

**PENGARUH PEMBERIAN *POLYETHYLENE GLIKOL* (PEG) PADA
KULIT BUAH KOPI TERHADAP PRODUKSI
GAS, pH DAN NH₃ SECARA *IN VITRO***

Disajikan oleh :

Rolando R Hutagalung (E10012097), dibawah bimbingan :

Dr. Ir. Suparjo¹⁾ dan Dr. Yatno²⁾

Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Jambi

Alamat Kontak : JL. Jambi – Ma. Bulian KM 15 Mendalo Darat, Jambi 36361

Email: Rolandohutagalung@gmail.com

ABSTRAK

Kulit buah kopi adalah hasil samping pembuatan bubuk kopi, Namun kulit buah kopi masih mempunyai kendala untuk di jadikan pakan ternak , yaitu adanya senyawa tanin yang dapat mengikat protein maupun senyawa lain, sehinga secara tidak langsung akan mengganggu pertumbuhan ternak jika diberikan langsung pada ternak. Untuk mengatasi hal tersebut dilakukan penambahan *Polyethilen Glikol* (PEG) Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh taraf pemberian PEG pada kulit buah kopi terhadap jumlah produksi Gas Total, pH dan NH₃ yang ukur secara *in vitro*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan terdiri dari P0 (0% PEG), P1 (5%PEG), P2 (7,5%PEG), P3 (10%PEG), P4 (12,5%PEG). Peubah yang diamati yaitu jumlah Produksi total Gas, pH dan NH₃. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Data yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian PEG pada kulit buah kopi berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap produksi total gas tetapi tidak nyata terhadap pH dan NH₃. Dapat disimpulkan bahwa pemberian *Polyethylene Glycol* (PEG) pada taraf 12,5 % pada kulit buah kopi nyata menghasilkan gas total tertinggi (70,30 ml) dibandingkan perlakuan lain disertai nilai pH dan NH₃ cukup baik masing-masing sebesar 6,29 dan 5,65 secara invitro.

Kata kunci: Kulit Buah Kopi, PEG, Produksi Total Gas, pH dan NH₃

Keterangan : 1) pembimbing utama
2) pembimbing pendamping

PENDAHULUAN

Kulit buah kopi adalah hasil samping pembuatan bubuk kopi, pengolahan kulit buah kopi terdiri dari, biji kopi 40%, kulit kopi 45%, lendir 10% dan kulit ari 5%, (Golh, 1981), kulit buah kopi memiliki kandungan zat makanan yang meliputi bahan kering 87,4%, lemak 2,5%, serat kasar 21%, protein kasar 11,2%, BETN 44,4%, dan abu 8,3%, (Latief *et al.*, 2000). Ketersediaan kulit buah kopi cukup banyak yaitu 5780 ton / tahun di provinsi jambi (Direktorat jenderal perkebunan, 2014).

Melihat kondisi tersebut kulit buah kopi sangat mungkin digunakan sebagai pakan alternatif pakan ternak ruminansia, namun bahan pakan ini memiliki kendala berupa zat antinutrisi yang sering disebut tanin sebesar 1,80-8,56 berat kering yang bisa menghambat penyerapan kandungan protein pada kulit buah kopi sehingga tingkat

kecernaan protein akan menurun, selain itu juga mengandung serat kasar yang cukup tinggi. Untuk mengatasi kendala tersebut maka dilakukan pemberian PEG pada kulit buah kopi. PEG merupakan polimer sintetik non nutritif yang memiliki aktifitas yang tinggi terhadap senyawa fenolik, khususnya tanin sehingga dapat menonaktifkan dengan cara membentuk kompleks tanin-PEG, (Garrido *et al.*, 1991).

Senyawa PEG dapat digunakan untuk memperbaiki nilai nutrisi pakan yang mengandung tanin (Palmer dan Jones, 2000). Dengan penambahan PEG membuat hubungan kompleks tanin dengan PEG sehingga tanin pada kulit buah kopi bisa di deaktivasi, hasil deaktivasi tersebut akan tercermin pada kandungan gas total, pH, NH₃ dalam rumen. Penelitian Rahayu (2010), menyatakan bahwa penggunaan PEG pada taraf 20 % dapat berpengaruh terhadap produksi gas total dengan menghasilkan gas sebesar 70,11 ml.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Fapet Farm (pengambilan cairan rumen pada sapi berfistula) dan Laboratorium Fakultas Peternakan Universitas Jambi dan dilaksanakan pada tanggal 1 Desember 2016 sampai 7 Januari 2017.

Materi dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kopi, McDougall, gas CO₂, HgCl₂, cairan rumen yang diambil dari sapi berfistula milik Fapet Farm), Polyethylene glycole (PEG) aquades. Alat yang di gunakan dalam penelitian ini adalah cawan conway, botol fermentor 125 mL, botol serum 75 mL gegep, termos, neraca analitik, glass shyringe, labu ukur 1000 mL, kain kasar, corong plastik, gelas piala, inkubator, clamper dan decamper, spuit 50 mL, kertas whatman 41, pH meter, tabung reaksi, tutup karet dan almunium, gelas piala 2000 ml, termometer dll.

Pelaksanaan penelitian

Persiapan Bahan

Kulit buah kopi yang didapat dikeringkan dalam oven suhu 70⁰C selama 24 jam, kemudian sampel di giling dengan mesin penggiling ukuran saringan 1 mm, sampel yang telah di giling di timbang sebanyak 1 gr dan dimasukkan kedalam botol serum.

Pembuatan Larutan McDougall

Pembuatan larutan McDougall berpedoman kepada Tilley dan Terry, (1963) adalah sebagai berikut:

Pembuatan larutan McDougall berpedoman kepada Tilley dan Terry, (1963) adalah sebagai berikut:

- a. Timbang masing-masing NaHCO₃ (9,8 gr), Na₂HPO₄.7H₂O (7,0 gr) KCl (0,57 gr), NaCl (0,47 gr), MgSO₄.7H₂O(0,12 gr)
- b. Masukkan kedalam labu ukur 200 ml (larutan 1), Lalu buat larutan CaCl₂ 4% (larutan 2) dan MgCl₂ 6% (larutan 3).
- c. Untuk membuat larutan penyangga dilakukan dengan cara mencampur 200 ml larutan 1, 2 ml larutan 2, dan 2 ml larutan 3 dengan 500 ml aquades dan tambahkan aquades hingga volume larutan hingga 1000 ml.

- d. Kemudian diaduk hingga homogen, lalu dimasukkan kedalam oven hingga suhu mencapai 39⁰C. Selanjutnya dilakukan pengukuran pH buffer hingga di peroleh pH 6,9-7. Jika pH lebih tinggi ditambahkan larutan 2, jika larutan dibawah 6,9 ditambah kan larutan C sehingga di peroleh larutan ideah.

Persiapan Inokulan

Cairan rumen sabagai inokulan diperoleh dari sapi fapet farm dengan cara sebagai berikut:

- a. Persiapkan 1 buah termos berisi air panas.
- b. Buang air yang berisi dalam termos kemudian masukkan termometer kedalam termos hingga termometer mengenai dinding termos lalu ukur suhu termos dengan suhu 39-40⁰C.
- c. Digesta (bolus) diambil dari berbagai bagian dalam rumen sapi pistula yang ada di Fapet Farm, kemudian disaring dengan 4 lapis kain kasa dan dimasukkan kedalam termos yang sudah dibuang airnya.
- d. Cairan rumen segera dibawa ke laboratorium dan disaring kembali dengan kain kasa ke dalam labu ukur kapasitas 1000 mL, kemudian diletakkan dalam waterbath pada suhu 39-40⁰C. Inokulan siap untuk digunakan.

Persiapan Polyethylene Glikol (PEG)

Satu jam sebelum inkubasi PEG terlebih dahulu ditimbang berdasarkan perlakuan yang diberikan, setelah PEG lalu dimasukkan ketabung reaksi dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 5 ml dan aduk. Tabung reaksi yang berisi PEG dengan berdasarkan perlakuan disusun kedalam rak.

Pencampuran McDoughall dengan Inokulan (Tilley and Terry, 1963)

Pencampuran larutan McDoughall dan cairan inokulan yang telah dipersiapkan dicampur dengan perbandingan 4:1. larutan McDoughall dan cairan inokulan yang akan dicampur dimasukkan kedalam gelas piala yang berukuran 2000 mL dan ditempatkan pada shakerbath pada suhu 39⁰ C, ambil 1000 mL campuran larutan 1, 2 dan 3 kemudian tambahkan dengan cairan rumen sebanyak 250 ml dan alirkan gas CO₂ serta cek pH hingga 6,8-7 karena dapat mempengaruhi bakteri rumen.

Pengukuran Produksi Gas dan pH Sampel (Menke *et al* ., 1979)

Sebelum dimasukkan piston kedalam glass syringe terlebih dahulu diolesi dengan valesin. Pengukuran gas dilakukan dengan cara memasukkan cairan rumen, larutan PEG, campuran McDougall dengan inokula dan sampel ke glass syringe yang berukuran 75 ml kedalam glass syringe. Lihat volume awal (V₀) kemudian dicatat setiap 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 dan 96 jam. Jika posisi piston naik nilai ini di catat kemudian klem dibuka dan posisi piston di kembalikan keposisi awal supaya sampel tidak keluar . Pada akhir periode inkubasi 96 jam, proses fermentasi dihentikan dan menambahkan 1-2 tetes larutan HgCl₂ aduk hingga homogen, biarkan beberapa menit hingga tercampur, setelah air terlihat bening masukkan kertas lakmus ke dalam sampel sekitar 1 menit hingga kertas lakmus berubah warna setelah warna kertas lakmus tabil cocokkan kertas lakmus / pH indikator pada bagan warna petunjuk nilai pH.

Pengukuran Amonia (NH₃) (Conway, 1962).

Sepernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi, diambil sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambah NaCl 5 ml dan dimasukkan kedalam lemari es untuk pengawetan cawan conway yang telah dibersihkan kemudian diolesin vaselin pada bagian pinggirnya. 1mm K₂CO₃ diletakkan dibagian kiri cawan dan supernatan yang telah diawetkan, diambil 1 mm dan diletakkan dibagian kanan cawan.

Setelah itu campur dan tunggu 2 jam hingga terlihat perubahan warna menjadi warna biru, kemudian dititrasi dengan HCl 0,01N hingga warna menjadi warna awal yaitu merah muda, dicatat volume HCl yang dipakai.

Metode Analisis Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang di terapkan pemberian PEG berbagai level, sebagai berikut.

P0 = 0% PEG

P1 = 5% PEG

P2 = 7,5% PEG

P3 = 10% PEG

P4 = 12,5% PEG

Produksi Total Gas, pH dan NH₃

Pengukuran produksi Total Gas , pH dan NH₃ secara invitro dengan rumus:

$$Gb = (Vt - Vo) - (BVt - BVo) X$$

Keterangan= Gb : Produksi gas waktu t jam (ml)
Vt : Volume pada waktu t jam (ml)
Vo : Volume pada waktu 0 jam
BVt : Volume Blanco t jam
BVo : Volume Blanco 0 jam
X : Sampel

Pengukuran pH yaitu dengan menggunakan pH meter

$$\text{Konsentrasi NH}_3 = \frac{(\text{Volume titrasi} \times \text{NHCl} \times \text{BM NH}_3 \times 100) \times \text{pengenceran}}{1 \text{ ml sampel}}$$

Keterangan : N HCl = HCl yang dipakai dalam titrasi (N)

BM NH₃ = 17 (N : 14, H : 1)

Pengenceran = Jumlah volume supernatan dan HCl perjumlah supernatan yang diambil. (10/5) ml

Analisis Statistik

Data yang diperoleh dari setiap peubah yang diamati dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA), jika analisis memperlihatkan pengaruh nyata (P<0.05) maka dilanjutkan dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Total Gas

Pada ternak ruminansia fermentasi pakan didalam rumen disamping menghasilkan VFA dan amonia juga menghasilkan gas berupa karbondioksida (CO₂), gas Hidrogen (H₂) dan gas metan (CH₄), pengukuran total produksi gas dapat dijadikan sebagai indikator penentuan laju fermentasi karena berhubungan dengan zat makanan terutama karbohidrat. Produksi gas menggambarkan jumlah bahan organik yang dapat dicerna oleh mikroorganisme rumen semakin tinggi produksi gas yang dihasilkan menunjukkan semakin banyaknya jumlah bahan organik yang dapat difermentasi menjadi bentuk lain seperti VFA (Firsoni, 2005). Hasil pengukuran produksi total gas kulit buah kopi yang di dapat pada perlakuan tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan produksi total gas kulit buah yang diberi PEG

Perlakuan	Produksi Gas (ml)
P0	58,75 ^{ab} ±8,21
P1	55,15 ^b ±5,89
P2	70,30 ^a ±5,68
P3	65,70 ^{ab} ±10,62
P4	68,50 ^a ±9,39

Ket: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05). P0(0% PEG). P1(5% PEG). P2(7,5%PEG). P3(10% PEG).P4(12,5% PEG).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian PEG pada kulit buah kopi berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap total produksi gas. Hasil uji jarak Duncan pada (Lampiran 2) menunjukkan bahwa produksi gas antara P0 dengan P1 (5%), P2 (7,5), P3 (10%), P4 (12,5) serta P1 (5%) dan P3 (10%) tidak berbeda nyata, tetapi P1 (5%) dengan P2 (7.5%) dan P4(12.5) berbeda nyata (P<0.05). Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai produksi gas yang tertinggi pada perlakuan P2 (7.5%), sedangkan produksi gas terendah yaitu pada perlakuan P1 (5%). Hal ini disebabkan karena peningkatan produksi gas yang terjadi merupakan efek dari pemberian PEG dalam menghambat efek tannin dari kulit buah kopi sehingga mudah di cerna. Penambahan PEG dapat menghasilkan nilai produksi gas, kinetika gas hasil fermentasi (Rahayu, 2010).

Sugoro (2004), bahwa tanin akan berikatan dengan protein seperti pada enzim pendegradasi pakan yang secara langsung akan berpengaruh pada produksi gas, hubungan kompleks tannin-protein pun sulit untuk didegradasi sehingga berpengaruh pada produksi gas seperti asam asetat dan asam butirat menjadi karbondioksida (CO₂) dan methan (CH₄).

Getachew (2004), bahwa PEG memiliki sifat pengikat tannin yang sangat kuat (*strongly binds to tannin*) sehingga dapat menghambat efek biologis dari tannin. PEG memiliki aktifitas tinggi untuk tannin dan mengikat tannin dengan membentuk kompleks tanin-PEG (Makkar *et al.*, 1995). Jumlah gas yang dihasilkan pada penelitian ini yaitu berkisar 50-70, semakin tinggi produksi gas semakin baik kualitas bahan pakan. Theodorou *et al* (1998), bahwa produksi gas yang tinggi menunjukkan aktivitas mikroorganisme didalam rumen dapat mencerminkan kualitas bahan pakan tersebut.

Nilai PH

Kondisi dalam rumen adalah anaerob dan mikroorganismenya paling sesuai dan dapat hidup didalamnya, temperatur dalam rumen 38-40^oc pH dipertahankan dengan adanya absorpsi asam lemak dan amonia. Nilai pH dikategorikan kedalam pH optimal yakni pada kisaran 6,9 sampai 7,0 menurut (Dehority dan Tirabasso, 2001). Hasil pengukuran pH kulit buah kopi yang didapat pada perlakuan tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan pH kulit buah kopi yang diberi PEG

Perlakuan	pH
P0	6,26±0,04
P1	6,21±0,05
P2	6,29±0,05
P3	6,25±0,09
P4	6,31±0,08

Ket: Berpengaruh tidak nyata ($P > 0.05$). P0(0% PEG). P1(5% PEG). P2(7,5% PEG). P3(10% PEG). P4(12,5% PEG).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan PEG terhadap kulit buah kopi sampai taraf 12,5% berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap nilai pH. Tanin pada kulit buah kopi akan menginaktifkan enzim-enzim mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Makkar (2003), bahwa pemberian polietilen glikol (PEG) dapat mengikat tanin dan menghambat efek biologis tanin.

Nilai pH yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 6,26 – 6,31. Kamra (2005), bahwa konsentrasi ini masih dalam kisaran pH optimal untuk pertumbuhan bakteri rumen yaitu 6.0-6.9 pada temperatur 39^oC.

pH yang dihasilkan oleh penelitian ini sudah dapat menjamin aktifitas mikroba yang ada dalam rumen, jika pH rendah atau asam akan menghambat aktifitas mikroba dalam rumen sehingga degradasi rendah, pH rendah akan menyebabkan kondisi rumen menjadi asam dan menurunkan populasi mikroba sehingga proses proteolisis akan dihambat dan sebagai akibatnya degradasi pakan akan menurun (Mandigan *et al.*, 2003). Nilai pH akan stabil dengan bantuan saliva sebagai buffer untuk mempertahankan nilai pH tetap pada 6.20. Saliva bertipe cair, membuffer asam-asam, hasil fermentasi mikroba rumen, Selain itu juga saliva merupakan zat pelumas dan surfactant yang membantu didalam proses mastikasi dan ruminasi, saliva mengandung elektrolit-elektrolit tertentu seperti Na, K, Ca, Mg, P, dan urea yang mempertinggi kecepatan fermentasi mikroba, sekresi saliva dipengaruhi oleh bentuk fisik pakan, kandungan bahan kering, volume cairan isi perut dan stimulasi psikologis (Nursiam, 2010).

Faktor-faktor yang mempengaruhi populasi protozoa rumen yaitu dalam keadaan kurang asupan nutrisi dan kondisi pH rumen, rendahnya pH dapat mengurangi protozoa, (Dehority, 2004).

Pengukuran NH₃ (Mm)

Amonia berasal dari perombakan protein pakan oleh mikroba rumen, mikroba rumen menghasilkan enzim-enzim protease yang memecah protein oligopeptida. Oligopeptida yang terbentuk digunakan untuk menyusun protein mikroba dan sisahnya akan melalui proses menjadi asam amino dan akan mengalami deaminasi menjadi asam ketoalfa dan amonia. Amonia tersebut digunakan oleh mikroba sebagai sumber nitrogen

utama untuk sintesi protein mikroba, karena prekursor pembentukan protein mikroba yang selanjutnya dibentuk menjadi protein tubuh adalah NH_3 , (Sakinah, 2005). Hasil pengukuran NH_3 kulit buah kopi yang terdapat pada perlakuan tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan NH_3 kulit buah kopi yang diberi PEG

Perlakuan	NH_3 (Mm)
P0	4,20±2,37
P1	6,80±1,59
P2	5,65±1,47
P3	5,70±0,44
P4	6,75±3,21

Ket: Berpengaruh tidak nyata ($P>0.05$). P0(0% PEG). P1(5% PEG). P2(7,5%PEG). P3(10% PEG).P4(12,5% PEG).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan PEG terhadap kulit buah kopi sampai taraf 12,5% berpengaruh tidak nyata ($P>0,05$) terhadap nilai NH_3 . (Tabel 4), terlihat nilai rata-rata konsentrasi NH_3 berkisar antara 4-6 (Mm), Hal ini menunjukkan bahwa nilai NH_3 pada penelitian ini memenuhi batasan nilai NH_3 untuk keperluan sintesis mikroba rumen sapi. Sesuai pendapat Sutardi (2003), bahwa konsentrasi NH_3 optimal untuk kebutuhan mikroba berkisar antara 4.08 – 8.09 ml, konsentrasi amonia di dalam rumen merupakan keseimbangan antara jumlah yang diproduksi dengan yang digunakan oleh mikroorganisme dan yang diserap oleh rumen.

Prihandono (2001), bahwa konsentrasi amonia mencerminkan jumlah protein ransum yang banyak di dalam rumen dan nilainya sangat dipengaruhi oleh kemampuan mikroba rumen dalam mendegradasi protein ransum. Semakin tinggi protein yang terdegradasi oleh mikroba rumen maka akan semakin tinggi pula konsentrasi amonia yang dihasilkan, produksi amonia di dalam rumen berasal dari degradasi protein dari kulit buah kopi dan didegradasi oleh mikroba rumen menjadi aktivitas proteolitik yaitu perombakan protein menjadi asam – asam amino dan aktivitas deaminasi yaitu terjadinya pembentukan asam – asam organik, ammonia dan CO_2 . Rahmadi *et al* (2010), menyatakan bahwa protein di dalam rumen dihidrolisis oleh enzim proteolitik yang dihasilkan mikroba rumen menjadi oligopeptida, mikroba dapat memanfaatkan oligopeptida yang mudah terfermentasi untuk membuat protein tubuhnya, sebagian dihidrolisis lagi menjadi asam amino. Mikroba rumen akan merombak asam – asam amino sebanyak 82 % menjadi amonia untuk menyusun tubuhnya, hal ini dikarenakan mikroba rumen terutama bakteri tidak mempunyai sistem transportasi untuk mengangkut asam amino ke dalam tubuhnya.

Getachew *et al* (2000), menyatakan bahwa kenaikan NH_3 yang dihasilkan dengan pemberian PEG dapat menghambat tannin untuk mengikat protein dan membuat protein bisa di degradasi oleh proses metabolisme mikroba, Proses kenaikan NH_3 dipengaruhi nilai ph didalam rumen sehingga mikroba mampu merombak asam amino menjadi amonia, lebih lanjut Mahesti (2009), bahwa suasana pH yang asam (pH rendah) dapat menyebabkan menurunnya aktifitas mikroba dalam rumen.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian (PEG) pada taraf 7,5 % dalam kulit buah kopi nyata menghasilkan produksi total gas tertinggi (70,30 ml)

dibandingkan perlakuan lain disertai dengan nilai pH dan NH₃ yang cukup baik masing-masing sebesar 6,29 dan 5,65 Mm secara *in vitro*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pemberian PEG pada kulit buah kopi dengan campuran bahan pakan lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Dehority, B. A. 2004. Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham.
- Dehority & Tirabasso. 2001. Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen dalam Syahrir S, Wiryawan. K.G, Parakkasi A. Winugroho M. Dan Sari O. N. P 2009. Efektivitas Daun Murbei Sebagai Pengganti Konsentrat dalam Sistem Rumen *in Vitro*. Media Peternakan. 32:2. 112-119.
- Firsoni. 2005. Manfaat tepung daun kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) dan glirisidia (*Gliciridia Sepium*, Jacq) sebagai sumber protein dalam urea molases blok (UMB) terhadap metabolisme pakan secara *in vitro* dan produksi susu sapi perah. Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya, Malang.
- Garrido, A., A. Gomez-Cabrera, J. E. Guerrero & J.M. Van der Meer. 1991. Effects of treatment with polyvinylpyrrolidone and polyethylene glycol on Faba bean tannins. *Anim. Feed Sci, Technol.* 35:199-203
- Getachew, G., E.J. De Peters and P.H. Robinson. 2004. *In Vitro* Gas Production Provides Effective Method for Assessing Ruminant Feeds. *California Agriculture*, Volume 58.
- Getachew, G., H.P.S. Makkar & K. Becker. 2000. Stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production in presence and absence of polyethylene glycol for tannin containing browses. EAAP Satellite Symposium, Gas production: fermentation Kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity, 18-19 August Wageningen The Netherlands.
- Golh. B. 1981. Tropical feed. feed information summaries and nutritive. fao the united nation, rome.
- Kamra DN. 2005. Rumen microbial ecosystem. *J. Current science.* 89(1):124-135.
- Latief. A., R. Murni, dan S. D. Widyawati. 2000. Penentuan solubilitas, keambaan dan pencernaan in sacco silase kulit buah Kopi. Laporan Penelitian Universitas Jambi, Jambi.
- Madigan, M.T., P.J. Martinko dan J. Parker. 2003. *Brock Biologi of microorganisms*. New York : Prentice Hall International Inc., Englewood Cliff.
- Makar, H. P. S, 2003. Quantification of tannin in Tree and Shrub Legumes; A Laboratory Manual. Kluwer Academi Publishers, Dordrecht The Netherlands.
- Makkar, H. P. S., M. Blummel and K. Becker. 1995. Formation of complexes between Polyvinylpyrrolidones or Polyethylene Glycols of tannins, and their implications

- in gas production and true digestibility in in vitro techniques. *British Journal of Nutrition*. 73: 897-913.
- Mahesti, G, 2009. Pemanfaatan Protein pada Domba Lokal Jantan Dengan Bobot Badan dan Aras Pemberian Pakan yang Berbeda. Program Studi Magister Ilmu Ternak Program Pasca sarjana Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Nursiam, I, 2010. Buffer. Departemen Ilmu dan Teknologi Pakan. Fakultas Peternakan Institute Pertanian Bogor.
- Prihardono, R. 2001. Pengaruh Suplementasi Probiotik Bioplus, Lisinat Zn dan Minyak Man Lemuru Terhadap Tingkat Penggunaan Pakan dan Produk Fermentasi Rumen Domba. Jurusan Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor
- Rahmadi, D., Sunarso, J. Achmadi, E. Pangestu, A. Muktiani, M. Christiyanto, Surono, dan Surahmanto. 2010. Ruminologi Dasar. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rahayu, S . 2010. Penambahan PEG pada kulit buah kopi secara In vitro, (Skripsi 2010).
- Sakinah. 2005. Antenatal Care. <http://www.info-wikipedia.com>. Diakses tanggal 25 April 2011.
- Sugoro, I., Pengaruh Tanin dan Penambahan PEG terhadap Produksi Gas Secara In vitro, Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam Bidang Pertanian, Peternakan, Industri dan Sumber Daya Alam dan Lingkungan BATAN, 65 -68, 2004.
- Sutardi, T. 2003. Peningkatan Produksi Ternak Ruminansia Melalui Amoniasi Pakan Serat Bermutu Rendah, Defaunasi Dan Suplementasi Sumber Protein Bahan Degradasi Dalam Rumen. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A Two Stage Technique for The in vitro Digestion of Forage Crops. *Journal of the British Grassland Society* 18 : 104-111.