

**AKTIVITAS PROPORSI BERBAGAI CAIRAN RUMEN  
DALAM MENGATASI TANIN SECARA *In Vitro***

**Oleh**

**JULASTRI ENGLINA SIHOMBING**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA  
2008**

636.08507

SiLh

a

2008

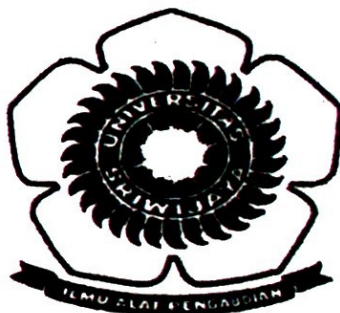
**AKTIVITAS PROPORSI BERBAGAI CAIRAN RUMEN  
DALAM MENGATASI TANIN SECARA *In Vitro***



Oleh

**JULASTRI ENGLINA SIHOMBING**

R. 16242  
16604



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA  
2008**

## SUMMARY

**JULASTRI ENGLINA SIHOMBING.** Proportion activity of various rumen fluid to overcome tannin in vitro. Supervised by Dr. Ir. Armina Fariani, M.Sc and Arfan Abrar, MSi

This research were done to study mix culture activity of various rumen fluid to overcome tannin in vitro. It was held for 2 (two) month at Animal Nutrition and Feed Laboratory Agriculture Faculty Sriwijaya University

Compeletly randomized designed were done with 3 (three) proportion of rumen fluid from various ruminant (cattle, goat and buffalo). The treatments were P1 (25:50:25); P2 (25:25:50) and P3 (50:25:25) respectively. Each treatment were replicated four times. Observed parameter were total population of bacteria (cfu/ml), tannin concentration (mg/ml) and N-NH<sub>3</sub> concentration (mM).

All treatment were non significant, however total population of bacteria increased in every treatment. Tannin concentration were non significant except for P3 (0,112 mg/ml to 0.103 mg/ml). N-NH<sub>3</sub> in all treatment were non significant (0.05 mM), however showed that there were microbe activity in all treatments. It concluded that proportion of various rumen fluid were tolerance to tannin

## RINGKASAN

**JULASTRI ENGLINA SIHOMBING.** Aktivitas Proporsi Berbagai Cairan Rumen dalam Mengatasi Tanin secara *In Vitro* (Dibimbing oleh Dr. Ir. Armina Fariani, M.Sc dan Arfan Abrar Msi)

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas kultur campuran mikroba dari berbagai ternak ruminansia dalam mengatasi antinutrisi tanin secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan, di laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 (tiga) proporsi cairan rumen dari ternak ruminansia yang berbeda (sapi, kambing, dan kerbau). Perlakuannya masing-masing, P1 (25:50:25) ; P2 (25:25:50) dan P3 (50:25:25). Masing-masing perlakuan diulang 4 (empat kali). Parameter yang diamati adalah, total populasi bakteri, konsentrasi tanin sebelum dan sesudah inkubasi dan konsentrasi N-Amonia ( $N-NH_3$ ). Perlakuan tersebut tidak berbeda nyata terhadap setiap perlakuan.

Total populasi bakteri yang diamati sebelum dan sesudah inkubasi ternyata meningkat. Penelitian tersebut tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi tanin, meskipun terjadi penurunan konsentrasi tanin pada perlakuan P3 (sebelum inkubasi 0.112 mg/ml sesudah inkubasi 0.103 mg/ml). Rata-rata konsentrasi N-Amonia setiap perlakuan rata-rata sama (0,5mM). Kesimpulannya, terdapat bakteri yang mampu mendegradasi dan toleran terhadap tanin.

**AKTIVITAS PROPORSI BERBAGAI CAIRAN RUMEN DALAM  
MENGATASI TANIN SECARA *In Vitro***

**Oleh**

**JULASTRI ENGLINA SIHOMBING**

**Skripsi**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Peternakan**

**PROGRAM STUDI NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA**

**2008**

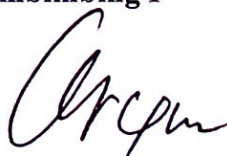
Skripsi

AKTIVITAS PROPORSI BERBAGAI CAIRAN RUMEN DALAM  
MENGATASI TANIN SECARA *In Vitro*

Oleh  
JULASTRI E SIHOMBING  
05033108030

Telah diterima sebagai salah satu syarat  
Untuk memperoleh gelar  
Sarjana Peternakan

Pembimbing I



Dr. Ir. Armina Fariani, M. Sc

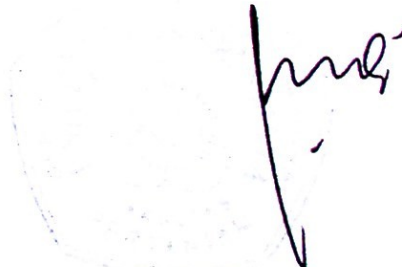
Inderalaya, Januari 2008

Fakultas Pertanian  
Universitas Sriwijaya  
Dekan,

Pembimbing II



Arfan Abrar, S. Pt, M. Si



Prof. Dr. Ir. Imron Zahri, M. S  
NIP. 130 516 530

Skripsi Berjudul Aktivitas Proporsi Berbagai Cairan Rumen dalam Mengatasi Tanin Secara *In Vitro* telah dipertahankan di depan Komisi Penguji pada tanggal 21 Januari 2008

Komisi Penguji


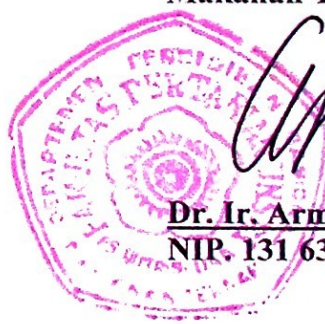
- |                                 |            |   |
|---------------------------------|------------|---|
| 1. Dr. Ir. Armina Fariani, M.Sc | Ketua      | (  )  |
| 2. Arfan Abrar, S.Pt, M.Si      | Sekretaris | (  )  |
| 3. Ir. Erfi Raudhati, M.Sc      | Anggota    | (  )  |
| 4. Muhakka, S.Pt, M.Si          | Anggota    | (  )  |
| 5. Asep Indra M Ali, S.Pt       | Anggota    | (  ) |

Inderalaya, Januari 2008

Mengetahui  
Pembantu Dekan I  
Fakultas Pertanian

Mengesahkan  
Ketua Program Studi Nutrisi dan  
Makanan Ternak

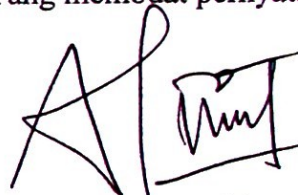
  
Dr. Ir. Suparman, SHK  
NIP. 131 476153

  
  
Dr. Ir. Armina Fariani, M. Sc  
NIP. 131 630 010

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa seluruh data dan informasi yang disajikan dalam skripsi ini, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya adalah hasil pengamatan dan investigasi saya sendiri dan belum pernah atau tidak sedang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar kesarjana lain atau gelar sama ditempat lain.

Inderalaya, Januari 2008

Yang membuat pernyataan,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'A' followed by a vertical line and a box containing the letters 'E' and 'S'.

Julastri E Sihombing



## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan pada tanggal 14 Juli 1984 di Siaro Siborongborong Sumatera Utara, merupakan anak pertama dari lima bersaudara pasangan Bapak Bingan Charleston Sihombing dan Ibu T Simanjuntak.

Pada tahun 1997 penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Siborongborong Tapanuli Utara Sumatera Utara dan pada tahun yang sama penulis tercatat sebagai salah satu siswi SLTPN 1 Siborongborong Tapanuli Utara Sumatera Utara dan menyelesaikannya tahun 2000. Pada Tahun 2003 penulis menamatkan pendidikan Sekolah Menengah Umum di SMUN 1 Siborongborong Tapanuli Utara Sumatera Utara

Pada tahun yang sama yakni 2003, penulis terdaftar sebagai salah satu mahasiswi di Program Studi Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya melalui jalur Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru (SPMB)

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul Aktivitas Berbagai Cairan rumen dalam Mengatasi Tanin secara *In Vitro* yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi Nutrisi dan Makanan ternak Universitas Sriwijaya.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Ir. Armina Fariani, M.Sc sebagai Ketua Program Studi Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya sekaligus sebagai pembimbing I serta sebagai Pembimbing Akademik “terima kasih atas ilmu dan kesabarannya dalam membimbing penulis”,
2. Hal yang sama juga saya ucapkan kepada Bpk Arfan Abrar, S. Pt, M. Si sebagai pembimbing II terima kasih atas ilmu dan bimbingannya
3. Kepada dosen penguji, Ibu Ir. Erfi Raudhati, M.Sc, Bapak Muhakka, S.Pt, M.Si dan kepada Bapak Asep Indra M. Ali, S.Pt terimakasih buat ilmu, saran dan kritikan dan masukan yang diberikan. Seluruh dosen dan staf yang ada di Program Studi Nutrisi dan Makanan Ternak “Terima kasih atas masukan dan bantuannya baik secara langsung maupun tidak.

4. Tidak lupa juga saya mengucapkan terima kasih Kedua Orang tua, adik-adikku Jubel, Jelita, Jein dan Jefri, beserta keluargaku tersayang terimakasih buat semangat dan Doanya.
5. Begitu juga kepada Teman-teman satu team Siti Fauziah, Aci dan Yulis dan teman-teman angkatan 2003 dan semua angkatan terima kasih buat bantuannya.
6. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih buat sahabatku, Modesta, Renatha, Anas, Belman, Rina, Itha, Kak Yuth, Irmawanti, Verika, Adik-adikku Junindah, Mei, Gideon, Boyke teman-teman anak-anak Oh Seram.... dan teman-teman yang lain yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih buat bantuan dan semangat yang diberikan kepada penulis.. Dan tidak lupa juga penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada teman-teman semua angkatan dan juga buat sahabatku Risania, Nanda dan teman-teman angkatan 2003 yang lain, dan juga kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini dan kepada Almamaterku

Penulis menyadari dengan keterbatasan kemampuan dan pengalaman yang penulis miliki, skripsi ini masih jauh dari sempurna. Namun, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya. Akhirnya penulis berharap semua kebaikan kita dibalas oleh Tuhan Yang Maha Esa dengan yang lebih besar. Amin.

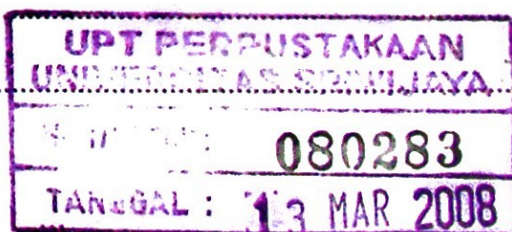
Inderalaya, Januari 2008

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan .....	3
1.3. Hipotesis .....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Sistem Pencernaan Ruminansia .....	4
2.2 Tanin dan Pengaruhnya terhadap ternak ruminansia .....	6
2.3 Bakteri Rumen.....	8
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....	10
3.1. Waktu dan Tempat .....	10
3.2. Alat dan Bahan .....	10
3.3. Metode Penelitian .....	10
3.4. Pelaksanaan Penelitian .....	11
3.4.1. Pengambilan Sampel dan Preparasi .....	11
3.4.2. Tahap Adaptasi Masing-Masing Cairan Rumen .....	12
3.4.3 Persiapan Perlakuan .....	13
3.5 Peubah yang Diamati .....	14



3.5.1 Total Populasi Bakteri (Ogimoto dan Imai, 1980) .....	14
3.5.2. Penentuan Kandungan Tanin .....	15
3.5.3. Penentuan Kandungan Konsentrasi N-Amonia (N-NH <sub>3</sub> ) .....	16
3.5.4. Analisa Data .....	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	18
4.1. Tahap Adaptasi Masing-Masing Cairan Rumen .....	18
4.2. Total Populasi Bakteri .....	19
4.3. Konsentrasi Tanin .....	21
4.4. Konsentrasi N-NH <sub>3</sub> .....	24
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	28
DAFTAR PUSTAKA .....	29
LAMPIRAN	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Beberapa Antinutrisi yang Mampu Didegradasi oleh Bakteri Rumen .....	6
2. Komposisi Masing-Masing Cairan Rumen .....	11
3. Rataan Counting Bakteri Sebelum dan Sesudah Inkubasi yang diinkubasikan pada Media <i>Brain heart Infusion Agar</i> selama 12 dan 24 jam .....	19
4. Rataan Konsentrasi Tanin Sebelum dan Sesudah Inkubasi .....	22
5. Rataan Konsentrasi N-NH <sub>3</sub> secara <i>In Vitro</i> .....	24

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Media <i>Brain Heart Infusion Agar</i> .....	18
2. Hasil konsentrasi N-NH <sub>3</sub> setelah Diinkubasi Selama 24 Jam .....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Data Hasil Penelitian .....	32
2. Data Hasil Penelitian Analisa Tanin (Lanjutan).....	34
3. Data Hasil Penelitian N-NH <sub>3</sub> (mM) (Lanjutan) .....	36
4. Larutan Media Pengencer.....	38
5. Cara Pembuatan Larutan Asam Tanat.....	40
6. Bahan, Media, dan Alat Kecernaan <i>In Vitro</i> .....	41



# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Pencernaan adalah rangkaian proses perubahan fisik dan kimia yang dialami bahan makanan selama berada dalam alat pencernaan. Proses pencernaan makanan pada ternak ruminansia relatif lebih kompleks dibandingkan proses pencernaan pada jenis ternak lainnya.

Perut ternak ruminansia dibagi menjadi empat bagian yaitu retikulum (perut jala), rumen (perut beludru), omasum (perut bulu) dan abomasum (perut sejati). Dalam studi fisiologi ternak ruminansia, rumen dan retikulum sering dipandang sebagai organ tunggal dengan sebutan retikolorumen. Omasum disebut sebagai perut buku karena tersusun dari lipatan sebanyak sekitar 100 lembar. (Mindelwill, 2006)

Pada ternak ruminansia terdapat empat jenis mikroba yang menguntungkan yaitu bakteri, protozoa, jamur (fungi) dan virus pada kondisi ternak yang sehat. Dari keempat jenis mikroba tersebut, bakteri mempunyai jenis dan populasi tertinggi. Cacahan sel pergram isi rumen mencapai  $10^{10} - 10^{11}$ , sedangkan populasi tertinggi kedua yaitu protozoa yang mencapai  $10^5 - 10^6$  cacahan sel pergram isi rumen, (Ogimoto dan Imai, 1980). Mikroba rumen memiliki sifat saling ketergantungan dan berintegrasi satu sama lainnya. Interaksi mikroba memberikan kestabilan dan adaptasi yang baik dalam rumen. Mikroorganisme saling berperan dalam beradaptasi dengan pakan yang berbeda faktor dan pembandingnya.

Mikroorganisme dalam rumen berperan untuk membantu proses pencernaan dan pertahanan tubuh. Protein mikroba rumen merupakan biomassa sumber utama nitrogen untuk ternak. Peningkatan protein mikroba dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang beragam dan faktor populasi bakteri. (Brooker *et al*, 1993). Banyaknya jenis mikroorganisme rumen dan masing-masing mikroorganisme memiliki produk fermentasi intermediet dan produk akhir fermentasi yang beragam menyebabkan kehidupan dalam rumen menjadi kompleks.

Proses pencernaan fermentatif dalam retikulo rumen terjadi sangat intensif. Hal ini menguntungkan, karena pakan dapat diubah dan disajikan dalam bentuk yang lebih mudah diserap. Selain itu ternak ruminansia dapat juga memanfaatkan pakan dengan kandungan serat kasar yang tinggi dalam jumlah yang banyak. Ekosistem mikroba rumen sangat stabil dan dinamis. Pada ternak yang sehat kontaminasi ekosistem seolah tidak terjadi, pada kenyataannya jutaan mikroba dalam rumen banyak berasal dari pakan, air minum dan udara setiap harinya. Ekosistem rumen dinamis, ketika rumen tidak mengalami perubahan pakan, mikroba rumen dapat beradaptasi dengan pakan tersebut. Hal ini terjadi karena mikroorganisme teradaptasi untuk terus hidup dalam rumen dan yang tidak mampu beradaptasi akan tereliminasi (Kamra, 2005)

Proses adaptasi mikroorganisme rumen merupakan salah satu bentuk pertahanan tubuh dari ternak itu sendiri. Mikroba rumen berperan sebagai pertahanan tubuh terhadap serangan-serangan toksik atau antinutrisi yang dihasilkan dalam proses pencernaan. Namun, tidak selamanya zat antinutrisi

memberikan pengaruh negatif, konsumsi pakan yang mengandung tanin dapat berpengaruh resisten pada kehidupan rumen terhadap parasit gastrointestinal nematode. Kandungan tanin dari tanaman pada iklim yang berbeda berpotensi untuk meningkatkan suplai dan penyerapan protein tercerna (Pell, 2003).

Komposisi dan populasi mikroba rumen ditentukan oleh jenis pakan yang dikonsumsi dan interaksi antar mikroba rumen (Preston *et al*, 1987). Wiryawan *et al* (2003) berhasil mengisolasi bakteri pendegradasi tanin dari cairan rumen ternak yang telah beradaptasi dengan legume kaliandra, begitu juga dengan Abrar (2001) yang telah berhasil mengisolasi mikroba rumen sebagai bakteri pendegradasi sianida dari cairan rumen domba yang telah teradaptasi dengan sianida.

Hal ini menunjukkan bahwa tiap jenis ternak memiliki komposisi mikroba yang berbeda-beda akibatnya aktivitas mikroba juga berbeda-beda. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktifitas campuran mikroba rumen yang diharapkan dapat bersinergi dalam mendegradasi tanin.

## **1.2 Tujuan**

Mempelajari aktivitas kultur campuran mikroba dari berbagai ternak ruminansia dalam mengatasi tanin secara *in vitro*.

## **1.3 Hipotesis**

Diduga dalam kultur campuran mikroba dari berbagai ternak ruminansia mengandung bakteri pendegradasi tanin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abrar, A. 2001. Eksplorasi Mikroba Rumen Pendegradasi Sianida. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Arora, S.P., 1983. Microbial Digestion In Ruminants, *diterjemahkan oleh* Murwani, R. 1989. Pencernaan Mikroba pada Ruminansia. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Alison, M. J., J. A. Bucklin and E. W. Dougherty. 1964. Ruminal change after over feeding with wheat and the effect of intra ruminal inoculation on adaptation to a ration containing wheat. J. Anim. Sci., 23 : 1164 – 1171
- Andini. L. S., K. G. Wiryawan., Suryahadi., dan Suharyono. 2003. Pengaruh DABA dan *Acacia vilosa* pada cairan rumen terpilih secara *in vitro*. Puslitbang Peternakan. Bogor.
- Brooker. J. D., L. O. Donovan, I. Skene and Sellick. 1993. Mechanism of tannin resistance detoxification in the rumen. Animal Science Departemen. University of Adelaide. Australia.
- Fauziah, S. 2008. Kemampuan Degradasi Tanin oleh Berbagai Jenis Cairan Rumen. Skripsi. Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan.
- Ginting, S. P. 2005. Tantangan dan Peluang Pemanfaatan Pakan Lokal untuk Pengembangan Peternakan Kambing di Indonesia. Lokakarya Nasional Kambing Potong. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Haryanto, B. 1994. Respon Produksi Karkas Domba Terhadap Strategi Pemberian Protein By-pass Rumen. J. Ilmiah Penelitian Ternak Klepu. 3 (2)
- Hernaman. I., U. Hidayat Tanowina dan M. Fatah Wiyatna. 2005. Pengaruh penggunaan berbagai tingkat kulit kopi dalam ransum penggemukan sapi potong terhadap fermentasi rumen dan pencernaan *in vitro*. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung.
- Hume, J. D. 1982. Fibre Digestion In The Ruminant Nutrition and growth. Manual Melbourne : Hedge and Bell Pty Ltd.
- Jones, R. J. 1981. Does ruminal metabolism of mimosine explain the absence of leucaena toxicity in Hawaii. Aust. Vet. J. 57:55-56.
- Jouany. J. P. 1991. Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. Institut National De La Recherche Agroomique. Paris

- Kahn, L. P. and Diaz-Hernandez. 2003. Tannin with anthelmintic properties. Animal Research. University of New England. Australia.
- Kamra, D. N. 2005. Rumen Microbial Ecosystem. Current Science, Vol. 89, No 1.
- Makkar, H. P. S. 1991. Antinutritional factor in animal feedstuffs mode of action *Int J. Anim. Sci.* 6 : 88-94.
- Makkar, H. P. S. 1993. Antinutritional factors in foods for livestock. *British Society of Anim. Prod. Occasional Publication No.* 16.
- McSweeney, C. S., Brian Palmer, Rowan Bunch and Denis O Krause. 1999. Isolation dan characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep dan goats fed the Tannins-Containing shrub legum *Calliandra calothyrsus*. Applied and Environmental Microbiology, Juli 1999. p 3075-3083.
- McSweeney, C. S., B. Palmer and D. O. Krause. 2003. Rumen microbial ecology and physiology in sheep and goats fed tannin-containing diet. Aciar Processing No. 92.
- Mindelwill, I. 2006. Mikroba dalam rumen sapi. [www.google.go.id](http://www.google.go.id). (diakses tanggal 21 Mei 2007)
- Munawar., Hary, W., Alisa N. 2007. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi II. Fakultas MIPA. Universitas Sriwijaya.
- Nelson, K. E., Michael L Thonney, Tina, K. Woolston, Stephen H. Zinder dan Alice N. Pell. 1995. Phenotypic and phylogenetic characterization of ruminal tannin-tolerant bacteria. Applied and Environmental Microbiology, Oktober 1998. p. 3024-3830.
- Ogimoto, K and Imai. 1980. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Press. Tokyo.
- Pell, A. N., T. K. Woolston., K. E. Nelson and P. Schofield. 2003. Tanins : Biological activity and bacterial tolerance. J. Animal Science. Cornell University. USA.
- Preston, T. R. A. Leng. 1987. Matching Ruminant Production System with Available Sources in Tropics. Penabul book. Aemidale.

- Sayuti, N. 1989. Ruminologi. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas, Padang.
- Stell, E. G. D and J. H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika. PT. Gramedia. Jakarta.
- Steward, C. S. 1991. The Rumen Bacteria. *In* Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. Eds. Jouany, J. P. INRA. Paris.
- Tagari, H. Y, Hennis. Musha, T and R, Volcani. 1965. Effect of carob pod extract on cellulolysis, proteolysis deamination, and protein biosynthesis in a artificial rumen. J. Amarican Society for Microbiology.
- Tangenjaja, B and Wina E. 2003. Tanins and Ruminant Production in Indonesia. Research Institute for animal production. Bogor. Indonesia.
- Thalib, A. B. Haryanto, S. Kompiang, I. W. Malihus dan A. Aini. 1999. Pengaruh mikromineral dan fenilpropionat terhadap Performans Bakteri Sellulolitik Cooci dan Batang dalam mencerna Serat Hijauan Pakan. Balai penelitian Ternak. Bogor.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forages crop. J. Br. Grass. Soc.
- Tilman, A. D., Hari Hartadi, Soedomo., R, Soeharto. P., Soekanto, L. 1998. Ilmu Makanan Ternak dasar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wina. E., Sri. R., Chrisca. M., dan Budi. T. 2006. The Interaction of isolated tannin from *Caliandra calothyrsus* with  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  and its effect on the *in vitro* digestibility. Animal Research Center, Ciawi Bogor.
- Wiryawan, K. G., Tangendjaja, B. and Suryahadi, Brooker, J. D. 1999. Tannin degrading bacteria from Indonesian ruminants. In Tanins in Livestock and Human Nutrition. Proc International Workshop, Adelaide. Australia. 31 May – 2 June, 1999. pp. 123-126.
- Wiryawan, K. G., Tangenjaja, B., and Suryahadi. 2003. Tannin degrading bacteria from Indonesian Ruminants. Animal Research Center, Ciawi Bogor.