehingga tidak optimal dalam mendegradasi SK. Jumlah SK yang relatif sama mengakibatkan konsentrasi VFA total tidak berpengaruh nyata. Muslimah *et al.* (2020) menyatakan bahwa serat kasar mengandung selulosa dan hemiselulosa yang dapat di fermentasi mikroba rumen menjadi VFA. Sandi *et al.* (2015) menambahkan bahwa selulosa, pati dan hemiselulosa dalam pakan dicerna oleh mikrobia rumen menghasilkan gula-gula sederhana, gula-gula sederhana akan mengalami glikolisis menjadi asam piruvat kemudian diubah menjadi VFA, H₂O, karbondioksida (CO₂) dan gas metan (CH₄). *Volatile fatty acids* merupakan sumber energi utama bagi ternak

Tabel 1. Pengaruh Umur Panen Berbeda terhadap Kandungan dan Produksi BK dan PK Sorghum Green Fodder Hydroponic

Parameter	Perlakuan Lama Peram (minggu)			
	T0	T1	T2	T3
VFA (mM)	75	82,5	85	70
NH ₃ (mg/100 ml)	23,28	18,84	19,71	22,86

Ket.: T0: Lama peram litter ayam fermentasi 0 minggu; T1: Lama peram litter ayam fermentasi 3 minggu; T2: Lama peram litter ayam fermentasi 6 minggu ; T3: Lama peram litter ayam fermentasi 9 minggu

ruminansia dan sebagai sumber kerangka karbon bagi pembentukan protein mikroba. Konsentrasi VFA dapat dipengaruhi oleh tingkat fermentabilitas bahan pakan, pH rumen, pencernaan bahan pakan, jumlah serta macam bakteri yang ada dalam rumen. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahayu *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi konsentrasi VFA antara lain jumlah dan macam mikroba dalam rumen, fermentabilitas pakan, pH rumen, pencernaan bahan pakan dan jumlah karbohidrat yang mudah larut.

Tinggi rendahnya konsentrasi VFA pada rumen dipengaruhi oleh bahan organik yang terdapat dalam litter ayam yang berupa serat kasar, BETN, lemak dan protein kasar. Jumlah VFA yang dihasilkan menunjukkan kemampuan pakan yang didegradasi oleh mikrobia rumen. Jena *et al.* (2020) menyatakan bahwa semakin sedikit produksi VFA yang dihasilkan maka semakin sedikit pula protein dan karbohidrat yang mudah larut. Rahayu *et al.*, (2018) menambahkan bahwa semakin tinggi konsentrasi VFA mengindikasikan fermentasi semakin efektif dan apabila konsentrasi VFA terlalu tinggi dapat berdampak mengganggu keseimbangan rumen.

Perlakuan T2 memberikan konsentrasi VFA total paling tinggi meskipun tidak berpengaruh nyata pada litter fermentasi dengan lama peram yang berbeda diduga karena kemampuan mikroba *starter* dalam mendegradasi pakan lebih optimal di minggu ke 6. Peningkatan lama fermentasi litter menyebabkan meningkatnya kesempatan mikroba dari *starter* untuk melakukan pertumbuhan, perkembangan dan fermentasi, sehingga semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin banyak dalam mendegradasi substrat. Hal ini sesuai dengan pendapat Yuliana dan Chuzaemi (2019) yang menyatakan bahwa semakin lama fermentasi semakin banyak substrat yang dirombak oleh mikroba. Lama peram litter ayam fermentasi selama 6 minggu memberikan hasil VFA total terbaik. Amin *et al.* (2015) menyatakan bahwa lama fermentasi 30 hari memberikan waktu yang cukup bagi mikroba untuk mendegradasi substrat.

Konsentrasi amonia (NH₃)

Tabel 1. menunjukkan bahwa lama peram yang berbeda berpengaruh tidak nyata terhadap konsentrasi NH₃ litter ayam fermentasi. Konsentrasi NH₃ litter ayam fermentasi secara

berturut-turut T0, T1, T2 dan T3 adalah 23,28; 18,84; 19,71 dan 22,86 mg/100 ml. Amonia merupakan hasil degradasi protein dan *non protein nitrogen* (NPN) yang masuk kedalam rumen ruminansia. Lama fermentasi litter pada konsentrasi NH₃ tidak berpengaruh nyata diduga disebabkan karena VFA total yang dihasilkan tidak berpengaruh nyata, dengan kata lain ketersediaan C untuk sintesis mikroba juga juga relatif sama antar perlakuan. Hal ini berkaitan dengan kemampuan mikroba untuk tumbuh dan berkembang, ketersediaan C yang sama berarti pula jumlah mikroba yang berkembang juga sama. Raffleliawati *et al.* (2016) menyatakan bahwa N merupakan prekursor utama dalam proses sintesis protein mikroba dan C digunakan sebagai kerangka karbon dan energi. Amonia dihasilkan dari proses deaminasi atau pelepasan gugus amina dari asam amino. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyawati (2008) bahwa asam amino yang berasal dari degradasi protein akan mengalami deaminasi menjadi amonia, asam alfa keto dan CO₂. Jumlah bakteri yang relatif sama antar perlakuan mengakibatkan kemampuan deaminasi oleh mikroba juga sama sehingga NH₃ yang dihasilkan menjadi tidak berbeda antar perlakuan.

Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi NH₃ cenderung sama dengan penelitian terdahulu Azizi-Shotorkhoft *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa NH₃ pada pengolahan litter ayam broiler dengan tingkat kandungan molasses yang berbeda yaitu sebesar 19,9 - 23,3 mg/dl. Satter dan Slyter (1974) menyatakan bahwa konsentrasi NH₃ yang diperlukan untuk perkembangan mikroba rumen berkisar antara 5,0 - 8,0 mg/100 ml. Leng (1980) menambahkan bahwa konsentrasi NH₃ cairan rumen bervariasi antara 1 - 34 mg/100 ml. Konsentrasi NH₃ perlakuan yang tinggi diduga berasal dari N ekskreta yang ada di dalam litter ayam. Azizi-Shotorkhoft *et al.* (2012) menyatakan bahwa litter broiler mengandung NPN yang tinggi sebesar 960 g/kg yang terdiri dari asam urat, purin, dan allantoin yang dapat digunakan oleh mikroba rumen. Rahayu *et al.* (2018) menambahkan bahwa faktor yang mempengaruhi konsentrasi NH₃ antara lain jumlah pakan dan kelarutan, lama inkubasi, karbohidrat dalam pakan serta pH rumen. Izzatullah *et al.* (2018) menyatakan bahwa konsentrasi NH₃ menunjukkan tinggi rendahnya kandungan protein kasar yang dirombak oleh mikroba rumen.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata pada konsentrasi VFA total dan NH_3 .

Saran

Sebaiknya perlu dilakukan penambahan mikroba selulolitik dalam *starter* fermentasi.

Ucapan terimakasih

Ucapan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat atas fasilitasnya dalam penugasan kegiatan Penelitian Dasar Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi dengan Nomor: 225 - 67/UN7.6.1/PP/2020 Tanggal 20 Maret 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M., S. D. Hasan, O. Yanuarianto dan M. Iqbal. 2015. Pengaruh lama fermentasi terhadap kualitas jerami padi amoniasi yang ditambah probiotik dan *Bacillus sp.* J. Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia, 1 (1): 11 - 17.
- Azizah, M dan M. Humairoh. 2015. Analisis kadar Amonia (NH_3) dalam air sungai Cileungsi. J. Nusa Sylva., 15 (1): 47 - 54.
- Azizi-Shotorkhoft, A., Y. Rouzbehan dan H. Fazaeli. 2012. The influence of the different carbohydrate sources on utilization efficiency of processed broiler litter in sheep. J. Lives. Sci., 148: 249-254.
- Azizi-Shotorkhoft, A., J. Rezaei dan H. Fazaeli. 2013. The effect of different levels of molasses on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. J. Anim. Feed Sci. Technol., 179: 69-76.
- Chaudhry S. M dan Z. Naseer. 2012. Processing and nutritional value of broiler litter as a feed for Buffalo Steers. J. Anim. Plant. Sci., 22 (3): 358-364.
- General Laboratory Procedure. 1966. General Laboratory Procedure. Department of Dairy Science. University of Animal, Butterworths London.
- Harahap, N., E. Mirwandhono dan N. D. Hanafi. 2017. Uji pencernaan bahan kering, bahan organik, kadar NH_3 dan VFA pada pelepah daun sawit terolah pada sapi secara *in vitro*. J. Peternakan, 1 (1): 13 - 21.
- Hindraningrum, N., M. Bata dan S. A. Santosa. 2011. Produk fermentasi rumen dan produksi protein mikroba sapi lokal yang diberi pakan jerami amoniasi dan beberapa bahan pakan sumber energi. J. Agribisnis Peternakan, 11 (2): 29 - 34.
- Izzatullah, A. Y., Sutrisno dan L. K. Nuswantara. 2018. Produksi VFA, NH_3 dan protein total secara *in vitro* pada *fooder* jagung hidroponik dengan media perendaman dan penggunaan dosis pupuk yang berbeda. J. Ilmu dan Teknologi Peternakan, 6 (1): 13 - 18.
- Jena, K., M. K. Kleden dan I. Benu. 2020. Kecernaan nutrien dan parameter rumen pakan konsentrat yang mengandung tepung daun kersen sebagai pengganti jagung secara *in vitro*. J. Nukleus Peternakan, 7 (2): 118 - 129.
- Joan, S. J., J. H. Kirk, E. R. Atwill dan J. S. Cullor. 1998. Prevalence of selected microbial pathogens in processed poultry waste used as dairy cattle feed. J. Poult. Sci., 77: 808 - 811.
- Kurniawati, A. 2007. Teknik produksi gas *in vitro* untuk evaluasi pakan ternak : volume produksi gas dan pencernaan bahan pakan. J. Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi, 3(1): 40 - 49.
- Lanyasanya, T. P., W. H. Rong, S. A. Abdulrazak, P. K. Kaburu, J. O. Makori, T. A. Onyango dan D. M. Mwangi. 2006. Factors limiting use of poultry manure as protein supplement for dairy cattle on Smallholder Farms in Kenya. Intl. J. Poult. Sci., 5 (1): 75 - 80.
- Leng, R. A. 1980. Principle and Practice of Feeding Tropical Crop and by Products to Ruminant. Department of Biochemistry and Nutrition. University of New England. Armidale, Australia.
- Lestari, V. S., D. P. Rahardja dan M. B. Rombe. 2015. Pengetahuan dan sikap peternak sapi potong terhadap teknologi pengolahan limbah pertanian sebagai pakan ternak. J. Ilmu dan Teknologi Peternakan, 4(2): 90 - 93.

- Muslimah, A. P., R. Istiwati, A. Budiman, B. Ayuningsih dan I. Hernaman. 2020. Kajian *in vitro* ransum sapi potong yang mengandung bungkil tengkawang terhadap fermentabilitas dan pencernaan. *J. Ilmiah Peternakan Terpadu*, 8 (1): 21 – 26.
- Natsir, M. H., Mashudi, O. Sjoifjan, A. Irsyamawati dan Hartutik. 2019. *Teknologi Pengolahan Bahan Pakan Ternak*. UB Press, Malang.
- Negesse, T., A. K. Patra, A. Tolera, R. C. Merkel, T. Sahlu dan A. L. Goetsch. 2007. Performance of Spanish and Boer × Spanish doeling consuming diets with different levels of broiler litter. *Small Ruminant Research*, 69: 187 – 197.
- Rafleliawati, P., Surahmanto dan J. Achmadi. 2016. Efek pemanasan pada molases yang ditambahkan urea terhadap ketersediaan NH_3 *volatile fatty acids* dan protein total secara *in vitro*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(2): 24-29.
- Rahayu, R. I., A. Subrata dan J. Achmadi. 2018. Fermentasi ruminal *in vitro* pada pakan berbasis jerami padi amoniasi dengan suplementasi tepung pisang dan molasses. *J. Peternakan Indonesia*, 20 (3): 166 – 174.
- Rahimi, M. R., Y. A. Alijoo, R. Pirmohammadi dan M. Alimirzaei. 2018. Effects of feeding with broiler litter in pellet-form diet on Qizil fattening lambs' performance, nutrient digestibility, blood metabolites and husbandry economics. *J. Vet. Res. Forum.*, 9 (3) : 245 – 251.
- Rahman, A., B. I. M. Tampoebolon, Sunarso dan L. K. Nuswantara. 2020. Pengaruh perbedaan aras starter pada fermentasi sabut kelapa terhadap pencernaan bahan pakan dan produksi *volatile fatty acids* secara *in vitro*. *J. Ilmiah Peternakan Terpadu*, 8 (2): 66 – 71.
- Roothaert, R. I dan R. W. Matthewman. 1992. Poultry wastes as foods for ruminants and associated aspects of animal welfare. *Asian-Australasian. J. Anim. Sci.*, 5 (4): 593 – 600.
- Sandi, S., A. I. M. Ali dan A. A. Akbar. 2015. Uji *in vitro* wafer ransum komplit dengan bahan perekat yang berbeda. *J. Peternakan Sriwijaya*, 4(2): 7 – 16.
- Sari, I. P., L. K. Nuawantara dan J. achmadi. 2019. Pengaruh suplementasi karbohidrat mudah larut yang berbeda dalam pakan berbasis jerami padi amoniasi terhadap degradabilitas ruminal *in vitro*. *J. Sains Peternakan Indonesia*, 14(2): 161 – 170.
- Satter, L. D dan L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production *in vitro*. *J. Nutr.*, 32: 194.
- Steel, R. G. D dan J. H. Torrie. 1990. *Prinsip dan Prosedur Statistik. Suatu Pendekatan Biometrik*. Alih Bahasa Ir. B. Soemantri. Ed II. Gramedia, Jakarta.
- Suningsih, N., W. Ibrahim, O. Liandris dan R. Yulianti. 2019. Kualitas fisik dan nutrisi jerami padi fermentasi pada berbagai penambahan starter. *J. Sains Peternakan Indonesia*, 14 (2): 191 – 200.
- Tilley, J. M. A dan R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for in the *in vitro* digestion of forage crops. *J. of the British Grassland Society*, 18: 104 – 111.
- Widyawati, S. D. 2008. Efek perbedaan sumber protein dan rasio urea-molases dalam pakan suplemen yang ditambahkan dalam ransum terhadap produksi mikrobial rumen secara *in vitro*. *J. Sains Peternakan*, 6 (1): 34 – 41.
- Yuliana, A dan S. Chuzaemi. 2019. Pengaruh lama fermentasi ampas putak (*Coryphe gebanga*) terhadap kualitas fisik dan kualitas kimia menggunakan *Aspergillus oryzae*. *J. Nutrisi Ternak Tropika*, 2 (1): 19 – 32.